

UNIVERSIDADE DE LISBOA

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE
DE LISBOA



ANÁLISE PARASITOLÓGICA DE TRATOS DIGESTIVOS DE TARTARUGAS VERDES
JUVENIS (*CHELONIA MYDAS*) PROVENIENTES DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO,
BRASIL

BRUNA MARIA MARINHO CAVACO

ORIENTADOR:

Doutor Max Rondon Werneck

COORIENTADOR:

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho

2021

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

U LISBOA

UNIVERSIDADE
DE LISBOA



ANÁLISE PARASITOLÓGICA DE TRATOS DIGESTIVOS DE TARTARUGAS VERDES
JUVENIS (*CHELONIA MYDAS*) PROVENIENTES DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO,
BRASIL

BRUNA MARIA MARINHO CAVACO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

JÚRI

PRESIDENTE:

Doutor José Augusto Farraia e Silva Meireles

VOGAIS:

Doutora Sandra de Oliveira Tavares de Sousa
Jesus

Doutor Max Rondon Werneck

ORIENTADOR:

Doutor Max Rondon Werneck

COORIENTADOR:

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho

Agradecimentos

Ao Doutor Max Werneck, meu orientador, por ter aceite partilhar esta viagem comigo e por me ter dado a oportunidade de fazer parte do trabalho incrível da empresa BW Consultoria Veterinária e do Instituto BW. Obrigada por todo o conhecimento partilhado, pela boa disposição e pelas boas tardes com torta de limão.

Ao Professor Doutor Luís Madeira de Carvalho, pela orientação, disponibilidade, bom sentido de humor e pela confiança que depositou em mim, mesmo quando os oceanos nos separavam. Obrigada pela motivação na concretização deste projeto muito especial e pelo incentivo no meu interesse pela área da Parasitologia.

A toda a equipa do Instituto BW, por me terem recebido de braços abertos na sua casa. Obrigada, Mari, Lu, Adri e Paula pelo ambiente fantástico, pela amizade, pelos ensinamentos de cultura, pelo pão de queijo e pelo açaí. Já morro de saudades de tudo!

Aos tios mineiros Angelina e Reinaldo, por me fazerem sentir tão bem na sua casa e pela comida maravilhosa. Um grande obrigada com muitas saudades.

A todos os meus queridos amigos, por toda a inspiração, apoio e animação constante. Obrigada, Matilde Fernandes, Joana Coelho, Carolina Merca, Raquel Costa, Rita Costa, Marta Marques e Bibi Neves.

A todos os animais que entraram na minha vida, principalmente ao meu gato Rubi, por me inspirarem a seguir este caminho.

Por último e mais importante, um obrigado muito especial à minha família, à minha mãe, pai, avó Dulce, tia Ângela e ao meu namorado Nuno por todo o apoio e pelo carinho incondicional. Obrigada por acreditarem em mim e por me ajudarem a seguir este sonho de criança. Obrigada!

Análise parasitológica de tratos digestivos de tartarugas verdes juvenis (*Chelonia mydas*) provenientes do estado do Rio de Janeiro, Brasil

Resumo

Atualmente, seis das sete espécies de tartarugas marinhas estão ameaçadas de extinção, segundo a IUCN (2021). A necessidade de estratégias de conservação para estas espécies tem vindo a ganhar importância e a ser motivo de preocupação.

A tartaruga verde (*Chelonia mydas* Linnaeus, 1758) é a maior das tartarugas marinhas de carapaça dura. Na costa brasileira é a espécie de tartaruga marinha mais prevalente. No Rio de Janeiro são encontradas principalmente tartarugas verdes juvenis.

A fauna parasitária das tartarugas verdes juvenis é ainda pouco conhecida. Este estudo teve como objetivo a realização de uma análise parasitológica do trato gastrointestinal de 28 tartarugas verdes juvenis encontradas ao longo da costa norte do estado do Rio de Janeiro.

Todas as tartarugas analisadas encontravam-se parasitadas com helmintos (100%). No total, 14 802 trematodes pertencentes a 30 espécies e 5 famílias, incluindo Microscaphidiidae, Plagiorchiidae, Pronocephalidae, Spirorchiidae e Telorchiidae e 3 larvas de nematodes foram recuperados. A riqueza média de espécies encontradas foi de $7,86 \pm 3,83$ DP e a intensidade média de infecção foi $528,64 \pm 627,52$ DP.

