

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

VALÉRIA FERNANDA COELHO

**O QUE A MORFOLOGIA CRANIANA PODE DIZER SOBRE VARIABILIDADE
INTRAESPECÍFICA, EVOLUÇÃO E COMPORTAMENTO DAS TARTARUGAS-
VERDE JUVENIS?: UMA FERRAMENTA IMPORTANTE PARA A
CONSERVAÇÃO DAS TARTARUGAS MARINHAS NO SUDOESTE DO
OCEANO ATLÂNTICO**

PONTAL DO PARANÁ

2015

VALÉRIA FERNANDA COELHO

**O QUE A MORFOLOGIA CRANIANA PODE DIZER SOBRE VARIABILIDADE
INTRAESPECÍFICA, EVOLUÇÃO E COMPORTAMENTO DAS TARTARUGAS-
VERDE JUVENIS?: UMA FERRAMENTA IMPORTANTE PARA A
CONSERVAÇÃO DAS TARTARUGAS MARINHAS NO SUDOESTE DO
OCEANO ATLÂNTICO**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Sistemas Costeiros e Oceânicos, no Curso de Pós-Graduação em Sistemas Costeiros e Oceânicos, Centro de Estudos do Mar, Setor de Ciências da Terra, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Dra. Camila Domit
Co-orientador: Dr. Maurício Garcia de Camargo

PONTAL DO PARANÁ

2015

CATALOGAÇÃO NA FONTE:
UFPR / SiBi - Biblioteca do Centro de Estudos do Mar
Liliam Maria Orquiza - CRB-9/712

C672q Coelho, Valéria Fernanda
O que a morfologia craniana pode dizer sobre a variabilidade intraespecífica, evolução e comportamento das tartarugas-verde juvenis?: uma ferramenta importante para a conservação das tartarugas marinhas no sudoeste do Oceano Atlântico. / Valéria Fernanda Coelho. – Pontal do Paraná, 2015.
54 f.; 29 cm.

Orientadora: Dra. Camila Domit.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Sistemas Costeiros e Oceânicos, Centro de Estudos do Mar, Setor de Ciências da Terra, Universidade Federal do Paraná.

1. *Chelonia mydas* - variação intraespecífica. 2. *Chelonia mydas* – origem. 3. *Chelonia mydas* - área de alimentação. 4. Unidades de manejo. I. Título. II. Domit, Camila. III. Universidade Federal do Paraná.

CDD 597.92



CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SISTEMAS COSTEIROS E OCEÂNICOS

Centro de Estudos do Mar - Setor Ciências da Terra - UFPR
Avn. Beira-mar, s/nº - Pontal do Sul - Pontal do Paraná - Paraná - Brasil
Tel. (41) 3511-8644 - Fax (41) 3511-8648 - www.cem.ufpr.br - E-mail: pgsisco@ufpr.br

Ata da sessão pública de Defesa de Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Sistemas Costeiros e Oceânicos, área de concentração Biologia e Ecologia de Sistemas. Aos vinte e cinco dias do mês de março de 2015, no anfiteatro do Centro de Estudos do Mar, às 09 horas, reuniu-se em sessão pública a Banca Examinadora da prova de Defesa de Dissertação da candidata ao Título de Mestre em Sistemas Costeiros e Oceânicos, **Valéria Fernanda Coelho**, composta pelos seguintes membros: Dra Camila Domit (UFPR/CEM), como orientadora e presidente, Dra. Juliana Quadros (UFPR) e Dra. Laura Prosdocimi (Universidad de Buenos Aires), como examinadores. Após os esclarecimentos prestados pelo candidato às argüições feitas pelos membros da Banca, o Sr. Presidente suspendeu temporariamente a sessão a fim de que a Banca se reunisse em sessão secreta para deliberar sobre o resultado. Reaberta a sessão, o Sr. presidente deu conhecimento ao candidato que, de conformidade com o Art. 67 da Resolução 65/09 CEPE, a dissertação foi **aprovada**, apenas condicionada à apresentação, no prazo de sessenta dias, da redação final com as alterações sugeridas.

Pontal do Paraná, 25 de março de 2015.

Dra. Camila Domit (UFPR/CEM)
Orientador e Presidente

Dra. Juliana Quadros (UFPR)
Membro Examinador
Dra. Laura Prosdocimi (Universidad de Buenos Aires)
Membro Examinador

Título da Dissertação: “O que a morfologia craniana pode dizer sobre a evolução e o comportamento das tartarugas-verde juvenis? Uma ferramenta importante para a conservação das tartarugas marinhas no sudoeste do Oceano Atlântico.”

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e a possibilidade de realizar mais um sonho.

A minha família, pelo amor, carinho e apoio incondicional. Por terem entendido minhas ausências e compartilhado minhas lágrimas e sorrisos.

À Cá Domit, um agradecimento carinhoso pela orientação e amizade. Por ter me ensinado que ao longo da trajetória ontogenética temos uma rota migratória a seguir, onde podemos até derivar através das correntes, mas que o nado ativo é essencial para alcançar nossos objetivos e ter sucesso durante o ciclo de vida.

A equipe do Laboratório de Ecologia e Conservação (LEC), por toda a dedicação e amor compartilhado pela megafauna carismática. Sem vocês a realização desse trabalho seria impossível.

Aos “améagos”, pela amizade verdadeira e sincera, que venceu as barreiras da distância e que sobrevive a sete anos de disparates e infantilidades.

Aos residentes da Gaiola, por todas as conversas, risos e desabafos. Pela convivência harmoniosa, respeitando as singularidades de cada pessoa (com uma pitada de zoação, que é fundamental!).

Ao #pgsiscolifestyle, pelos desabafos e momentos coletivos de desespero. Mas principalmente pelo companheirismo, risos e brincadeiras, que deixaram esses dois anos de mestrado mais leves e divertidos. Ps.: nunca tive tanto prazer em usar emoticons animais! ;)

À Barbara Maichak de Carvalho pelas sugestões na aquisição das imagens para a execução do método morfométrico.

Ao Dr. Hideaki Nishizawa pelo auxílio com a determinação dos landmarks.

À Dra. Laura Prosdocimi e Dra. Juliana Quadros, pela participação na banca de defesa do mestrado e pelas excelentes contribuições.

À Pós-graduação em Sistemas Costeiros e Oceânicos e a todos os professores pelo apoio e formação profissional.

A CAPES pela concessão da bolsa de estudos e às fundações Boticário e Araucária, pelo financiamento dos projetos desenvolvidos no LEC, os quais possibilitaram a coleta dos materiais biológicos.

Por fim, a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a conclusão desse trabalho, o meu muito obrigada!

“E para se chegar onde quer que seja, aprendi
que não é preciso dominar a força, mas a razão.
É preciso antes de mais nada querer”

Amyr Klink

“Most people say that it is the intellect which makes
a great scientist. They are wrong: it is character”

Albert Einstein

RESUMO

Ecossistemas marinhos e sua biodiversidade enfrentam diversas ameaças decorrentes de atividades antrópicas. O conhecimento quanto às variações morfológicas é a base para a avaliação do grau de impacto e de ameaça de extinção a que estão submetidas às diferentes espécies. A morfologia craniana dos animais é resultado da interação entre a expressão gênica e a ação ambiental, sendo este um parâmetro essencial na avaliação populacional. A tartaruga-verde é uma espécie ameaçada de extinção, migratória, de ampla área de vida e que apresenta variações genéticas entre sítios de nascimento. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi analisar em uma área de alimentação composta por estoque genético misto, as variações na forma do crânio de tartarugas-verde juvenis considerando o sexo, a idade e a origem genética como fatores de variação. Os animais analisados provieram de encalhes no litoral do Paraná e o sexo e idade dos indivíduos foram determinados em estudos prévios. A determinação de origem foi avaliada neste estudo a partir do DNA mitocondrial (10 haplótipos identificados). A análise de estoque misto sugere que as tartarugas-verde juvenis da área de alimentação do Paraná são originadas principalmente na Ilha de Ascensão (65%), com menor contribuição dos sítios de nidificação de Suriname (10%), São Tomé (9%) e Bioko (6%). A origem foi o principal fator de diferenciação morfológica, onde os indivíduos oriundos do sul do Caribe possuem um alongamento na porção anterior do crânio e estreitamento na região posterior em relação às populações do Atlântico Sul e África. Tais resultados trazem informações sobre aspectos evolutivos, ecológicos e biogeográficos da espécie, que indicam a conectividade entre as áreas de alimentação do sudoeste do oceano Atlântico com as áreas de nidificação do Atlântico Sul, África e do sul do Caribe, destacando a importância dos corredores migratórios e de ações de manejo integradas em âmbito internacional. Dessa forma, a análise da morfologia craniana é uma importante ferramenta na avaliação de estoques populacionais e para subsidiar o estabelecimento de unidades de manejo para a conservação das tartarugas-verde.

PALAVRAS-CHAVE: *Chelonia mydas* - variação intraespecífica - origem - área de alimentação - unidades de manejo

ABSTRACT

Marine ecosystems and biodiversity are under threats because of human activities. Knowledge about intra-specific morphological variations is required to evaluate levels of impact and the threat of species extinction. The cranial morphology is a result of interactions between gene expression and environmental action, which is an essential parameter in population assessments. The present study aimed to analyze skull shape and size variation in stranded juvenile green turtles along beaches in Parana, Brazil considering the sex, age and genetic origin as variation factors. The origin determination was evaluated in this study from the mitochondrial DNA (10 haplotypes) and showed that the samples originated mainly from Ascension Island (65%), with a lower contribution from Suriname (10%), São Tomé (9%) and Bioko (6%) rookeries. There were differences in skull shape between males and female; which did not necessarily reflect sexual dimorphism, but rather, could be a genetic factor. When evaluating age, the skull size was structurally larger in 5+ year-old green turtles than younger juveniles, which suggests an ontogenetic phase change. The origin was the main factor explaining intraspecific variation in skull morphology, which individuals from the southern Caribbean (CM-A5) having a more protracted anterior skull and narrower posterior skulls than those from the South Atlantic (CM-A8). Molecular studies suggest distinct evolutionary lineages among Atlantic green turtles affecting skull shape and size. These results contribute evolutionary, ecological and with biogeographic information about the species. In addition to indicating the connectivity between the feeding areas in southwestern Atlantic Ocean with the nesting areas of the south Atlantic, Africa and the southern Caribbean, the results highlight the importance of migratory corridor and integrated management actions. Thus, the analysis of cranial morphology is an important tool in the evaluation of population stocks and to support the establishment of management units for green turtle conservation.

ADDITIONAL KEYWORDS: *Chelonia mydas* - intraspecific variation - origin - feeding ground - management unit.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	MATERIAIS E MÉTODOS	13
2.1	AMOSTRAGEM	13
2.2	MORFOMETRIA GEOMÉTRICA.....	15
2.3	SEXAGEM E ESTIMATIVA DE IDADE	16
2.4	DETERMINAÇÃO DE ORIGEM.....	16
3	RESULTADOS	19
3.1	VARIAÇÃO SEXUAL	20
3.2	VARIAÇÃO ETÁRIA.....	22
3.3	VARIAÇÃO HAPLOTÍPICA.....	23
3.3.1	Variação sexual dentro do haplótipo CM-A8.....	31
4	DISCUSSÃO	32
	REFERÊNCIAS	40
	ANEXO A	51

O que a morfologia craniana pode dizer sobre variabilidade intraespecífica, evolução e comportamento das tartarugas-verde juvenis?: uma ferramenta importante para a conservação das tartarugas marinhas no sudoeste do oceano atlântico

Valéria F. Coelho¹, Camila Domit^{1*}, Laura Prosdocimi², Fernanda S. Almeida³,
Matt K. Broadhurst^{4,5}, Hideaki Nishizawa⁶

¹*Laboratório de Ecologia e Conservação, Centro de Estudos do Mar, Universidade Federal do Paraná, Av. Beira Mar s/n, PO Box 61, 83255-000, Pontal do Paraná, Paraná, Brazil*

²*Programa Regional de Investigación y Conservación de Tortugas Marinas de la Argentina-PRICTMA, Argentina*

³*Laboratório de Genética e Ecologia Animal, Departamento de Biologia Geral, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brazil*

⁴*New South Wales Department of Primary Industries, Fisheries Conservation Technology Unit, PO Box 4321, Coffs Harbour, NSW 2450, Australia*

⁵*Marine and Estuarine Ecology Unit, School of Biological Sciences, University of Queensland, Brisbane, QLD 4072, Australia*

⁶*Department of Social Informatics, Graduate School of Informatics, Kyoto University, Kyoto, Japan*

1 INTRODUÇÃO

As tartarugas marinhas são altamente migratórias e apresentam distribuição circumglobal, ocorrendo nas regiões tropicais e subtropicais (Spotila, 2004). O ciclo de vida destes animais é complexo e utilizam diferentes habitats para reprodução, nidificação, alimentação e desenvolvimento (Musick & Limpus, 1997; Plotkin, 2003; Broderick *et al.*, 2007).

Os filhotes habitam principalmente a zona oceânica e se dispersam de forma multidirecional, utilizando as correntes associadas aos giros oceânicos

para se deslocarem em busca de habitats, na região superficial, que sirvam de refúgio (Mainsfield *et al.*, 2014). A maioria das espécies possui hábitos costeiros, onde os indivíduos recrutados se agregam em áreas de alimentação, as quais são compostas por estoques mistos, evidenciando assim a contribuição de múltiplas colônias reprodutivas e a movimentação via correntes oceânicas (Lahanas, 1998; Luke, 2004; Bowen & Karl, 2007). Devido ao comportamento filopátrico das fêmeas, as colônias de nidificação são geneticamente estruturadas a partir de caracteres hereditários maternos (DNA mitocondrial), que possibilitam a identificação da origem dos indivíduos registrados nas áreas de alimentação (Bowen *et al.*, 2007). Os juvenis e adultos realizam migrações contínuas entre as áreas de alimentação e reprodução, que podem estar separadas geograficamente por milhares de quilômetros (Musick & Limpus, 1997).

Atualmente, todas as espécies de tartarugas marinhas são classificadas como criticamente ameaçadas de extinção (IUCN, 2014), devido à pressão antrópica exercida sobre o ecossistema marinho, tanto em escala global como regional, e conseqüentemente sobre esses animais (Jackson *et al.*, 2001; Flint, 2013). Atividades humanas como a pesca, obras costeiras e o despejo de poluentes químicos e resíduos sólidos afetam negativamente as populações das diferentes espécies (Burguer & Garber, 1995; Flint, 2013). O declínio das populações é crescente e simulações indicam que a velocidade de retirada de juvenis e adultos é uma das principais causas do aumento da probabilidade de extinção das espécies (Mazaris *et al.*, 2006).

