

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS
DEPARTAMENTO DE OCEANOGRAFIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM OCEANOGRAFIA AMBIENTAL**

NAIRANA SANTOS FRAGA

**FATORES GLOBAIS ATUANDO NA DISTRIBUIÇÃO DE CÁDMIO NA
BIOTA, UTILIZANDO A TARTARUGA VERDE (*CHELONIA MYDAS*)
COMO BIOINDICADOR**

**ARACRUZ
2017**

NAIRANA SANTOS FRAGA

**FATORES GLOBAIS ATUANDO NA DISTRIBUIÇÃO DE CÁDMIO NA
BIOTA, UTILIZANDO A TARTARUGA VERDE (*CHELONIA MYDAS*)
COMO BIOINDICADOR**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós Graduação em
Oceanografia Ambiental da
Universidade Federal do Espírito
Santo, como requisito parcial para
obtenção do título de Mestre em
Oceanografia Ambiental

Orientador: Prof. Dr. Agnaldo Silva
Martins (UFES).

ARACRUZ
2016

NAIRANA SANTOS FRAGA

**FATORES GLOBAIS ATUANDO NA DISTRIBUIÇÃO DE CÁDMIO NA
BIOTA, UTILIZANDO A TARTARUGA VERDE (*CHELONIA MYDAS*)
COMO BIOINDICADOR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Oceanografia Ambiental da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Oceanografia Ambiental.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Agnaldo Silva Martins – Orientador
Universidade Federal do Espírito Santo/UFES

Dra Cecilia Baptistotte – Examinadora Externa
Projeto Tamar

Prof. Dr. Marcelo Renan de Deus Santos – Examinador
Externo
Universidade de Vila Velha/UVV

AGRADECIMENTOS

Ao professor Agnaldo Martins, pela orientação e confiança neste trabalho.

Aos co-autores: Derek R. Faust, Haruya Sakai, Alonso A. Aguirre, Anita N. Gordon e Cinthia C. Silva, pelos dados que me confiaram e disponibilizaram gentilmente para realização das análises desta pesquisa.

Ao co- autor Adalto Bianchini pela sua colaboração e auxílio sempre com boa vontade e disponibilidade.

Aos meus pais por tudo que sempre fazem e fizeram por mim, e por me proporcionarem as condições para a conclusão deste trabalho.

A minha avó Carmelita pelo apoio, paciência e dedicação em cada momento de exaustão compreendendo a importância da pesquisa e da minha formação.

Ao meu noivo Thomás Garcia Marçal, pelo grande apoio, paciência, e fornecendo os demais recursos necessários para a execução desta pesquisa com carinho e dedicação, e reconhecendo a importância dela para minha profissão. E por poder compartilhar com ele os acontecimentos desta caminhada para a conclusão deste trabalho, que se tornaria muito mais difícil sem a sua parceria e companheirismo.

A grande amiga Ana Clara com a sua compreensão, amizade e acompanhamento em toda esta trajetória.

A tia Rita com o estímulo e incentivo para a conclusão das atividades.

Aos amigos Pedro, Flávia e Lílian pelos momentos que ficávamos descontraídos e pela colaboração ao decorrer do mestrado.

À fundação CAPES pelo recurso financeiro de bolsa durante o mestrado.

Ao Professor Jean e o Robson pelo apoio e auxílio em questões inerentes ao trabalho, que sempre o fizeram com boa vontade e gentileza.

Ao querido Luciano por ter sido muito presente e solícito me ajudando com todas as questões do programa de pós graduação.

Às meninas do laboratório, Kathiani, Juliana e Rebeca sempre solícitas e dando incentivo a conclusão deste trabalho.

As minhas sobrinhas Ana Luiza, Sofia e Maya por me proporcionar sorrisos neste tempo de mestrado.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Tabela com as metodologias simplificadas.....42

Tabela 2. Intervalos de referência de valores mais encontrados de cádmio no fígado e rins de *C. mydas* oriundas dos Oceanos Atlântico e pacífico entre 40 e 50 cm de CCC.52

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de vida das tartarugas marinhas.....	12
Figura 2. Indivíduo da espécie <i>Chelonia mydas</i>	13
Figura 3. Distribuição de <i>Chelonia mydas</i> no globo	14
Figura 4. Locais de coleta de <i>C. Mydas</i> para quantificação de cádmio utilizados nas análises do trabalho.....	30
Figura 5. Concentração de Cádmio (ug/g peso úmido) no fígado (A) e no rim (B) de <i>Chelonia mydas</i> coletadas e selecionadas no presente estudo para testes comparativos, oriundas do Japão, EUA e Brasil em diferentes tamanhos.....	33
Figura 6. Tamanhos médios e desvios padrão de todos os indivíduos coletados de <i>Chelonia mydas</i> (n=89) em três diferentes países (Brasil, EUA e Japão) (A) e apenas dos indivíduos selecionadas para os testes comparativos (n=21) (B).....	34
Figura 7. Locais de coleta de <i>C. mydas</i> juvenis no Rio Grande do Sul, Brasil.....	35
Figura 8. Local de coleta de <i>C. mydas</i> juvenis no Texas, EUA.....	37
Figura 9. Locais de coleta de <i>C. mydas</i> juvenis nas Ilhas Yayeama, Japão.....	39
Figura 10. Médias e desvio padrão de concentração de Cádmio (ug/g peso úmido) no fígado (A) e no rim (B) de <i>Chelonia mydas</i> selecionadas no presente estudo para testes comparativos, oriundas do Japão, EUA, e Brasil.....	44
Figura 11. Concentração de Cádmio (ug/g peso úmido) no fígado de <i>Chelonia mydas</i> selecionadas no presente estudo para testes comparativos, oriundas do Oceano Atlântico (Brasil e EUA) e Oceano Pacífico (Austrália, Havaí e Japão). E Médias e desvio padrão destes dados.....	45

LISTA DE FIGURAS

Figura 12. A - Concentração de Cádmio (ug/g peso úmido) no rim de *Chelonia mydas* selecionadas no presente estudo para testes comparativos oriundas do Oceano Atlântico (Brasil e EUA) e Oceano Pacífico (Austrália, Havaí e Japão). **B**- Médias com desvio padrão destes dados.....46

Figura 13. A- Médias da concentração de cádmio (ug/g peso úmido) no fígado e rim de *Chelonia mydas* oriundas do pacífico e seus respectivos desvios padrão. **B**- Médias de cádmio (ug/g peso úmido) no fígado e rim de *Chelonia mydas* coletadas no oceano atlântico e seus respectivos desvios padrão47

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CCC- Comprimento Curvilíneo de Carapaça

Cm - Centímetros

EUA - Estados Unidos da América

JP- Japão

HW - Havaí

AU - Austrália

BR - Brasil

Cd - Cádmiio

Ug/g - Micrograma por grama

TAMAR - Programa Nacional de Conservação de Tartarugas Marinhas

C. mydas - Tartaruga verde (*Chelonia mydas*)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	11
1.1. Tartarugas marinhas	11
1.1.1. Características Gerais	11
1.1.2. Tartaruga verde (<i>Chelonia mydas</i>)	13
1.1.2.1. Riscos e ameaças a <i>Chelonia mydas</i>	14
1.2. Ecotoxicologia	15
1.3. Metais pesados e sua toxicidade	16
1.4. Cádmio	18
1.4.1. Fontes e transporte de Cádmio	19
1.5. Referências bibliográficas	20
2. RESUMO	26
3. ABSTRACT.....	27
4. INTRODUÇÃO	28
5. METODOLOGIA	30
5.1. Resumo da Metodologia empregada no trabalho	30
5.2. Comparações diretas	35
5.2.1. Brasil	35
5.2.2. Estados Unidos	36
5.2.3. Japão	38
5.3. Comparações complementares	40
5.3.1. Austrália	40
5.3.2. Havaí	40
5.4. Processamento de dados	40
6. RESULTADOS.....	43
7. DISCUSSÃO.....	48
7.1. Órgão com a maior concentração de cádmio.....	48
7.2. Concentração de cádmio por regiões do globo.....	48

SUMÁRIO

7.3. Comparativa de teores de cádmio com outros vertebrados e potencial risco para as tartarugas marinhas.....	49
7.4. Utilização da <i>C. mydas</i> como bioindicador da distribuição global de cádmio.....	49
7.5. Sugestão de intervalo de teores de cádmio para <i>C. mydas</i> dos Oceanos Atlântico e Pacífico, e aplicação na conservação da espécie.....	51
8. CONCLUSÃO	52
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53

1. INTRODUÇÃO GERAL

1.1. Tartarugas marinhas

As tartarugas marinhas fazem parte da linhagem mais antiga dos répteis vivos, com o seu primeiro aparecimento no período Jurássico (Pritchard, 1997). Foi encontrado no município de Santana do Cariri, no Ceará a tartaruga marinha mais antiga do planeta, e este registro foi da espécie *Santanachelys gaffneyi* (Protostegidae), de aproximadamente 110 milhões de anos (Hirayama, 1998). Com esta descoberta pôde-se determinar que as tartarugas marinhas da presente época não apresentaram muitas modificações quando comparados aos registros fósseis mais antigos do grupo.

No período do cretáceo, existiam quatro famílias de tartarugas marinhas a Toxochelyidae, Protostegidae, Cheloniidae, Dermochelyidae, sendo apenas as duas últimas sobreviventes até o presente. Da família Cheloniidae existem as espécies: *Chelonia mydas*, *Natator depressus*, *Caretta caretta*, *Eretmochelys imbricata*, *Lepidochelys olivacea*, *Lepidochelys kempfi* além da subespécie *Chelonia agassizii*. E a *Dermochelys coriacea* pertencente a família Dermochelyidae (Pritchard, 1997).

1.1.1. Características Gerais

As tartarugas marinhas são seres pulmonados e altamente especializados em permanecerem submersos repousando ou forrageando. O que é possível devido a distribuição eficiente de oxigênio pelo corpo, baixo metabolismo e auxílio de respiração acessória devido a troca gasosa na cloaca e faringe (Lutca- Vage & Lutz, 1997).

As tartarugas marinhas possuem o crânio reptiliano, com ausência de dentes nas mandíbulas, aos quais são substituídos por estrutura córnea. A carapaça se forma com o crescimento de placas ósseas, cobertas por uma estrutura córnea (Marquez, 2002).

Estes répteis marinhos apresentam membros anteriores e posteriores convertidos em nadadeiras, que atuam na locomoção em ambiente marinho, e

no ambiente terrestre em ocorrências mais raras, como fêmeas em ovoposição, ou em momentos esporádicos de repouso no ambiente terrestre (Musick & Limpus, 1997).

Após a eclosão dos ovos no nascimento, as tartarugas marinhas nadam em direção aos oceanos, e passam esta parte da vida se alimentando de organismos planctônicos. Posteriormente estes animais migram para áreas de alimentação onde passam o tempo de vida até atingirem maturidade sexual. Após se tornarem maduros sexualmente, as tartarugas migram para áreas de reprodução e posteriormente as fêmeas locomovem-se até as praias para ovoposição no substrato arenoso. Os machos retornam as áreas de alimentação. A temperatura da areia incubando o ovo determina o sexo dos indivíduos, tendo em maiores temperaturas a maior quantidade de indivíduos do sexo feminino (Marcovaldi et al. 1997).



Figura 1. Ciclo de vida das tartarugas marinhas. Fonte: Tamar

1.1.2. Tartaruga verde (*Chelonia mydas*)

Popularmente conhecida como Tartaruga verde, a *Chelonia mydas* apresenta carapaça com quatro pares de placas laterais posicionadas justapostas. Pode chegar a 1,43 m de comprimento curvilíneo de carapaça, pesando geralmente até 200 kg (Figura 1) (TAMAR, 2013).

Esta espécie é encontrada globalmente em águas tropicais e subtropicais ao longo das costas continentais e ilhas, a nidificação ocorre em mais de 80 países, e sua ocorrência em zonas costeiras de mais de 140 países (NOAA, 2016).



Figura 2 – Indivíduo da espécie *Chelonia mydas*. Fonte: www.desktopwallpapersfreedownload.com

Chelonia mydas é a espécie que apresenta hábitos mais costeiros, podendo frequentar também ambientes como estuários de rios e lagos (Almeida et al. 2011).

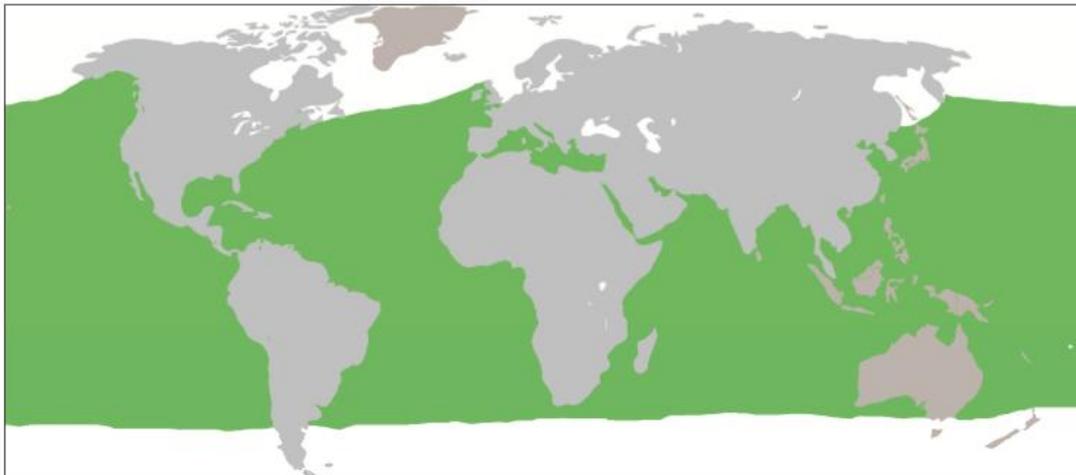


Figura 3. Distribuição de *Chelonia mydas* no globo. Fonte: Adaptado de Santos *et al.*, (2011).

