

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MARIANE KOWALSCHUK DOMINGUES



TESTANDO A EXISTÊNCIA DE DIMORFISMO SEXUAL NA FASE JUVENIL DA
TARTARUGA-VERDE (*Chelonia mydas* Linnaeus, 1758) ATRAVÉS DA
MORFOMETRIA GEOMÉTRICA

CURITIBA

2015

MARIANE KOWALSCHUK DOMINGUES

TESTANDO A EXISTÊNCIA DE DIMORFISMO SEXUAL NA FASE JUVENIL DA
TARTARUGA-VERDE (*Chelonia mydas* Linnaeus, 1758) ATRAVÉS DA
MORFOMETRIA GEOMÉTRICA

Trabalho apresentado como requisito parcial para
obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas
do Setor de Ciências Biológicas da Universidade
Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Emygdio Leite de Araujo
Monteiro Filho

CURITIBA

2015

A todos aqueles que buscam incansavelmente novas formas de conservar a natureza. E às tartarugas-verdes que contribuíram para que esse trabalho fosse possível.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais, pelo amor incondicional e por apoiarem as minhas decisões, mesmo quando não concordavam com elas. Especialmente à minha mãe, que sempre me acompanhou em toda a minha formação escolar e nunca desistiu de me ajudar a alcançar o sonho de estudar na UFPR. À minha família, que mesmo aos “trancos e barrancos” sempre esteve ao meu lado e muitas vezes me ajudou quando eu mais precisei.

Aos meus amigos, irmãos que a vida me permitiu escolher. Amigos que estão comigo há anos, Bruna, Rodrigo, Jhenifer, as minhas “biogatas” mais queridas, Babi e Dessa, que me acolheram na casa delas num momento de desespero e me ajudaram com esse trabalho. A Fabi que eu não sei o que faria da minha vida sem ela, obrigada por sempre me apoiar e estar ao meu lado em todos os momentos. As pessoas maravilhosas que a Biologia me permitiu encontrar, Monica, Marina, Karine, Eder, Matheus, o pessoal de 2013 (que sabe o quanto são especiais pra mim), pessoas incríveis que com certeza sempre levarei no meu coração. A Maja e ao Diego, meus afilhados, pela paciência de entender a ausência da dinda nesses 5 anos. Aos amigos novos que fiz (ou refiz), Jess, Lenhador e Filipe. E não menos importante, às minhas filhas de quatro patas, Misti (*in memorian*) e Meg, que sempre me acompanharam nas noites de estudo.

Aos professores que passaram pela minha vida, não só durante a faculdade, mas aqueles que sempre apoiaram a minha decisão de fazer Biologia, Evelise e Cristiane. Aos mestres do curso de Ciências Biológicas que me ensinaram a amar cada vez mais essa profissão e me deram forças para nunca desistir (inclusive aqueles que muitas vezes nos desanimaram).

Ao pessoal do CEAM, em especial à Ana Cristina, pelos ensinamentos de Educação Ambiental e pelos puxões de orelha. À professora Patrícia Dalzoto por me orientar e mostrar que os fungos podem ser incríveis. Ao pessoal das Áreas Protegidas, da Fundação Grupo Boticário, por me acolher com tanto carinho, em especial à Marion por ser tão compreensiva durante esse trabalho. E ao Thiago da Ciência e Informação por me dar aquele “help” com o inglês.

Ao pessoal do Laboratório de Biologia e Ecologia de Vertebrados, por sempre me receber tão bem quando eu aparecia atrás do professor Emygdio. Agradeço ao Caio por improvisar um “mini-estúdio” fotográfico para as carapaças.

E, por fim, agradeço imensamente ao professor Emygdio, pela paciência e calma, por sempre me tranquilizar quando parecia que tudo daria errado, por ser essa pessoa incrível que sempre nos surpreende com seus conhecimentos e suas histórias de vida e nos ensina muito mais que a biologia de vertebrados.

Mãe, pai, agora eu sou Bióloga!

“Quem sabe concentrar-se numa coisa e insistir nela como único objetivo, obtém, ao cabo, a capacidade de fazer qualquer coisa.”

Mahatma Gandhi

RESUMO

A identificação de características que permitem diferenciar os sexos de tartarugas marinhas é de grande importância para a conservação, uma vez que permite estudos a respeito da razão sexual destas espécies. No entanto, características sexuais externas são visíveis apenas na fase adulta, o que dificulta os esforços para a conservação, pois a identificação sexual dos juvenis implica na eutanásia dos animais. Diante disso, o objetivo deste estudo foi testar a viabilidade do uso de características da carapaça de machos e fêmeas ainda na fase juvenil para a determinação do sexo. Foram analisadas 17 carapaças de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) juvenis com o sexo pré-determinado por análise histológica das gônadas. Destes, nove foram identificadas como machos e oito identificadas como fêmeas. Através da morfometria geométrica foi possível analisar as características das escamas vertebrais e caudais, testando as diferenças entre a amostra total e entre classes de tamanho, variando em 10 cm cada. A amostra total não apresentou diferença significativa entre os sexos, mesmo quando analisadas as escamas separadamente. Quando analisadas por classes de tamanho, as diferenças tornaram-se mais evidentes nas escamas vertebrais e caudais dos indivíduos que medem entre 40-49 cm. A aplicação de uma análise discriminante confirmou que o uso dos princípios de morfometria geométrica é eficiente na identificação sexual baseada em características morfológicas de indivíduos juvenis.

Palavras-chave: tartaruga-verde, carapaça, morfometria geométrica, dimorfismo sexual, conservação.

ABSTRACT

The identification of characteristics that enables to differentiate the sex of sea turtles is of great importance to conservation, as it allows studies on sex rate of these species. However, external sexual features are only visible at their adulthood, what makes conservation efforts more difficult, as identifying sex on young individuals implies on the euthanasia of animals. On this scenario, this study aimed at testing the viability of using shell traits characteristics of male and female still on juvenile stage for determining sex. Eighteen shells of juvenile green-turtle (*Chelonia mydas*), which had been previously sexed by gonad histology, were analyzed. From these, nine were identified as males and eight as females. By using geometric morphometrics, it was possible to analyze the characteristics of spine and tail scales, testing the difference between the total sample and the size classes, which ranged 10cm each. The total sample did not reveal a significant difference between sexes, even when the scales were separately analyzed. When analyzed by size classes, the differences became more evident on the spine and tail scales of individuals with size ranging from 40-49cm. The application of a discriminant analysis confirmed that the use of geometric morphometrics principles are efficient on sexual identification based on morphologic characteristics of juvenile turtles.

Keywords: green turtle, shell, geometric morphometrics, sexual dimorphism, conservation.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	4
1.1 <i>Chelonia mydas</i> (Linnaeus, 1758)	4
1.2 DIMORFISMO SEXUAL EM TARTARUGAS MARINHAS.....	5
1.3 MORFOMETRIA GEOMÉTRICA	6
2 MATERIAL E MÉTODOS	7
2.1 AMOSTRAS.....	7
2.2 COLETA DE DADOS MORFOLÓGICOS	8
2.3 ANÁLISE MORFOMÉTRICA DA CARAPAÇA.....	9
3 RESULTADOS	11
3.1 ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA)	11
3.1.2 CLASSIFICAÇÃO POR TAMANHO	15
3.1.2.1 CLASSE 1	15
3.1.2.2 CLASSE 2	19
4 DISCUSSÃO.....	25
REFERÊNCIAS	28

1 INTRODUÇÃO

1.1 *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758)

A tartaruga-verde, *Chelonia mydas*, (Testudines: Cheloniidae) possui uma grande distribuição geográfica. Ocorre com frequência em águas tropicais, próximas às regiões costeiras e ao redor de ilhas oceânicas, conferindo à espécie uma menor exposição à ação predatória do homem (MÁRQUEZ, 1990; ALMEIDA *et al.* 2011; TAMAR 2015). No Brasil, existem três sítios principais de desova: Atol das Rocas (RN), o Arquipélago Fernando de Noronha (PE) e a Ilha de Trindade (ES). Este último é considerado o maior do Atlântico Sul, onde aproximadamente 3.000 fêmeas nidificam por ano, contudo, ocorrências não reprodutivas são registradas ao longo de toda a costa brasileira (PRITCHARD, 1997; MARCOVADI & MARCOVALDI, 1999; ALMEIDA *et al.*, 2011; SPOTILA, 2004).

Assim como as demais espécies de tartarugas marinhas que ocorrem no Brasil, a tartaruga-verde está ameaçada de extinção, sendo considerada *em perigo* na Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas da IUCN (2015) e como *vulnerável* na Lista Nacional de Espécies Ameaçadas de Extinção (2014). Os impactos causados pelo homem em todas as fases de sua vida, como a destruição dos habitats de nidificação, a captura acidental por redes de pesca e a colheita intencional dos ovos são algumas das principais ameaças a esta espécie (ICMBio, 2014; IUCN, 2015). A tartaruga-verde também está presente no apêndice I da CITES (Convention on International Trade in Endangered Species), como espécie ameaçada de extinção cujo comércio é permitido apenas em circunstâncias excepcionais (CITES, 2015).

Chelonia mydas é caracterizada pela presença de quatro pares de escamas costais (ou laterais) e cinco escamas vertebrais (ou dorsais). Quando adultas chegam a atingir 120 cm de comprimento linear da carapaça, sendo que o comprimento curvilíneo pode ser de 3 a 4 cm maior e podem pesar até 230 kg (PRITCHARD & MORTIMER, 1999). Apesar do nome, a tartaruga-verde possui a carapaça marrom, muitas vezes com irradiações amareladas ou salpicadas de manchas escuras (MÁRQUEZ, 1990; WYNEKEN, 2001).