A investigação efetuada nesta localização apresenta ainda novos registos geográficos para as espécies *Angiodictyum posterovitellatum*, *Microscaphidium aberrans*, *Microscaphidium warui*, *Octangium hyphalum*, *Octangium sagitta*, *Enodiotrema reductum* e *Pleurogonius laterouterus*.

As nossas descobertas sugerem que a região norte do estado do Rio de Janeiro apresenta uma particularidade que as demais regiões já estudadas não apresentam. Acreditamos que sejam resultado da existência de um sistema de ressurgência costeira mais intenso nesta área, da presença de vários rios que desaguam no mar na região analisada e/ou ainda um acontecimento normal das tartarugas desta região.

O presente estudo fornece informações úteis sobre a fauna parasitária de uma fase ainda pouco conhecida do ciclo de vida das tartarugas verdes.

Palavras-chave: *Chelonia mydas*; trematodes; endoparasitas; Rio de Janeiro; Brasil.

Parasitological analysis of digestive tracts of juvenile green turtles (*Chelonia mydas*) from the state of Rio de Janeiro, Brazil

Abstract

Currently, six of the seven species of sea turtles are threatened with extinction, according to the IUCN (2021). Thus, the need for conservation strategies for these species has been gaining importance and being a matter of concern.

The green turtle (*Chelonia mydas* Linnaeus, 1758) is considered the largest of the hard-shelled sea turtles. On the Brazilian coast, it is the most prevalent species and juvenile green turtles are mostly found in Rio de Janeiro.

The helminth fauna of juvenile green turtles is still poorly known. This study aimed to offer a parasitological analysis of 28 juvenile green turtles found stranded on the north coast of Rio de Janeiro, Brazil.

All analyzed turtles were infected with helminths (100%). In total, 14 802 trematodes belonging to 30 species and 5 families including Microscaphidiidae, Plagiorchiidae, Pronocephalidae, Spirorchiidae and Telorchiidae and 3 nematode larvae were recovered. Mean species richness was 7.86 ± 3.83 SD and the mean intensity of infection was 528.64 ± 627.52 SD.

The research performed on this location also presents new geographical records for *Angiodictyum posterovitellatum*, *Microscaphidium aberrans*, *Microscaphidium warui*, *Octangium hyphalum*, *Octangium sagitta*, *Enodiotrema reductum* and *Pleurogonius laterouterus*.

Our findings suggest that the northern region of the state of Rio de Janeiro has a peculiarity that the other regions did not present. We believe that they are the result of the existence of a more intense coastal upwelling system in this area, the presence of several rivers that flow into the sea in the analyzed region and/or even a normal occurrence of the turtles in this region.

The present study provides useful information on the parasite fauna of a poorly known stage in the life cycle of green turtles.

Key words: *Chelonia mydas*; trematodes; endoparasites; Rio de Janeiro; Brazil.

Índice

Capítulo 1 - Atividades desenvolvidas durante o estágio curricular	1
Capítulo 2 - Introdução	4
2.1. Tartarugas marinhas	4
2.2. <i>Chelonia mydas</i>	5
2.2.1. Caracterização fenotípica	5
2.2.2. Habitat e ciclo de vida	6
2.2.3. Dieta e hábitos alimentares	7
2.2.4. Papel da tartaruga verde no ecossistema marinho	8
2.2.5. Estado de conservação	8
2.2.6. Principais ameaças às populações.....	8
2.3. População de <i>C. mydas</i> na costa brasileira	9
2.3.1. Habitats, distribuição e padrões migratórios	9
2.3.2. Estado de conservação	11
2.3.3. Estratégias adotadas para a conservação	11
2.3.4. Principais ameaças atuais	12
2.4. Parasitismo nas tartarugas marinhas	13
2.4.1. Princípios gerais de parasitologia	13
2.4.2. Introdução ao estudo da parasitologia nas tartarugas marinhas	15
2.4.3. Parasitas das tartarugas marinhas	16
2.4.3.1. Ectoparasitas	16
2.4.3.2. Endoparasitas	16
2.4.4. Estudos da fauna parasitária em <i>C. mydas</i>	18
Capítulo 3 - Objetivos da Dissertação	23
3.1. Objetivo principal do estudo	23
3.2. Objetivos específicos do estudo.....	23
Capítulo 4 - Material e Métodos.....	23
4.1. Proveniência das amostras	23
4.1.1. Área e Período de estudo.....	23