A tartaruga verde (*Chelonia mydas*) é considerada pastadora, devido seu herbívoro quando adultas, e assim produz efeitos significativos na ciclagem de nutrientes do ambiente e na estrutura ecológica. Quando jovens são onívoras. (Bjorndal, 1997)

Nesta espécie, após a fase pelágica os juvenis começam a estabelecer o hábito demersal. Esse processo dá-se devido à mudança de hábito alimentar, ou seja, de onivoria para herbivoria. Estudos realizados com juvenis sugerem que algumas populações apresentam fidelidade ao seu sítio de forrageamento, até atingirem a fase adulta, que ao mudar seu hábito para herbivoria, migram para áreas com maior adequação a este novo hábito. Em determinadas populações, os habitats ocupados por juvenis são geograficamente diferentes daqueles utilizados por adultos, em outras populações pode ocorrer sobreposição ou coincidem (Musick & Limpus, 1997). Os hábitos alimentares podem variar de acordo com a disponibilidade dos itens alimentares de cada local.

1.1.2.1. Riscos e ameaças a *C. mydas*

Na lista vermelha da IUCN “*International Union for Conservation of Nature*” publicados em 2004, a tartaruga verde encontra-se na categoria “em perigo”. As causas da extinção são várias e, dentre elas, podemos citar pesca

incidental, ingestão de plásticos, iluminação artificial, a caça e a colheita de ovos e poluição do ambiente marinho e costeiro.

Efeitos da ação antropogênica avaliando os impactos causados sobre as tartarugas marinhas é uma das prioridades da pesquisa global e na conservação destes animais e compreendem estudos envolvendo os impactos específicos da poluição relacionada às áreas costeiras, regiões nas quais, essas espécies são mais suscetíveis à poluição (Hammam et al. 2010).

Os elementos como os metais pesados cádmio, chumbo e mercúrio são elementos com potencial toxicidade que induzem desordens patológicas em organismos vivos, mesmo quando encontrados em baixas concentrações. Desde a década de noventa, em vários locais do mundo, a contaminação por metais pesados e a bioacumulação vem sendo quantificada em tecidos de tartarugas marinhas (Marcotrigiano e Storelli, 2003).

1.2. Ecotoxicologia

A ecotoxicologia descreve a relação entre os agentes químicos, o ambiente em que são liberados e o conjunto de seres que vivem e interagem naquele ambiente. Fazem-se necessários estudos acerca dessas substâncias, com o intuito de seus riscos potenciais serem muito bem definidos, e medidas atenuantes para prováveis impactos serem determinadas por meio de ações regulatórias e técnicas (Stützer e Guimarães, 2003).

A terminologia ecotoxicologia foi utilizada pela primeira vez em junho de 1969 pelo toxicologista René Truhaut durante uma reunião do “*Committee of the International Council of Scientific Unions*” (ICSU), em Estocolmo. Segundo Truhaut (1969), a ecotoxicologia é definida como a ciência que estuda os efeitos das substâncias naturais ou sintéticas sobre os organismos vivos, populações e comunidades, animais ou vegetais, terrestres ou aquáticos, que constituem a biosfera, incluindo assim a interação das substâncias com o meio nos quais os organismos vivem num contexto integrado. Desta forma, a ecotoxicologia surge como uma importante ferramenta para monitorar o meio ambiente, utilizando a resposta dos organismos individualmente, quando estão

sujeitos a ações de substâncias tóxicas causadoras de estresses químicos (Magalhães; Ferrão Filho, 2008).

Porém, as respostas dos organismos que estiveram sob a ação de determinado compostos no meio é diferente, devido ao grau de exposição a determinada substância e das características químicas do composto (Tomita; Beyruth, 2002). Além disso, fatores como a quantidade, o tempo de exposição, a morfologia do organismo, espécie, idade e suscetibilidade podem causar alterações nestas respostas.

Vários compostos que contaminam o meio ambiente são de origem química e apresentam diferentes graus de toxicidade como: hidrocarbonetos halogenados, pesticidas, bifenilpoliclorados (PCB's), organoclorados, dioxinas, resíduos sólidos e metais pesados (Friend e Franson, 1999; Clark, 2001; Aguirre et al. 2006). Os metais pesados são relevantes do ponto de vista da ecotoxicologia, devido sua alta persistência e seu potencial de toxicidade nos organismos (Storelli et al. 2005).

No ambiente marinho, os metais podem ser encontrados, devido ao carregamento das partículas através do intemperismo e erosão de rochas e solo que originalmente são fontes naturais. Além disso, quantidades crescentes desses elementos podem ser liberadas no mar, como resultado da industrialização e outros processos que não são naturais, e com capacidade de alterar equilíbrio ecológico (Haynes e Johnson, 2000), além do transporte atmosférico (Baird, 2002) e transportados pelas correntes marítimas em longas distancias e velocidades rápidas (Baird, 2002).

Sendo assim, as contaminações por metal pesado não ocorrem apenas do ponto de vista local e regional, podem afetar os ecossistemas em uma escala global (Lacerda & Malm, 2008).

1.3. Metais pesados e sua toxicidade

O termo metal pesado é utilizado para definir elementos químicos eletropositivos. Os metais apresentam alta reatividade com moléculas doadoras de elétrons, podendo ser encontrados na forma orgânica e

inorgânica. Apresentam grande toxicidade, pois possuem uma alta reatividade por outros elementos químicos. Esse fator os torna com maior ou menor lipossolubilidade, caracterizando a toxicocinética, que determina o grau de absorção e distribuição destes compostos nos organismos vivos, pois além de se acumularem, possuem baixa excreção nos animais (Hueza, Sant'ana e Palermo- Neto, 2008).

A partir dos dados sobre os impactos dos poluentes no ambiente marinho e costeiro, Islam e Tanaka (2004) puderam observar que as ações antropogênicas globais superam a emissão natural de metais, tem como principais fontes, a eliminação de resíduos, produção de cimento, aço, ferro, produção também de metais não ferrosos, tráfico veicular e queima de combustíveis fósseis, representando a fonte principal de distribuição dos metais pesados.

Os metais pesados que não sofrem decomposição bacteriana, o que os tornam permanentes durante um grande período de tempo no ambiente marinho e interagem com organismos vivos, podem ser separados em três classes diferentes quando comparados em relação a abundância e nível de toxicidade de cada metal. Os metais não críticos são o ferro (Fe), rubídio (Rb), estrôncio (Sr), alumínio (Al). Outra classe é a dos tóxicos, mais raros, ou muito insolúveis, com os metais titânio (Ti), gálio (Ga), háfnio (Hf) e latânio (La). E os muito tóxicos, pertencem a outra classe, estão relativamente disponíveis no meio ambiente como o cobalto (Co), ouro (Au), mercúrio (Hg), níquel (Ni), cobre (Cu), chumbo (Pb), zinco (Zn) e cádmio (Cd) (Marques Júnior et al. 2009).

O provável impacto desses contaminantes como metais pesados na fisiologia das tartarugas marinhas, de acordo com García-Fernández et al. (2009), é negativo, embora não haja estudos confirmatórios. Entretanto, é corroborado por Balazs e Pooley (1991) e Herbst e Klein (1995) quando levam em consideração a exposição aos contaminantes como fator predisponente ao desenvolvimento de infecções virais, e possível desenvolvimento de doenças como a fibropapilomatose, que acomete as tartarugas marinhas, devido ao estresse oxidativo (Silva et al. 2016).

1.4. Cádmi

O cádmio é um metal pesado que, devido sua baixa taxa de excreção e consequente efeito cumulativo, é considerado um dos metais de maior toxicidade para o organismo animal (Hueza, Sant'ana e Palermo-Neto, 2008). Dentre as ações tóxicas, pode-se citar capacidade para induzir a genotoxicidade *in vivo* e *in vitro* (Lakkad et al., 1986; Oberdorster, 1989, Tang et al. 1990; Howard, 1991). Saplakoglu e Iscan (1998) relataram, recentemente, trocas de cromátides irmãs induzidas por cloreto de cádmio.

Por meio do teste anáfase-telófase, utilizando células do ovário de hamster chinês realizado por Seoane e Dulout (1999) sobre capacidade aneugênica e clastogênica do sulfato de cádmio, do dicromato de potássio e do cloreto de níquel, puderam observar que o cromo e o cádmio foram clastogênicos e aneugênicos e aumentaram as frequências dos três tipos de aberrações avaliadas.

Existem evidências de que a biota do ambiente marinho apresenta quantidade de cádmio significativamente maior do que as correspondentes terrestres ou de água doce, e como via de regra, as altas concentrações nos indivíduos da mesma espécie coletadas em diversas localidades, estão associadas com a proximidade de áreas industriais ou urbanas, ou pontos de descarte do lixo contendo cádmio (ATSDR, 2013). A principal via de intoxicação por Cd é por meio da cadeia alimentar (Maffuci et al., 2005; Storelli e Marcotrigiano, 2003). Em tartarugas marinhas, segundo Andreani et al. (2008), o cádmio é geralmente acumulado no rim, em especial por sua ligação por metalotioneína.

Pelo seu efeito bioacumulador, o cádmio vem sendo estudado com grande relevância em tartarugas verdes e os níveis elevados de cádmio foram medidos em várias partes do mundo como na Austrália por Gordon et al (1998), no Japão por Sakai et al. (2000) e por Anan et al. (2001), na China por Lam et al. (2004) e na Arábia por Bicho et al. (2006).

1.4.1. Fontes e transporte de cádmio

As fontes de cádmio podem ser de origem antrópica ou natural, sendo liberado na atmosfera, em ambientes de água doce ou marinha, e ambientes terrestres. Existem fluxos entre esses ambientes. A partir do momento que é liberado na atmosfera, este metal pode ser depositado em sedimentos, ou transportados para os ambientes marinhos ao longo do tempo.

As fontes antrópicas de cádmio são: atividades de galvanoplastia, mineração, consumo e produção de produtos que utilizam cádmio em sua composição como pigmentos, baterias de níquel-cádmio, estabilizadores de produtos PVC, ligas de cádmio, componentes eletrônicos, produtos ferrosos e não ferrosos. Outras fontes são de produção e consumo de ligas de zinco, chumbo e cobre, emissões de indústrias de ferro e aço, combustíveis fósseis como carvão, turfa, madeira, óleo e gás; cimentos e fertilizantes fosfatados, originadas de rochas fosfáticas (CESTESB, 2012).

Das fontes naturais as principais são a atividade vulcânica, erosão das rochas fosfáticas e sedimentares, e incêndios nas florestas (CETESB, 2012). A erosão das rochas fosfáticas e sedimentares podem gerar o carreamento de partículas com cádmio levando aos sedimentos e estes podendo ser transportados até os ambientes marinhos ou dulcícolas.

O transporte de cádmio pode ser feito por várias formas e distâncias, ele é transportado em escala nacional e regional, podendo ocorrer transporte oceânico. Foi estimado que o tempo de residência do cádmio nos oceanos é de cerca de 15.000 anos. Isso indica que o cádmio pode ser acumulado e transportado em quantidades significativas em longas distâncias no ambiente marinho. Entretanto os oceanos têm grandes reservatórios naturais de cádmio (UNEP, 2010).

1.5. Referências Bibliográficas da Introdução geral

AGUIRRE, A. A., GARDNER, S. C., MARSH, J. C., DELGADO, S. G., LIMPUS, C. J., NICHOLS, W. J. Hazards associated with the consumption of sea turtle meat and eggs: A Review for Health Care Workers and the General Public. **EcoHealth**, v.3, p.141-153, 2006.

ALMEIDA, A.P.; SANTOS, A.J.B.; THOMÉ, J.C.A.; BELINI, C.; BAPTISTOTTE, C.; MARCOVALDI, M.A.; SANTOS, A.S.S. E LOPEZ, M. Avaliação do estado de conservação da tartaruga marinha *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) no Brasil. **Biodiversidade Brasileira**, Brasília, v. 1, n. 1, p. 12-19. 2011. Disponível em: <<http://www.icmbio.gov.br/revista-electronica/index.php/BioBR/article/view/87/73>>. Acesso em: 25 de agosto de 2014.

ANAN, Y., KUNITO, T., WATANABE, I., SAKAI, H., TANABE, S. Trace element accumulation in hawksbill turtle (*Eretmochelys imbricata*) and green turtle (*Chelonia mydas*) from Yaeyama Islands, Japan. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.20, p. 2802–2814, 2001.

ANDREANI, G., SANTORO, M., COTTIGNOLI, S., FABBRI, M., CARPENE, E., ISANI, G. Metal distribution and metallothionein in loggerhead (*Caretta caretta*) and green (*Chelonia mydas*) sea turtles. **Science of Total Environment**, v. 390, p. 287–294, 2008.

ATSDR , Agency for Toxic Substances and Disease Registry. **Cadmium: POTENTIAL FOR HUMAN EXPOSURE.** p.304. Disponível em: <<http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp5-c6.pdf>> Acesso em 20 de agosto de 2013.

BAIRD, C., 2002, Química Ambiental. 2 ed. Porto Alegre, Bookman.

BALAZS, G.H., POOLEY, S.G. Research plan for marine turtle fibropapilloma. **NOAA Technical Memorandum**, p.156, 1991.

BICHO, R.; JOAQUIM, N.; MENDONCA, V.; ALKIYUMI, A; MAHMOUD, IY.; ALKINDI, A. Levels of heavy metals and antioxidant enzymes in green turtle (*Chelonia mydas*) in the Arabian Sea, Sultanate of Oman. **Twenty sixth annual symposium on sea turtle biology and conservation**. Athens, Greece: International Sea Turtle Society, 2006.

BJORNDAL, K. A. Foraging and nutrition of sea turtles. In: LUTZ, P. L.; MUSICK, J.A. **The Biology of Sea Turtles**. Boca Raton: CRC, 1997, p. 199-231.

CETESB - Cádmió e seus compostos, 2010. Disponível em <http://cetesb.sp.gov.br/wp-content/uploads/sites/47/2013/11/cadmio.pdf> Acesso em 9 de Junho de 2016.

CLARK, R. B. **Marine Pollution**, 5th ed. Oxford University Press, New York. 2001.

FRIEND, M.; FRANSON, C. **Field manual of wildlife diseases: general field procedures and diseases of birds**. U.S. Department of the Interior, U.S. Geological Survey, USGS, Washington, 1999.