1.2 DIMORFISMO SEXUAL EM TARTARUGAS MARINHAS

As tartarugas marinhas, assim como a maioria das tartarugas e crocodilianos, possuem determinação sexual dependente da temperatura (*TDS*, na sigla em inglês) na qual os ovos são incubados. As porções do ninho com temperaturas mais elevadas favorecem o nascimento de fêmeas, enquanto temperaturas mais baixas o nascimento de machos. Entretanto, a determinação só ocorre no segundo terço da incubação, quando a temperatura influencia a atuação de enzimas envolvidas na diferenciação gonadal (MROSOVSKY & YNTEMA, 1980; FERREIRA-JÚNIOR, 2009).

Muito se discute entre os pesquisadores sobre qual seria a idade correta em que as tartarugas marinhas atingem a maturidade sexual, que pode ser entre 26 e 40 anos de idade, variando entre indivíduos de uma mesma população e entre indivíduos de populações diferentes (HIRTH, 1971; ALMEIDA *et al.*, 2011). O dimorfismo sexual é evidente em indivíduos adultos visto que os machos possuem uma cauda longa e levemente preênsil, podendo se estender tanto quanto as nadadeiras traseiras e garras mais longas nas nadadeiras dianteiras, já as fêmeas possuem a cauda mais curta, geralmente não ultrapassando a margem da carapaça (HIRTH, 1971).

Por outro lado, a biologia reprodutiva dos indivíduos juvenis é pouco conhecida, uma vez que os estudos restringem-se a áreas de reprodução e análise de desova (ROSA, 2009). Diferentemente das tartarugas adultas, os juvenis apresentam pouco ou nenhum dimorfismo que permita a identificação do sexo a partir das características externas. Devido a essa dificuldade, os métodos mais confiáveis para a determinação dos sexos desses indivíduos são altamente invasivos ou destrutivos, como a análise histológica das gônadas, radioimunoensaio e laparoscopia. Esses métodos, apesar de assertivos, muitas vezes necessitam da eutanásia do animal, além do alto custo financeiro e necessidade de treinamento específico (WIBBELS, 2003; VALENZUELA *et al.*, 2004; WYNEKEN *et al.*, 2007).

Uma alternativa viável e de baixo custo para as abordagens invasivas é a utilização da morfometria geométrica, uma técnica sensível capaz de identificar

diferenças sutis entre os sexos e que não são perceptíveis a olho nu (VALENZUELA *et al.*, 2004).

1.3 MORFOMETRIA GEOMÉTRICA

Ao longo da evolução e do desenvolvimento dos organismos, a percepção das variações morfológicas estava ligada a processos físicos, que eram passíveis de serem descritos matematicamente. A morfometria ganhou embasamento teórico e filosófico no final da década de 1980 e a partir daí criou-se uma área específica que envolve a biologia, estatística e geometria (MONTEIRO & REIS, 1999). Esta área preocupa-se com métodos para descrição e análise estatística das variações morfológicas dentro e entre amostras de organismos, bem como a análise da forma que sofreu alteração durante o crescimento, tratamento experimental ou evolução (ROHLF & MARCUS, 1993).

Os métodos morfométricos são utilizados para descrever e comparar formas tanto de organismos quanto de estruturas, que podem representar diferentes localidades ou estágios de desenvolvimento (ROHLF & MARCUS, 1993). Uma fonte de dados bastante rica em informações para a morfometria geométrica são os marcos anatômicos. São coordenadas as quais estão ligadas a processos biológicos e devem ser bem selecionados antes das análises (MONTEIRO & REIS, 1999).

Neste contexto e considerando a ausência de características morfológicas que permitam o reconhecimento de juvenis da tartaruga-verde, o uso desta ferramenta mais acessível poderá facilitar a identificação dos sexos, colaborando assim para o melhor entendimento da espécie nesta fase e auxiliando nos esforços de conservação.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 AMOSTRAS

Um total de 18 carapaças de tartaruga-verde (*Chelonia mydas*) foram utilizadas neste estudo, sendo oito fêmeas e nove machos. Estas amostras são provenientes de coletas realizadas entre os anos de 2004 e 2007, no litoral do Estado do Paraná (Figura 1). Após o recolhimento destes animais, as medidas básicas de comprimento e largura curvilínea da carapaça foram tomadas, sendo dissecados em seguida com a finalidade de se determinar o sexo através da análise histológica gonadal. De acordo com Rosa (2009) todos os indivíduos foram considerados juvenis por apresentarem tamanho inferior a 80 centímetros de comprimento de carapaça. As amostras de carapaças receberam um número tomo alfanumérico (ex. IPeC 001) e são mantidas no Laboratório de Biologia e Ecologia de Vertebrados no Departamento de Zoologia na Universidade Federal do Paraná.

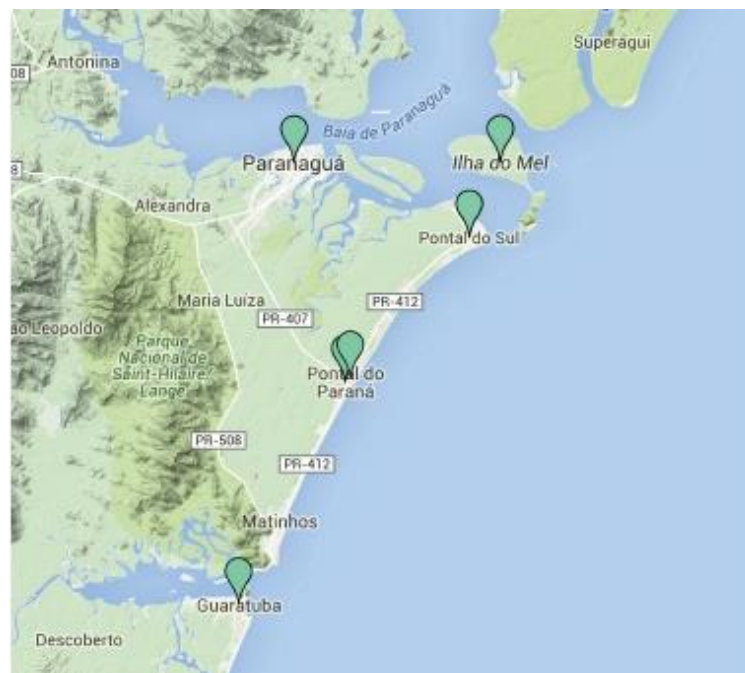


Figura 1: Mapa do litoral do Estado do Paraná com os registros de locais de coleta dos exemplares de *Chelonia mydas* utilizados neste estudo.

FONTE: Google

2.2 COLETA DE DADOS MORFOLÓGICOS

Para a coleta de dados morfológicos foi feito o registro fotográfico das carapaças de tartarugas-verde. As fotografias foram tiradas perpendicularmente, com o auxílio de um tripé posicionado a aproximadamente 1,5 m de altura, utilizando uma câmera digital Nikon COOLPIX P520. Cada fotografia foi tirada duas vezes, uma no modo automático e outra no modo manual, com a finalidade de se garantir a foto com melhor foco.

Após o registro fotográfico, os arquivos foram importados para o *software* tpsUtil (ROHLF, 2005) que converteu as imagens do formato JPEG para TPS, formato reconhecido pela maioria dos *softwares* utilizados para este tipo de análise.

Os marcos anatômicos foram definidos de acordo com observações pessoais de variação e trabalhos que utilizaram a morfometria geométrica em carapaças de Testudines (CLAUDE *et al.*, 2003; VALENZUELA *et al.*, 2004; FERREIRA-JÚNIOR *et al.*, 2011). Foram consideradas as intersecções das escamas vertebrais e caudais, como mostra a Figura 2. Para garantir a homologia espacial das estruturas, a inserção dos marcos seguiu uma mesma ordem, no entanto não estão livres de erros de marcação, uma vez que foram feitos manualmente.

Foram feitas três análises dos marcos anatômicos. Na primeira delas, foram consideradas as escamas vertebrais e caudais em conjunto, na segunda somente as vertebrais e na última somente as caudais. Para uma melhor caracterização do dimorfismo sexual, os animais foram separados de acordo com o tamanho da carapaça em dois grupos, um na faixa dos 30 cm e o outro na faixa dos 40 cm. A digitalização dos marcos anatômicos foi feita utilizando o *software* tpsDig (ROHLF, 2005).

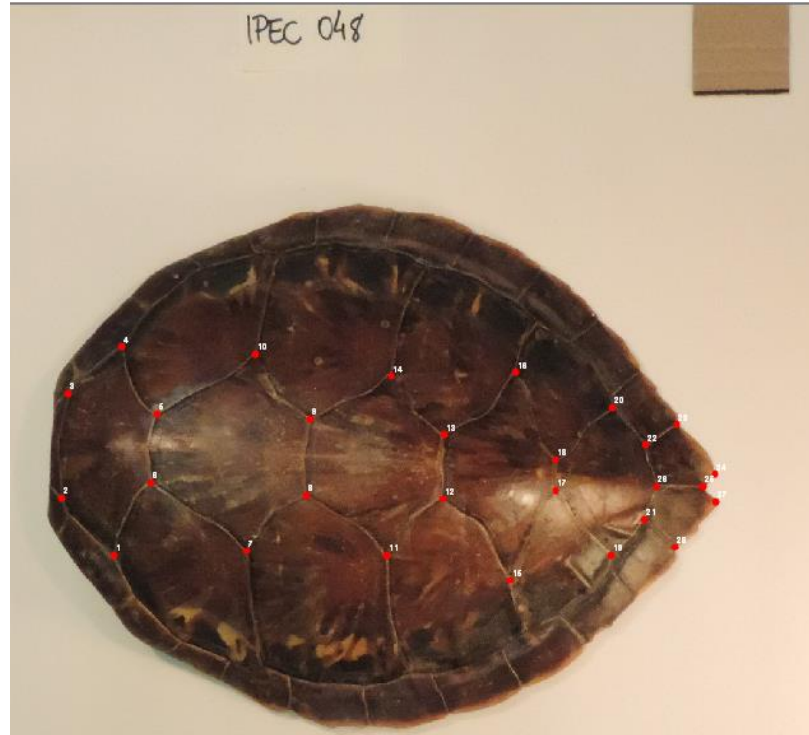


Figura 2: Marcos anatômicos utilizados na análise da morfometria geométrica de machos e fêmeas juvenis de *Chelonia mydas* coletadas no litoral do Estado do Paraná. FONTE: O Autor, 2015.