4.2. Técnica para recolha, separação e identificação dos parasitas.....	24
4.3. Informatização dos dados e análise estatística	26
Capítulo 5 - Resultados	27
5.1. Caracterização da amostra	27
5.2. Resultados gerais	28
5.2.1. Análise da quantidade de parasitas encontrados entre fêmeas e machos.....	30
5.2.2. Análise por suspeita clínica da causa de morte (entre animais debilitados e afogados).....	30
5.2.3. Análise das espécies parasitárias encontradas entre animais debilitados e animais afogados	31
5.2.4. Análise por local de origem dos hospedeiros.....	32
5.2.5. Análise dos tratos gastrointestinais para a presença de lesões e resíduos antropogénicos.....	32
Capítulo 6 - Discussão	34
Capítulo 7 - Conclusão	41
Capítulo 8 - Referências Bibliográficas.....	43
Capítulo 9 - Anexos.....	53

Lista de figuras

Figura 1 – Trabalho laboratorial. a) Separação das espécies parasitárias do conteúdo gastrointestinal através do estereomicroscópio; b) imagem do estereomicroscópio com vários trematodes visíveis; c) separação dos trematodes por espécies (Originais).....	1
Figura 2 – Alguns dos casos clínicos do período de estágio. a) Corujinha-do-mato (<i>Megascops choliba</i>) órfã; b) Beija-flor (<i>Amazilia versicolor</i>) com uma fratura na asa; c) Alimentação de sagui (<i>Callithrix jacchus</i>) com lesões neurológicas; d) Exame de estado geral de um tucano (<i>Ramphastos toco</i>); e) Tamanduá-bandeira com lesão no dorso, em recuperação (<i>Tamandua tetradactyla</i>) (Originais).....	2
Figura 3 – Algumas das cirurgias e uma necropsia realizadas durante o período de estágio. a) Cirurgia ortopédica de gambá (<i>Didelphis marsupialis</i>); b) Necropsia de um pica-pau (<i>Dryocopus lineatus</i>); c) Cirurgia ortopédica de uma marreca (<i>Dendrocygna guttata</i>) (Originais).	3

Figura 4 – Tartaruga verde. a) Carapaça de tartaruga verde juvenil. Observar a coloração castanha da carapaça e os quatro pares de placas laterais. b) Tartaruga verde adulta. Notar a coloração da carapaça, verde com manchas acastanhadas. c) Tartaruga verde recém-nascida. Reparar na coloração preta da carapaça e no plastrão branco (Originais).	5
Figura 5 – Ciclo de vida da tartaruga verde. Zonas de habitat (zona de reprodução, zona oceânica e zona nerítica) e diferentes fases de vida (I, II e III) da tartaruga verde (Original). 6	6
Figura 6 – Principais áreas de desova da tartaruga verde no Brasil. Localização das ilhas oceânicas de desova primária (Atol das Rocas, Arquipélago de Fernando de Noronha e Ilha da Trindade) e áreas de desova secundária marcadas a azul (litoral norte do estado do estado da Bahia) (Adaptado de (Bellini et al. 2013)).	10
Figura 7 – Área de estudo. Localizações da esquerda para a direita: Búzios, Unamar, Casemiro de Abreu, Rio das Ostras, Macaé e São Francisco de Itabapoana no estado do Rio de Janeiro, Brasil (Original).	24
Figura 8 – Separação do trato gastrointestinal de tartaruga verde. Es – esófago; Est – estômago; ID – intestino delgado; IG – intestino grosso (Original)	25
Figura 9 – Peneiros utilizados no estudo. a) Lavagem do conteúdo gastrointestinal através dos dois peneiros utilizados; b) peneiro de malha 0,250 mm; c) peneira de malha 0,4 mm (Originais).....	25
Figura 10 – Montagem dos trematodes em lâminas. a) Posicionamento do trematode na lâmina. b) colocação do Bálsamo do Canadá. c) lâmina final com três trematodes identificados da mesma espécie (Originais).	26
Figura 11 – Lesões identificadas nos tratos gastrointestinais analisados. Lesões ulcerativas difusas com exsudado caseoso necrótico amarelado no esófago caudal de três tartarugas verdes juvenis (Originais).....	33
Figura 12 – Resíduos antropogênicos do trato gastrointestinal de uma tartaruga verde juvenil (Original).	33
Figura 13 – <i>Octangium sagitta</i> (Looss, 1899) Looss, 1902 (Digenea: Microscaphidiidae) encontrado em <i>Chelonia mydas</i> juvenil do Rio de Janeiro, Brasil. a) extremidade anterior; b) testículo anterior e testículo posterior (*); c) região posterior; d) vitelária (setas) e ovos (*) (Originais).	71
Figura 14 – <i>Octangium hyphalum</i> Blair, 1987 (Digenea: Microscaphidiidae) encontrado em <i>Chelonia mydas</i> juvenil do Rio de Janeiro, Brasil. a) extremidade posterior; b) extremidade anterior (Originais).....	71
Figura 15 – <i>Deuterobaris intestinalis</i> Mehrotra, 1973 (Digenea: Microscaphidiidae) encontrado em <i>Chelonia mydas</i> juvenil do Rio de Janeiro, Brasil. a) região posterior;	