GARCÍA-FERNANDÉZ, A. J; GÓMEZ-RAMÍREZ, P.; MARTÍNEZ-LÓPEZ, E.; HERNÁNDEZ-GARCÍA, A.; MARÍA-MOJICA, P.; ROMERO, D.; JIMÉNEZ, P.; CASTILLO, J. J.; BELLIDO, J. J.. Heavy metals in tissues from loggerhead turtles (*Caretta caretta*) from the southwestern Mediterranean (Spain). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.72, p. 557– 563, 2009.

GORDON, A. N.; POPLE, A. R.; NG, J. Trace metal concentrations in livers and kidneys of sea turtles from south-eastern Queensland, Australia. **Marine and Freshwater Research**, v.49, p. 409– 414, 1998.

HAMMAM M. ; GODFREY M. H.; SEMINOFF J. A.; ARTHUR K.; BARATA P. C. R.; BJORNDAL K. A; BOLTEN A. B.; BRODERICK A. C.; CAMPBELL L. M.; CARRERAS C.; CASALEP.; CHALOUPIKA M.; CHAN S. K. F.; COYNE M. S.; CROWDER L. B.; DIEZ C. E; DUTTON P. H.; EPPERLY S. P; FITZSIMMONS N. N.; FORMIAA.; GIRONDOT M.; HAYS G. C.; CHENGI. J.; KASKAY.; LEWISON

R.; MORTIMER J. A.; NICHOLS W. J.; REINA R. D.; SHANKER, K.; SPOTILAJ. R.; TOMÁS J.; WALLACE B. P.; WORK T. M.; ZBINDEN J.; GODLEY B. J. Global research priorities for sea turtles: informing management and conservation in the 21st century. **Endangered Species Research**, v. 11, p. 245–269, 2010.

HAYNES D.& JOHNSON J. Organochlorine, Heavy Metal and Polyaromatic Hydrocarbon Pollutant Concentrations in the Great Barrier Reef (Australia) Environment: a Review. **Marine Pollution Bulletin**. Volume 41, Issues 7–12, , p. 267–278, 2000.

HERBST, L.H., KLEIN, P.A. Green turtle fibropapillomatosis: challenges to assessing the role of environmental cofactors. **Environmental Health Perspectives**, v. 103, p. 27-30, 1995.

HIRAYAMA R. 1998. Oldest known sea turtle. **Nature**, 392:705-708. Disponível em <http://www.nature.com/nature/journal/v392/n6677/pdf/392705a0.pdf>. Acesso em 12 de Outubro 2015.

HOWARD, W. Induction of chromosome changes by metal compounds in cultured CHO cells. **Toxicology Letters**, v. 56, p.179-186, 1991.

HUEZA M.I, SANT'ANA M.G.; PALERMO-NETO J., Toxicologia do chumbo, mercúrio, arsênio e de outros metais. In: **Toxicologia aplicada a Medicina Veterinária**. 1ed, São Paulo: Manole, p. 641- 661 2008.

ISLAM, S.; TANAKA. M. Impacts of pollution on coastal and marine ecosystems including coastal and marine fisheries and approach for management: a review and synthesis. **Marine Pollution Bulletin** v.48, p. 624–649, 2004.

LACERDA L.D & MALM O. Contaminação por mercúrio em ecossistemas aquáticos: uma análise das áreas críticas. **Estudos avançados** 22 (63), 2008.

LAKKAD, B.; NIGAM, S.; KARNIK, A.; THAKORE, K.; CHATERJEE, B. Effect of cadmium chloride on cell division and chromosomes in Chinese hamster ovary

cells. **Bulletin Environmental Contamination. Toxicology**, v. 36, p. 342-349, 1986.

LAM, J. C.W.; TANABE, S.; CHAN, S. K. F.; YUEN, E. K. W.; LAM, M. H. W.; LAM, P. K. S.. Trace element residues in tissues of green turtles (*Chelonia mydas*) from South China Waters. **Marine Pollution Bulletin**, v.48, p.164–192, 2004.

LUTCA-VAGE, M. E. & LUTZ, P. L. Diving Physiology. In: Lutz, P. L. and Musick, J. A. (eds.). *The biology of Sea Turtles*. Boca Raton, FL: CRC Press. p. 277–296, 1997.

MAFFUCI, F.; CAURANT, F.; BUSTAMANTE, P. F. B. Accumulation in tissue distribution in loggerhead turtles (*Caretta caretta*) from the Western Mediterranean sea (Southern Italy). **Chemosphere**, v. 58, p. 535–542, 2005.

MAGALHÃES, D. P.; FERRÃO FILHO, A. S. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, v. 12, n. 3, p. 355-381, 2008.

MARCOTRIGIANO G.O.; STORELLI M.M. Heavy metal, polychlorinated biphenyl and organochlorine pesticide residues in marine organisms: risk evaluation for consumers. **Veterinary Research Communications**, v.27, p. 183–195, 2003.

MARCOVALDI, M. A.; GODFREY, M. H.; MROSOVSKY, N. Estimating sex ratios of loggerhead turtles in Brazil from pivotal incubation durations. *Canadian Journal Zoology*. Canadá, n. 75, p. 755-770, 1997.

MARQUES JÚNIOR, A. N.; MORAES R.B.C DE.; MAURAT M.C. Poluição marinha, In: PEREIRA, R. C.; SOARES-GOMES, A **Biologia Marinha**. 2.ed. Rio de Janeiro: Interciência, p.505-528, 2009.

MARQUEZ, RENE. Morfología y fisiología. **La tortugas marinas y nuestro tiempo**. 3 ed. p.22-32, 2002.

MUSICK, J. A.; LIMPUS, C. J. Habitat utilization and migration in juvenile sea turtles. In: LUTZ, P. L.; MUSICK, J. A. (Eds.). **The biology of sea turtles**. Boca Raton: CRC, p.137-163,1997.

NOAA- National Oceanic Atmospheric Administration. Green Turtle (*Chelonia mydas*), 2016. Disponível em <<http://www.nmfs.noaa.gov/pr/species/turtles/green.html>> Acesso em 10 de Novembro de 2016.

OBERDORSTER, G. Pulmonary toxicity and carcinogenicity of cadmium. **Journal of the American College of Toxicology**, v. 8, p. 1251-1263, 1989.

PRITCHARD, P. C. H. Evolution, phylogeny, and current status.in: Lutz, P. I. and Musick, J. A. (eds.). *The biology of Sea Turtles*. boca Raton, fl: CRC Press. p. 1–28, 1997.

SAKAI, H.; SAEKI, K.; ICHIHASHI, H.; SUGANUMA, H.; TANABE, S.; TATSUKAWA, R. Species-specific distribution of heavy metals in tissues and organs of loggerhead turtle (*Caretta caretta*) and green turtle (*Chelonia mydas*) from Japanese coastal waters. **Marine Pollution Bulletin**, v. 40, p. 701–9, 2000.

SANTOS, A. S.; ALMEIDA, A. P.; SANTOS, A. J. B.; et al. Plano de ação nacional para conservação das tartarugas marinhas. Série Espécies Ameaçadas No. 25. ed. 1: ICMBio, 120 p. 2011.

SAPLAKOGLU, U.; ISCAN, M. Sister chromatid exchanges in human lymphocytes treated *in vitro* with cadmium in G(0) and S phase of their cell cycles. **Mutation Research**, v.412, p. 109-114, 1998.

SEOANE, A.; DULOUT, F. Use of anaphase-telophase test to detect aneugenic compounds: effects of propionaldehyde and cadmium chloride. **Bulletin Environmental Contamination & Toxicology**, v. 53, p. 924-929, 1994.

SILVA, C.C. KLEIN, R.D., BARCAROLLI I.F., BIANCHINI A. Metal contamination as a possible etiology of fibropapillomatosis in juvenile female

green sea turtles *Chelonia mydas* from the southern Atlantic Ocean . **Aquatic Toxicology**. v.170 p.42–51, 2016.

STORELLI, M. M.; STORELLI, A.; D'ADDABBO, R.; MARANO, C.; BRUNO, R.; MARCOTRIGIANO, G.O. Trace elements in loggerhead turtles (*Caretta caretta*) from the eastern Mediterranean Sea: overview and evaluation. **Environmental Pollution**, v. 135, p.163–170, 2005.

STORELLI, M.M., MARCOTRIGIANO, G.O. Heavy metals residues in tissues of marine turtles. **Marine Pollution Bulletin**, Oxford, Inglaterra. v. 46, p. 397-400. 2003.

STÜTZER, G.; GUIMARÃES, G. Aspectos toxicológicos e ambientais relacionados com o uso de produtos fitossanitários. In: ZAMBOLIM, L. **O que os engenheiros agrônomos devem saber para orientar o uso de produtos fitossanitários**. Viçosa: UFV, p.69-84, 2003.

TAMAR. **Tartarugas marinhas – verde ou aruanã**. 2013. Disponível em: <<http://www.tamar.org.br/tartaruga.php?cod=20>>. Acesso em: 18 de junho de 2014.

TANG, X.; CHEN, X.; ZHANG, J.;QIN, W. Cytogenetic investigation in lymphocytes of people living in cadmium-polluted areas.**Mutatation Research/Genetic Toxicology**, v. 241, p. 243-249, 1990.

TOMITA, R.Y.; BEYRUTH, Z. Toxicologia de agrotóxicos em ambiente aquático. **O Biológico**, São Paulo, v. 64, n.2, p.135-142, 2002.

UNEP - UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME.Chemicals Branch.DTIE. Final review of scientific information on cadmium, 2010. Disponível em <http://www.unep.org/hazardoussubstances/Portals/9/Lead_Cadmium/docs/Interim_reviews/UNEP_GC26_INF_11_Add_2_Final_UNEP_Cadmium_review_and_appendix_Dec_2010.pdf> Acesso em 10 de julho de 2016.

2. RESUMO

O cádmio é um dos metais que mais trazem toxicidade aos organismos. A quantificação de cádmio vem sendo realizada em animais de todo o globo, principalmente em tartarugas marinhas. A *C. mydas* é uma espécie de grande longevidade, o que permite a bioacumulação ao longo dos anos. Por ser uma espécie com hábitos costeiros no seu estado juvenil, utilizou-se a *C. mydas* como bioindicador para a inferência acerca da influência dos fatores locais ou globais na concentração do cádmio. Foram coletadas 137 espécimes de *C. mydas* oriundas do Brasil, Estados Unidos, Havaí, Japão e Austrália. Foram utilizados nas análises comparativas rins e fígados de 35 indivíduos, sendo 7 animais de cada localidade pertencentes ao mesmo intervalo de tamanho para comparações entre oceanos de origem. O cádmio foi detectado em todas as amostragens, com a maior acumulação nos rins. Os espécimes do oceano Pacífico apresentaram as maiores médias de Cd no fígado (13,24 ug/g) e no rim (34,17 ug/g). Os espécimes do Atlântico apresentaram médias de 1,00 ug/g fígado e de 4,04 ug/g no rim. Nas análises diretas e adicionais os animais do Pacífico apresentaram maiores teores que os do Atlântico. Houve diferença significativa entre os teores do Atlântico e do Pacífico em ambas análises. O cádmio nos organismos apresentou uma distribuição global, sendo o oceano um fator relevante nesta distribuição. Todos os valores encontrados no presente estudo nas tartarugas marinhas foram altos quando comparados a outros organismos.

Palavras-chaves: *Chelonia mydas*, bioindicador, cádmio.

3. ABSTRACT

Cadmium is one of the metals that most brings toxicity to organisms. The quantification of cadmium has been carried out in animals all over the globe, mainly in sea turtles. *C. mydas* is a species of great longevity, which allows bioaccumulation over the years. As a species with coastal habits in its juvenile state, *C. mydas* was used as a bioindicator for the inference about the influence of local or global factors on the concentration of cadmium. We collected 137 specimens of *C. mydas* from Brazil, the United States, Hawaii, Japan and Australia. We used the comparative analysis of kidneys and livers of 35 individuals, of which 7 animals from each locality belong to the same size range for comparisons between the original oceans. Cadmium was detected in all samples, with the highest accumulation in the kidneys. Pacific Ocean specimens had the highest mean Cd levels in the liver (13.24 µg / g) and in the kidney (34.17 µg / g). The Atlantic specimens presented mean values of 1.00 ug / g liver and 4.04 ug / g in the kidney. In the direct and additional analyzes the animals of the Pacific presented higher levels than those of the Atlantic. There was a significant difference between the Atlantic and Pacific levels in both analyzes. Cadmium in organisms has a global distribution, with ocean being a relevant factor in this distribution. All values found in the present study in sea turtles were high when compared to other organisms.

Key-words: *Chelonia mydas*, bioindicator, cadmium.

4. INTRODUÇÃO

A contaminação global por metais pesados nos organismos marinhos tem se tornado cada vez mais preocupante no ponto de vista da ecotoxicologia, devido ao aumento de poluição nos oceanos e fatores como alta persistência, potencial de toxicidade nos organismos, (Storelli et al. 2005) e biomagnificação (IPCS, 1992).

O cádmio é um metal pesado que, devido sua baixa taxa de excreção e consequente efeito cumulativo, é considerado um dos metais de maior toxicidade para o organismo animal (Hueza, Sant'ana e Palermo-Neto, 2008). Nos animais marinhos os teores de cádmio encontrados são superiores aos homólogos de água doce e os de ambiente terrestre (IPCS, 1992).

Dentre os animais marinhos suscetíveis ao cádmio tem-se a *Chelonia mydas*, cujo status de conservação se encontra na categoria “em perigo” segundo a IUCN (2016). Sua distribuição é global, ocorrendo em mares tropicais e subtropicais dos oceanos Atlântico, Pacífico e Índico (Plotkin, 2003). Esta espécie possui um ciclo de vida longo, o que permite a bioacumulação por um longo período de tempo e, conseqüentemente, possibilita a avaliação da distribuição de cádmio em diversos lugares do mundo onde eles ocorrem.

Foram realizados muitos estudos no mundo quantificando e comparando os teores deste metal em tartarugas marinhas entre diversas localidades Anan et al. (2001), Gardner et al. (2006), Godley et al. (1999), Gordon et al. (1998), Lam et al. (2004), Silva et al. (2016), Storelli et al. (2008). Entretanto nenhum estudo apresenta uma comparação da distribuição de cádmio em tartarugas do globo da mesma espécie, nos mesmos habitats, nas mesmas fases de vida e intervalos de tamanho, o que as tornam pouco interpretáveis devido a interferências de muitas variáveis.