2.3 ANÁLISE MORFOMÉTRICA DA CARAPAÇA

A existência de variações morfológicas entre machos e fêmeas juvenis de *Chelonia mydas* foi testada utilizando o *software* MorphoJ 1.06d. Este programa extrai as informações de forma contidas nos marcos anatômicos através da sobreposição de procrustes, removendo a variação de tamanho, posição e orientação gerando uma configuração consenso (KLINGENBERG, 2011). A partir desta configuração foi possível gerar uma matriz de dados utilizada na Análise dos Componentes Principais (PCA). O objetivo da PCA é verificar se alguns componentes são capazes de esclarecer as variações nos dados originais (MONTEIRO & REIS, 1999). A partir dos dados da análise dos componentes principais, foi possível gerar uma representação gráfica das formas de machos e fêmeas através da Análise de Deformações. As grades de deformações fornecem informações mais visuais sobre a diferença de forma entre os grupos (VALENZUELA *et al.*, 2004).

Depois de testar as diferentes inserções de marcos anatômicos através da morfometria geométrica, foi possível aplicar uma análise discriminante para testar a eficiência dos resultados obtidos.

3 RESULTADOS

3.1 ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA)

Foram utilizadas 18 carapaças, das quais oito foram previamente identificadas como fêmeas e nove como machos. A partir de um indivíduo exemplo, foram identificados 28 marcos anatômicos na primeira análise, em que foram consideradas as escamas vertebrais e caudais, 22 na segunda considerando apenas as escamas vertebrais e 8 na terceira em que foi considerada apenas as escamas caudais. Houve sobreposição de marcos anatômicos entre a última escama vertebral e as escamas caudais, sendo dois marcos anatômicos coincidentes.

A figura 3 mostra a representação gráfica da análise dos componentes principais das carapaças de machos e fêmeas juvenis. Nos gráficos A, B e C é possível notar um padrão semelhante de distribuição dos indivíduos, no entanto não há uma separação precisa entre machos e fêmeas.

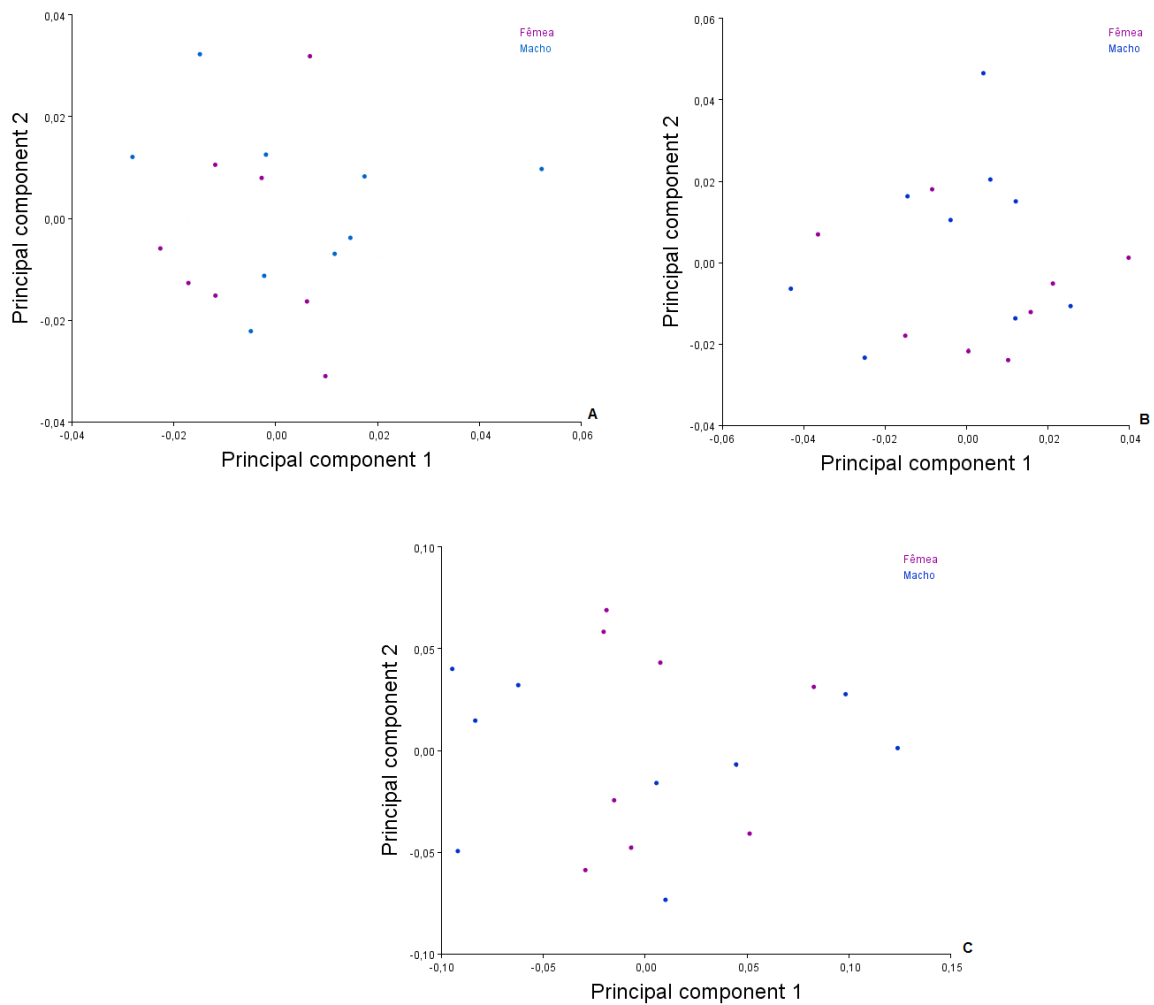


Figura 3: Dispersão dos indivíduos machos e fêmeas de *C. mydas*, coletadas no litoral do Estado do Paraná, no espaço formado pelo primeiro e segundo componentes principais. (A) dispersão dos indivíduos considerando as escamas vertebrais e caudais de machos e fêmeas (B) dispersão dos indivíduos considerando as escamas vertebrais de machos e fêmeas (C) dispersão dos indivíduos considerando as escamas caudais de machos e fêmeas. Pontos em azul representam indivíduos machos e pontos em roxo representam indivíduos fêmeas.

Através das análises de deformação de forma e da representação gráfica da forma das escamas em relação à configuração média, foi possível avaliar as diferenças anatômicas entre fêmeas e machos.

Quando analisadas as escamas vertebrais e caudais em conjunto, as diferenças de forma da carapaça apresentaram deformações evidentes na segunda, terceira e quarta escama vertebral de fêmeas e machos. No entanto, essa diferença não foi suficiente para a separação dos sexos (Figura 4).

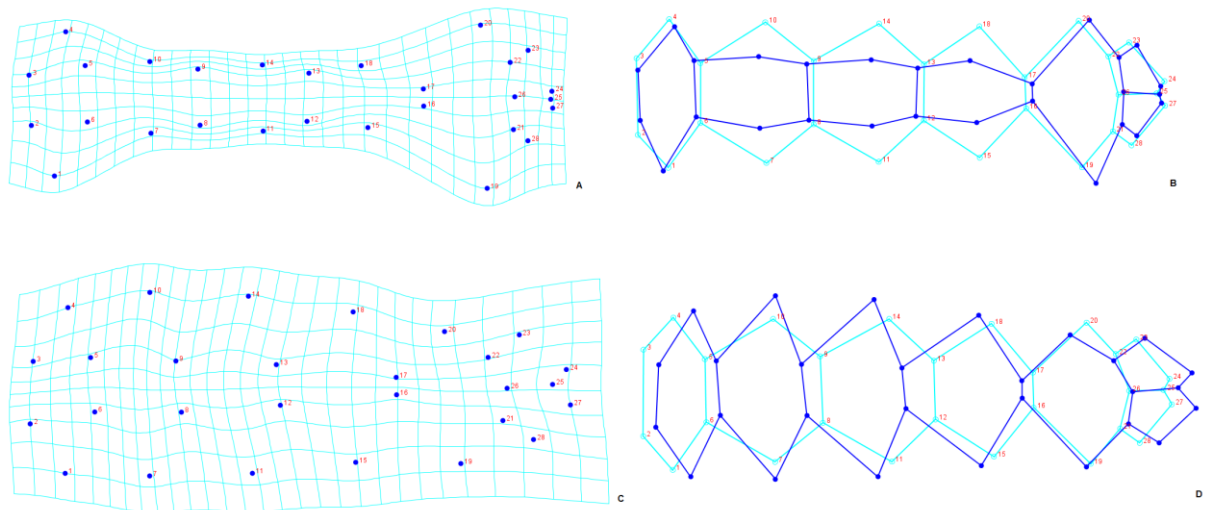


Figura 4: Grades de deformações representando a média da forma do conjunto de escamas vertebrais e caudais de (A) fêmeas (C) machos. Reconstrução gráfica da forma das escamas de *C. mydas*, coletadas no litoral do Estado do Paraná: (B) fêmeas (D) machos. As linhas escuras representam a configuração das escamas de fêmeas e machos e as linhas mais claras a configuração consenso.