A complexidade no ciclo de vida, as variações biológicas e os impactos a que as tartarugas marinhas estão suscetíveis, indicam a necessidade de determinação de unidades que visem à conservação efetiva das espécies, tais como as unidades de manejo regionais (RMU's) sugeridas por Wallace *et al.* (2010). Segundo os autores, os segmentos populacionais regionais ocupam papéis ecológicos distintos, sendo necessário levar em consideração a complexidade na estrutura populacional. As RMU's podem ser caracterizadas utilizando diversas ferramentas ou indicadores, tais como marcadores genéticos, comportamentais e/ou morfológicos (Wallace *et al.*, 2010).

A morfologia das tartarugas marinhas é uma fonte de informação essencial para compreender o efeito biológico e ecológico das interações do organismo com o ambiente (Wyneken, 2013). A diversidade de habitats e hábitos atua, em diferentes escalas temporais, como pressão de seleção. Estas influenciam adaptações fisiológicas, anatômicas e comportamentais das tartarugas marinhas, que possibilitaram a sobrevivência destes animais nos ambientes oceânicos e estuarinos desde o período Triássico (Musick & Limpus, 1997; Spotila, 2004; Williard, 2013).

O crânio é uma estrutura complexa, composta pela caixa craniana, a qual abriga o cérebro e a maioria dos órgãos sensoriais, e por um conjunto de ossos externos (Wyneken, 2013). Seu processo de desenvolvimento traz informações quanto à origem de variação morfológica, bem como da história filogenética e ontogenética dos animais (Hingst-Zaher *et al.*, 2000). A forma do crânio das tartarugas marinhas pode ser utilizada para a identificação das espécies (Wyneken, 2001) e também são verificadas variações intraespecíficas, que indicam diferentes padrões de dispersão dos organismos, no tempo e no espaço (Kamezaki & Matsui, 1995; Nishizawa *et al.*, 2010).

A morfometria geométrica é uma das ferramentas utilizadas para analisar a forma animal (Bookstein, 1982; Adams *et al.*, 2013). Para tartarugas marinhas a aplicação do método morfométrico é restrito a poucos trabalhos que abrangem estruturas como o crânio, úmero, carapaça e plastrão (Michel-Morfin *et al.*, 2001; Myers, 2007; Nishizawa *et al.*, 2010; Nishizawa *et al.*, 2013; Ferreira-Júnior *et al.*, 2011). Estes estudos foram desenvolvidos com animais coletados em áreas de nidificação, ressaltando a necessidade de estudos morfológicos em outras regiões, principalmente em áreas de alimentação, onde a variabilidade genética, devido à presença dos estoques mistos, é maior e reflete parâmetros biogeográficos e a diversidade na história de vida dos espécimes (Naro-Maciel *et al.*, 2007).

Chelonia mydas (Linnaeus, 1758), tartaruga-verde, é a espécie de tartaruga marinha mais frequente no litoral do Estado do Paraná, sul do Brasil. A região é caracterizada como área de alimentação e desenvolvimento para indivíduos juvenis (Rosas, 2009; Ferrarini, 2014). O litoral do Paraná pode representar uma posição geográfica estratégica para a aclimatação das

tartarugas-verde, uma vez que está localizado próximo à faixa limítrofe entre as zonas temperada e tropical. Espécimes marcados em áreas de alimentação de São Paulo, Santa Catarina (*comunicação pessoal*) e Argentina (González-Carman *et al.*, 2012) já foram registrados utilizando o litoral paranaense, o que demonstra a conectividade entre as áreas de alimentação e fortalece a região como parte do corredor migratório das tartarugas-verde no sudoeste do Oceano Atlântico. Nesse contexto, a caracterização biológica dos espécimes no Paraná é capaz de elucidar questões biológicas e ecológicas da espécie para todo o oceano Atlântico Sul Ocidental (ASO).

Assim, os objetivos deste estudo são: (i) investigar as variações intraespecíficas na forma do crânio de juvenis de tartarugas-verde encontrados em uma área de alimentação do ASO considerando o efeito de variáveis intrínsecas, como sexo, idade e origem genética; (ii) descrever a forma do crânio nos diferentes grupos separados pelas variáveis; (iii) avaliar a contribuição morfométrica para o conhecimento quanto a evolução e o comportamento de tartarugas-verde, e o seu uso como ferramenta para o estabelecimento de unidades de manejo para a conservação da espécie.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 AMOSTRAGEM

Os exemplares de tartaruga-verde foram obtidos no período de 2008 a 2013, por meio de monitoramentos semanais de encalhes entre as praias do município de Pontal do Paraná e o município de Matinhos, no litoral do Paraná, sul do Brasil (Fig. 1), assim como de forma oportunista nas ilhas costeiras da região.

Cada exemplar de tartaruga-verde encontrado foi mensurado de acordo com as medidas biométricas padrão e necropsiado para a coleta de material biológico (*c.f.* Wyneken, 2001). Após este procedimento, os crânios foram macerados e conservados a seco.

Durante o período de amostragem foram coletados 409 espécimes de tartaruga-verde, todos considerados juvenis devido ao comprimento curvilíneo de carapaça (CCC) abaixo de 80 cm (Balazs & Chaloupka, 2004). Avaliando as amostras, um subconjunto de 155 foi incluído nas análises devido ao conjunto de material biológico disponível de cada exemplar. Para animais em avançado estágio de decomposição não foi possível coletar amostras ósseas íntegras, assim como o tecido para a determinação genética e gônadas para a sexagem.

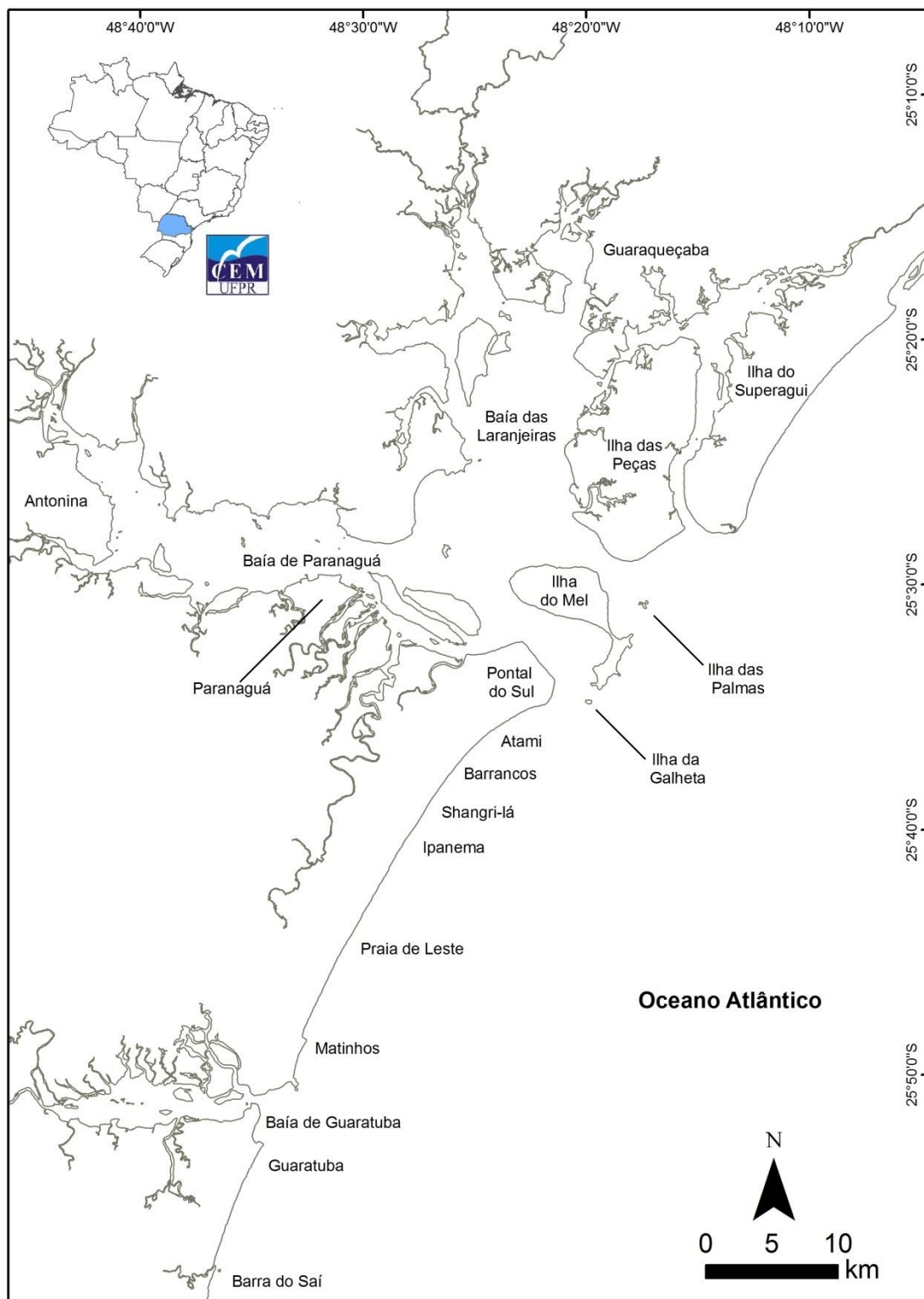


Figura 1 Mapa do Litoral do Estado do Paraná, Brasil. Os círculos representam a quantidade de indivíduos juvenis de *Chelonia mydas* encalhados mortos na região.

2.2 MORFOMETRIA GEOMÉTRICA

As fotos dos crânios foram obtidas com uma câmera digital Canon EOS Rebel T3 com resolução de 12 megapixels (4272x2848). A câmera foi mantida a uma distância padrão de 40 cm em relação ao plano, em posição perpendicular e central ao crânio do exemplar garantindo a minimização de distorções na borda. Uma placa milimetrada foi utilizada como plano de fundo das imagens, proporcionando escala e auxiliando no posicionamento do material.

As fotos foram organizadas em listas com o TPSUtil versão 1.26 (Rohlf, 2004) e os marcos anatômicos foram digitalizados no *software* TPSDig versão 2.16 (Rohlf, 2010). Os crânios foram fotografados na vista dorsal, ventral e lateral, onde 23, 32 e 20 marcos anatômicos, respectivamente, foram definidos baseados naqueles estabelecidos por Nishizawa *et al.* (2010), seguindo o conceito de homologia (Monteiro & Reis, 1999) (ver Fig. 2 para a localização e Anexo A para as definições).

As coordenadas dos marcos anatômicos foram superimpostas utilizando a análise generalizada de Procrustes (GPA), baseada no critério dos mínimos quadrados, que coloca todos os espécimes em um sistema de coordenadas comum e remove a variação da posição, escala e orientação (Bookstein, 1991; Rohlf & Marcus, 1993; Adams *et al.*, 2004; Adams & Otárola-Castillo, 2013). Na GPA, ambos os lados do crânio na vista dorsal e ventral foram simetrizados, reduzindo a importância visual das assimetrias de forma (Kolamunnage & Kent, 2003). As informações de tamanho do crânio foram obtidas a partir do tamanho do centróide, que corresponde à raiz quadrada da soma dos quadrados da distância entre o centro do objeto e cada marco anatômico (Bookstein, 1991).

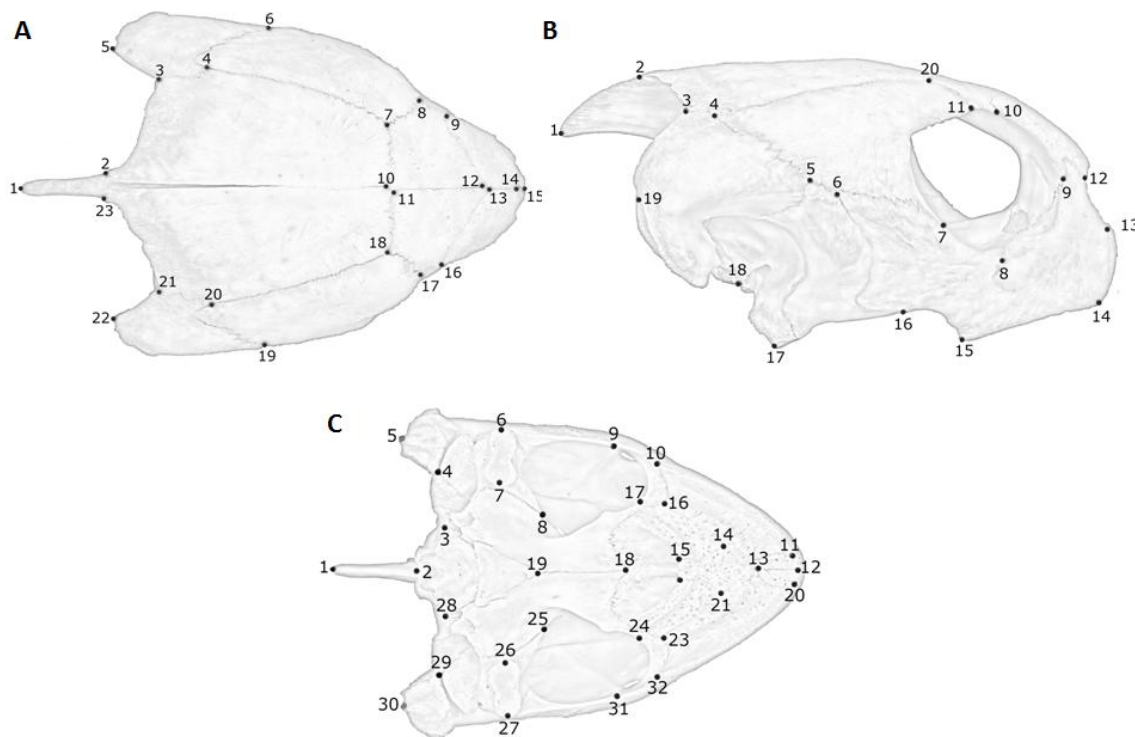


Figura 2 Representação das vistas dorsal (A), lateral (B) e ventral (C) dos marcos anatômicos estabelecidos para análise da forma do crânio de juvenis de *Chelonia mydas* encontradas no litoral do Paraná. A barra corresponde à escala de 1 cm. Ver Anexo A para definição dos marcos anatômicos.

2.3 SEXAGEM E ESTIMATIVA DE IDADE

A identificação sexual dos indivíduos foi realizada por meio da avaliação da histologia das gônadas, seguindo os métodos descritos por Miller & Limpus (2003) (Rosa, 2009; Ferrarini, 2012). A idade foi estimada pelas linhas de crescimento (LAG's), aplicando a técnica da esqueletocronologia por análise do úmero, proposta por Zug *et al.* (1986), Avens & Goshe (2007) e Snover & Hohn (2004) (Ferrarini, 2014).