Faltam estudos conclusivos sobre os efeitos toxicológicos ou o estabelecimento de um intervalo de referência dos valores de cádmio em *C. mydas*, o que torna difícil a avaliação dos seus limites prejudiciais a esta espécie.

Não se sabe se o aporte local de cádmio é mais influente ou se os fatores globais estão sendo mais relevantes nestes teores encontrados nas tartarugas marinhas. A determinação do principal fator pode gerar informações importantes para os programas de conservação, fornecendo um direcionamento nas soluções dos problemas relacionados ao cádmio bioacumulado nos animais marinhos.

Como as tartarugas do presente estudo pertencem a um mesmo intervalo de tamanho, de uma espécie com hábitos costeiros, com distribuição cosmopolita, e possuem um longo ciclo de vida, isto permite que este estudo seja o precursor na avaliação da influência dos fatores locais ou globais na distribuição de cádmio em organismos marinhos.

Sendo assim este estudo demonstra a prevalência de fatores globais sobre os regionais nos padrões de contaminação por cádmio utilizando a tartaruga verde como organismo bioindicador. Subsidiando o delineamento de políticas públicas coletivas de controle de poluição por metais em organismos marinhos.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Resumo da metodologia empregada no trabalho

Este estudo é baseado na análise comparativa das concentrações de cádmio em tecidos de rim e fígado de 137 indivíduos de tartaruga verde *C. mydas* provenientes do Atlântico sul ocidental (Brasil), Atlântico norte ocidental (EUA), Pacífico norte ocidental (Japão), Pacífico norte oriental (Havaí) e Pacífico sul ocidental (Austrália).

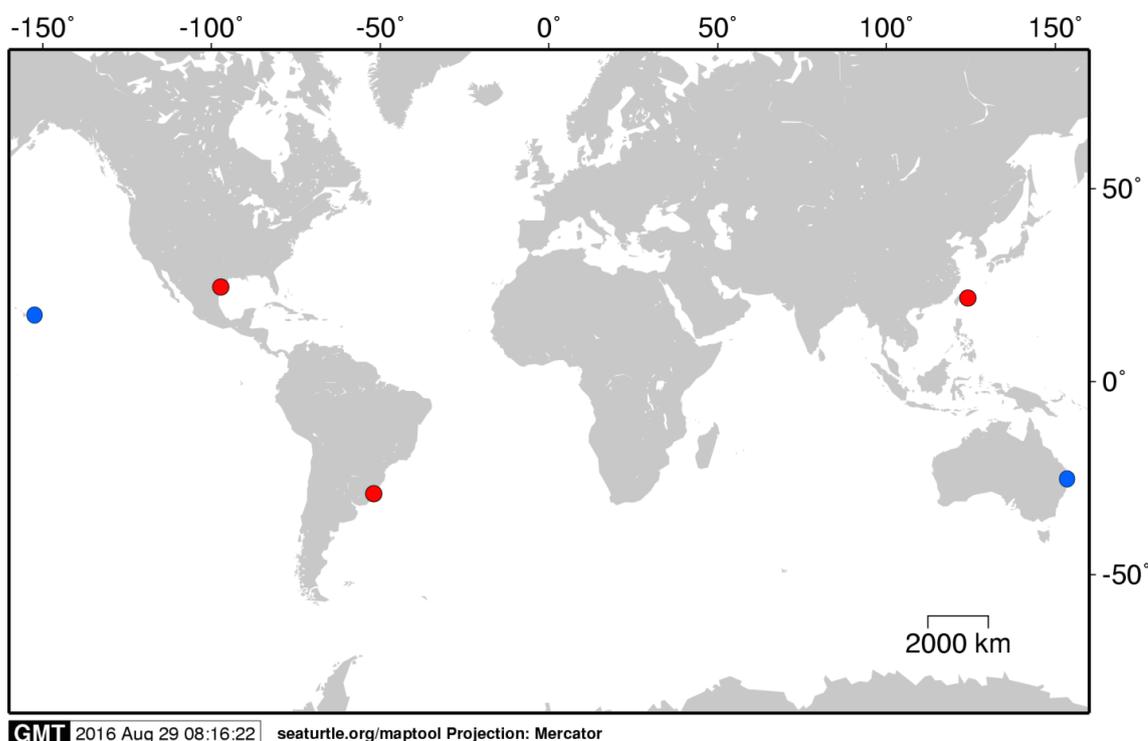


Figura 4: Locais de coleta de *C. Mydas* para quantificação de cádmio utilizados nas análises do trabalho. As análises diretas foram das localidades representadas em pontos vermelhos e as coletas dos dados adicionais estão representadas nos pontos azuis.

Todos os indivíduos amostrados tiveram seu comprimento curvilíneo da carapaça (CCC) medido em centímetros, obtendo-se um total de 41 provenientes do oceano atlântico e 96 do oceano pacífico.

Para a realização de estudos sobre as diferenças de efeitos locais e globais dos níveis de contaminação, as amostras foram separadas em dois grupos: comparações diretas e adicionais (Figura 4). O grupo utilizado para

comparações diretas foram de amostras oriundas do Brasil, EUA e Japão enquanto que o grupo de comparações adicionais foi de amostras oriundas da Austrália e Havaí. Estes últimos foram utilizados como dados complementares devido a ausência do uso de materiais de referência nas análises químicas.

Segundo a “International Organization for Standardization” - ISO (2015), Material de Referência Certificado, é uma substância homogênea ou material que possui uma ou mais propriedades bem estabelecidas para serem utilizados nas análises químicas, seja na avaliação de um método de medição, na calibração de um equipamento, ou atribuição de valores a materiais. E este Material vem acompanhado a um certificado emitido por autoridade que lhe confere valores de propriedades especificadas com as incertezas e as rastreabilidades associadas. Além disso, estes MRC's são as bases para verificação da exatidão de medições analíticas, visando a garantia de confiabilidade (Cardoso et al. 2010).

Para as comparações dos dados diretos e adicionais, inicialmente foram selecionados *C. mydas* que possuíam tamanho inferior a 60 cm (comprimento curvilíneo de carapaça), apresentando um n=96. Esta seleção ocorreu devido a uma mudança do padrão de bioacumulação de cádmio entre a fase juvenil e adulta das tartarugas marinhas.

Storelli et al. (1998) sugeriram que há um baixo teor de cádmio encontrado em adultos em comparação com juvenis, e estes estariam associados à maturidade sexual. Sendo que o aumento da atividade hormonal afetaria os processos metabólicos associados à absorção e à distribuição de metais em tartarugas marinhas. Além disso, segundo Godley et al. (1999), a deposição de contaminantes em ovos seria uma importante via de excreção de metal em tartarugas adultas do sexo feminino. Devido a estes fatores priorizou-se neste estudo utilização de animais que não se encontram em idade reprodutiva para as comparações.

Das 96 *C. mydas* selecionadas, houve uma discrepância nos tamanhos dos espécimes de cada local. Os espécimes oriundos do Japão possuíam médias

de tamanho de 46 cm, os da Austrália 47 cm. As tartarugas do Havaí e EUA possuíam 49 cm de média de CCC, tendo os maiores indivíduos do presente estudo. Os animais do Brasil apresentavam a média de 38 cm de CCC, e eram os menores espécimes do estudo.

Devido a estas diferenças de tamanho nos indivíduos até 60 cm disponíveis para as duas comparações, e alguns locais com tamanho amostral reduzido, foi necessário estipular um intervalo de tamanho comum a todas as localidades. Este intervalo visou abranger a maior quantidade de espécimes e que apresentassem tamanhos homólogos entre os locais.

Sendo assim, foram utilizados 7 indivíduos de cada local (Brasil, Estados Unidos, Japão, Austrália e Havaí) para as duas comparações. A escolha pelos espécimes ocorreu de forma aleatória onde era possível ver apenas o número da tartaruga e o tamanho, ocultando o teor de cada indivíduo escolhido.

Dos indivíduos que haviam disponíveis para as análises, 21 indivíduos puderam ser selecionados para as comparações diretas dos teores de cádmio entre as tartarugas do Brasil, Estados Unidos e Japão (Figura 5A e 5B).

Antes desta seleção de 21 animais, os espécimes apresentaram diferentes tamanhos entre as localidades (Figura 6A). Após esse procedimento, os tamanhos tornaram-se significativamente iguais entre os locais estudados (Figura 6B). Esta igualdade no intervalo de tamanho permitiu as comparações dos teores entre os locais sem a influência da variável tamanho.

As comparações adicionais foram realizadas com os dados diretos e adicionando-se a Austrália e Havaí atingindo uma quantidade amostral de 35 indivíduos. O tamanho máximo do espécime utilizado neste estudo foi de 52,90 cm de CCC.

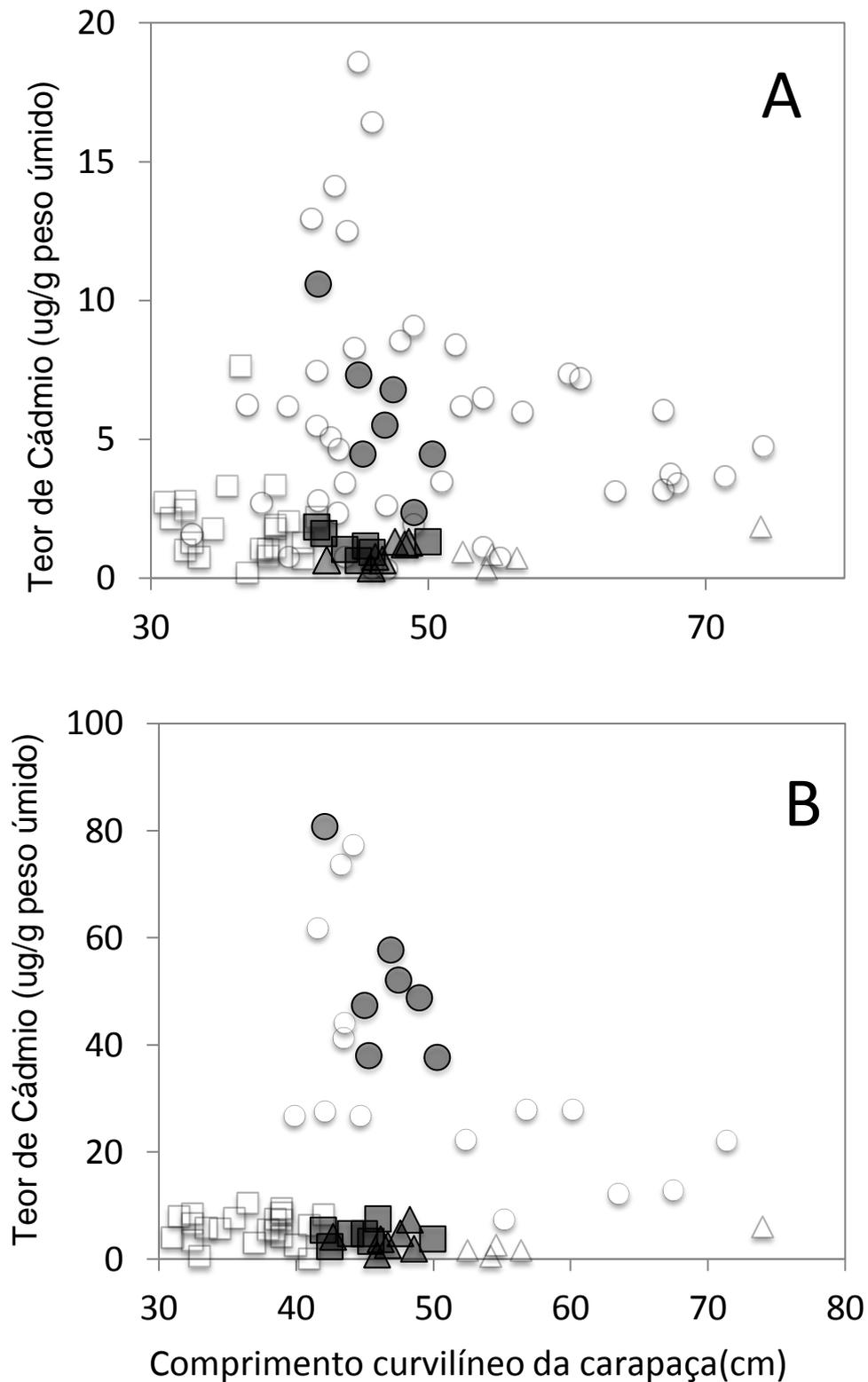


Figura 5. Concentração de Cádmio (ug/g peso úmido) no fígado (A) e no rim (B) de *Chelonia mydas* coletadas (símbolos abertos e fechados) e selecionadas no presente estudo para testes comparativos (símbolos fechados), oriundas do Japão (círculos), EUA (triângulos) e Brasil (quadrados) em diferentes tamanhos.