A análise das escamas vertebrais também apresentou deformação na segunda, terceira e quarta escama vertebral de fêmeas e machos e o dimorfismo sexual não foi evidente, assim como variações de forma. As demais escamas mantiveram-se muito próximas da configuração consenso, não sendo possível separá-las por sexo (Figura 5).

As escamas caudais apresentaram uma leve deformação no encontro das duas escamas, mas não há variações evidentes na forma e o dimorfismo não foi detectado. As escamas mantiveram-se muito próximas da configuração consenso, não sendo possível separá-las por sexo (Figura 6).

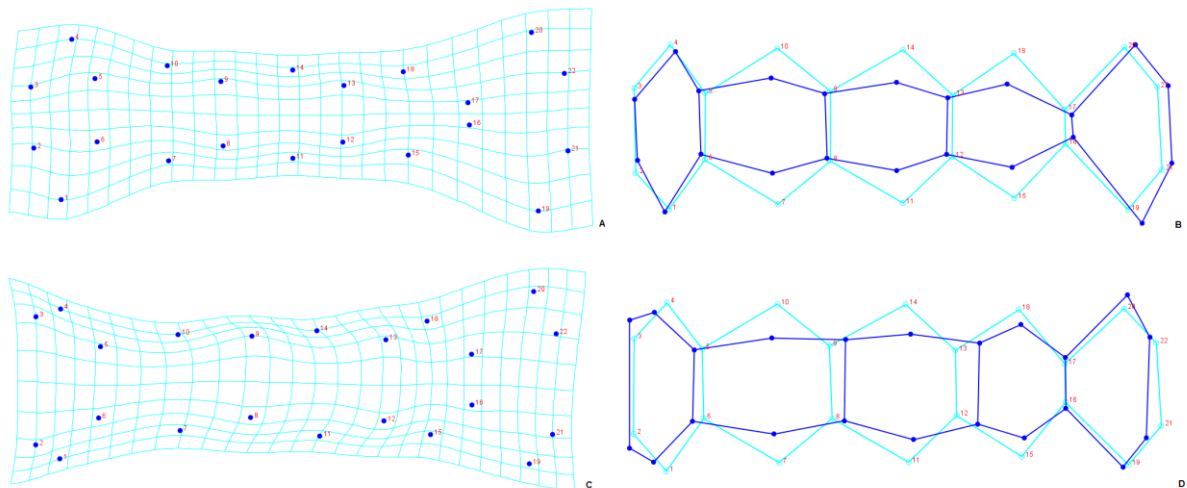


Figura 5: Grades de deformações representando a média da forma das escamas vertebrais de (A) fêmeas (C) machos. Reconstrução gráfica da forma das escamas de *C. mydas*, coletadas no litoral do estado do Paraná: (B) fêmeas (D) machos. A orientação segue a Figura 2 com as escamas anteriores para a esquerda. As linhas escuras representam a configuração das escamas de fêmeas e machos e as linhas mais claras a configuração consenso.

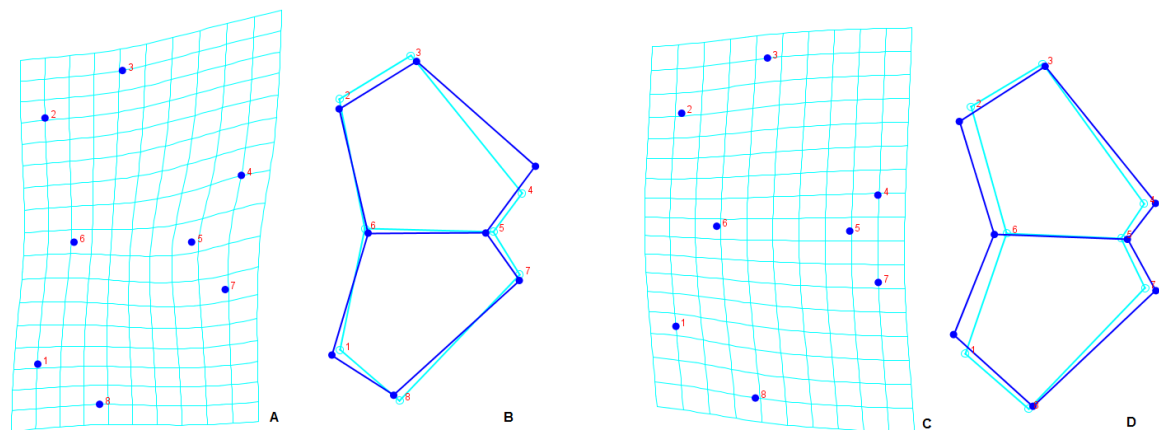


Figura 6: Grades de deformações representando a média da forma das escamas caudais de (A) fêmeas (C) machos. Reconstrução gráfica da forma das escamas de *C. mydas*, coletadas no litoral do Estado do Paraná: (B) fêmeas (D) machos. A orientação segue a Figura 2 com as escamas anteriores para a esquerda. As linhas escuras representam a configuração das escamas de fêmeas e machos e as linhas mais claras a configuração consenso.

Como foi possível observar nos gráficos de dispersão, nas grades de deformação e nas representações gráficas da forma, considerando todas as faixas de tamanho, não houve uma diferença significativa entre machos e fêmeas que pudesse ser detectada como dimorfismo sexual.

3.1.2 CLASSIFICAÇÃO POR TAMANHO

As 19 amostras foram subdivididas em 3 classes de tamanho, de acordo com o comprimento curvilíneo da carapaça (CCC): Classe 1 em que estão representados os indivíduos com CCC de 30 a 39 cm, Classe 2 em que estão representados os indivíduos com CCC de 40-49 cm e Classe 3 os indivíduos com CCC de 50-59 cm. No entanto, a Classe 3 estava representada por um único indivíduo, sendo, por isso, excluída das análises. Cada classe foi subdividida de acordo com as escamas como já descrito anteriormente.

3.1.2.1 CLASSE 1

A representação gráfica da análise dos componentes principais das carapaças de machos e fêmeas juvenis da classe 1 (30 – 39 cm) está demonstrada na figura 7. No gráfico A está a distribuição dos exemplares com base nas escamas vertebrais e caudais, no gráfico B, com base apenas nas escamas vertebrais, e em C apenas as escamas caudais. Os indivíduos se mantiveram dispersos, mas não há uma separação clara dos sexos.

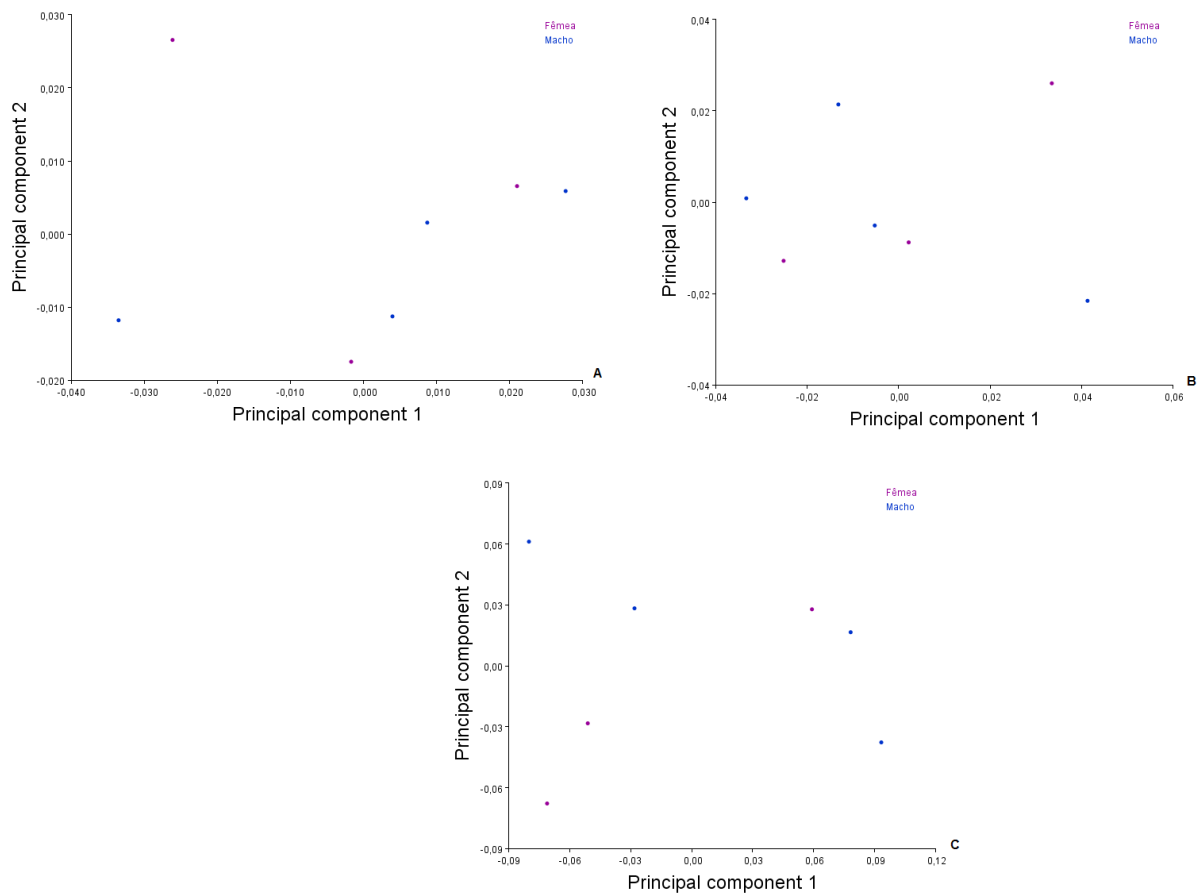


Figura 7: Dispersão dos indivíduos machos e fêmeas de *C. mydas*, coletadas no litoral do Estado do Paraná, com CCC de 30 – 39 cm, no primeiro e segundo componentes principais (A) dispersão dos indivíduos considerando as escamas vertebrais e caudais de machos e fêmeas (B) dispersão dos indivíduos considerando as escamas vertebrais de machos e fêmeas (C) dispersão dos indivíduos considerando as escamas caudais de machos e fêmeas. Pontos em azul representam indivíduos machos e pontos em roxo representam indivíduos fêmeas.