2.4 DETERMINAÇÃO DE ORIGEM

Amostras de tecido epitelial e muscular foram utilizadas para a extração de DNA mitocondrial (mtDNA), a partir da técnica padrão fenol/clorofórmio (Hillis *et al.*, 1996). O fragmento de 486 bp da extremidade 5' da região controle foi amplificado via PCR (*Polimerase Chain Reaction*) (*c.f* Prosdociami *et al.*, 2012),

utilizando os *primers* LTCM2 e HDCM2 (Lahanas *et al.*, 1994). As amostras foram sequenciadas no ABI 3500XL (*Applied Biosystems*) e as sequências foram editadas e alinhadas com os programas BioEdit V 7.0 (Hall, 1999) e Clustal (Higgins & Sharp, 1988). Os sítios polimórficos foram identificados com Genalex 6 (Peakall & Smouse, 2006) e os haplótipos mitocondriais foram classificados de acordo com o banco de dados genéticos online do *Archie Carr Center for Sea Turtle Research* (ACCSTR; <http://accstr.ufl.edu/genetics.html>).

A provável origem natal das tartarugas-verde encontradas na área de alimentação do Paraná foi determinada pela análise de estoques mistos (*Mixed Stock Analysis* - MSA), a partir de métodos bayesianos realizados no programa Bayes (Pella & Masuda, 2001). As colônias de nidificação descritas na literatura para o oceano Atlântico e Mar Mediterrâneo foram consideradas possíveis contribuidoras para a área de alimentação do Paraná, sendo elas: Lara Bay, Cyprus (CY; Encalada *et al.*, 1996; Kaska, 2000); Polião, Guiné Bissau (GB; Encalada *et al.*, 1996; Formia *et al.*, 2006); São Tomé (ST; Formia *et al.*, 2006); Bioko, Guiné Equatorial (BI; Formia *et al.*, 2006); Hutchinson Island, Flórida (FL; Bass & Witzell, 2000); Quintana Roo, México (MX; Encalada *et al.*, 1996); Tortuguero, Costa Rica (CR; Encalada *et al.*, 1996; Bjorndal *et al.*, 2005); Aves Island, Venezuela (AV; Lahanas *et al.*, 1994); Matapica, Suriname (SU; Lahanas *et al.*, 1994); Ascensão Island, Reino Unido (AI; Encalada *et al.*, 1996); Ilha de Trindade (TI; Bjorndal *et al.*, 2006); Atol das Rocas (AR; Bjorndal *et al.*, 2006) e Fernando de Noronha (FN; Bjorndal *et al.*, 2006), sendo as últimas três no Brasil. A colônias de nidificação de AR e FN foram unidas para a MSA, pois estas não apresentaram diferenças significativas na distribuição dos haplótipos.

A MSA foi realizada considerando igual probabilidade prévia para cada colônia de nidificação. As análises foram realizadas sobre 7500 iterações e a convergência das cadeias foi determinada como proposto por Gelman & Rubin (1992), com a maioria dos fatores de suporte próximo de 1,0 e menores que 1,2. Os haplótipos observados na área de alimentação do Paraná e não identificados previamente nas colônias de nidificação foram excluídos da MSA.

2.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para comparar o tamanho do centróide em função do sexo foi realizado um teste t de *Student*. Já a influência da idade e da origem genética foi avaliada por uma análise de variância (ANOVA), seguida de um teste *post-hoc* (teste de Tukey). A diferença entre o tamanho do centróide de cada variável independente foi visualizada a partir de diagramas de caixa (*boxplot*). Os escores da análise de componentes principais (PCA), obtidos na GPA, foram usados como variáveis dependentes de forma em uma análise de variância multivariada (MANOVA), a fim de comparar a forma do crânio entre os fatores e como *post hoc* foi realizada uma MANOVA par-a-par.

Para escolher o número de componentes principais para serem incluídos na análise discriminante linear (LDA) foram calculadas as percentagens de classificação correta para cada combinação de componentes, sendo selecionado o conjunto com maior porcentagem de classificação. O procedimento de validação cruzada foi utilizado para avaliar o desempenho de classificação por LDA (Baylac & Friess, 2005). A análise de variáveis canônicas (CVA) apresenta graficamente, a partir de funções discriminantes, as diferenças relativas na forma do crânio. Em todas as análises o nível de significância considerado foi o de 95% ($p < 0,05$).

Os programas morfométricos (TPSUtil e TPSDig) foram adquiridos livremente na internet (<http://life.bio.sunysb.edu/morph>). Análises estatísticas e os gráficos foram realizados com o software R versão 3.1.1 (R Development Core Team, <http://www.R-project.org>), usando uma biblioteca específica para morfometria geométrica, o Rmorph (Baylac, 2012).

3 RESULTADOS

No presente estudo foram analisadas 157 tartarugas-verde juvenis, coletadas entre os anos de 2008 a 2013, tendo estas 39,50 cm ($\pm 4,81$) de média de comprimento curvilíneo de carapaça (CCC), variando entre 27,4 e 55 cm. Entre estes, 52 espécimes foram identificados quanto ao sexo, sendo 34 fêmeas (CCC= 41,07 \pm 6,6) e 18 machos (CCC= 38,66 \pm 4,00). Quanto à estimativa de idade, 38 espécimes foram avaliados (CCC= 39,47 \pm 4,83) e a idade variou entre 2 e 7 anos (Tabela 1).

Tabela 1 Estatística descritiva do tamanho da carapaça dos espécimes de tartaruga-verde considerando os diferentes fatores de avaliação.

Fatores	Níveis	n	CCC (cm)			
			Mínimo	Máximo	Média	Desvio padrão
Sexo	Fêmeas	34	30	55	41,07	6,5
	Machos	18	31	44,5	38,66	4
Idade	2	7	34,5	42,5	37,42	2,9
	3	10	30	42	36,27	3,66
	4	11	33,5	43	39	2,63
	5	4	38,5	53,5	43,5	6,96
	6	1	-	-	-	-
	7	5	40	49,3	45,16	3,76
	CM-A5	16	27,4	40,5	35,82	5,29
	CM-A6	9	33	53,5	40,45	7,76
	CM-A8	73	30	54,5	39,66	4,12
	CM-A9	3	40,5	47,7	44,16	3,6
Haplótipo	CM-A23	1	-	-	39	-
	CM-A24	1	-	-	38	-
	CM-A37	1	-	-	39,4	-
	CM-A39	1	-	-	35,7	-
	CM-A42	2	36,8	48,7	39,5	3,72
	CM-A46	1	-	-	38,5	-

3.1 VARIAÇÃO SEXUAL

Quanto às variações sexuais, para as três vistas do crânio o tamanho do centróide dos exemplares (n=52) não difere significativamente entre machos e fêmeas (dorsal: $t = 1,62$, d.f. = 47,58, $p = 0,10$; e ventral: $t = 1,80$, d.f. = 47,39, $p = 0,07$; lateral: $t = 1,76$, d.f. = 47,97, $p = 0,08$) (Fig. 3A-C). Assim, fêmeas possuem o tamanho do crânio igual ao dos machos.

No entanto, a forma do crânio de tartarugas-verde juvenis apresenta variações sexuais, resultado indicado pela MANOVA, para as vistas dorsal (Wilks' $\lambda = 0,68$, $F = 2,16$, d.f = 9, $p = 0,04$) e lateral (Wilks' $\lambda = 0,61$, $F = 2,59$, d.f = 9, $p = 0,01$). Para a vista ventral tal diferença não foi identificada ($p > 0,05$). A partir da análise discriminante foi possível classificar corretamente a maioria das fêmeas para as duas vistas (dorsal: 91,17%; lateral: 94,11%), entretanto para os machos a porcentagem de classificação foi menor (dorsal: 66,66%; lateral: 55,55%).

Comparando visualmente a forma do crânio de tartarugas-verde na vista dorsal, é possível identificar que machos e fêmeas possuem características diferenciadas em algumas estruturas, onde: (i) machos possuem o frontal, parietal e esquamosal mais largos; (ii) machos tem uma retração na região posterior do crânio, onde o esquamosal e supraoccipital apresentam um encurtamento (Fig. 4). Na vista lateral, além das diferenças já descritas acima, destacam-se aquelas no jugal e na orbita, onde machos possuem estas estruturas mais largas e posicionadas posteriormente no plano frontal em relação às fêmeas.

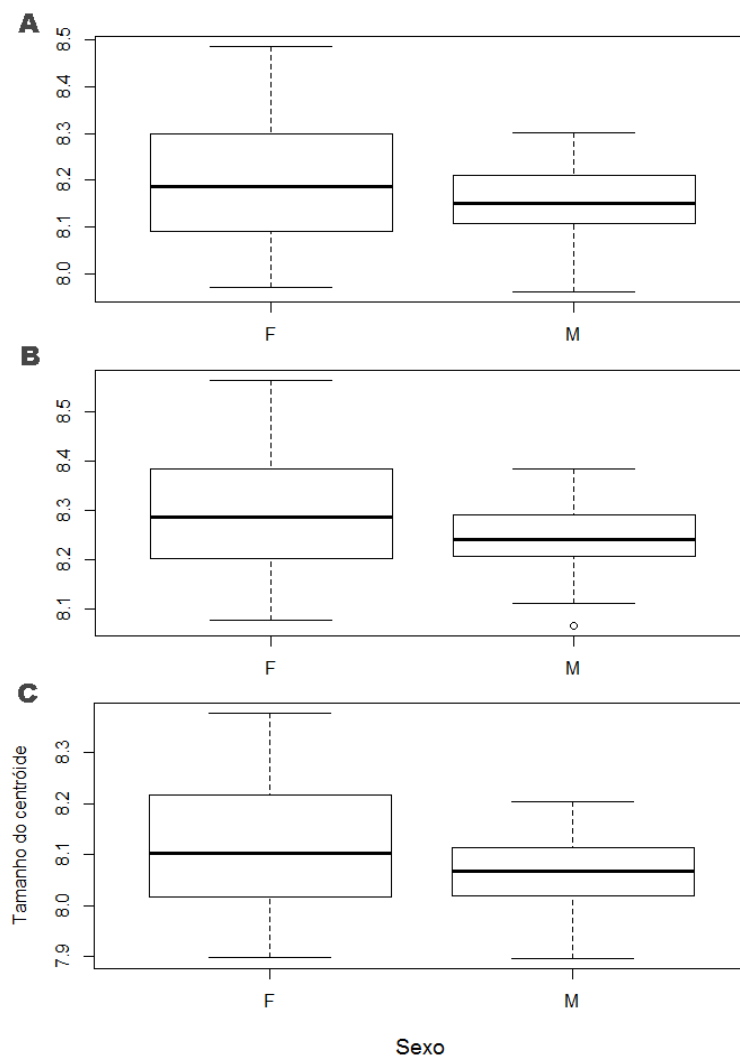


Figura 3 Box-plot com a distribuição do tamanho do centróide para a vista dorsal (A), ventral (B) e lateral (C) do crânio para machos (M) e fêmeas (F) de *Chelonia mydas* encontrados no litoral do Paraná, sul do Brasil.

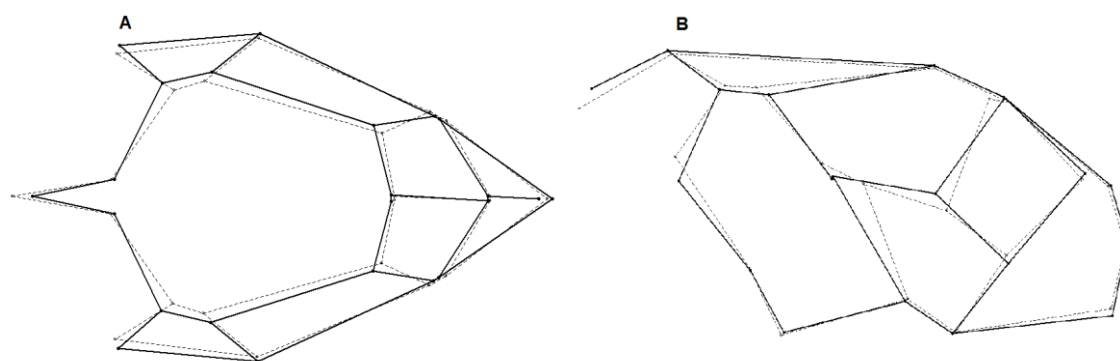


Figura 4 Diferença sexual na forma do crânio de *Chelonia mydas* na vista dorsal (A) e lateral (B). As linhas sólidas correspondem à variação na forma do crânio dos machos e as linhas tracejadas representam a variação nas fêmeas.

3.2 VARIACÃO ETÁRIA

Quanto à avaliação de influência do fator idade ($n=37$), o tamanho do centróide diferiu significativamente nas três vistas do crânio (dorsal: $F = 8,63$, d.f. = 4, $p < 0,0001$; ventral: $F = 7,74$, d.f. = 4, $p < 0,01$; lateral: $F = 8,24$, d.f. = 4, $p < 0,01$). Com um teste de Tukey foi possível verificar que indivíduos com sete anos diferem daqueles com dois, três e quatro anos. Assim como, indivíduos com cinco anos já possuem tamanho do centróide diferente daqueles com três anos. Isso indica que a partir dos cinco anos de idade, os indivíduos apresentam um crânio estruturalmente maior do que os mais novos (Fig. 5A-C).

A influência da idade na forma do crânio de juvenis de tartaruga-verde também foi avaliada pela MANOVA, a qual não identificou diferença significativa para nenhuma das vistas ($p > 0,1$).

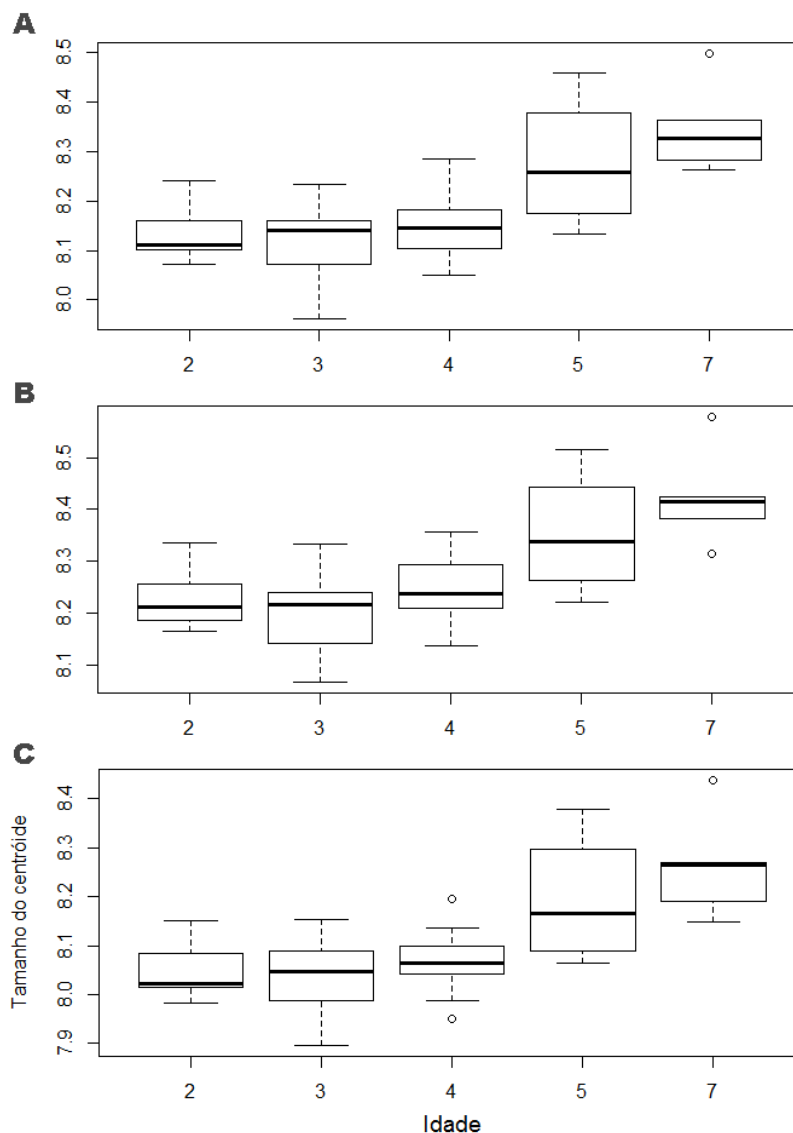


Figura 5 Box-plot com a distribuição do tamanho do centróide para a vista dorsal (A), ventral (B) e lateral (C) do crânio de *Chelonia mydas* de diferentes idades encontrados encalhados no litoral do estado do Paraná, sul do Brasil.