poro excretor (*), cecos intestinais (setas), testículo posterior (*); b) região anterior; cecos intestinais (setas), testículos posterior e anterior (*) (Originais)..... 72

Figura 16 – Parasitas encontrados em *Chelonia mydas* juvenil do Rio de Janeiro, Brasil.

a) extremidade posterior de *Neoctangium travassosi* Ruiz, 1943 (Digenea: Microscaphidiidae); b) *Cricocephalus albus* (Kuhl & van Hasselt, 1822) Looss, 1899, bolsa do cirro (*) e alças uterinas (setas); c) extremidade posterior de *Pronocephalus obliquus* Looss, 1899 (Digenea: Pronocephalidae), testículo anterior e testículo posterior (*), vitelária (seta); d) extremidade anterior de *Deuterobaris intestinalis* Mehrotra, 1973 (Digenea: Microscaphidiidae) (Originais)..... 72

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Divisão taxonômica de parasitas em duas classes: macro e microparasitas. 14

Tabela 2 – Helmintes encontrados até ao momento em estudos realizados em *C. mydas* no Brasil. Parte I..... 20

Tabela 3 – Prevalência, intensidade média e abundância média de helmintes da família Microscaphidiidae em *Chelonia mydas* (n= 28) provenientes do estado do Rio de Janeiro, Brasil. 28

Tabela 4 – Prevalência, intensidade média e abundância média de helmintes da família Plagiorchiidae em *Chelonia mydas* (n= 28) provenientes do estado do Rio de Janeiro, Brasil. 29

Tabela 5 – Prevalência, intensidade media e abundância media de helmintes da família Pronocephalidae em *Chelonia mydas* (n= 28) provenientes do estado do Rio de Janeiro, Brasil. 29

Tabela 6 – Prevalência, intensidade média e abundância média de helmintes da família Spirorchiidae em *Chelonia mydas* (n= 28) provenientes do estado do Rio de Janeiro, Brasil. 29

Tabela 7 – Prevalência, intensidade média e abundância média de helmintes da família Telorchiidae em *Chelonia mydas* (n= 28) provenientes do estado do Rio de Janeiro, Brasil. 29

Tabela 8 – Prevalência, intensidade média e abundância média de larvas de nemátodos em *Chelonia mydas* (n= 28) provenientes do estado do Rio de Janeiro, Brasil. 29

Tabela 9 – Análise por suspeita clínica de morte (em todos os animais analisados, nos debilitados, nos afogados e nos indeterminados) em *Chelonia mydas* (n=28) provenientes do estado do Rio de Janeiro, Brasil. 31

Tabela 10 – Percentagem de cada espécie parasitária por causa de morte (animais afogados e debilitados). 32