Através das análises de deformação de forma e da representação gráfica da forma das escamas em relação à configuração média, foi possível avaliar as diferenças anatômicas entre fêmeas e machos.

Quando analisadas as escamas vertebrais e caudais em conjunto, as diferenças de forma da carapaça apresentaram deformações evidentes na segunda, terceira e quarta escama vertebral de fêmeas e machos. Os machos apresentaram uma maior deformação na última escama vertebral. No entanto, essa diferença não foi suficiente para a separação dos sexos (Figura 8).

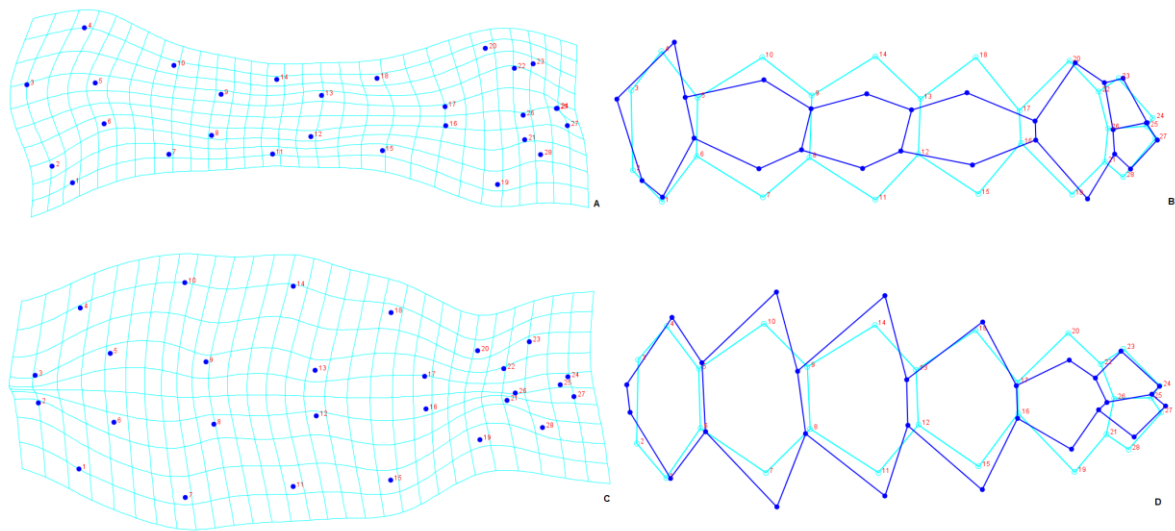


Figura 8: Grades de deformações representando a média da forma do conjunto de escamas vertebrais e caudais de (A) fêmeas (C) machos. Reconstrução gráfica da forma das escamas de *C. mydas*, coletadas no litoral do Estado do Paraná, com CCC de 30 -39 cm: (B) fêmeas (D) machos. As linhas escuras representam a configuração das escamas de fêmeas e machos e as linhas mais claras a configuração consenso.

A análise das escamas vertebrais também apresentou deformação na segunda, terceira e quarta escama vertebral de fêmeas e machos e o dimorfismo sexual não foi evidente, assim como grandes variações de forma. A primeira escama vertebral de fêmeas e machos apresentou uma pequena variação, porém, mantiveram-se muito próximas da configuração consenso, não sendo possível separá-las por sexo. (Figura 9).

As escamas caudais apresentaram uma leve deformação no encontro das duas escamas, mas não há variações evidentes na forma e o dimorfismo não foi detectado. As escamas mantiveram-se muito próximas da configuração consenso, não sendo possível separá-las por sexo (Figura 10).

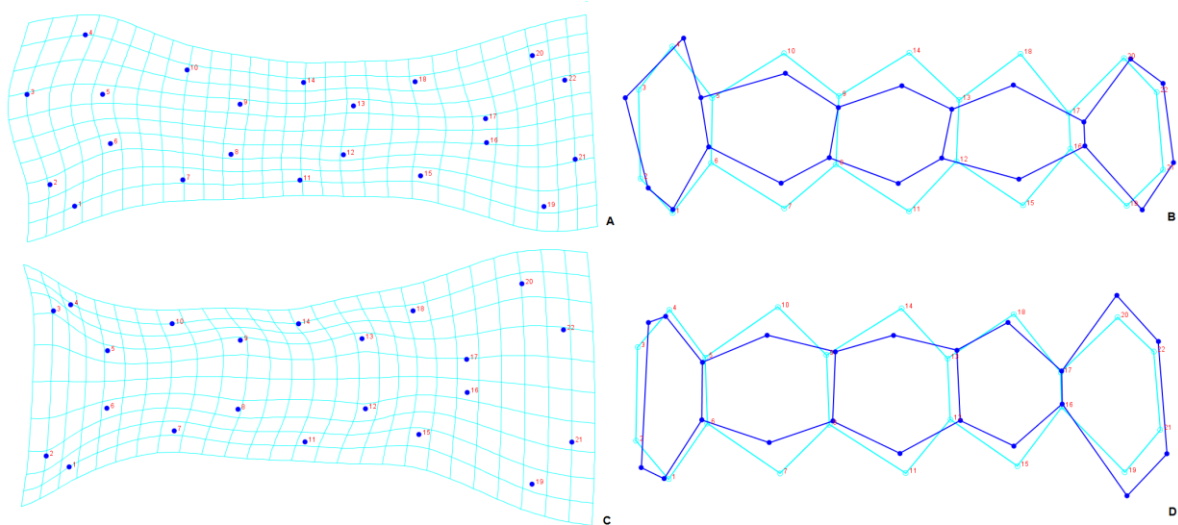


Figura 9: Grades de deformações representando a média da forma das escamas vertebrais de (A) fêmeas (C) machos. Reconstrução gráfica da forma das escamas de *C. mydas*, coletadas no litoral do Estado do Paraná, com CCC de 30 -39 cm: (B) fêmeas (D) machos. As linhas escuras representam a configuração das escamas de fêmeas e machos e as linhas mais claras a configuração consenso.

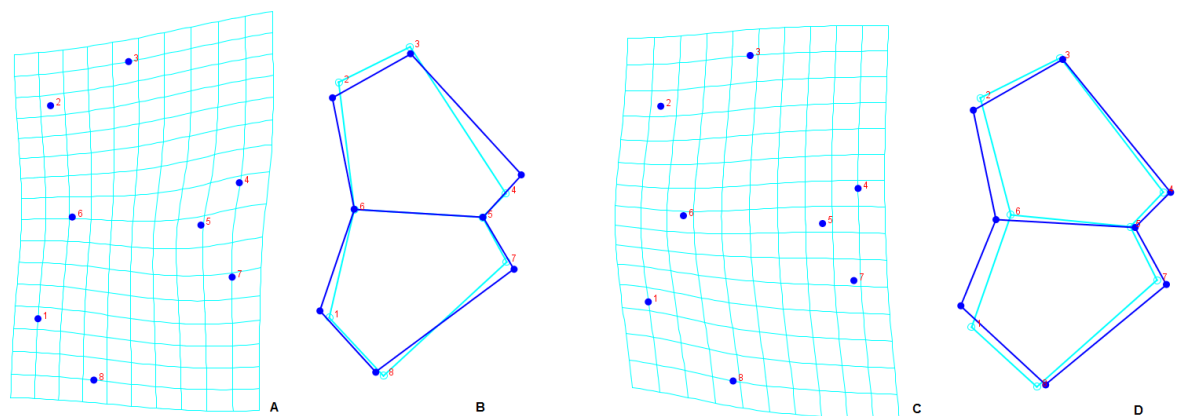


Figura 10: Grades de deformações representando a média da forma das escamas caudais de (A) fêmeas (C) machos. Reconstrução gráfica da forma das escamas de *C. mydas*, coletadas no litoral do Estado do Paraná, com CCC de 30 -39 cm: (B) fêmeas (D) machos. As linhas escuras representam a configuração das escamas de fêmeas e machos e as linhas mais claras a configuração consenso.

Como foi possível observar nos gráficos de dispersão, nas grades de deformação e nas representações gráficas da forma, considerando apenas os espécimes que estavam na faixa de comprimento curvilíneo da carapaça de 30 cm, não houve uma diferença significativa entre machos e fêmeas que pudesse ser detectada como dimorfismo sexual.

3.1.2.2 CLASSE 2

A figura 11 mostra a representação gráfica da análise dos componentes principais das carapaças de machos e fêmeas juvenis com CCC entre 40 e 49 cm. A análise das escamas vertebrais e caudais, gráfico A, evidenciou que existe uma forte tendência de separação dos sexos. Esta tendência é observada também no gráfico B, quando apenas as escamas vertebrais foram analisadas. Entretanto, no gráfico C é possível notar que uma pequena sobreposição dos indivíduos machos e fêmeas se mantém.

Outra forma de observar a tendência de separação dos sexos é dividir os gráficos A e B em quadrantes (Figura 12). Entretanto, quando analisado desta forma, nota-se que um exemplar fêmea está inserido no quadrante pertencente aos machos. Esta fêmea foi identificada e este resultado pode estar relacionado ao fato das escamas vertebrais da carapaça apresentarem dificuldade na inserção dos marcos anatômicos (Figura 13).