3.3 VARIAÇÃO HAPLOTÍPICA

A análise genética foi realizada em 108 exemplares juvenis de tartarugas-verde e foram identificados dez haplótipos (Tabela 1), sendo os mais frequentes CM-A8, seguido de CM-A5, CM-A6 e CM-A9. Os demais haplótipos registrados (CM-A23, CM-A24, CM-A37, CM-A39, CM-A42, CM-A46) contribuíram com frequências menores (< 5%).

Até o momento os haplótipos CM-A23, CM-A37, CM-A39 não haviam sido descritos para outras áreas de alimentação. Todos os haplótipos encontrados no

presente estudo foram descritos anteriormente para áreas de nidificação, com exceção do CM-A42 (n=2), o qual não foi inserido na MSA.

O resultado da MSA (Tabela 2) demonstrou que a Ilha de Ascensão é a principal fonte de juvenis para a área de alimentação do Paraná, contribuindo com 65% do aporte de indivíduos, seguida pelo Suriname (10%), São Tomé (9%), Bioko (6%), Ilha de Aves (4%), Poilão (3%), Ilha de Trindade (2%). Na Figura 6 é possível visualizar a localização dos principais contribuidores para o estoque do Paraná.

Tabela 2 Análise de estoques mistos (MSA) com os haplótipos da região controle do mtDNA de *Chelonia mydas* do Paraná, utilizando os métodos bayesianos. Os valores médios são mostrados com o desvio padrão. Os valores de 2,5% e 97,5% indicam o limite inferior e superior do intervalo de confiança de 95%.

Estoques	Média	DP	2,50%	Média	97.50%	% de aporte
Ilha de Ascensão - AI (Reino Unido)	0.654	0.1531	0.2849	0.691	0.8599	65%
Matapica - SU (Suriname)	0.0952	0.0724	0	0.1083	0.2212	10%
São Tomé - ST (R. D. São Tomé e Príncipe)	0.0899	0.0846	0	0.0678	0.3188	9%
Ilha de Bioko - BI (Guiné Equatorial)	0.0648	0.1236	0	0.0006	0.4381	6%
Ilha de Aves - AV (Venezuela)	0.0442	0.058	0	0.0038	0.1737	4%
Polião - GB (Guiné Bissau)	0.0255	0.0631	0	0.0001	0.2399	3%
Ilha de Trindade - TI (Brasil)	0.0185	0.0402	0	0.0002	0.1455	2%
Rocas/Noronha - AR/FN (Brasil)	0.0046	0.0168	0	0	0.0449	0%
Quintana Roo - MX (México)	0.0009	0.0028	0	0	0.0089	0%
Tortuguero – CR (Costa Rica)	0.0008	0.0028	0	0	0.0089	0%
Ilha de Hutchinson - FL (Flórida)	0.0008	0.0029	0	0	0.0087	0%
Lara Bay - CY (Cyprus)	0.0008	0.0027	0	0	0.0082	0%

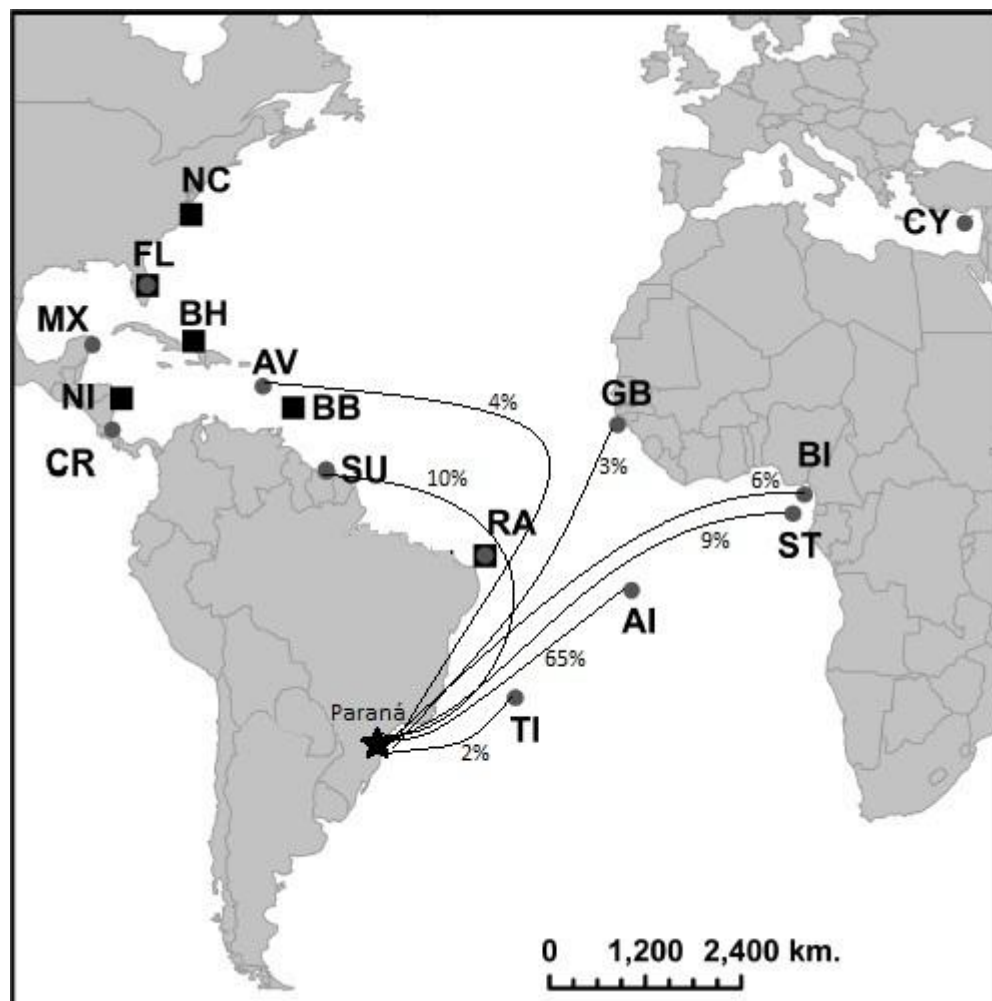


Figura 6 Mapa com indicação dos sítios de nidificação e suas respectivas contribuições para o estoque misto de tartarugas-verde no litoral do Paraná. Imagem modificada de Naro-Maciel *et al.*, 2007.

Após identificar os haplótipos assinatura e a possível origem dos espécimes encontrados encalhados na área de alimentação do Paraná, foi possível utilizar essa informação como fator de variação nas análises craniométricas. O tamanho e a forma do crânio foram avaliados para os dez haplótipos descritos na área de estudo, e não foram identificadas diferenças no tamanho do centróide para nenhuma vista (dorsal: $F = 1,56$, $d.f = 9$, $p = 0,13$; lateral: $F = 1,67$, $d.f = 9$, $p = 0,10$). No entanto, a forma da caixa craniana foi distinta para a vista dorsal (Wilk's $\lambda = 0,26$, $F = 1,49$, $p < 0,001$). De acordo com a MANOVA par-a-par, as diferenças estão entre os indivíduos com haplótipo CM-A5 e CM-A8 ($p < 0,001$) e entre o CM-A6 e CM-A8 ($p = 0,05$). Na Figura 7 é possível observar a tendência de separação entre os três grupos descritos anteriormente. Os indivíduos caracterizados pelos demais haplótipos possuem

formas do crânio mais próximas as dos exemplares caracterizados pelo haplótipo CM-A8.

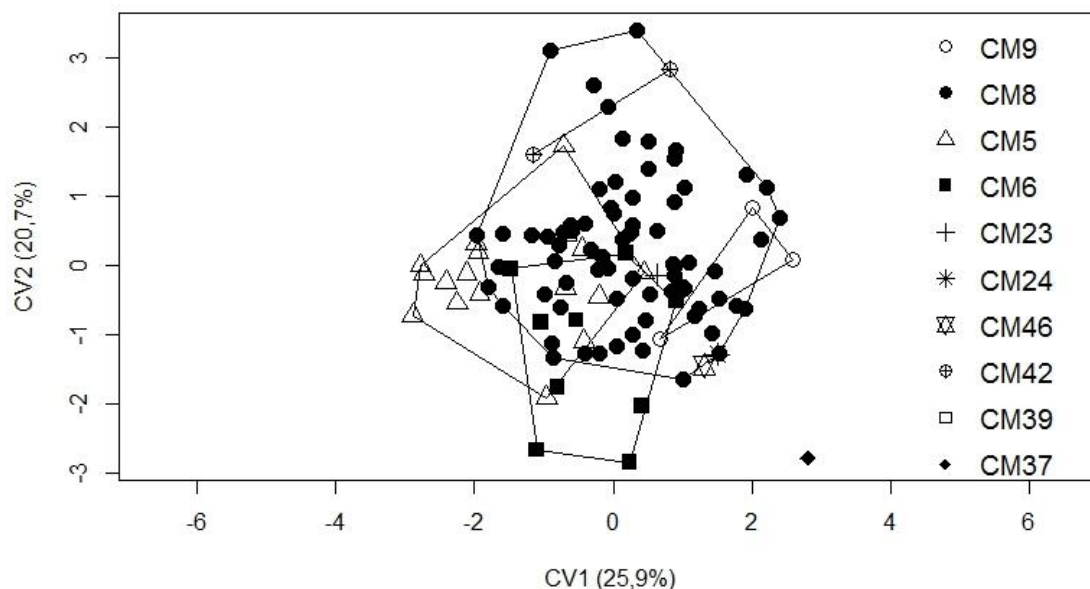


Figura 7 Gráfico de dispersão das variáveis canônicas (CV) para a vista dorsal do crânio de juvenis *Chelonia mydas* de origens distintas, encontradas encalhadas no litoral do Estado do Paraná, Brasil.

Considerando que as diferenças na forma foram verificadas somente para a vista dorsal dos animais caracterizados por CM-A5, CM-A6 e CM-A8, as análises morfométricas foram realizadas separadamente, incluindo somente esses haplótipos, a fim avaliar de maneira mais consistente estas diferenças e descartar a influência dos haplótipos menos frequentes.

Há diferenças significativas no tamanho do centróide do crânio para a vista dorsal ($F = 4,84$, d.f. = 2, $p = 0,01$), ventral ($F = 5,81$, d.f. = 2, $p < 0,01$) e lateral ($F = 5,35$, d.f. = 2, $p < 0,01$) entre os haplótipos. A partir do teste de Tukey foi possível identificar que todas as vistas seguiram um mesmo padrão e avaliar que indivíduos caracterizados pelo haplótipo CM-A8 são estruturalmente maiores que aqueles de CM-A5 (Fig. 8A-C).

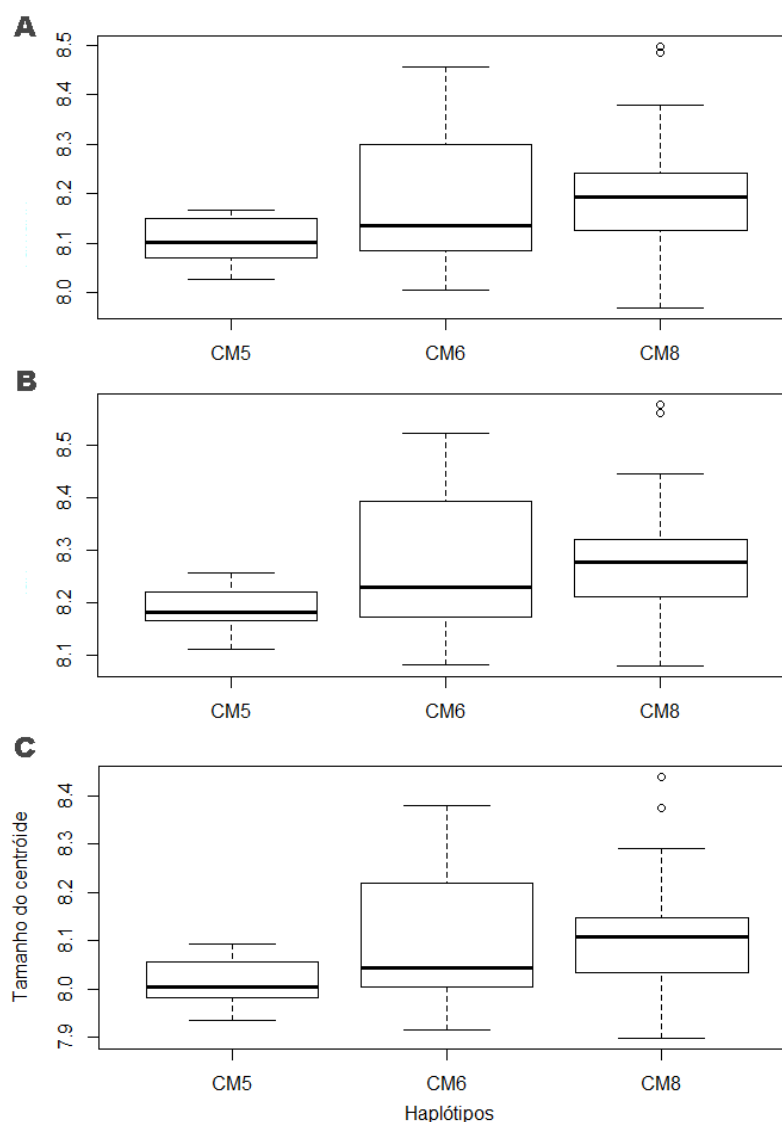


Figura 8 Box-plot com a distribuição do tamanho do centróide para a vista dorsal (A), ventral (B) e lateral (C) do crânio de *Chelonia mydas* de distintos sítios de origem encontrados encalhados no litoral do Paraná.