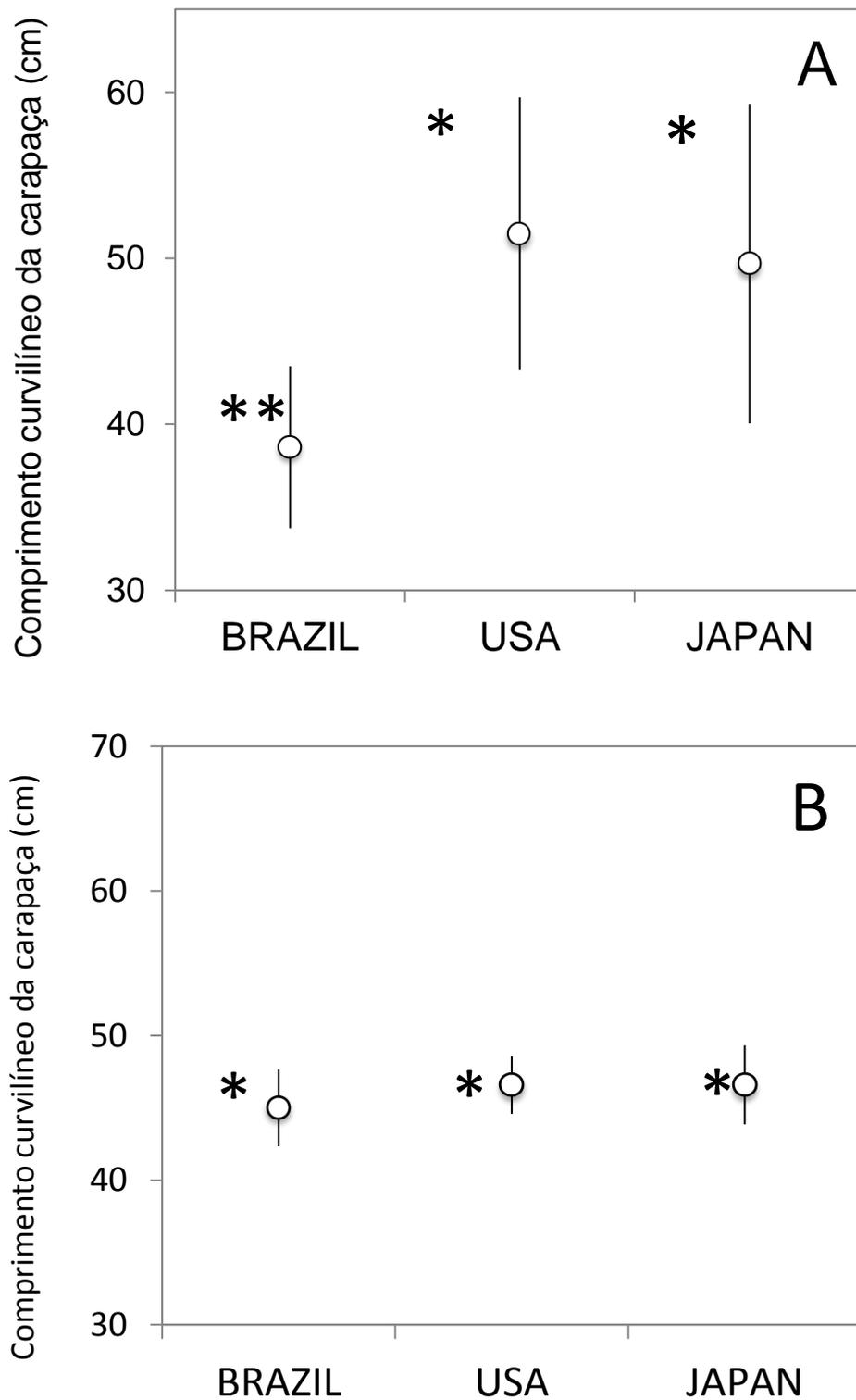


Figura 6. Tamanhos médios (círculos) e desvios padrão (barras verticais) de todos os indivíduos coletados de *Chelonia mydas* (n=89) em três diferentes países (Brasil, EUA e Japão) (A) e apenas dos indivíduos selecionadas para os testes comparativos (n=21) (B). Asteriscos diferentes representam diferenças significativas ($p < 0,05$) no teste Mann-Whitney.

5.2. Comparações diretas (n=21)

Segue descrita abaixo a metodologia resumida utilizada para obtenção dos dados oriundos do Brasil, EUA e Japão utilizado nas comparações diretas, que geraram o resultado do trabalho.

5.2.1. Brasil

Área de coleta

“No Brasil as coletas foram realizadas no Rio Grande do Sul, de um trecho de 130 km da praia arenosa do “Molhe Oeste da Barra do Rio Grande” (32 ° 09’42 “S; 52 ° 05’53” W) até o “Farol do Abraão” (33 ° 25 ‘30 “S; 52 ° 57’06” W),” (Praia do Cassino, Sul do Brasil) (**Figura 7**). As principais atividades econômicas deste estado são a agropecuária e indústria de transformação (SEPLAN, 2016).

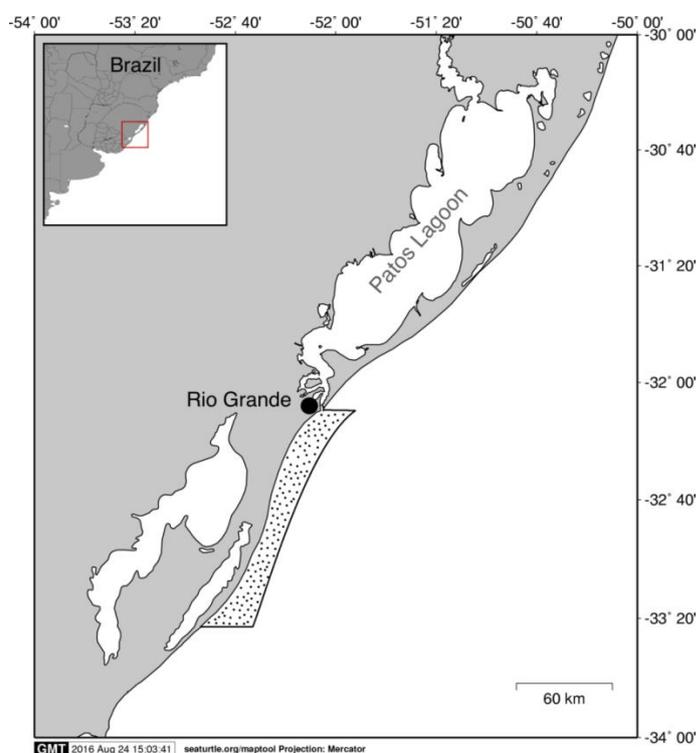


Figura 7. Locais de coleta de *C. mydas* juvenis no Rio Grande do Sul, Brasil. Intervalo com pequenos círculos pretos representa área onde foram coletados os espécimes.

Métodos de coleta

O monitoramento das praias foi realizado semanalmente entre agosto de 2008 e abril de 2009. Foram coletadas apenas tartarugas verdes da espécie *C. mydas* encalhadas. Os espécimes foram identificados e medidos (comprimento curvilíneo de carapaça: CCC). O fígado, o rim e o músculo foram dissecados usando bisturis descartáveis de aço inoxidável, armazenados em sacos plásticos, mantidos em gelo, transferidos para o laboratório e congelados (-20 °C) até análise. Foram coletados 29 espécimes de 31 a 50 cm de CCC.

Análises químicas

As amostras de tecidos (fígado, rim e músculo) foram descongeladas, pesadas (1 g de peso úmido), seca até peso constante, pesada (peso seco), completamente digerida em 2 ml de HNO₃ (Suprapur, Merck) e diluída com 10 ml de água MilliQ. As concentrações de Cádmio foram determinadas por espectrofotometria de absorção atômica (AAS-932 Plus, GBC New Hampshire, IL, EUA), como descrita anteriormente.

5.2.2. Estados Unidos

Local de coleta

O local coletado nos Estados Unidos foi a Laguna Madre, em “Padre Island National Seashore” no semiárido no sul do Texas (**Figura 8**), entre as latitudes 26° e 28° 40' e longitude -98° 40'e -95° 20'. A Laguna Madre possui águas hipersalinas, e é uma região de estuário. As principais atividades econômicas do estado do Texas são a indústria petrolífera, mineração, agropecuária e prestação de serviços.

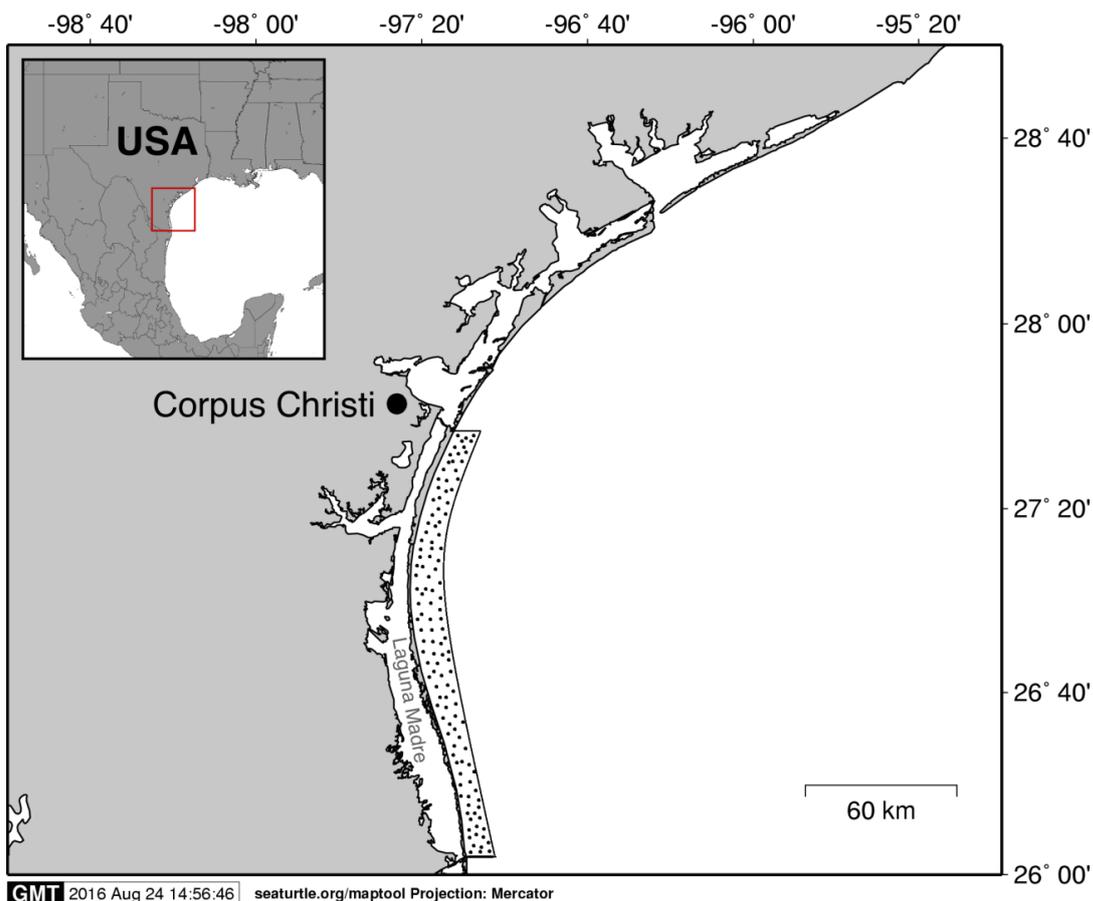


Figura 8. Local de coleta de *C. mydas* juvenis no Texas, EUA. Intervalo com pequenos círculos pretos representa área onde foram coletados os espécimes.

Métodos de coleta

Os tecidos (fígado e rim), foram obtidos a partir de 12 *C. mydas* recolhidas da "Laguna Madre" no Padre Island National Seashore de 2 de Fevereiro a 12 de Fevereiro de 2011. As amostras foram congeladas e enviadas para Texas Tech University em 29 de março de 2011 e armazenadas a -80°C até a digestão da amostra. Todos os tecidos foram recolhidos sob permissão de Serviço de Peixes e Vida Silvestre e Texas Parks and Wildlife Department. O comprimento curvilíneo de carapaça foi determinado no momento da necropsia. Os tecidos foram obtidos a partir de 5 tartarugas marinhas do sexo masculino e 7 fêmeas com CCC médio de 49,9 (intervalo, 42,7-74 cm), respectivamente .

Análises químicas

Os tecidos ($0,5 \pm 0,01$ g de peso úmido) foram colocados num tubo de centrifuga de polipropileno de 50 mL. Resumidamente, foram adicionados 3 mL de ácido nítrico: ácido clorídrico 1: 1 a cada tubo. Os tubos foram colocados num banho de água morna 90°C e digeridos durante aproximadamente 1 h até a solução estar clara. As amostras digeridas foram removidas do banho com água morna e esfriadas durante 15 min. Após adição de 1,5 mL de peróxido de hidrogênio a 30% a cada tubo, todos os materiais digeridos foram devolvidos ao banho de água morna durante aproximadamente 45 minutos. Este material digerido foi então removido do banho de água morna e centrifugados a 3000 g durante 30 minutos numa centrifuga “Beckman Allegra 6R” para remover as gorduras não digeridas. Os sobrenadantes foram levados a 50 mL de volume com 18 MOhm de água e colocados em novos tubos de centrifugação de polipropileno de 50 mL para análise.

Para a determinação do cádmio foi utilizada uma série Agilent 7500cs (ICP-MS) Espectrometria de massa com plasma acoplado. Para fins de controle de qualidade do instrumento, duplicatas de instrumentos e padrões de verificação foram realizados a cada 10 amostras.

5.2.3. Japão

Área de coleta

Cinquenta tartarugas verdes foram capturadas por pescadores para uso comercial sob permissão (do governo japonês), ao redor das Ilhas Yaeyama, no arquipélago de Ryukyu, prefeitura de Okinawa, Japão, localizado entre 24° a 25° de latitude e $123^{\circ} 20''$ a 125° de longitude (**Figura 9**), que é formado por ilhas subtropicais, e é rico em recifes de corais. O arquipélago possui florestas tropicais nas porções continentais, que abrangem muitas das ilhas habitadas e desabitadas do arquipélago e a principal atividade econômica é o turismo (Embaixada do Japão, 2012).

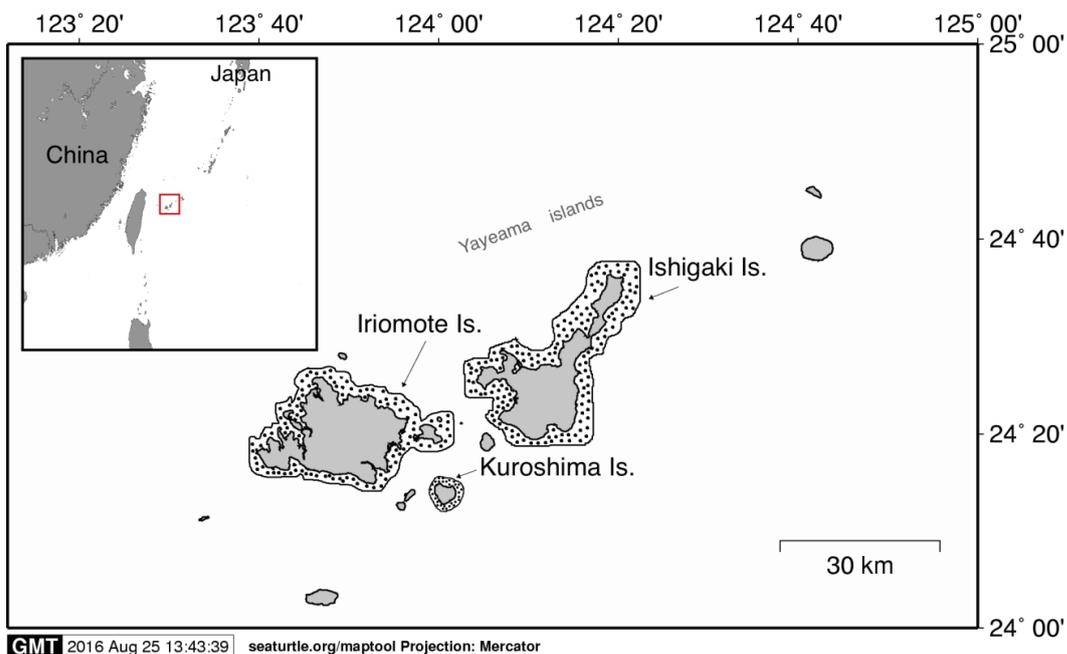


Figura 9. Locais de coleta de *C. mydas* juvenis nas Ilhas Yayeama, Japão. Intervalo com pequenos círculos pretos representa área onde foram coletados os espécimes.