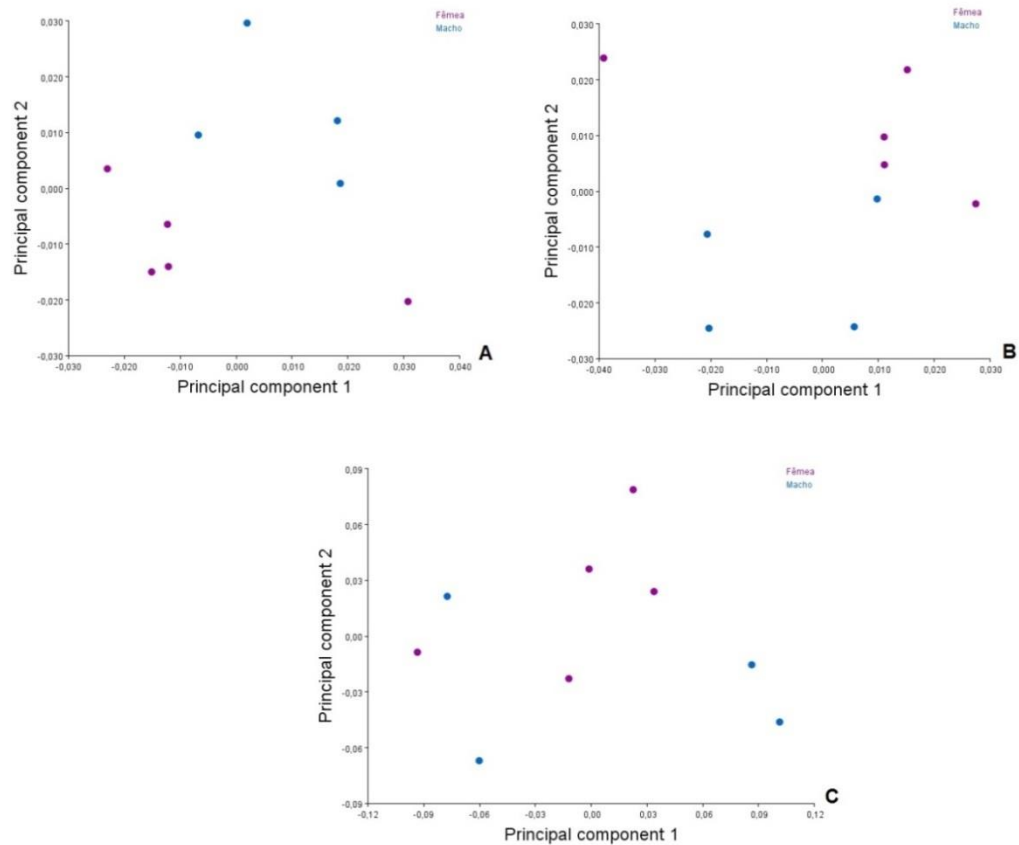


Figura 11: Dispersão dos indivíduos machos e fêmeas de *C. mydas*, coletadas no litoral do Estado do Paraná, com CCC de 40 – 49 cm, no primeiro e segundo componentes principais (A) dispersão dos indivíduos considerando as escamas vertebrais e caudais de machos e fêmeas (B) dispersão dos indivíduos considerando as escamas vertebrais de machos e fêmeas (C) dispersão dos indivíduos considerando as escamas caudais de machos e fêmeas. Pontos em azul representam indivíduos machos e pontos em roxo representam indivíduos fêmeas.

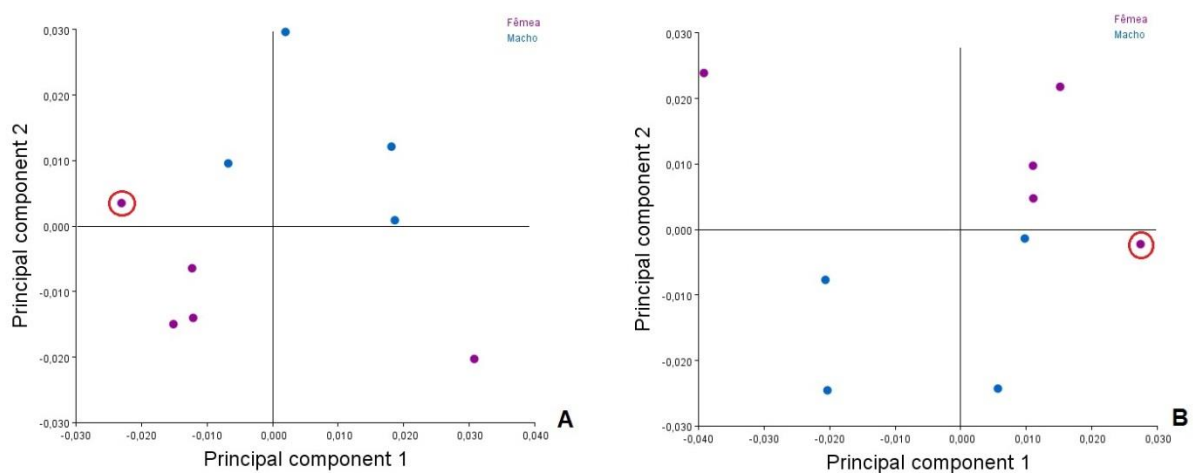


Figura 12: Dispersão dos indivíduos machos e fêmeas de *C. mydas*, coletadas no litoral do Estado do Paraná, com CCC de 40 – 49 cm, no primeiro e segundo componentes principais separados por quadrantes (A) dispersão dos indivíduos considerando as escamas vertebrais e caudais de machos e fêmeas; (B) dispersão dos indivíduos considerando as escamas vertebrais de machos e fêmeas.



Figura 13: Exemplar fêmea de tartaruga-verde com sobreposição de escamas vertebrais dificultando a inserção correta dos marcos anatômicos. FONTE: O Autor, 2015.

Através das análises de deformação de forma e da representação gráfica da forma das escamas em relação à configuração média, foi possível avaliar as diferenças anatômicas entre fêmeas e machos.

A análise das escamas vertebrais e caudais gerou padrões de deformação bastante distintos entre fêmeas e machos, bem como as variações de forma. As fêmeas apresentaram deformações na segunda, terceira e quarta escama vertebral, divergindo da configuração consenso, no entanto, as demais escamas mantiveram-se próximas do consenso. Os machos apresentaram pouca deformação, sendo mais evidente apenas na última escama vertebral e nas caudais, as demais escamas mantiveram-se próximas do consenso (Figura 14).

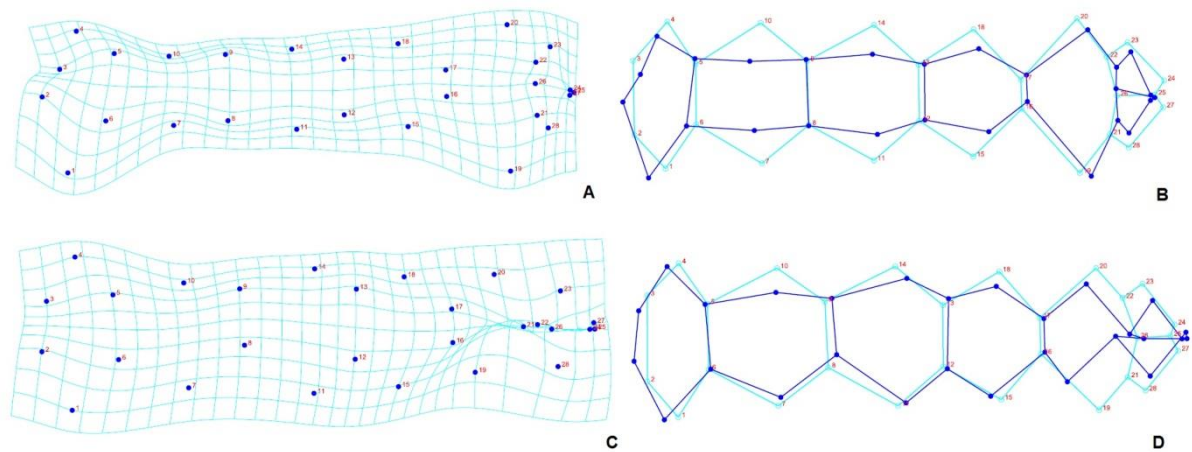


Figura 14: Grades de deformações representando a média da forma de escamas vertebrais e caudais de (A) fêmeas (C) machos. Reconstrução gráfica da forma das escamas de *C. mydas*, coletadas no litoral do Estado do Paraná, com CCC de 40 -49 cm: (B) fêmeas (D) machos. As linhas escuras representam a configuração das escamas de fêmeas e machos e as linhas mais claras a configuração consenso.

Quando analisadas apenas as escamas vertebrais, as amostras apresentaram poucas variações de forma e pouca deformação entre os sexos. As fêmeas divergiram da configuração consenso na segunda, terceira e quarta escamas. Já os machos apresentaram divergência na última escama vertebral (Figura 15).

As escamas caudais apresentaram uma leve deformação no encontro das duas escamas, mas não há variações evidentes na forma e o dimorfismo não foi detectado. As escamas mantiveram-se muito próximas da configuração consenso, não sendo possível separá-las por sexo (Figura 16).