Quando considerada a forma do crânio, a MANOVA indicou diferença significativa entre o haplótipo CM-A5 e CM-A8 para vista dorsal (Wilk's $\lambda = 0,57$, $F = 2,60$, $p < 0,001$), ventral (Wilk's $\lambda = 0,59$, $F = 2,39$, $p = 0,01$) e lateral (Wilk's $\lambda = 0,56$, $F = 2,36$, $p < 0,01$). No CVA, para as três vistas, nota-se alguma sobreposição dos grupos, porém é visível a tendência de separação entre eles. O primeiro eixo canônico (CV1) representa o CM-A5 pelo escore negativo e o CM-A8 pelo o escore positivo, enquanto que o CM6 é melhor representado pelo eixo negativo do segundo eixo canônico (CV2) (Fig. 9, 10 e 11).

Na vista dorsal do crânio, o CV1 explica 66,15% da variação observada, enquanto que o CV2 explica 33,75% (Fig. 9). Ao longo do primeiro eixo nota-se um crescimento proporcional na região posterior do crânio no plano coronal e encurtamento da região anterior. Tais configurações são vistas no haplótipo CM-A8, diferentemente do CM-A5, que apresenta uma caixa craniana mais estreita e um alongamento do pré-frontal. A forma do crânio para o CM-A6 se sobrepõe aos haplótipos supracitados, apresentando características intermediárias. No segundo eixo, o crânio passa por um alongamento do supraoccipital e um avanço da junção entre esquamosal e postorbital, além do recuo da região anterior do crânio, modificações estas que representam o haplótipo CM-A6.

Na análise discriminante, a percentagem de classificação correta considerando 10 componentes foi de 97,22% para o CM-A8 e de 64,28% para o CM-A5. No entanto, para o CM-A6 a classificação correta foi de apenas 28,57% dos indivíduos ($n=2$), possivelmente devido a este grupo se sobrepôr aos demais.

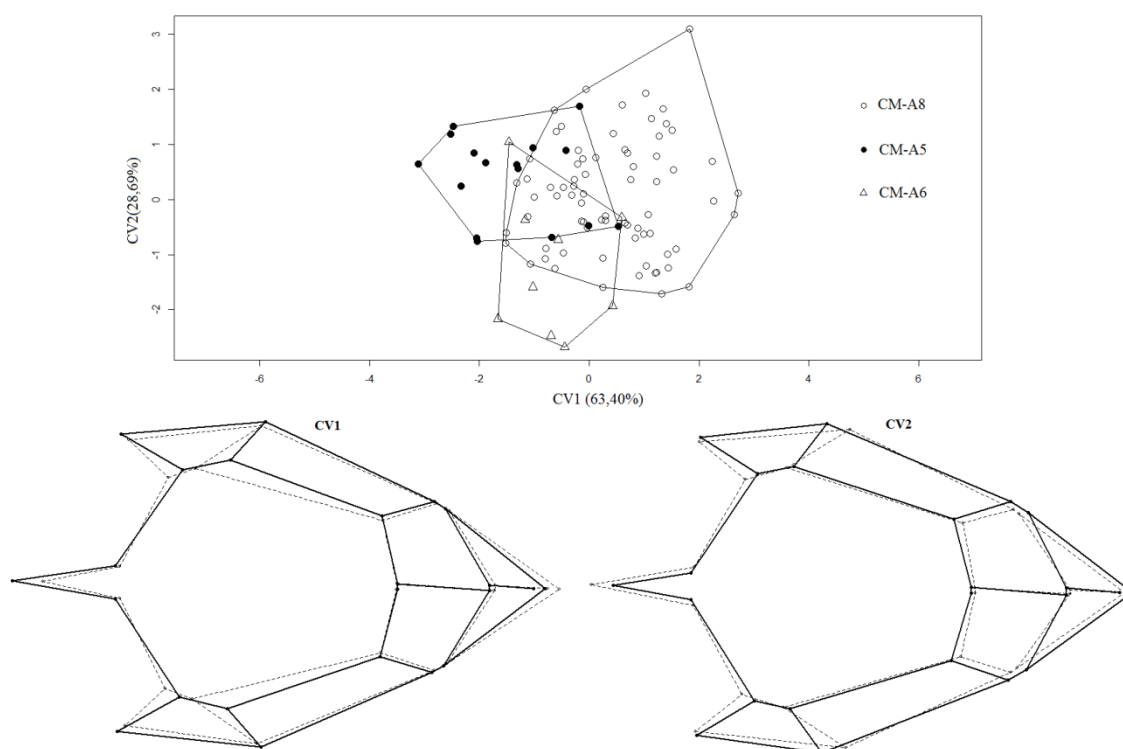


Figura 9 Gráfico de dispersão das variáveis canônicas (CV) e diferenciação morfológica na vista dorsal do crânio de *Chelonia mydas* de distintos sítios de nascimento encontrados no litoral do Paraná. As linhas sólidas representam os escores positivos e as linhas tracejadas, os escores negativos.

A Figura 10 mostra a diferença morfológica na vista ventral do crânio de tartarugas-verde, onde o CV1 explica 76,40% da variação observada e o CV2 de somente 23,58%. Nessa vista, considerando o primeiro eixo canônico, a caixa craniana é semelhante entre os haplótipos CM-A8 e CM-A5, entretanto o primeiro possui um avanço na borda anterior da fossa infratemporal. Os indivíduos identificados pelo haplótipo CM-A5 possuem o supraoccipital ligeiramente deslocado para a direita no plano sagital. Também têm a região anterior do crânio mais pronunciada, com a pré-maxila e maxila mais largas, porém com o vômer reduzido. Ao longo do CV2, indivíduos com haplótipo CM-A6 possuem a forma semelhante ao demais até a porção mediana do crânio, na junção entre o pterigóide e o basisfenóide. As modificações se dão a partir deste ponto, onde ocorre o deslocamento do côndilo mandibular quadrado em direção à região posterior e o recuo do conjunto de marcos anatômicos desta região.

Para essa vista, a análise discriminante (10 componentes) classificou erroneamente todos os indivíduos de CM-A6. No entanto, para CM-A5, 64,28% dos indivíduos foram classificados de maneira correta e para CM-A8, 97, 22%.

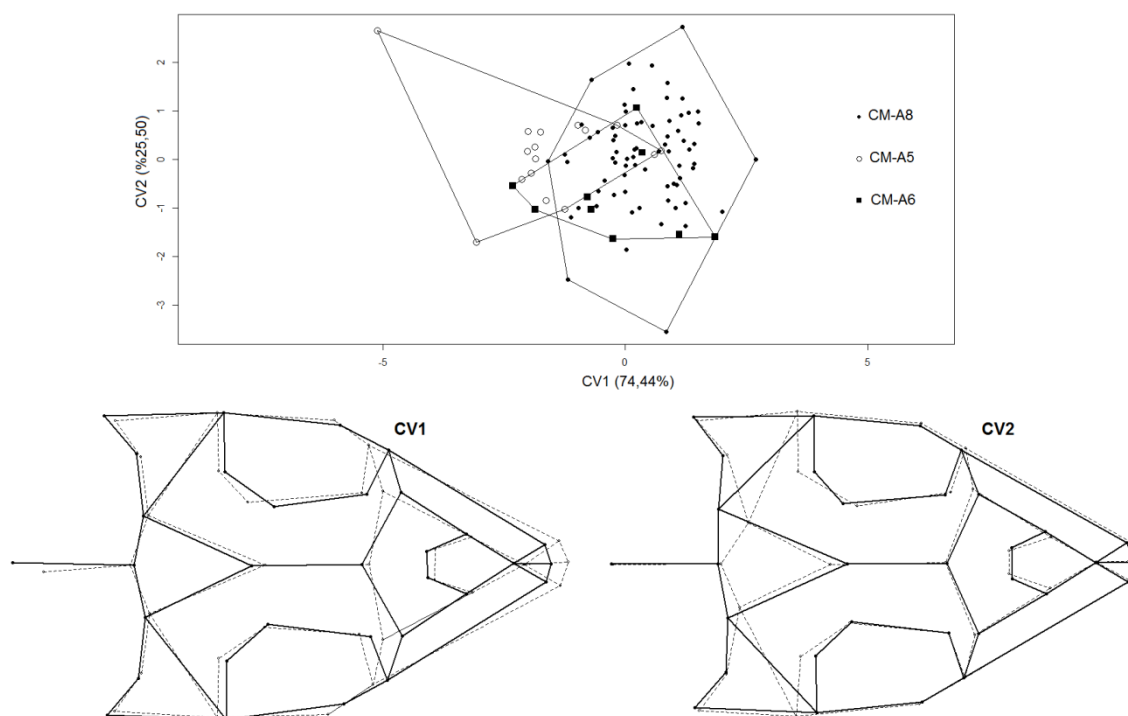


Figura 10 Gráfico de dispersão das variáveis canônicas (CV) e diferenciação morfológica na vista ventral do crânio de juvenis de *Chelonia mydas* de distintos sítios de nascimento,

encontrados no litoral do Estado do Paraná. As linhas sólidas representam os escores positivos e as linhas tracejada, os escores negativos.

Na vista lateral, o primeiro eixo canônico explicou 69,44% da variação e o segundo eixo, 30,48% (Fig. 11). As diferenças de forma nessa vista para o CV1 evidenciam e confirmam aquelas já indicadas para a vista dorsal, com as estruturas da região posterior mais largas e uma retração na porção anterior do rosto para os espécimes com haplótipo CM-A8. Nessa vista, destaca-se principalmente a mudança na forma da maxila, a qual é maior e deslocada anteriormente, além de apresentar uma retificação da borda posterior do osso nos indivíduos de CM-A5. No CV2, é possível observar o deslocamento para cima no parietal (eixo longitudinal), o encurtamento na região superior do esamosal e a curvatura mais acentuada da maxila, representando assim espécimes com haplótipo CM-A6.

Considerando 10 componentes, a análise discriminante classificou corretamente 98,61% dos indivíduos como CM-A8 e 64,28% como CM-A5. O CM-A6 foi classificado erroneamente e todos os indivíduos (n=7) foram classificados como pertencentes ao CM-A8.

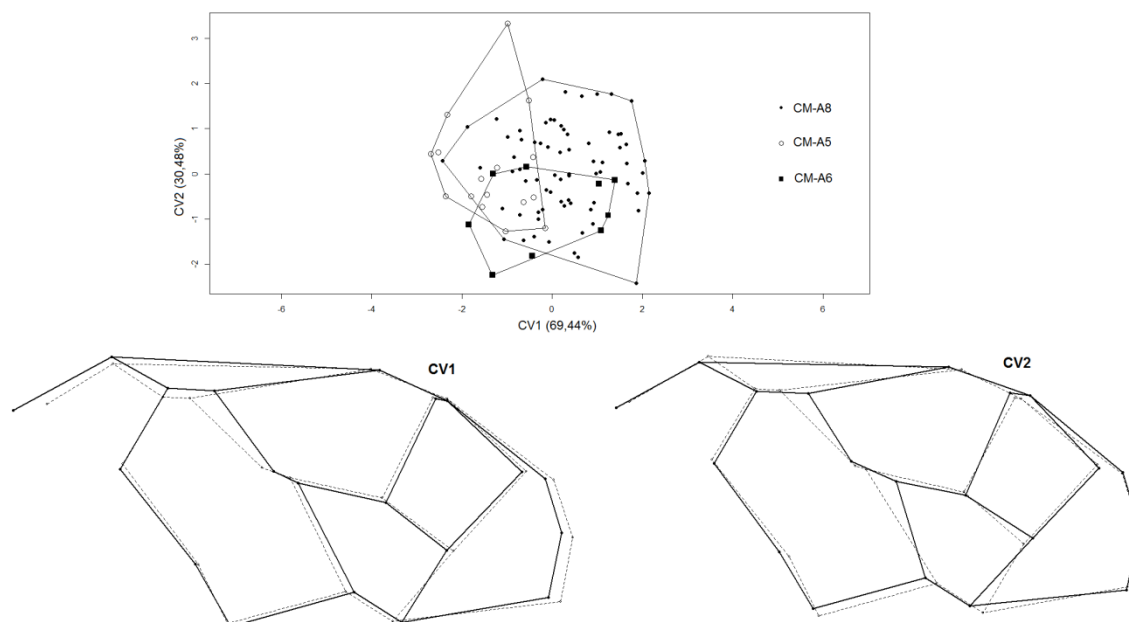


Figura 11 Gráfico de dispersão das variáveis canônicas (CV) e diferenciações morfológicas na vista lateral do crânio de *Chelonia mydas* de distintos sítios de nascimento e encontradas encahadas no litoral do Estado do Paraná. As linhas sólidas representam os escores positivos e as linhas tracejadas, os escores negativos.

3.3.1 Variação sexual dentro do haplótipo CM-A8

Diferenças sexuais foram avaliadas quanto ao tamanho e forma do crânio entre os indivíduos caracterizados pelo haplótipo CM-A8, sendo utilizado nas análises 17 fêmeas e 8 machos (Tabela 1). O resultado encontrado mostra que para as três vistas do crânio o tamanho do centróide e a forma não diferem entre machos e fêmeas pertencentes a este agrupamento genético (Tabela 3).

Tabela 1 Resultado da análise de tamanho e forma do crânio entre machos e fêmeas juvenis de *Chelonia mydas* encontrados na área de alimentação do Paraná e caracterizados pelo haplótipo CM-A8.

Vista	t- Student (tamanho)			MANOVA (forma)		
	t	d.f	p	Wilk's	F	P
Dorsal	0,08	22,5	0,93	0,46	1,64	0,19
Ventral	-0,12	22,68	0,9	0,69	0,61	0,90
Lateral	-0,09	21,65	0,92	0,45	1,67	0,18

Os resultados apresentados mostram que não há dimorfismo sexual na forma e tamanho do crânio de tartarugas-verde juvenis caracterizados pelo haplótipo CM-A8, sugerindo assim que o fator sexual tem menor influência do que o genético na configuração do crânio.

4 DISCUSSÃO

Considerando forma e tamanho do crânio, podemos inferir que os indivíduos pertencentes aos haplótipos CM-A8 e CM-A5, além de apresentarem características genéticas diferentes, também são morfologicamente distintos, e podem ser identificados a partir de qualquer vista do crânio. Enquanto que a estrutura craniana dos indivíduos com haplótipo CM-A6 é semelhante ao CM-A8, dificultando sua diferenciação morfológica.