Coleta de tecidos

Foram coletadas amostras de tartarugas entre março e maio de 1992. Foi medido comprimento curvilíneo de carapaça e removido fígado de 50 animais e embalados em sacos de polietileno imediatamente após a dissecação. O rim foi retirados de 27 tartarugas. Todas as amostras de tecido foram imediatamente congeladas e armazenadas a -20°C até à análise química.

Análises químicas

As amostras de tecidos e órgãos foram analisadas para cádmio e outros metais, entretanto foi utilizado apenas o Cd. Resumidamente, digeriram-se 1 a 10 g de amostras com uma mistura de ácidos nítrico, perclórico e sulfúrico, depois diluiu-se com água deionizada. As concentrações de Cd foram determinadas diretamente por um espectrofotômetro de absorção atômica de chama (AAS, Shimadzu Modelo AA-680). As concentrações foram expressas como base de peso úmido $\mu\text{g} / \text{g}$ para as amostras de tartarugas. A exatidão

destas análises foi verificada utilizando um material de referência padrão, NIES No.1 (Okamoto et al. 1978). A precisão destes métodos em análise triplicada foi superior a 95% para cada elemento.

5.3. Comparações complementares

Foram simplificadas e descritas abaixo as metodologias utilizadas para se obter os dados oriundos da Austrália e Havaí, utilizados nas comparações complementares. Tais comparações foram utilizadas apenas para complementação dos resultados encontrados nas análises diretas, devido às observações metodológicas citadas.

5.3.1. Austrália (Gordon et al. 1998)

Foram coletados 38 espécimes de *C. mydas* obtidas na Baía de Moreton Bay na Austrália e retirados fígado e rim. A coleta foi realizada entre setembro de 1990 a novembro de 1991. Foi utilizado ácido nítrico (HNO₃), ácido sulfúrico (H₂SO₄) e ácido perclórico (HClO₄) para a digestão das amostras.

5.3.2. Havaí (Aguirre et al. 1994)

Foram retirados fígado e rim de 12 espécimes de *C. mydas* oriundas das ilhas havaianas. Foi realizada a digestão das amostras em ácido nítrico e água destilada para as análises químicas. As amostras foram analisadas por espectrofotômetro.

5.4. Processamento de dados

Todos os dados (diretos e adicionais) foram submetidos ao mesmo procedimento metodológico: compilação e seleção de indivíduos que já foram descritos anteriormente. Além destes procedimentos, as análises estatísticas foram realizadas da seguinte forma:

Análises estatísticas

Os teores de cádmio dos tecidos de cada local e os tamanhos foram comparados com o teste de Mann Whitney para amostras independentes ($p < 0,05$).

As metodologias do presente estudo foram sintetizadas na Tabela 1 para melhor compreensão dos procedimentos de coletas e análises químicas.

TABELA 1: Tabela com as metodologias simplificadas

	<i>Origem dos espécimes</i>		
	Brasil (Região sul)	EUA(Golfo do México)	Japão (Ilhas Yayeama)
Ano de coleta	2008/2009	2011	1992
Espécimes coletados			
Intervalo de tamanho (CCC)	29 (31 – 50 cm)	12 (42,70 – 74 cm)	50 (33 - 83 cm)
Espécimes analisados e intervalo tamanho (CCC)	7 (42 - 50 cm)	7(43 – 48,6 cm)	7 (42,10– 50 cm)
Intervalo de latitude de coleta (graus)	30-34 S	26-28 N	24-25 N
Ácidos utilizados na digestão	HNO ₃	HNO ₃ , HCl e adição de H ₂ O ₂	HNO ₃ , HClO ₄ e H ₂ SO ₄
Técnica de leitura de metais	Espectrofotometria de absorção atômica por chama (FAAS)	Espectrometria de massa por plasma coplado indutivamente (ICP-MS)	Espectrofotometria de absorção atômica por chama (FAAS)
Material de referênciacertificado	European Reference Material ERM-CE278, Geel, Belgium)	Conselho Nacional de Pesquisa do Canadá : DORM-2 : (“dogfish” Músculo) e DOLT-3: (“dogfish” Fígado)	NIES No. 1 (Okamoto <i>et al.</i> 1978)
Referência Bibliográfica	Silva <i>et al.</i> (2014)	Faust <i>et al.</i> (2014)	Sakai <i>et al.</i> (2000)

6. RESULTADOS

As maiores médias de cádmio encontradas no fígado (Figura 10A) e no rim (Figura 10B) foram observadas nos espécimes oriundos do Oceano Pacífico (Japão) com teores de 5,92 ug/g e 51,72 ug/g em cada tecido respectivamente. As menores médias foram encontradas nos espécimes do Oceano Atlântico no Brasil (1,19 ug/g) e Estados Unidos (0,89 ug/g) para o tecido hepático. No tecido renal os espécimes do apresentando 4,41 ug/g de cádmio no Brasil e 3,54 ug/g nos EUA. O Brasil e os Estados Unidos apresentaram médias iguais deste metal ($p > 0,05$), e diferentes dos espécimes Japoneses ($p < 0,05$).

Na comparação complementar, quando adicionou-se Austrália e Havaí nas comparações, a maior concentração de cádmio permaneceu nos espécimes oriundos do Pacífico (Japão, Austrália e Havaí) quando comparados aos do Atlântico (Brasil e Estados Unidos) , no fígado (Figura 11A) e no rim (Figura 12A).

Bem como as médias no fígado (Figura 11B) que se mantiveram superiores nas tartarugas do oceano pacífico, com 13,24 ug/g de cádmio, quando comparadas as do Atlântico com 1,00 ug/g deste metal. No rim (Figura 12B), este padrão se manteve, com os espécimes do Atlântico com média de 4,05 ug/g, sendo esta inferior a média das tartarugas do pacífico, que apresentou 34,17 ug/g de cádmio.

Os animais provenientes do Oceano Pacífico apresentaram teores superiores aos do Atlântico em ambas as comparações, nas análises primárias e adicionais, com diferença significativa entre os dois grupos oceânicos ($p < 0,05$).

Encontrou-se uma maior bioacumulação de cádmio no rim do que no fígado de todos os organismos ($n=35$) do presente estudo, ($p < 0,05$). (Figura 13A e 13B).

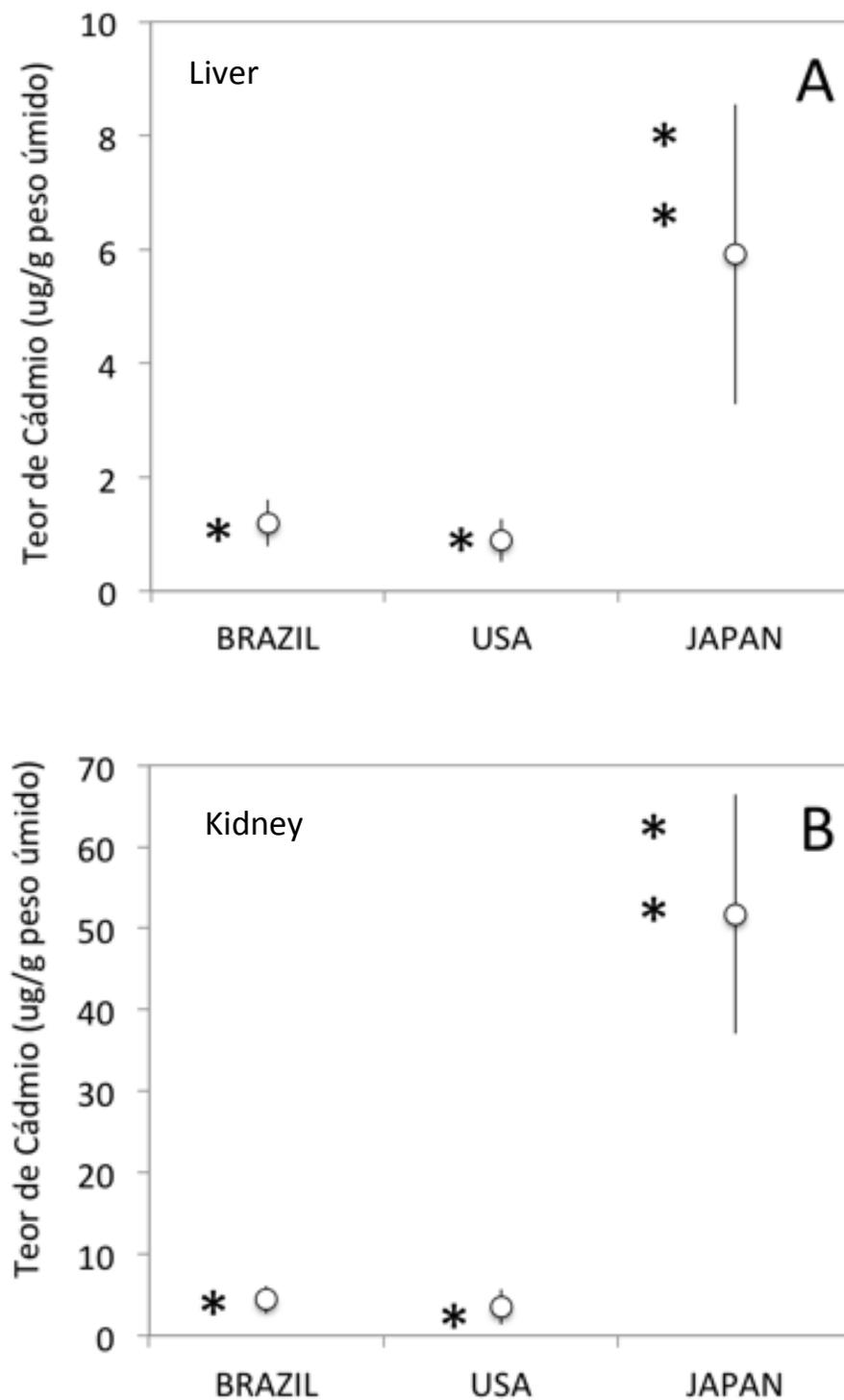


Figura 10. Médias (círculos) e desvio padrão (barras verticais) de concentração de Cádmio (ug/g peso úmido) no fígado (A) e no rim (B) de *Chelonia mydas* selecionadas no presente estudo para testes comparativos, oriundas do Japão, EUA, e Brasil. Asteriscos diferentes representam diferenças significativas ($p < 0,05$) no teste Mann-Whitney.

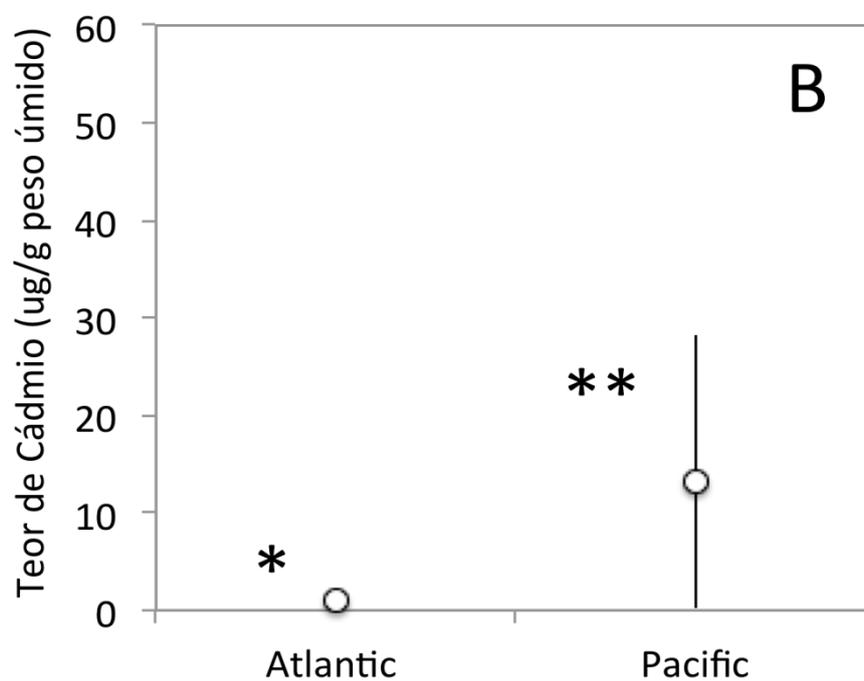
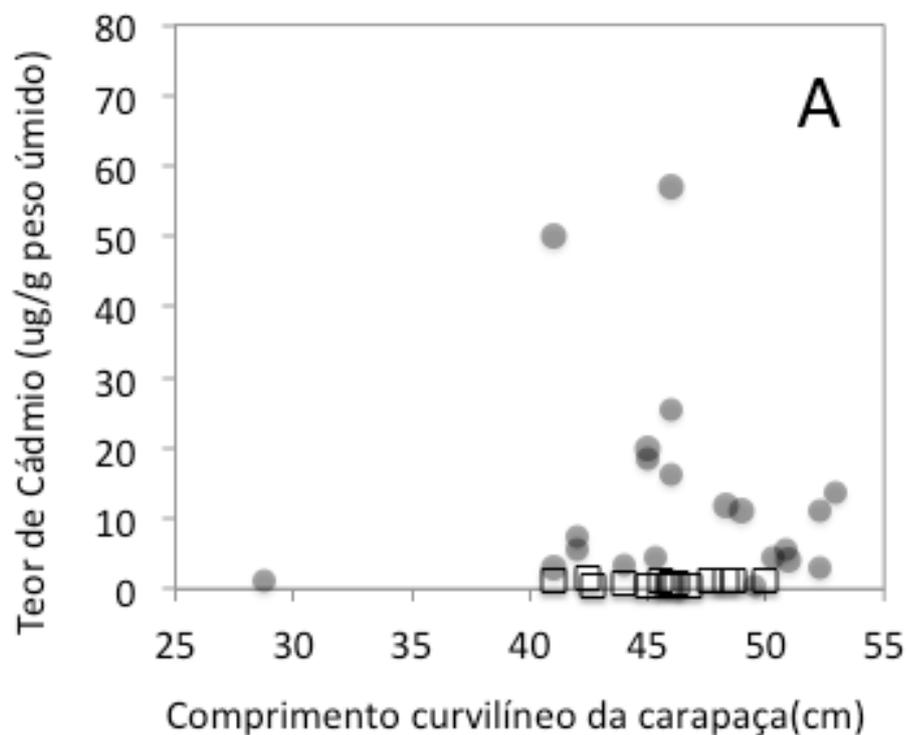


Figura 11. A - Concentração de Cádmio (ug/g peso úmido) no fígado de *Chelonia mydas* selecionadas no presente estudo para testes comparativos, oriundas do Oceano Atlântico (Brasil e EUA) e Oceano Pacífico (Austrália, Havaí e Japão). **B** - Médias (círculos) e desvio padrão (barras verticais) destes dados. *Asteriscos diferentes representam diferenças significativas ($p < 0,05$) no teste Mann-Whitney.