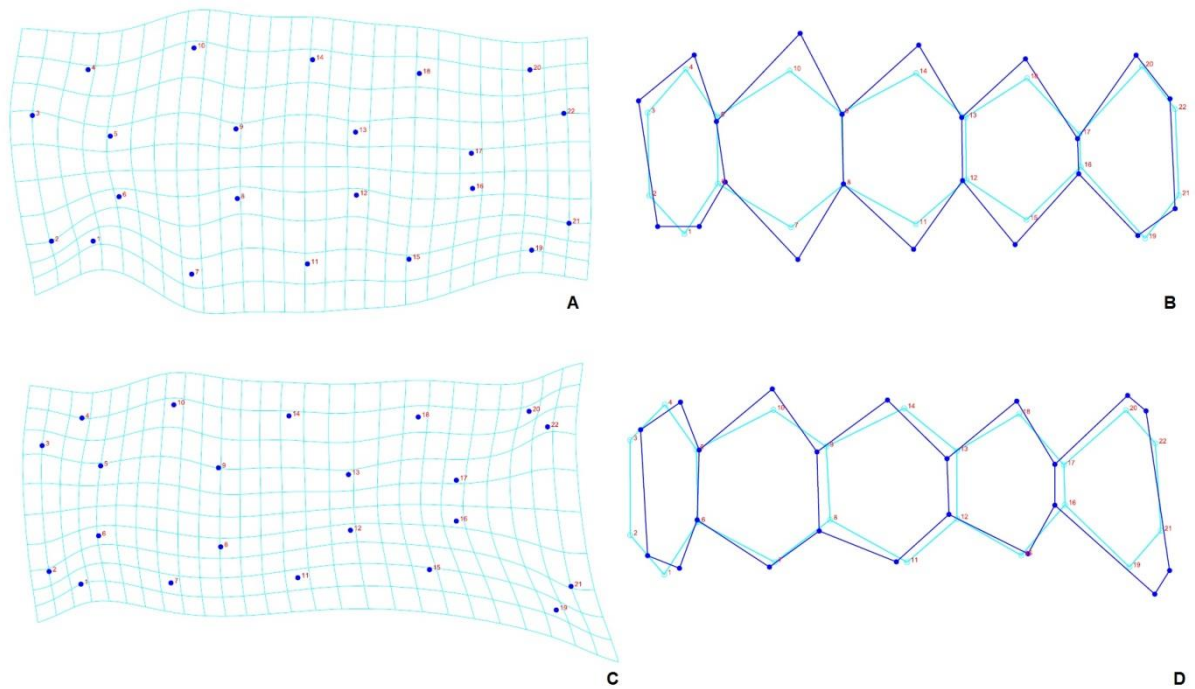


Figura 15: Grades de deformações representando a média da forma das escamas vertebrais de (A) fêmeas (C) machos. Reconstrução gráfica da forma das escamas de *C. mydas*, coletadas no litoral do Estado do Paraná, com CCC de 40 -49 cm: (B) fêmeas (D) machos. As linhas escuras representam a configuração das escamas de fêmeas e machos e as linhas mais claras a configuração consenso.

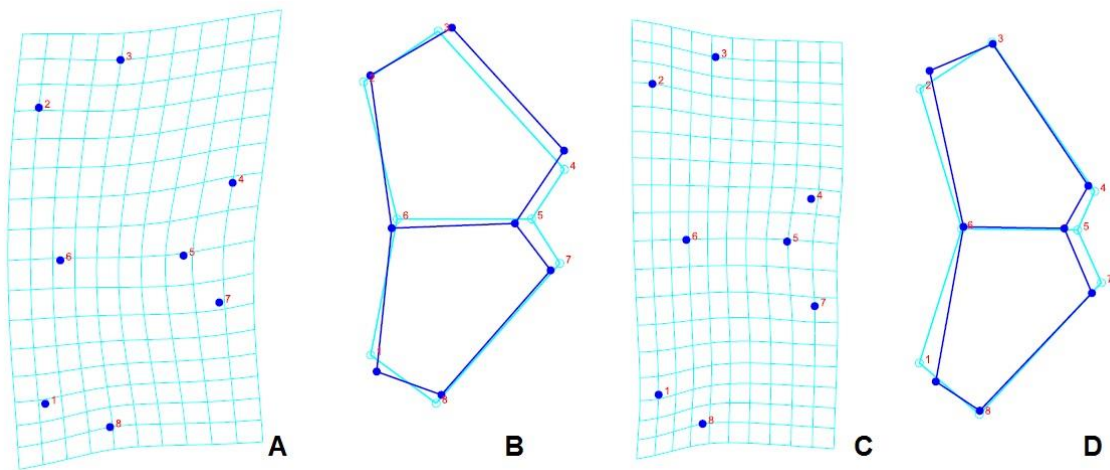


Figura 16: Grades de deformações representando a média da forma das escamas caudais de (A) fêmeas (C) machos. Reconstrução gráfica da forma das escamas de *C. mydas*, coletadas no litoral do Estado do Paraná, com CCC de 40 -49 cm: (B) fêmeas (D) machos. As linhas escuras representam a configuração das escamas de fêmeas e machos e as linhas mais claras a configuração consenso.

Como foi possível observar nos gráficos de dispersão, nas grades de deformação e nas representações gráficas da forma, considerando apenas a faixa de comprimento curvilíneo da carapaça de 40 cm, houve uma diferença significativa entre machos e fêmeas que pode ser detectada como dimorfismo sexual. O dimorfismo se torna mais evidente quando analisadas as escamas vertebrais e caudais em conjunto.

A análise discriminante dos resultados significativos está demonstrada na tabela abaixo. Os resultados foram idênticos quando aplicada a análise discriminante para escamas vertebrais e caudais e apenas escamas vertebrais. A porcentagem de validação cruzada indica que 89% da amostra foi separada corretamente de acordo com o sexo.

TABELA 1: RESULTADO DA ANÁLISE DISCRIMINANTE ENTRE OS SEXOS DE CHELONIA MYDAS COLETADAS NO ESTADO DO PARANÁ.

	Grupo	Fêmeas	Machos	Validação cruzada
Função Discriminante	Fêmeas	5	0	89%
	Machos	1	3	
Validação Cruzada	Fêmeas	4	1	
	Machos	0	4	

4 DISCUSSÃO

Conhecer a razão sexual de espécies de tartarugas marinhas está intimamente ligado aos programas de conservação, pois a variação na proporção entre os sexos pode explicar as mudanças na estrutura populacional. Por exemplo, a diferença na proporção de machos e fêmeas na natureza pode representar a diminuição no tamanho efetivo da população, perda de variabilidade genética e de potencial reprodutivo (MORFIN *et al.*, 2001). Além disso, por apresentarem a diferenciação sexual dependente de temperatura, estimar a proporção sexual destas tartarugas, em geral, pode indicar possíveis alterações nos sistemas biológicos causadas pelas mudanças de temperatura global (JANZEN, 1994).

As características sexuais secundárias de tartarugas marinhas juvenis não são visíveis a olho nu. As técnicas para identificação do sexo nesta fase são invasivas, com alto custo financeiro e muitas vezes necessitam da eutanásia do animal. Diante disso, são técnicas que vão contra os esforços de conservação, pois se tratam de espécies ameaçadas de extinção (VALENZUELA *et al.*, 2004; MARCOVALDI *et al.*, 2014). O uso de uma ferramenta capaz de identificar o sexo de tartarugas marinhas na fase juvenil através das características morfológicas externas é necessário, uma vez que até mesmo a análise histológica gonadal pode apresentar dificuldades em indivíduos mortos dependendo do estado de decomposição do animal (LAZAR, *et al.*, 2008).

A utilização de morfometria geométrica para avaliar a existência de dimorfismo sexual em filhotes de testudines se mostrou eficiente em exemplares de *Podocnemis expansa* (VALENZUELA *et al.*, 2004;), *Trachemys scripta* (MYERS *et al.*, 2006) e *Caretta caretta* (FERREIRA-JÚNIOR *et al.*, 2011). Para *Chelonia mydas* juvenis o dimorfismo sexual foi encontrado utilizando a morfometria tradicional, sendo detectada a separação dos sexos nas larguras das unhas e na razão entre comprimento e largura vertebrais em uma das classes analisadas (ROSA, 2009), contudo, a pequena variação na largura da unha pode não ser detectada na dependência do desgaste da queratina e as vértebras só podem ser avaliadas em exemplares mortos, o que faz com que a avaliação de juvenis vivos continue a ser inviável.

O uso da técnica de morfometria geométrica não se mostrou eficiente quando a amostra é composta por um número de indivíduos com tamanhos diferentes. Quando analisadas as conformações médias das escamas, as variações de forma, apesar de visíveis, não são suficientes para detectar a presença de dimorfismo sexual.

Devido ao fato de a amostra apresentar diferentes faixas de comprimento curvilíneo da carapaça, a classificação por tamanho objetivou analisar se a separação dos sexos está relacionada com diferentes estágios de crescimento. A primeira classe de tamanho foi composta por indivíduos que estavam compreendidos entre 30 a 39 cm de comprimento curvilíneo da carapaça. Esta classe apresentou a distribuição dos indivíduos semelhante à análise com a amostra total. Quando analisadas pelas grades de deformação, as escamas vertebrais de machos e fêmeas apresentaram padrões opostos de deformações, que reforça a existência de diferenciação, porém esta variação não foi suficiente para determinar a separação dos sexos.

A segunda classe de tamanho, composta por indivíduos compreendidos entre 40 a 49 cm de comprimento curvilíneo da carapaça, apresentou uma forte tendência de separação dos sexos, especialmente quando as análises incluíam as escamas vertebrais. Esta diferenciação nas escamas vertebrais de machos e fêmeas já havia sido detectada em filhotes de *Podocnemis expansa* (VALENZUELA *et al.*, 2004), contudo, por serem organismos pouco aparentados (GUILLON *et al.*, 2012) e possivelmente com diferentes pressões evolutivas, os resultados encontrados em tartarugas de água doce e marinhas podem não ser equivalentes. O gráfico de dispersão das escamas vertebrais reforça a separação dos sexos, especialmente quando dividido em quadrantes. Entretanto, um exemplar identificado como fêmea permaneceu no quadrante representado pelos machos. Este exemplar apresentou dificuldade na inserção dos marcos anatômicos, uma vez que as escamas dorsais estão sobrepostas em camadas, dificultando a delimitação do encontro destas com as vertebrais laterais e entre as vertebrais. Esta pode ser uma das explicações para que esta fêmea apresentasse características semelhantes aos machos, no entanto outras explicações são possíveis como, por exemplo, a identificação incorreta do sexo.