As tartarugas-verde estão vulneráveis quanto ao risco de extinção e na costa brasileira a principal ameaça é a captura incidental por pescarias e a perda de habitat (Almeida *et al.*, 2011). A captura em redes é causa morte de diversos indivíduos juvenis encontradas no litoral do Paraná, sul do Brasil (López-Barrera *et al.*, 2010). Esta região faz parte das áreas de alimentação da espécie no oceano Atlântico sul ocidental (ASO) e é utilizada ao longo de todo o ano (Guebert-Bartholo *et al.*, 2011). Os indivíduos juvenis encontrados encalhados no Paraná, quando avaliados pela técnica da morfometria geométrica, apresentam variações intraespecíficas na forma e no tamanho do crânio, as quais foram influenciadas principalmente pela origem dos indivíduos. O crânio é uma estrutura complexa e representa a expressão fenotípica de diversos alelos gênicos (Kuratani, 2005). Portanto, a análise integrada de características morfológicas e genéticas permite compreender a interação do organismo com o ambiente, tanto para períodos recentes quanto evolutivos (Cardini & Elton, 2008; de Oliveira *et al.*, 2008; Chiari *et al.*, 2009).

As áreas de alimentação de tartarugas-verde agregam indivíduos de múltiplas origens (Lahanas *et al.*, 1998), que são influenciados pelas condições ambientais e impactos locais. Múltiplas fontes antrópicas de degradação alteram a estrutura e funcionamento dos ecossistemas costeiros e estuarinos, ocasionando o declínio das populações regionais de tartarugas marinhas (Lotze *et al.*, 2006; Halpern *et al.*, 2008) e da variabilidade genética, e assim afetando a manutenção das espécies em escala global (Wallace *et al.*, 2011). A inter-relação entre as áreas de vida de espécies migratórias, como as tartarugas-verde, ressaltam a importância da caracterização biológica da espécie e da

avaliação quanto à conectividade e padrões de migração, que são informações essenciais para se estabelecer unidade de manejo para a conservação.

Na área de alimentação do Paraná foram identificados dez haplótipos, sendo os mais frequentes CM-A8 (n=73) e CM-A5 (n=16). O haplótipo CM-A8 é oriundo dos sítios de nidificação do Atlântico Sul, enquanto que o CM-A5 é encontrado na região do Caribe (Formia *et al.*, 2006; Naro-Maciel *et al.*, 2007; Shamblin *et al.*, 2012), representada neste estudo por Matapica (Suriname) e Aves (Venezuela), situadas na porção sul. Os haplótipos descritos neste estudo também são reportados em outras áreas de alimentação do ASO (Naro-Maciel, 2007; Bondioli, 2009; Proietti *et al.*, 2009; Prosdocimi *et al.*, 2012).

A análise morfométrica mostrou que o crânio de tartarugas-verde juvenis apresenta tamanho e forma distintas entre os indivíduos caracterizados pelos haplótipos CM-A5 e CM-A8. Estudos moleculares sugerem que as tartarugas-verde do oceano Atlântico possuem duas linhagens evolucionárias distintas, uma composta por indivíduos das áreas de nidificação do Atlântico norte e outra do Atlântico sul, com uma sobreposição das linhagens na região central, que sustenta a hipótese de refúgio bifocal (Encalada *et al.* 1996; Naro-Maciel *et al.*, 2007; Naro-Maciel *et al.*, 2014). A máxima glaciação do Pleistoceno culminou no isolamento das tartarugas-verde em dois refúgios, um no Caribe e outro próximo à região sul equatorial, sendo que os grupos isolados retomaram contato durante o período interglacial (Encalada *et al.*, 1996; Reece *et al.*, 2005; Naro-Maciel *et al.*, 2014). Os refúgios glaciais são considerados o principal fator para sobrevivência e distribuição atual das espécies (Provan & Bennett, 2008). Assim, a história evolutiva das tartarugas-verde justifica as diferenças encontradas entre o crânio de juvenis do sul do Caribe (CMA-5) e do Atlântico sul (CM-A8), uma vez que cada grupo sofreu influências externas e pressões de seleção distintas. Esse resultado corrobora e dá suporte àqueles avaliados até o momento por estudos genéticos (Naro-Maciel *et al.*, 2014).

O crânio das tartarugas-verde juvenis com haplótipo CM-A5 é estruturalmente menor e possui a região frontal mais alongada em relação a CM-A8. De um ponto de vista funcional, a forma da porção anterior do crânio está diretamente relacionada às diferenças de habitat e dieta (Claude *et al.*, 2004). As tartarugas-verde ocupam diferentes habitats ao longo do desenvolvimento

ontogenético, e possuem a forma do crânio distinta em cada fase, justificando as mudanças no modo de alimentação (Nishizawa *et al.*, 2010). Em geral, espécies herbívoras possuem a região anterior do crânio maior e a superfície de trituração mais larga em relação a espécies omnívoras e carnívoras (Claude *et al.*, 2004). Nesse contexto, podemos inferir que as tartarugas-verde juvenis com origem na região sul do Caribe, ao longo do processo evolutivo, sofreram influências externas diferenciadas e, em resposta a pressão de seleção, se distanciaram morfologicamente em relação as do Atlântico Sul, apresentando estruturas cranianas mais características de animais com comportamento predominantemente herbívoro.

Quando avaliadas graficamente, as modificações na forma do crânio de tartarugas-verde juvenis com haplótipo CM-A5 sugerem uma tendência similar às características morfológicas descritas para o crânio da tartaruga-de-pente, *Eretmochelys imbricata* (Wyneken, 2001). As tartarugas-verde e as tartarugas-de-pente possuem um padrão de distribuição global similar (Plotkin, 2003), além dos parâmetros genéticos, padrões de dispersão e de comportamento migratório serem semelhantes na zona tropical do Atlântico (Meylan, 1999; Reece *et al.*, 2005; Bass *et al.*, 2006; Bowen *et al.*, 2007; Blumenthal *et al.*, 2009). Embora seus períodos reprodutivos sejam distintos, suas áreas de nidificação em Tortuguero, na Costa Rica, se sobrepõem, assim como as áreas de alimentação de adultos na Nicarágua (Bjorndal *et al.*, 1985).

Na literatura já foram descritos casos de hibridizações entre tartarugas-verde e tartaruga-de-pente encontradas no Suriname (Wood *et al.*, 1983; Karl *et al.*, 1995) e na costa Pacífica do México (Seminoff *et al.*, 2003). Morfologicamente, os híbridos possuem a região anterior do crânio mais próxima ao de tartaruga-verde, enquanto que o tamanho corporal é semelhante ao das tartarugas-de-pente (Seminoff *et al.*, 2003). Apesar de incipiente, as características morfológicas encontradas podem ser respostas de processos de hibridização entre as espécies na região do Caribe. Um processo de compartilhamento genético, ou até mesmo a exposição às mesmas pressões ambientais de seleção genética e conseqüente expressão fenotípica, podem atuar fazendo com que os juvenis de tartarugas-verde originadas nessa área, difiram morfologicamente de outras populações do Atlântico sul. Entretanto, é

necessário investigar mais profundamente fatores genéticos, que em conjunto com a morfologia podem trazer informações a respeito do comportamento, padrões de dispersão e história evolutiva das espécies.

Os indivíduos identificados com os outros haplótipos (CM-A6, CM-A9, CM-A23, CM-A24, CM-A37, CM-A39, CM-A46) possuem a forma do crânio semelhante à de CM-A8. Considerando aspectos genéticos e evolutivos da espécie, acredita-se que CM-A8 é o haplótipo ancestral do Atlântico, dando origem aos demais (Encalada *et al.*, 1996; Formia *et al.*, 2006). Atualmente, todos esses haplótipos são descritos para as áreas de nidificação no oceano Atlântico Sul e África, sendo que a maioria é diferenciada de CM-A8 apenas por um 1bp (Bjorndal *et al.*, 2006; Formia *et al.*, 2006; Naro-Maciel *et al.*, 2007), sugerindo que a dispersão espaço-temporal foi semelhante entre os haplótipos supracitados. Portanto, é esperado que os indivíduos de tartarugas-verde juvenis com origem nas áreas de nidificação Atlântico Sul e da costa da África apresentem características morfológicas semelhantes, conforme observado no presente estudo.

As variações sexuais observadas quanto à forma do crânio de tartarugas-verde juvenis não refletem necessariamente o dimorfismo sexual na espécie, uma vez que tais variações não foram evidenciadas na avaliação dos indivíduos caracterizados pelo haplótipo CM-A8. Tal condição demonstra que as diferenças sexuais na forma do crânio inicialmente detectadas podem ser apenas consequências da variabilidade dos estoques mistos analisados na área de alimentação do Paraná. Este resultado é corroborado pelo fato da taxa de crescimento para tartarugas-verde imaturas ser semelhante entre machos e fêmeas (Bolten *et al.* 1992), inclusive para animais avaliados nesta mesma área de alimentação (Ferrarini, 2014). Somente quando os indivíduos atingem 60 cm de CCC, o dimorfismo sexual é evidenciado no crescimento somático (Bjorndal *et al.*, 2000). Considerando que no presente estudo foram avaliados indivíduos com até sete anos de idade e CCC máximo de 54,5 cm, ou seja, juvenis, as diferenças sexuais não são esperadas.

A influência da variação etária na morfologia do crânio de juvenis de tartarugas-verde foi verificada no tamanho do centróide e mostra que indivíduos com idade superior a cinco anos possuem crânios proporcionalmente maiores do

que indivíduos mais jovens. No Paraná, os juvenis de tartarugas-verde entre dois e cinco anos possuem a amplitude do CCC semelhante, e por volta dos seis anos, com 46 cm de CCC, dão indícios de uma tendência de crescimento diferenciada (Ferrarini, 2014). Segundo Green (1993), o crescimento de tartarugas-verde pode ocorrer de forma escalonada, uma vez que em condições favoráveis a taxa de crescimento pode ser elevada (5-10 cm/ano), servindo como medida compensatória em situações adversas. Assim, é evidenciado que os juvenis de tartarugas-verde com idade entre cinco e sete anos passam por uma fase de modificações ontogenéticas em toda a estrutura corporal as quais também podem ser influenciadas pela disponibilidade de alimento (Bjorndal *et al.*, 2000), mudança na dieta e uso de habitat (Arthur *et al.*, 2008) ou até mesmo pelos níveis de hormônio, em resposta a agentes estressores (Jessop & Hamann, 2005).

Durante a trajetória de crescimento de uma estrutura, o aumento no tamanho é acompanhado pela mudança na forma, mantendo assim os aspectos funcionais (Emerson & Bramble, 1993). Segundo Nishizawa *et al.* (2010) as tartarugas-verde juvenis com CCC entre 34,7 e 51,2 cm possuem a forma do crânio diferenciada dos adultos (85,5 - 102,5 cm de CCC), principalmente no que diz respeito às estruturas relacionadas ao aparato trófico, que dão suporte às mudanças ontogenéticas na dieta. No presente estudo, diferenças na forma do crânio não foram vistas entre as idades analisadas (2-7 anos), todavia a alteração significativa no tamanho do crânio dos indivíduos com mais de cinco anos, podem representar o ponto de partida das modificações na forma que ocorrem da fase juvenil para a adulta. O período de recrutamento das tartarugas-verde para o ambiente nerítico pode variar de um a sete anos de idade (Goshe *et al.*, 2010), sendo que no Paraná o recrutamento é verificado entre dois a cinco anos (Ferrarini, 2014). Essa transição de ambientes é acompanhada da mudança na dieta, a qual não se dá imediatamente após o recrutamento (Cardona *et al.*, 2010), passando de onívora para primariamente herbívora (Jones e Seminoff, 2013). Logo, o período de recrutamento associado às alterações tróficas pode refletir as mudanças no tamanho do crânio de juvenis de cinco e sete anos.

As evidências de diferenciação morfológica das populações de tartarugas-verde do sul do Caribe e do oceano Atlântico sul são reflexos da história evolutiva e ecologia da espécie, que auxiliam na compreensão dos aspectos biogeográficos e ressaltam a importância do litoral do Estado do Paraná como parte do corredor migratório do ASO. Indivíduos oriundos principalmente de Ascensão, Suriname, São Tomé e Bioko compõe a área de alimentação e desenvolvimento do Paraná, reforçando a inter-relação entre as áreas. Os níveis de conectividade entre as áreas de alimentação e nidificação podem variar no tempo (Bjorndal *et al.*, 2008) e no espaço (Monzón-Arguelo *et al.*, 2010). As condições as quais os indivíduos são submetidos nas áreas de alimentação podem interferir nos aspectos reprodutivos (Hooker & Gerber, 2004; Hart *et al.*, 2014), fatores esses que reforçam a importância das áreas de alimentação para a manutenção da espécie.

As tartarugas marinhas se deslocam pelas correntes dos giros oceânicos (Luschi *et al.*, 1998; Putman & Naro-Maciel, 2013; Mansfield *et al.*, 2014), entretanto existem lacunas no conhecimento sobre os corredores migratórios entre regiões específicas e portais de recrutamento de animais juvenis entre as áreas oceânicas e costeiras. Com base nos resultados de telemetria e contribuição dos sítios de nidificação encontrados nas áreas de alimentação do ASO, as tartarugas-verde com origem nas áreas de alimentação do oceano Atlântico sul e África utilizam a Corrente Sul Equatorial (CSE) e a Corrente do Brasil (CB) para se deslocarem em direção ao ASO (Luschi *et al.*, 1998; Naro Maciel *et al.*, 2007; Prosdocimi *et al.*, 2012). Entretanto, pouco se sabe a respeito das rotas migratórias das tartarugas-verde originadas na região sul do Caribe em direção ao hemisfério sul. No presente estudo, o CCC dos indivíduos com haplótipo CM-A5 que vieram do Caribe variam de 27,4 cm a 40 cm (com idade entre 2 e 4 anos), características de indivíduos recém-recrutados, que sugerem um evento de migração rápido até a área de alimentação analisada, uma vez que a região sul do caribe está a mais de 3500 km de distância do litoral do Paraná. Assim, considerando as informações de dinâmica oceanográfica física, sugere-se que esses indivíduos utilizam a Contra Corrente Equatorial (CCE), posteriormente entram na CSE e seguem pela CB, uma vez

que a migração pela zona costeira é menos provável devido à barreira geográfica imposta pela Foz do rio Amazonas.

Segundo Monzón-Arguelo *et al.* (2010), as tartarugas-verde da costa do Suriname podem migrar até Cabo Verde, na África, derivando pelo Giro do Atlântico norte ou pela CCE. O sistema de correntes equatoriais possui uma variabilidade espaço-temporal em resposta às forçantes atmosféricas, sendo que durante o inverno austral a Corrente Norte do Brasil (CNB) alimenta a CCE, a qual é intensificada e se aproxima da costa (Peterson & Strauma, 1991). A rota via CCE representa o percurso mais curto e mais provável para se chegar ao ASO com um menor gasto energético. A CB têm influência sobre a plataforma continental a partir de meandros e vórtices (Mateno *et al.*, 2010), os quais podem servir de “janela” para o recrutamento desses indivíduos na região costeira e estuarina do ASO. Uma vez recrutados para a zona costeira, os juvenis podem realizar deslocamentos ao longo da costa que ocorrem no sentido norte-sul (evidenciado pelo sistema de capturas de animais marcados com anilha metálica) ou sul-norte, como foi visto para tartarugas-verde juvenis que se deslocam da Argentina para o Brasil durante a primavera e inverno, em busca de áreas com condições de temperatura e recurso alimentar mais favoráveis (González-Carman *et al.*, 2012). Desse modo, as áreas de alimentação de tartarugas-verde apresentam uma intensa conexão e devem ser protegidas e analisadas de forma integrada, uma vez que funcionam como habitats essenciais para a manutenção da espécie e de sua variabilidade genética (Scott *et al.*, 2012).