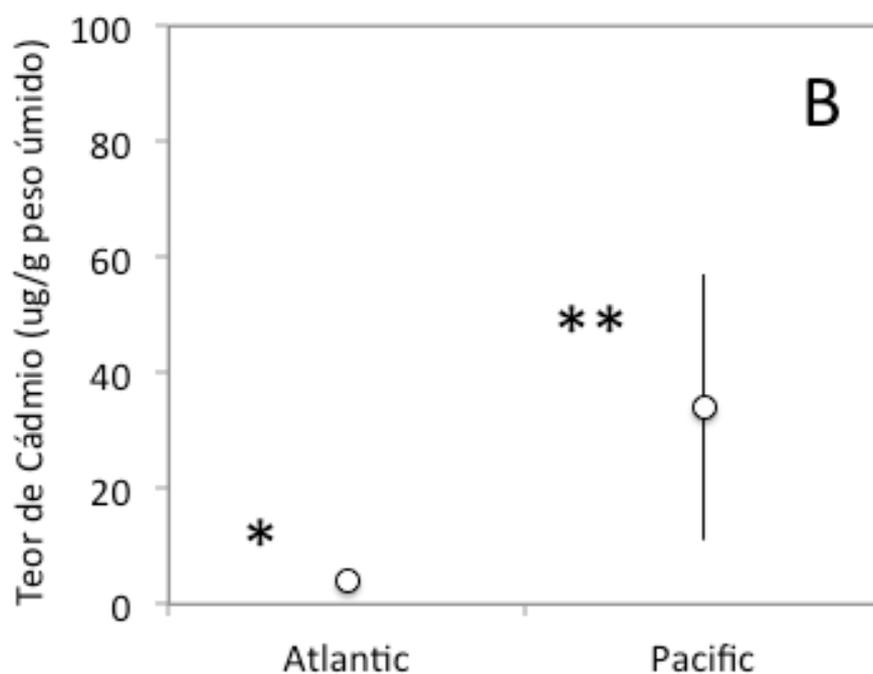
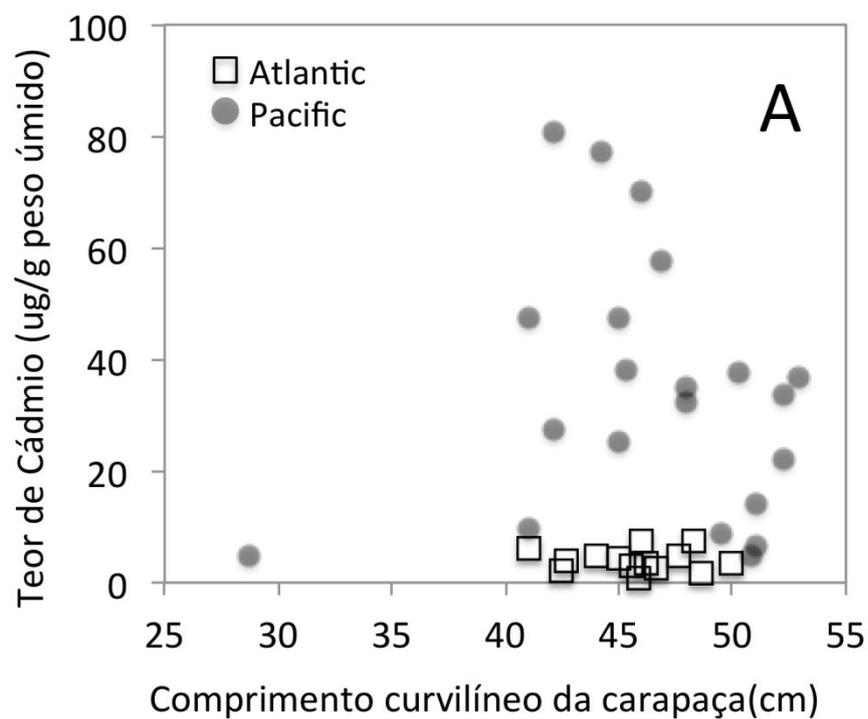


Figura 12. A - Concentração de Cádmio (ug/g peso úmido) no rim de *Chelonia mydas* selecionadas no presente estudo para testes comparativos oriundas do Oceano Atlântico (Brasil e EUA) e Oceano Pacífico (Austrália, Havaí e Japão). **B** - Médias (círculos) e desvio padrão (barras verticais) destes dados. Asteriscos diferentes representam diferenças significativas ($p < 0,05$) no teste Mann-Whitney.

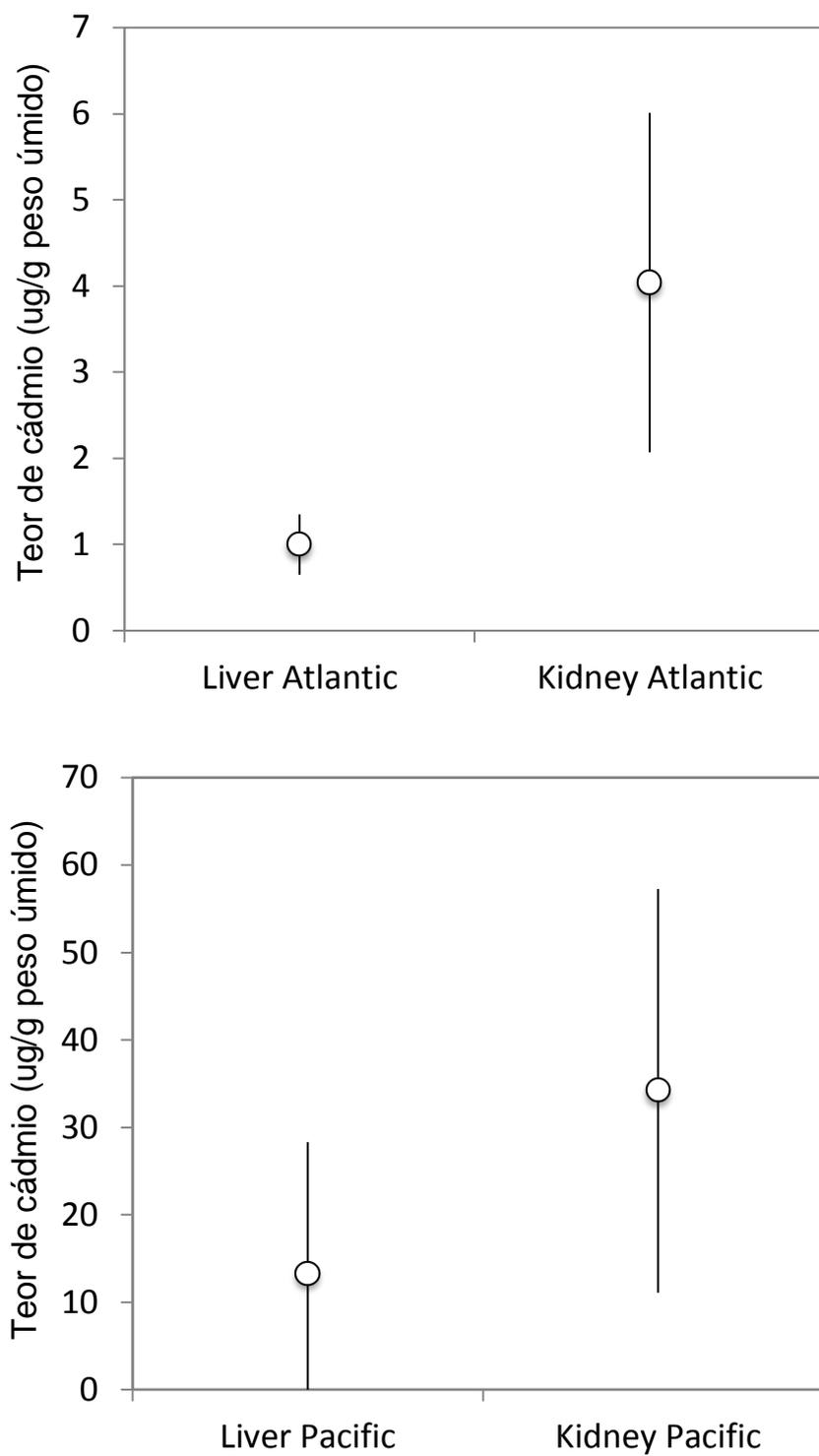


Figura 13. A- Médias da concentração de cádmio (ug/g peso úmido) no fígado e rim de *Chelonia mydas* oriundas do pacífico e seus respectivos desvios padrão. B- Médias de cádmio (ug/g peso úmido) no fígado e rim de *Chelonia mydas* coletadas no oceano atlântico e seus respectivos desvios padrão.

7. Discussão

7.1. Órgão com a maior concentração de cádmio

A longo prazo, o órgão que melhor refletiu a bioacumulação do cádmio foi o rim. Este estudo corroborou os resultados de Andreani (2008), onde os maiores teores encontrados foram no tecido renal, podendo ser devido a atividade da metalotioneína, uma proteína que visa atenuar os efeitos tóxicos de metais (Arias & Santos, 2008). Esta proteína que é primeiramente sintetizada no fígado e em seguida transportada pela corrente sanguínea para o rim em mamíferos, pode estar refletindo uma exposição prolongada de cádmio nestas tartarugas dos dois oceanos, que foram mais altas do que no fígado (Webb, 1987).

7.2. Concentração de cádmio por regiões do globo

Com relação à distribuição de cádmio nos oceanos, os maiores teores deste elemento são encontrados no Oceano Pacífico quando comparados ao Oceano Atlântico. Cádmio e outros metais, exceto chumbo e alumínio, apresentam este padrão de maior acumulação em águas profundas no Pacífico do que no Atlântico, devido ao fato de possuírem águas mais antigas que as do Atlântico, o que implica na maior acúmulo de metais para as águas superficiais neste oceano (Millero, 2006).

Tal padrão pôde ser visto nas concentrações encontradas de cádmio nas tartarugas do presente estudo, onde os animais do Atlântico apresentaram menores teores em relação aos espécimes do Pacífico. Demonstrando que o fator global como o oceano onde foi coletado, exerceu uma maior influência na distribuição de teores nas *C. mydas* estudadas do que os fatores locais.

No estudo realizado por Savery et al. (2015) com cachalotes de todo o globo, foram encontrados teores maiores de cádmio nos espécimes do Oceano Pacífico do que os do Atlântico, também demonstrando esta influência global na distribuição de cádmio nos organismos marinhos.

7.3. Comparativa de teores de cádmio com outros vertebrados e potencial risco para as tartarugas marinhas

A média de cádmio nas tartarugas do Atlântico foi superior a 1,0 ug/g no fígado, e maiores que 2,0 ug/g no rim. Já as médias do pacífico foram superiores a 10ug/g no fígado e 30 ug/g no rim. Como não há limites de valores de cádmio para tartarugas, comparou-se estes valores com os teores limites para peixes que é de 1,0 ug/g (Brasil, 2013). Este fato é relevante porque até a menor média encontrada no grupo de tartarugas do presente estudo apresentam valores superiores ao limite de cádmio permitido para peixes.

Em mamíferos terrestres, o limite máximo de cádmio é de 0,5 ug/g e 1,0 ug/g, no fígado e no rim respectivamente (Brasil, 2013). Das 35 tartarugas estudadas, 94% dos espécimes obtiveram teores superiores ao limite do fígado de mamíferos e 97% obtiveram teores superiores ao limite para o rim de mamíferos, demonstrando uma alta concentração de cádmio nestes quelônios em todos os locais coletados.

LAW et al, (1992) encontrou valores de 0,6 ug/g a 11ug/g em fígados de golfinhos. A maioria das tartarugas estudadas apresentou valores iguais ou superiores a este intervalo. Como a principal via de acumulação de metais é a alimentar, esperava-se que as *C. mydas* apresentassem valores inferiores a um animal como golfinho, que possui os recursos alimentares com níveis tróficos superiores às tartarugas. Estes quelônios apresentam altos teores de cádmio em diversos estudos já realizados e desconhece-se a razão.

7.4. Utilização da *C. mydas* como bioindicador da distribuição global do cádmio

Além de estes estudos terem sido realizados com mamíferos marinhos e peixes, diferentes estudos com dosagem de cádmio em tartarugas foram realizados e diferentes níveis deste metal encontrados. Alguns fatores podem gerar variabilidades nos resultados, como padrão alimentar local das

populações (Barbieri et al. 2009), níveis de antropização em torno das áreas de vida, fases de vida (Anan et al. 2001), sexo, tamanho do animal e taxa de crescimento das tartarugas de cada local. No presente estudo, no entanto, foi possível eliminar a maior parte da fonte de variabilidade desses dados, uma vez que os indivíduos estudados estavam na mesma fase de vida, no mesmo tipo de habitat e como eram juvenis, a influência das diferenças metabólicas em machos e fêmeas não foram importantes. Dessa forma foi possível realizar uma comparação segura dos níveis de contaminação em nível global, demonstrando a predominância dos fatores de grande escala na determinação dos níveis de contaminação por cádmio.