A existência de dimorfismo sexual na carapaça de indivíduos que medem mais de 40 cm foi reforçada pela análise discriminante. Com base na validação cruzada, feita a partir dos resultados gerados pela análise discriminante, 89% da amostra foi alocada corretamente. Isto significa que existe uma grande probabilidade de que a carapaça de um indivíduo coletado aleatoriamente seja classificada corretamente apenas utilizando os dados morfométricos. Este resultado é satisfatório para discriminar os sexos, mesmo que alguns poucos exemplares possam não atender às características e confirma os resultados obtidos por Rosa (2009) nesta classe de tamanho.

O dimorfismo sexual presente nas escamas vertebrais foi surpreendente, pois, a princípio, as primeiras observações nos gráficos de dispersão apontavam para um suposto dimorfismo nas escamas caudais. Isto poderia ser explicado pelo fato de que as escamas caudais poderiam sofrer modificações nos machos para proteger a longa cauda e o órgão copulador na fase adulta. Esta hipótese não pode ser descartada, uma vez que este resultado poderá ficar mais claro numa possível Classe 3, envolvendo indivíduos com mais de 50 cm, ou mesmo com uma amostra maior e com intervalos menores de tamanho. Contudo, a explicação biológica para este dimorfismo, nas escamas vertebrais, permanece em aberto.

O uso da morfometria tradicional para identificar dimorfismo sexual, apresentou resultados satisfatórios quando aplicada nas características morfológicas do plastrão de *Lepidochelys olivacea* (MORFIN *et al.*, 2001.) Apesar de se tratarem de indivíduos biologicamente distintos, não se deve descartar a ideia de se aplicar a morfometria geométrica também nos plastrões de tartarugas-verde.

Assim, por tudo o que foi exposto, fica evidente a existência de dimorfismo, pelo menos em uma das classes analisadas, o que torna o resultado importante para programas de conservação em condições naturais, pois representa uma alternativa não-letal às técnicas utilizadas para identificação sexual de tartarugas marinhas.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A. P.; SANTOS, A. J. B.; THOMÉ, J. C. A.; BELINI, C.; BAPTISTOTTE, C.; MARCOVALDI, M. A.; SANTOS, A. S.; LOPEZ, M. Avaliação do Estado de Conservação da Tartaruga Marinha *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) no Brasil. **Revista Biodiversidade Brasileira**, n.1, p.12-19, 2011.

CITES. **Convention on International Trade Endangered Species**. Appendice II. Disponível em <<https://cites.org/eng/app/appendices.php>> . Acesso em 23 de outubro de 2015.

CLAUDE, J.; PARADIS, E.; TONG, H.; AUFRAY, J. C. A geometric morphometric assessment of the effects of environment and cladogenesis on the evolution of the turtle shell. **Biological Journal of the Linnean Society**, n.79, p. 485–501, 2003.

FERREIRA-JÚNIOR, P. D. **Aspectos Ecológicos da Determinação Sexual em Tartarugas**. Acta Amazônica, v. 39, n.1, p.139-154, 2009.

FERREIRA-JÚNIOR, P.D.; TREICHEL, R. L.; SCARAMUSSA, T. L.; SCALFONI, J. T. Morphometric pattern in *Caretta caretta* (Linnaeus, 1758) (Cheloniidae) hatchlings from nests with different embryo development rates. **Brazilian Journal of Biology**, v.71, n.1, 2011.

HIRTH, H. F. **Synopsis of biological data on the green turtle *Chelonia mydas* (Linnaeus) 1758**. FAO Fisheries Synopsis, n. 85, 1971.

GUILLON, J. M.; GUÉRY, L.; HULIN, V.; GIRONDOT, M. A large phylogeny of turtles (Testudines) using molecular data. **Contributions to Zoology**, 81(3), p. 147-158, 2012.

ICMBio. **Lista Nacional das Espécies Ameaçadas de Extinção – 2014**. Disponível em <<http://www.icmbio.gov.br/portal/biodiversidade/fauna-brasileira/lista-de-especies.html>>. Acesso em 23 de outubro de 2015.

IUCN. **The 2014 IUCN Red List of Threatened Animals**. Disponível em: <<http://www.redlist.org>>. Acesso em 23 de outubro de 2015.

JANZEN, F. J. Climate change and temperature-dependent sex determination in reptiles. Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America, **Population Biology**, v. 91, p. 7487-7490, 1994.

KLINGENBERG, C. P. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. Computer Program. Version 1.06d. **Molecular Ecology Resources**, n.11, p. 353-357, 2011. Disponível em: <http://www.flywings.org.uk/MorphoJ_page.htm> Acesso em 27 de setembro de 2015.

LAZAR, B.; LACKOVIC, G.; CASALE, P.; FREGGI, D.; TVRTKOVIC, N. Histological validation of gonad gross morphology to sex juvenile loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*). **Herpetological Journal**, n.18, p. 137-140, 2008.

MARCOVALDI, M. A.; MARCOVALDI, G. G. D. Marine turtles of Brasil: the history and structure of Projeto TAMAR – IBAMA. **Biological Conservation**, n.91, p.1-41, 1999.

MARCOVALDI, M. A.; SANTOS, A. J. B., SANTOS, A. S.; SOARES, L. S.; LOPEZ, G. G.; GODFREY, M. H.; MENDILAHARSU, M. L.; FUENTES, M. M. P. B. **Spatio-temporal variation in the incubation duration and sex ratio of hawksbill hatchlings: Implication for future management**. Journal of Thermal Biology, n.44, p.70–77, 2014.

MÁRQUEZ, M, R. **FAO Species Catalogue: Sea turtles of the world**. FAO Fishery Synopsis, v.11, n.125, p.1-81, 1990.

MONTEIRO, L. R.; REIS, S. F. **Princípios de morfometria geométrica**. 1ed. SP: Holos, 1999.

MORFIN, J. E. M.; MUÑOZ, V. M. G.; RODRÍGUEZ, C. N. Morphometric Model for Sex Assessment in Hatchling Olive Ridley Sea Turtles. **Chelonian Conservation and Biology**, 4(1), p. 53-58, 2001.

MROSOVSKY, N.; YNTEMA, C. L. **Temperature dependence of sexual differentiation in sea turtles: Implications for conservation practices**. Biological Conservation, n.18, p.271-80, 1980.

MYERS, E. M.; JANZEN, F. J.; ADAMS, D. C.; TUCKER, J. K. Quantitative genetics of plastron shape in slider turtles (*Trachemys scripta*). **Evolution**, 60(3), p. 563 – 572, 2006.

PRITCHARD, P. C. H. Evolution, Phylogeny, and Current Status. In: LUTZ, P. L.; MUSICK, J. A. **The Biology of Sea Turtles**. 1 ed. USA: CRC Press, v.1, p. 1–28, 1997.

PRITCHARD, P. C. H.; MORTIMER, J. A. Taxonomy, External Morphology, and Species Identification. In: ECKERT, K. L.; BJORNDAL, K. A.; ABREU-GROBOIS, F. A.; DONNELLY, M. Research and Management Techniques for the Conservation of Sea Turtles. IUCN/SSC **Marine Turtle Specialist Group Publication**, n. 4, p.21-38, 1999.

ROHLF, J. F.; MARCUS, L. F. **A revolution in morphometrics**. *Tree*, v.8, n.4, p.129-132, 1993.

ROHLF, F. J. **TpsUtil for Windows version 1.38**. Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook. 2005. Disponível em: <<http://life.bio.sunysb.edu/morph/>> Acesso em 20 de agosto de 2015.

ROHLF, F. J. **TpsDig2 for Windows version 2.10**. Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook. 2006a. Disponível em: <<http://life.bio.sunysb.edu/morph/>> Acesso em 20 de agosto de 2015.

ROSA, L. **Estudo da biologia reprodutiva na fase juvenil da tartaruga-verde (*Chelonia Mydas*) no litoral do estado do Paraná**. 72f. Dissertação (Mestrado em Sistemas Costeiros e Oceânicos) – Centro de Estudos do Mar, Universidade Federal do Paraná, Pontal do Paraná, 2009.

SILVEIRA, B. E. **Morfometria geométrica comparativa de asas de Sarcophagidae (Diptera) de interesse forense: uma ferramenta eficaz para a identificação?**. 76f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Área de Concentração em Entomologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

SPOTILA, J. R. **Sea turtles: a complete guide to their biology, behavior and conservation**. 1 ed. USA: The Johns Hopkins University Press, 2004.

TAMAR. **Projeto TAMAR – Programa Brasileiro de Conservação das Tartarugas Marinhas/ICMBio**. Disponível em < <http://www.tamar.org.br> >. Acesso em 23 de outubro de 2015.

VALENZUELA, N.; ADAMS, D.C.; BOWDEN, R.M.; GAUGER, A.C. Geometric morphometric sex estimation for hatchling turtles: A powerful alternative for detecting subtle sexual shape dimorphism. **Copeia**, n.4, p.735-742, 2004.

WIBBELS, T. Critical approaches to sex determination in sea turtles. In: LUTZ, P. L.; MUSICK, J. A.; WYNEKEN, J. **The Biology of Sea Turtles**. 1 ed. USA: CRC Press, v.2, p. 103–134, 2003.

WYNEKEN, J. **The Anatomy of Sea Turtles**. 1 ed. U.S. Department of Commerce NOAA Technical Memorandum, 2001.

WYNEKEN, J.; EPPERLY, P. S.; CROWDER, L. B.; VAUGHAN, J.; ESPER, K. B. Determining sex in posthatchling loggerhead sea turtles using multiple gonadal and accessory duct characteristics. **Herpetologica**, 63(1), p. 19–30, 2007.