O comportamento migratório da espécie a expõe a diversos impactos, reforçando a necessidade de estabelecer ações de conservação que englobem os corredores migratórios (Marcovaldi *et al.*, 2010). Wallace *et al.* (2010) identificaram para tartaruga-verde cinco unidades de manejo regionais (RMU's) no Atlântico, que foram baseadas principalmente em dados genéticos e de marcação e telemetria. Os autores sugerem que informações a respeito das áreas de alimentação sejam incorporadas, a fim de contribuir na identificação das áreas prioritárias para a conservação e criação das RMU's. Desse modo, considerando que as populações de tartaruga-verde juvenil oriundas do sul do Caribe possuem características morfológicas do crânio distintas das populações

do Atlântico Sul e África, e que essas áreas contribuem com os estoques mistos registrados ao longo das áreas de alimentação no ASO (Naro-Maciel, 2007; Bondioli, 2009; Proietti *et al.*, 2009; Prosdocimi *et al.*, 2012), as RMU's do Atlântico Sudoeste e Sul do Caribe devem ser unificadas para garantir a integração de todo o corredor migratório de tartarugas-verdes da população do Atlântico Sul.

Estudos da morfologia craniana têm sido realizados com diferentes propósitos e com grande êxito. Os mamíferos, por exemplo, são alvo de centenas de estudos morfológicos como objetivos de identificar variações inter e intraespecíficas, assim como determinar as relações ecológicas e filogenéticas (Monteiro-Filho *et al.*, 2002; Cardini & O'Higgins, 2004; D'Anatro & Lessa, 2006, de Oliveira *et al.*, 2008; Fornel *et al.*, 2010). As variações na morfologia podem identificar estoques populacionais distintos, conforme diagnosticado neste estudo, informação esta que associada a dados genéticos e parâmetros populacionais permite o estabelecimento de área ou unidades de manejo, necessárias para processos de gestão e conservação das espécies (Secchi *et al.*, 2003). Desse modo, concluímos que a morfologia é uma ferramenta eficaz na avaliação de estoques de espécies migratórias, como a tartaruga-verde, e esclarece questões evolutivas, ecológicas e biogeográficas, que contribuem no direcionamento dos esforços internacionais para a conservação da espécie.

REFERÊNCIAS

- Adams DC, Rohlf FJ, Slice DE. 2013.** A field comes of age: geometrics morphometrics in the 21st century. *Hystrix: Italian Journal Mammalogy* **24**: 7-14.
- Adams DC, Otárola-Castillo E. 2013.** Geomorph: an R package for the collection and analysis of geometric morphometric shape data. *Methods in Ecology and Evolution* **4**: 393-399.
- Adams DC, Rohlf FJ, Slice DE. 2004.** Geometric morphometrics: ten years of progress following the “revolution”. *Italian Journal Zoology* **71**: 5-16.
- Arthur KE, Boyle MC, Limpus CJ. 2008.** Ontogenetic changes in diet and habitat use in green sea turtle (*Chelonia mydas*) life history. *Marine Ecology Progress Series* **362**: 303-311.
- Avens L, Goshe LR. 2007.** Comparative skeletochronological analysis of Kemp’s ridley (*Lepidochelys kempii*) and loggerhead (*Caretta caretta*) humeri and sclera ossicles. *Marine Biology* **152**: 1309-1317.
- Bass A.L., Epperly S.P., Braun-Mcneill J. 2006.** Green Turtle (*Chelonia mydas*) foraging and nesting aggregations in the Caribbean and Atlantic: Impact of currents and behavior on dispersal. *Journal of Heredity*. **97**: 346-354.
- Baylac M. 2012.** Rmorph: a R geometric and multivariate morphometrics library.
- Baylac M, Friess M. 2005.** Fourier descriptors, Procrustes superimposition, and data dimensionality: an example of cranial shape analysis in modern human population. In: Slice EE, eds. *Modern Morphometrics in Physical Anthropology*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, 145-165.
- Bjorndal KA, Bolten AB, 2008.** Annual variation in source contributions to a mixed stock: implications for quantifying connectivity. *Molecular Ecology* **17**: 2185-2193.
- Bjorndal KA, Bolten AB, Martins HR. 2000.** Somatic growth model of juvenile loggerhead sea turtles *Caretta caretta*: duration of pelagic stage. *Marine Ecology Progress Series* **202**: 265-272.
- Bjorndal KA, Bolten AB, Moreira L, Bellini C, Marcovaldi MA. 2006.** Population structure and diversity of Brazilian green turtle rookeries based on

mitochondrial DNA sequences. *Chelonia Conservation and Biology* **5**: 262-268.

- Bjorndal KA, Bolten AB, Troeng S. 2005.** Population structure and genetic diversity in green turtles nesting at Tortuguero, Costa Rica, based on mitochondrial DNA control region sequences. *Marine Biology* **147**: 1449-1457.
- Bjorndal KA, Carr A, Meylan A, Mortimer JA. 1985.** Reproductive biology of the Hawksbill Turtle (*Eretmochelys imbricata*) at Tortuguero, Costa Rica, with notes on the ecology of the species in the Caribbean. *Biological Conservation* **34**: 353-368.
- Bolten A, Bjorndal KA, Grumbles JS, Owens DW. 1992.** Sex Ratio and Sex-Specific Growth Rates of Immature Green Turtles, *Chelonia mydas*, in the Southern Bahamas. *Copeia* **4**: 1098-1103.
- Bondioli ACV. 2009.** Estrutura populacional e variabilidade genética de tartaruga-verde (*Chelonia mydas*) da região de Cananéia, São Paulo. Tese não publicada. Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Bookstein FL. 1982.** Foundations of morphometrics. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematic* **13**: 451-470.
- Bookstein FL. 1991.** *Morphometric Tools for Landmark Data: Geometry and Biology*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Bowen BW, Grant WS, Hillis-Starr Z, Shaver DJ, Bjorndal KA, Bolten AB, Bass AL. 2007.** Mixed-stock analysis reveals the migrations of juvenile hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata*) in the Caribbean Sea. *Molecular Ecology* **16**: 49-60.
- Bowen BW, Karl SA. 2007.** Population genetics and phylogeography of sea turtles. *Molecular Ecology* **16**: 4886-4907.
- Blumenthal JM, Abreu-Grobois FA, Austin TJ, Broderick AC, Bruford MW, Coyne MS, Ebanks-Petrie G, Formia A, Meylan PA, Meylan AB, Godley BJ. 2009.** Turtle groups or turtle soup: dispersal patterns of hawksbill turtles in the Caribbean. *Molecular Ecology* **18**: 4841-4853.
- Broderick AC, Coyne MS, Fuller WJ, Glen F, Godley BJ. 2007.** Fidelity and overwintering of sea turtles. *Proceedings of the Royal Society Biological Sciences* **274**: 1533-1538.

- Burguer J, Garber SD. 1995.** Risk assessment, life history strategies, and turtles: Could declines be prevented or predicted? *Journal of Toxicology and Environmental Health* **46**: 483-500.
- Cardini A, O'Higgins P. 2004.** Patterns of morphological evolution in *Marmota* (Rodentia, Sciuridae): geometric morphometrics of the cranium in context of marmot phylogeny, ecology and conservation. *Biological Journal of the Linnean Society* **82**: 385-407.
- Chiari Y, Hyseni C, Fritts TH, Glaberman S, Márquez C, Gibbs JP, Claude Caccone A. 2009.** Morphometrics parallel genetics in a newly discovered and endangered taxon of Galápagos tortoise. *PLoS ONE* **4**: e6272.
- Claude J, Pritchard P, Tong H, Paradis E, Auffray JC. 2004.** Ecological Correlates and Evolutionary Divergence in the Skull of Turtles: A Geometric Morphometric Assessment. *Systematic Biology* **53**: 933-948.
- D'Anatro A, Lessa EP. 2006.** Geometric morphometric analysis of geographic variation in the Río Negro tuco-tuco, *Ctenomys rionegrensis* (Rodentia: Ctenomyidae). *Mammalian Biology* **71**: 288-298.
- Emerson SB, Bramble DM. 1993.** Scaling, allometry, and skull design. In: Hanken J, Hall BK, eds. *The Skull: Functional and Evolutionary Mechanisms Volume III*. The University of Chicago Press, Chicago, 384–421.
- Encalada SE, Lahanas PN, Bjorndal KA, Bolten AB, Miyamoto MM, Bowen BW. 1996.** Phylogeography and population structure of the Atlantic and Mediterranean green turtle *Chelonia mydas*, a mitochondrial DNA control region sequence assessment. *Molecular Ecology* **4**: 473-483.
- Ferrarini MA. 2012.** Histologia de gônadas de juvenis de *Chelonia Mydas* (Linnaeus, 1758) (Reptilia, Testudines) no litoral do Paraná. Monografia não publicada. Universidade Estadual de Londrina, Paraná.
- Ferrarini MA. 2014.** Idade e taxa de crescimento de juvenis de tartarugas-verde, *Chelonia Mydas* (Linnaeus, 1758), encontradas no litoral do Paraná, sul do Brasil. Dissertação não publicada. Universidade Estadual de Londrina, Paraná.
- Ferreira-Júnior PD, Treichel RL, Scaramussa TL, Scalfoni JT. 2011.** Morphometric pattern in *Caretta caretta* (Linnaeus, 1758) (Cheloniidae)

hatchlings from nests with different embryo development rates. *Brazilian Journal of Biology* **71**: 151-156.

- Flint M. 2013.** Free-Ranging Sea Turtle Health. In: Wyneken J, Lohmann KJ, Musick JA, eds. *The Biology of Sea Turtles Volume II*. CRC Press, Boca Raton, Estados Unidos, 379-398.
- Formia A, Godley BJ, Dontaine JF, Bruford, MW. 2006.** Mitochondrial DNA diversity and phylogeography of endangered green turtle (*Chelonia mydas*) populations in Africa. *Conserv. Genet.* **7**: 353-369.
- Gelman A, Rubin DB. 1992.** Inference from Iterative Simulation using Multiple Sequences. *Statistical Science* **7**: 457-511.
- González-Carman V, Álvarez KC, Prosdocimi L, Inchaurreaga MC, Dellacasa RB, Faiella A, Echenique C, González RL, Andrejuk J, Mianzan HW, Campagna C, Albareda DA. 2011.** Argentinian coastal waters: A temperate habitat for three species of threatened sea turtles. *Marine Biology Research* **7**: 500-508.
- Goshe L R, Avens L, Scharf FS, Southwood AL. 2010.** Estimation of age at maturation and growth of Atlantic green turtles (*Chelonia mydas*) using skeletochronology. *Marine Biology* **157**: 1725–1740.
- Green D. 1993.** Growth rates of wild immature green turtles in the Galápagos Islands, Ecuador. *Journal of Herpetology* **27**: 38-341.
- Guebert-Bartholo FM; Barletta M; Costa MF; Monteiro-Filho ELA. 2011.** Using gut contents to assess foraging patterns of juvenile Green turtles *Chelonia mydas* in the Paranaguá Estuary, Brazil. *Endangered Species Research* **13**: 131-143.
- Hall TA, 1999.** BioEdit, a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 95-98.
- Halpern BS, Walbrige S, Selkoe KA, Kappel CV, Micheli F, D'Agrosa C, Bruno JF, Casey KS, Ebert C, Fox HE, Fujita R, Heinemann D, Lenihan HS, Madin EMP, Perry MT, Selig ER, Spalding M, Steneck R, Watson R. 2008.** A Global Map of Human Impact on Marine Ecosystems. *Science* **319**: 948-952.

- Hillis DM, Mable BK, Moritz C. 1996.** Applications of molecular systematics: the state of the field and a look to the future. In: Hillis DM, Moritz C, Mable BK, eds. *Molecular Systematics*, Sinauer Associates, Inc., Sunderland.
- Higgins DG, Sharp PM. 1988.** CLUSTAL, a package for performing multiple sequence alignment on a microcomputer. *Gene* **73**: 237–244.
- Hingst-Zaher E, Marcus LF, Cerqueira R. 2000.** Application of geometric morphometrics to the study of postnatal size and shape changes in the skull of *Calomys expulsus*. *Hystrix* **11**: 99-113.
- Hooker S, Gerber LR. 2004.** Potential Importance of Megafauna: Marine Reserves as a Tool for Ecosystem-Based Management. *BioScience* **54**: 29-41.
- IUCN, 2014.** *Red List of Threatened Species, Version 2012.2*. Available at: <http://iucnredlist.org>
- Jackson JBC, Kirby MX, Berger WH, Bjorndal KA, Botsford LW, Bourque BJ, Bradbury RH, Cooke R, Erlandson J, Estes JA, Hughes TP, Kidwell S, Lange CB, Lenihan HS, Pandolfi JM, Peterson CH, Steneck RS, Tegner MJ, Warner RR. 2001.** Historical overfishing and the recent collapse of coastal ecosystems. *Science* **293**: 629-638.
- Jessop TS, Hamann M. 2005.** Interplay between age class, sex and stress response in green turtles (*Chelonia mydas*). *Australian Journal of Zoology* **53**: 131-136.
- Jones TT, Seminoff JA. 2013.** Feeding Biology: Advances from Field-Based Observations, Physiological Studies, and Molecular Techniques. In: Lutz PL, Musick JA, Wyneken J, eds. *Biology of Sea Turtle Vol III*. CRC press, 211-248.
- Kamezaki N, Matsui M. 1995.** Geographic variation in skull morphology of the green turtle, *Chelonia mydas*, with a taxonomic discussion. *Journal of Herpetology* **29**: 51-60.
- Karl SA, Bowen BW, Avise, JC. 1995.** Hybridization among the ancient mariners: characterization of marine turtle hybrids with molecular genetic assays. *Journal Heredity* **86**: 262-268.
- Kolamunnage R, Kent JT. 2003.** Principal component analysis for shape variation about an underlying symmetric shape. In: Aykroyd RG, Mardia KV,

Langdon MJ, eds. *Stochastic geometry, biological structure and images*. Leeds:Leeds University Press, 137-139.

Kuratani S. 2005. Craniofacial development and the evolution of the vertebrates: the old problems on a new background. *Zoological Science* **22**: 1-19.

Lahanas PN, Miyamoto MM, Bjorndal KA, Bolten AB. 1994. Molecular evolution and population genetics of greater Caribbean green turtles (*Chelonia mydas*) as inferred from mitochondrial DNA control region sequences. *Genetica* **94**: 57–66.