As taxas de crescimento podem interferir na bioacumulação de cádmio em tartarugas, pois espécimes com tamanhos semelhantes podem ter investido mais ou menos tempo para atingir àquele comprimento, de acordo com a velocidade do tempo que utilizam para crescer e bioacumular maior ou menor quantidade do metal. Entretanto estas taxas podem ser muito variáveis até mesmo em populações que ocorrem em áreas próximas, como as que ocorrem na Flórida (Avens et al. 2012). Sendo assim não foi possível discutir os teores de cádmio encontrados no presente trabalho relacionando-os com as taxas de crescimento de cada local, devido a inexistência de dados das taxas de crescimento dos espécimes provenientes do Japão.

Durante a fase pelágica, as juvenis de tartarugas verdes se alimentam de zooplâncton, enquanto que durante a fase costeira, estes animais se alimentam principalmente de gramíneas marinhas e algas marinhas. Esta mudança na alimentação pôde explicar a acumulação de Cádmio na *C. mydas*, onde juvenis apresentam maiores valores de cádmio do que as adultas no estudo realizado por Sakai et al. (2000). Devido a esta mudança no padrão de bioacumulação com o tamanho, utilizou-se no presente estudo exemplares com tamanho inferior a 52 cm, visto que padrão a bioacumulação tende a diminuir em tartarugas adultas, além das mudanças que ocorrem na fisiologia destes animais.

7.5. Sugestão de intervalo de teores de cádmio para *C. mydas* dos oceanos Atlântico e Pacífico e aplicações na conservação da espécie

Ainda que não tenham sido utilizadas as taxas de crescimento nas discussões, no presente estudo pôde ser alcançada uma gama de localidades muito distantes, utilização de espécimes dentro do mesmo intervalo de tamanho para todos os locais e pôde-se obter um padrão definido de teores de cádmio nas tartarugas para cada oceano.

Sugere-se então, um intervalo de teores de Cd para cada oceano nas tartarugas marinhas da espécie *C. mydas*, desde que se utilizem animais pertencentes a um mesmo intervalo de tamanho (40-52 cm) e procedimentos metodológicos comparáveis.

Tal sugestão visa a contribuição na conservação das tartarugas marinhas, definindo valores mais comuns de cádmio encontrados para posteriores comparações. Tornando-os valores de referência para espécimes do oceano atlântico e pacífico, e subsidiando discussões locais acerca dos teores encontrados nos próximos estudos (Tabela 2).

A determinação de valores de referência não demonstra a toxicidade e prejuízos causados pelo cádmio a estes animais, mas pode refletir o padrão de cádmio biodisponível em diversas regiões do globo e gerar comparações mais representativas entre os teores de cada local, do que os trabalhos já realizados.

Por se tratar de um padrão global de distribuição de cádmio nas tartarugas, se fazem necessários a realização de parcerias internacionais e estudos com enfoque na a toxicidade e prejuízos que o cádmio pode trazer a biota, afim da conservação da *C. mydas* e demais espécies sujeitas a este elemento.

Tabela 2: Intervalos de referência de valores mais encontrados de cádmio no fígado e rins de *C. mydas* oriundas dos Oceanos Atlântico e pacífico entre 40 e 50 cm de CCC.

	<i>Origem dos espécimes</i>	
	Atlântico	Pacífico
Fígado	Valores próximos a 1,00 ug/g peso úmido	Valores próximos a 13 ug/g peso úmido
Rim	Valores próximos a 4,0 ug/g peso úmido	Valores próximos a 34 ug/g peso úmido

8. CONCLUSÕES

A concentração de cádmio nos organismos marinhos tem a maior influência dos fatores globais do que regionais.

Os animais dos dois oceanos sofrem influência do cádmio em seus organismos. Todas as tartarugas do presente estudo apresentaram altos teores de cádmio, demonstrando ser um problema global de disponibilidade deste metal.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

STORELLI, M. M.; STORELLI, A.; D'ADDABBO, R.; MARANO, C.; BRUNO, R.; MARCOTRIGIANO, G.O. Trace elements in loggerhead turtles (*Caretta caretta*) from the eastern Mediterranean Sea: overview and evaluation. **Environmental Pollution**, v. 135, p.163–170, 2005.

IPCS- INTERNATIONAL PROGRAMME ON CHEMICAL SAFETY, Cadmium : environmental aspects. IN: **Environmental healthcriteria**; 135), 1992. Disponível em <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc135.htm#SectionNumber:3.5>> Acesso em 20 Jan 2016.

HUEZA M.I, SANT'ANA M.G.; PALERMO-NETO J., Toxicologia do chumbo, mercúrio, arsênio e de outros metais. In: **Toxicologia aplicada a Medicina Veterinária**. 1ed, São Paulo: Manole, 2008, p. 641- 661.

IUCN 2016. **The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2016-3**. Disponível em: <http://www.iucnredlist.org>>. Acesso em: 10 de dezembro de 2016.

ANAN, Y., KUNITO, T., WATANABE, I., SAKAI, H., TANABE, S. Trace element accumulation in hawksbill turtle (*Eretmochelys imbricata*) and green turtle (*Chelonia mydas*) from Yaeyama Islands, Japan. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.20, p. 2802–2814, 2001.

GARDNER SC, FITZGERALD SL, VARGAS BA, RODRIGUEZ LM. Heavy metal accumulation in four species of sea turtles from the Baja California peninsula, Mexico. *Biometals*. 2006;19:91–99.

GORDON, A. N.; POPLER, A. R.; NG, J. Trace metal concentrations in livers and kidneys of sea turtles from south-eastern Queensland, Australia. **Marine and Freshwater Research**, v.49,p. 409–414, 1998.

GODLEY, B. J.; THOMPSON, D. R.; FURNESS, R. W. Do heavy metal concentrations pose a threat to marine turtles from the Mediterranean Sea? **Mar. Pollut. Bull.**, v. 38, p.497-502, 1999

LAM, J. C. W.; TANABE, S.; CHAN, S. K. F.; YUEN, E. K. W.; LAM, M. H. W.; LAM, P. K. S. Trace element residues in tissues of green turtles (*Chelonia mydas*) from South China Waters. **Mar. Pollut. Bull.**, v.48, p.164-192, 2004.

SILVA, C.C. KLEIN, R.D., BARCAROLLI I.F., BIANCHINI A. Metal contamination as a possible etiology of fibropapillomatosis in juvenile female green sea turtles *Chelonia mydas* from the southern Atlantic Ocean . **Aquatic Toxicology**. v.170 p.42–51, 2016.

STORELLI, M.M.;BARONE, G.;STORELLI A., MARCOTRIGIANO,G.O. Total and subcellular distribution of trace elements (Cd, Cu and Zn) in the liver and kidney of green turtles (*Cheloniemydas*) from the Mediterranean Sea. **Chemosphere**, v.70, p. 908–913, 2008.

PLOTKIN, P. T. Adult migrations and habitat use. In: *The Biology of Sea Turtles*, (eds. Lutz, P., Musick, J. & J, W.) CRC Press,Vol. 2, p.225-233, 2003.

M.M. STORELLI, E. CECI, G.O. MARCOTRIGIANO. Distribution of heavy metal residues in some tissues of *Caretta caretta* (Linnaeus) specimens beached along the Adriatic Sea (Italy) . **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 60 p. 546–552,1998.

SILVA, C.C. KLEIN, R.D., BARCAROLLI I.F., BIANCHINI A. Metal contamination as a possible etiology of fibropapillomatosis in juvenile female green sea turtles *Chelonia mydas* from the southern Atlantic Ocean . **Aquatic Toxicology**. v.170 p.42–51, 2016.

SAKAI, H.; SAEKI, K.; ICHIHASHI, H.; SUGANUMA, H.; TANABE, S.; TATSUKAWA, R. Species-specific distribution of heavy metals in tissues and organs of loggerhead turtle (*Caretta caretta*) and green turtle (*Chelonia mydas*) from Japanese coastal waters. **Marine Pollution Bulletin**, v. 40, p. 701–9, 2000.

GODLEY, B. J.; THOMPSON, D. R.; FURNESS, R. W. Do heavy metal concentrations pose a threat to marine turtles from the Mediterranean Sea? **Mar. Pollut. Bull.**, v. 38, p.497-502, 1999.

SEPLAN - Secretaria do Planejamento, Mobilidade e Desenvolvimento- Atlas socioeconômico do Rio Grande do Sul. Disponível em <http://www.atlassocioeconomico.rs.gov.br/conteudo.asp?cod_menu_filho=818&cod_menu=817&tipo_menu=ECONOMIA&cod_conteudo=1468> Acesso em : 9 de Outubro 2016.

EMBAIXADA DO JAPÃO NO BRASIL. Regiões do Japão. Disponível em <<http://www.br.emb-japan.go.jp/cultura/regioesdojapao.html>> Acesso em 17 de junho de 2016.

GORDON, A. N.; POPLÉ, A. R.; NG, J. Trace metal concentrations in livers and kidneys of sea turtles from south-eastern Queensland, Australia. **Marine and Freshwater Research**, v.49,p. 409–414, 1998.

AGUIRRE, A. A.; BALAZS, G. H.; ZIMMERMAN, B.; GALEY, F. D. Organic contaminants and trace metals in the tissues of green turtles (*Chelonia mydas*) afflicted with fibropapillomas in the Hawaiian Islands. **Mar. Pollut. Bull.**, v. .28, p. 109-114, 1994.

ISO - INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **Reference materials - Selected terms and definitions**. In: ISO guide 30:2015. Disponível em: <http://www.iso.org/iso/iso_catalogue/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=46209> Acesso em: 20 de Dezembro de 2016.

OKAMOTO K, YAMAMOTO Y, FUWA K. Pepperbush powder, a new standard reference material. **Anal Chem** 50:1950–1951.1978.

CARDOSO M.H.W.M; NÓBREGA, A.W.; VITAL, H.C; ABRANTES, S.M.P.Preparação de um material de referência certificado para controle de agrotóxicos em hortifrutigranjeiros: estudo da estabilidade. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** vol.30 no.2 . Campinas Abril/Junho, 2010. Disponível em

[:http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612010000200022](http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612010000200022) .Acesso em 02 de Dezembro de 2017.

FAUST D. R. , HOOPER M.R., COBB G. P., BARNES M., ERTOLACCI D.S.S, SMITH P.N. Inorganic elements in green sea turtles (*Chelonia mydas*): Relationships among external and internal tissues. **Environmental Toxicology and Chemistry**. v.33, 2014.

ANDREANI, G., SANTORO, M., COTTIGNOLI, S., FABBRI, M., CARPENE, E., ISANI, G. Metal distribution and metallothionein in loggerhead (*Caretta caretta*) and green (*Chelonia mydas*) sea turtles. **Science of Total Environment**, v. 390, p. 287–294, 2008.

ARIAS A.R.L. ANA ROSA LINDE ARIAS, SANTOS, V.G. VANESSA GOMES SANTOS. Metalotioneína: processos celulares e moleculares. Caderno Saúde Coletiva, Rio de Janeiro, vol. 16, 4 ed. p. 701 - 716, 2008.

WEBB M. Metallothionein II. In: Kägi JRH, Kojima Y, editors. Metallothionein in regeneration, reproduction and development. Basel: Birkhauser Verlag;. p. 483–98, 1987.

MILLERO, FRANK J.. Minor Elements in Seawater . In: Chemical oceanography, 3 ed. p. 99-113, 2006.

SAVERY, L.C., CHEN T.L. , WISE J T.F., WISE S.S., GIANIOS C.JR., BUONAGURIO J. , PERKINS C. , FALANK C. ,ZHENG T. , ZHU C ., WISE J P. SR. Global assessment of cadmium concentrations in the skin of free-ranging sperm whales (*Physeter macrocephalus*) . **Comparative Biochemistry and Physiology, Part C**.v. 178, p. 136–144, 2015.

BARBIERI, E. Concentration of heavy metals in tissues of green turtles (*Chelonia mydas*) sampled in the Cananéia estuary, Brazil. **Brazilian Journal of Oceanography**, vol.57, n.3, p. 243-248 ,2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/bjoce/v57n3/v57n3a07.pdf>> Acesso em junho de 2013.

ANAN, Y., KUNITO, T., WATANABE, I., SAKAI, H., TANABE, S. Trace element accumulation in hawksbill turtle (*Eretmochelys imbricata*) and green turtle (*Chelonia mydas*) from Yaeyama Islands, Japan. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.20, p. 2802–2814, 2001.

AVENS L., GOSHE L.R., HARMS C.A., ANDERSON E.T., HALL A.G., CLUSE W.M., GODFREY M.H., BRAUN-MCNEILL J., STACY B., BAILEY R. E LAMONT M.M. Population characteristics, age structure, and growth dynamics of neritic juvenile green turtles in the northeastern Gulf of Mexico. **Marine Ecology Progress Series** 458, 213–229. 2012.

SAKAI, H.; SAEKI, K.; ICHIHASHI, H.; SUGANUMA, H.; TANABE, S.; TATSUKAWA, R. Species-specific distribution of heavy metals in tissues and organs of loggerhead turtle (*Caretta caretta*) and green turtle (*Chelonia mydas*) from Japanese coastal waters. **Marine Pollution Bulletin**, v. 40, p. 701–9, 2000.

LAW, R.J., JONES, B.R., BAKER, J.R., KENNEDY, S., MILNE, R. AND MORRIS, R.J. Trace Metals in the Livers of Marine Mammals from the Welsh Coast and Irish Sea. **Marine Pollution Bulletin**, 24, 296-304, 1992.

BRASIL. Resolução - RDC Nº 42, DE 29 DE AGOSTO DE 2013. Dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimento “Órgão emissor: ANVISA- Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/393845/RDC%2Bn%25C2%25BA%2B42_2013_final.pdf/eec629cf-8d17-422b-a362-366b275c1a00?version=1.0>. Acesso em: 10 de Junho de 2016.