Lahanas PN, Bjorndal KA, Bolten AB, Encalada SE, Miyamoto MM, Valverde RA, Bowen BW. 1998. Genetic composition of a green turtle (*Chelonia mydas*) feeding ground population: evidence for multiple origins. *Marine Biology* **130**: 345-352.

Linnaeus C. 1758. Systema naturae per regna triae naturae, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis. L. Salvii, Stockholm.

López-Barrera EA; Longo GO; Monteiro-Filho ELA. 2012. Incidental capture of green turtle (*Chelonia mydas*) in gillnets of small-scale fisheries in the Paranaguá Bay, Southern Brazil. *Ocean & Coastal Management* **60**: 11-18.

Lotze HK, Lenihan HS, Bourque BJ, Bradbury RH, Cooke RG, Kay MC, Kidwell SM, Kirby MX, Peterson CH and Jackson JBC. 2006. Depletion, Degradation, and Recovery Potential of Estuaries and Coastal Seas. *Science* **312**: 1806-1809.

Luke K, Horrocks JA, Le Roux RA, Dutton PH. 2004. Origins of green turtle (*Chelonia mydas*) feeding aggregations around Barbados, West Indies. *Marine Biology* **144**: 799-805.

Luschi P, Hays GC, Del Seppia C, Marsh R, Papi F. 1998. The navigational feats of green sea turtles migrating from Ascension Island investigated by satellite telemetry. *Proceedings of the Royal Society of London B* **265**: 2279-2284.

Mainsfield KL, Wyneken J, Porter WP, Luo J. 2014. First satellite tracks of neonate sea turtles redefine the “lost years” oceanic niche. *Proceedings of the Royal Society B* **281**: 20133039.

- Marcovaldi M, Lopez G, Soares L, Lima E, Thomé J, Almeida A. 2010.** Satellite-tracking of female loggerhead turtles highlights fidelity behavior in northeastern Brazil. *Endangered Species Research* **12**: 263-272.
- Matano RP, Palma ED, Piola AR. 2010.** The influence of the Brazil and Malvinas currents on the southwestern Atlantic shelf. *Ocean Sciences* **6**: 983-995
- Mazaris AD, Broder B, Matsinos YG. 2006.** An individual based model of sea turtles: investigating the effect of temporal variability on population dynamics. *Ecological Modelling* **194**: 114-124.
- Meylan AB. 1999.** International movements of immature and adult hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata*) in the Caribbean Region. *Chelonian Conservation & Biology* **3**: 189-194.
- Michel-Morfin JE, Gómes Munõz VM, Navarro Rodríguez C. 2001.** Morphometric model for sex assessment in hatchling olive Ridley Sea Turtles. *Chelonian Conservation and Biology* **4**: 53-58.
- Miller JD, Limpus CJ. 2003.** Ontogeny of marine turtle gonads. In: Lutz P, Musick JA, Wyneken J, eds. *The Biology of Sea Turtles Vol II*. CRC Press, Boca Raton, 199-224.
- Monteiro- Filho ELA, Monteiro LR, Reis SF. 2002.** Skull shape and size divergence in dolphins of the genus *Sotalia*: a tridimensional morphometric analysis. *Journal of Mammalogy* **18**: 125-134.
- Monteiro LR, Reis SF. 1999.** *Princípios de Morfometria Geométrica*. Holos Editora. Ribeirão Preto, 188.
- Monzón-Argüello C, López-Jurado LF, Rico C, Marco A, López P, Hays GC, Lee PLM. 2010.** Evidence from genetic and Lagrangian drifter data for transatlantic transport of small juvenile green turtles. *Journal of Biogeography* **37**: 1752-1766.
- Musick JA, Limpus CJ. 1997.** Habitat utilization and migration in juvenile sea turtles. In: Lutz PL, Musick JA, eds. *The Biology of Sea Turtles*. CRC Press, Boca Raton, 137.
- Myers T. 2007.** Osteological morphometrics of Australian Chelonioid Turtles. *Zoological Science* **24**: 1012-1027.

- Naro-Maciel E, Reid BN, Alter SE, Amato G, Bjorndal KA, Bolten AB, Martin M, Nairn CJ, Shamblin B, Pineda-Catalan O. 2014.** From refugia to rookeries: Phylogeography of Atlantic green turtles. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **461**: 306-316.
- Naro-Maciel E, Becker JH, Lima EHSM, Marcovaldi MA, Desalle R. 2007.** Testing dispersal hypotheses in foraging green sea turtle (*Chelonia mydas*) of Brazil. *Journal of Heredity* **98**: 29-39.
- Nishizawa H, Asahara M, Kamezaki N, Arai N. 2010.** Differences in the skull Morphology between juvenile and adult green turtle: Implications for the ontogenetic diet shift. *Current Herpetology* **29**: 97-101.
- Nishizawa H, Asahara M, Kamezaki N. 2013.** Ontogenetic Scaling of the Humerus in Sea Turtles and Its Implications for Locomotion Ontogenetic Scaling of the Humerus in Sea Turtles and Its. *Zoological Science* **30**: 211-216.
- Peakall R, Smouse PE. 2006.** GenAEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* **6**: 288-295.
- Pella JJ, Masuda M. 2001.** Bayesian methods for analysis of stock mixtures from genetic characters. *Fish. Bull* **9**: 151-167.
- Stramma L, Peterson RG. 1990.** The South Atlantic Current. *Journal of physical oceanography* **20**: 846-859.
- Plotkin P. 2003.** Adult Migrations and Habitat Use. In: LUTZ PL, MUSICK JA, eds. *The Biology of Sea Turtles Vol II*. CRC Press. Boca Raton, FL, 225-240.
- Proietti, M. C.; Lara-Ruiz, P.; Reisser, J. W.; Pinto, L. S.; Dellagostin, O. A.; Marins, L. F. 2009.** Green turtles (*Chelonia mydas*) foraging at Arvoredo Island in Southern Brasil: Genetic characterization and mixed stock analysis through mtDNA control region haplotypes. *Genetics and Molecular Biology* **32**: 613-618.
- Prosdocimi L, Carman VG, Albareda DA, Remis MI. 2012.** Genetic composition of green turtle feeding grounds in coastal waters of Argentina based on mitochondrial DNA. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **412**: 37-45.

- Provan J, Bennett KD. 2008.** Phylogeographic insights into cryptic glacial refugia. *Trends in Ecology and Evolution* **23**: 564-571.
- Putman NF, E Naro-Maciel. 2013.** Finding the “lost years” in green turtles: Insights from ocean circulation models and genetic analysis. *Proceedings of the Royal Society of London B* **280**: 20131468.
- R Core Team. 2013.** *R: A language and environment for statistical computing, Version 3.1.1.* Available at: [http:// r-project.org](http://r-project.org)
- Reece JS, Castoe, TA, Parkinson, CL. 2005.** Historical perspectives on population genetics and conservation of three marine turtle species. *Conservation Genetics* **6**: 235-251.
- Rohlf J, Marcus LF. 1993.** A revolution in morphometrics. *Trends in Ecology and Evolution* **8**: 129-132.
- Rohlf FJ. 2004.** *tpsUtil*: file utility program, *Version 1.26*. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, New York. Available at: <http://life.bio.sunysb.edu/morph>.
- Rohlf FJ. 2010.** *tpsDig*: computer program, *Version 2.16*. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, New York. Available at: <http://life.bio.sunysb.edu/morph>.
- Rosa L. 2009.** Estudo da biologia reprodutiva na fase juvenil da tartaruga-verde (*Chelonia mydas*) no litoral do Estado do Paraná. Dissertação não publicada, Universidade Federal do Paraná, Pontal do Paraná.
- Scott R, Hodgson DJ, Witt JM, Coyne MS, Adnyana W, Blumenthal JM, Broderick AC, Canbolat AF, Catry P, Ciccione S, Delcroix E, Hitipeuw C, Luschi P, Pet-Soede L, Pendoley K, Richardson PB, Rees AF, Godley BJ. 2012.** Global analysis of satellite tracking data shows that adult green turtles are significantly aggregated in Marine Protected Areas. *Global Ecology and Biogeography* **21**: 1053-1056.
- Secchi ER, Danilewicz, Ott PH. 2003.** Applying the phylogeographic concept to identify franciscana dolphin stocks: implications to meet management objectives. *Journal of Cetacean Research and Management* **5**: 61-68.
- Seminoff JA, Karl SA, Schwartz T, Resendiz A. 2003.** Hybridization of the green turtle (*Chelonia mydas*) and hawksbill turtle (*Eretmochelys imbricata*)

in the Pacific Ocean: indication of absence of gender bias in the directionality of crosses. *Bulletin of Marine Science* **73**: 643-652.

- Shamblin BM, Bjorndal KA, Bolten AB, Hillis-Starr ZM, Lundgren I, Naro-Maciel E, Nairn CJ. 2012.** Mitogenomic sequences better resolve stock structure of southern Greater Caribbean green turtle rookeries. *Molecular Ecology* **21**: 2330-2340.
- Snover ML, Hohn AA. 2004.** Validation and interpretation of annual skeletal marks in loggerhead (*Caretta caretta*) and Kemp's ridley (*Lepidochelys kempii*) sea turtles. *Fishery Bulletin* **102**: 682-692.
- Spotila JR. 2004.** *Sea turtles: a complete guide to their biology, behavior and conservation*. Baltimore: The Johns Hopkins University Press, 228.
- Zug GR, Wynn AH, Ruckdeschel C. 1986.** Age determination of loggerhead sea turtles, *Caretta caretta*, by incremental growth marks in the skeleton. *Smithsonian Contributions to Zoology* **427**: 1-34.
- Wallace BP, DiMatteo AD, Bolten AB, Chaloupka MY, Hutchinson BJ, Abreu-Grobois FA, Mortimer JA, Seminoff JA, Amorocho D, Bjorndal KA, Bourjea J, Bowen BW, Dueñas RB, Casale P, Choudhury BC, Costa A, Dutton PH, Fallabrino A, Finkbeiner E M, Girard A, Girondot M, Hamann M, Hurley BJ, Lopez-Mendilaharsu M, Marcovaldi, MA, Musick JA, Nel R, Pilcher NJ, Troeng S, Witherington B, Mast RB. 2011.** Global Conservation Priorities for Marine Turtles. *PloS one* **6**: e24510.
- Wallace BP, DiMatteo AD, Hurley BJ, Finkbeiner EM, Bolten AB, Chaloupka MY, Hutchinson BJ, Abreu-Grobois FA, Amorocho D, Bjorndal KA, Bourjea J, Bowen BW, Dueñas RB, Casale P, Choudhury BC, Costa A, Dutton PH, Fallabrino A, Girard A, Girondot M, Godfrey MH, Hamann M, López-Mendilaharsu M, Marcovaldi MA, Mortimer JA, Musick JA, Nel R, Pilcher NJ, Seminoff JA, Troëng S, Witherington B, Mast RB. 2010.** Regional Management Units for Marine Turtles: A Novel Framework for Prioritizing Conservation and Research across Multiple Scales. *PloS one* **5**: e15465.
- Williard AS. 2013.** Physiology as Integrated Systems. In: Wyneken J, Lohmann KJ, Musick JA, eds. *The Biology of Sea Turtles Volume III*. CRC Press, Boca Raton, Estados Unidos, 329-352.

- Wood JR, Wood FE, Critchley K. 1983.** Hybridization of *Chelonia mydas* and *Eretmochelys imbricata*. *Copeia* 839-842.
- Wyneken J. 2001.** The anatomy of sea turtle. NOAA Memorandum NMFS-SEFSC, n. 470. Miami, Flórida, 180p.
- Wyneken J. 2013.** The Skeleton: An In Vivo View of Structure. In: Wyneken J, Lohmann KJ, Musick JA, eds. *The Biology of Sea Turtles Volume III*. CRC Press, Boca Raton, 79-95.

ANEXO A

Segue abaixo a definição dos marcos anatômicos identificados nas três vistas do crânio de *Chelonia mydas juvenis* analisadas:

Marcos anatômicos	Dorsal
1	Ponta do supraoccipital
2-23	Ponta posterior do parietal
3-21	Junção do parietal e do esquamosal
4-20	Junção entre o parietal, esquamosal, postorbital
5-22	Ponta posterior do esquamosal
6-19	Junção do postorbital e esquamosal na parte lateral
7-18	Junção do frontal, parietal e postorbital
8-17	Junção do frontal com o postorbital ao longo da órbita
9-16	Junção do frontal com o pré-frontal ao longo da órbita
10-11	Junção do frontal e parietal ao longo da linha média
12-13	Junção do frontal e pré-frontal ao longo da linha média
14	Junção anterior do pré-frontal
15	Junção superior da pré-maxila

Marcos anatômicos	Ventral
1	Ponta do supraoccipital
2	Posterior ponta basioccipital ao longo da linha média
3-28	Ponta do processo basisfenóide
4-29	Junção entre o esquamosal, quadrado e opistótico
5-30	Ponta posterior do esquamosal
6-26	Extremidade externa do côndilo mandibular do quadrado
7-27	Extremidade interna do côndilo mandibular do quadrado
	Junção do pterigóide e quadrado ao longo fossa infratemporal
8-25	
9-31	Junção de jugal / quadratojugal junto fossa infratemporal
10-32	Intersecção de cume tomial e fossa infratemporal
	Junção anterior da pré-maxila e maxila ao longo cume tomial
11-20	
12	Ponta anterior da pré-maxila ao longo cume tomial
13	Junção da pré-maxila e vômer ao longo da linha média
14-21	Junção do vômer, maxila e do palato
15-22	Junção do vômer e palato e junto as narinas internas
16-23	Junção posterior da maxila e palato
17-24	Junção do palato e pterigóide junto a fossa infratemporal
18	Ponta anterior do pterigóide ao longo da linha média
19	Junção de pterigóide e basisfenóide ao longo da linha média

Marcos anatômicos	Lateral
1	Ponta posterior do supraoccipital
2	Junção posterior do parietal e supraoccipital
3	Junção posterior do parietal e esquamosal
4	Junção do postorbital, parietal e esquamosal
5	Junção do postorbital, esquamosal e quadrajugal
6	Junção do postorbital, jugal e quadradojugal
7	Junção do postorbital e jugal ao longo da órbita
8	Junção da maxila e jugal ao longo da órbita
9	Junção da maxila e pré-frontal ao longo da órbita
10	Junção do frontal e pré-frontal ao longo da órbita
11	Junção do frontal e postorbital ao longo da órbita
12	Junção anterior da maxila e pré-frontal
13	Junção superior da pré-maxila e maxila
14	Ponta inferior da pré-maxila
15	Borda posterior do maxila superior
16	Junção inferior do jugal e quadradojugal
17	Ponta inferior do côndilo mandibular do quadrado
18	Ponta do processo quadrado abaixo do canal auditivo
19	Ponta posterior do esquamosal
20	Junção do parietal, postorbital e frontal