Tabela 11 – Análise por local de origem das 28 tartarugas verdes (<i>Chelonia mydas</i>) analisadas provenientes do estado do Rio de Janeiro, Brasil.	32
Tabela 12 – Dados de amostragem. Parte I-II.	53
Tabela 13 – Resultados das espécies parasitárias encontradas. Parte I-IV.	55

Lista de Gráficos

Gráfico 1 – Distribuição do sexo das tartarugas verdes da amostra	27
Gráfico 2 – Distribuição das causas de morte das tartarugas verdes da amostra.....	27
Gráfico 3 – a) número e percentagem de parasitas encontrados nos sexos analisados (fêmea, macho e indeterminado) b) comparação do número de parasitas encontrados nas fêmeas versus nos machos analisados e observação da variação de dados da amostra.....	30
Gráfico 4 – Espécies de parasitas encontradas nos animais debilitados versus animais afogados.	31

Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos

CCC – comprimento curvilíneo de carapaça

CHIOC – Coleção Helminológica do Instituto Oswaldo Cruz

CITES – Convenção sobre o Comércio Internacional de Espécies da Fauna e da Flora Selvagem Ameaçadas de Extinção

cm – centímetro

DP – desvio padrão

IAC – Convenção Interamericana para a Proteção e Conservação das Tartarugas Marinhas

IC – intervalo de confiança

IUCN – International Union for Conservation of Nature

kg – kilograma

O - Oeste

ONG – Organização Não-Governamental

PMP – Projeto de Monitoramento de Praias

sp. – espécies

S – Sul

TAMAR – Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Tartarugas Marinhas e da Biodiversidade Marinha do Leste

> – maior que

® – marca registada

ρ – nível de significância

% – percentagem

Capítulo 1 - Atividades desenvolvidas durante o estágio curricular

No âmbito do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, foi realizado um estágio curricular com a duração de quatro meses na empresa BW Consultoria Veterinária, estado do Rio de Janeiro, Brasil.

A maior parte do tempo foi decorrida no laboratório (Figura 1). Aqui, foram adquiridos os seguintes conhecimentos relativamente à análise de parasitas gastrointestinais de tartarugas marinhas: 1) aprendizagem das diferentes espécies parasitárias que ocorrem nas tartarugas marinhas; 2) técnicas de diagnóstico e recuperação de parasitas nesta espécie; 3) métodos de conservação e fixação de parasitas; 4) diferentes métodos de coloração de trematodes; 5) identificação de helmintos; 6) análise morfológica de trematodes; 7) montagem de lâminas

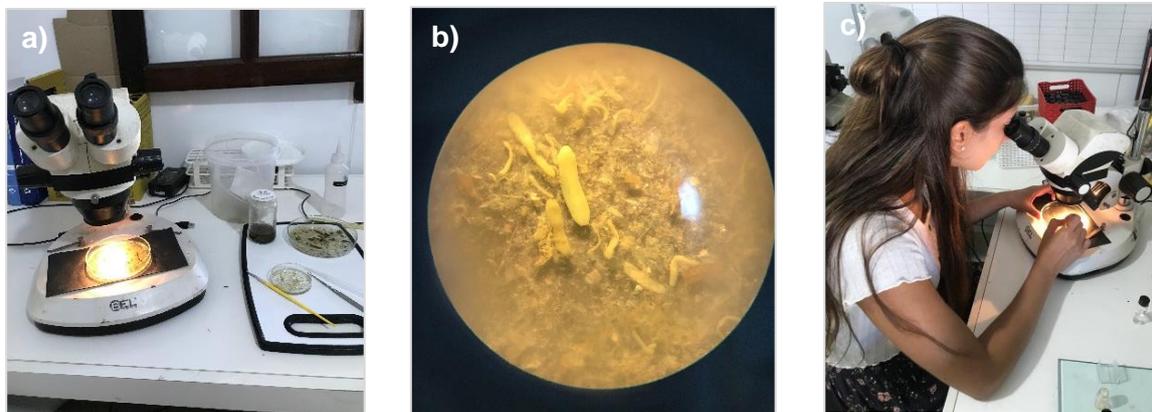


Figura 1 – Trabalho laboratorial. a) Separação das espécies parasitárias do conteúdo gastrointestinal através do estereomicroscópio; b) imagem do estereomicroscópio com vários trematodes visíveis; c) separação dos trematodes por espécies (Originais).

Durante este período, foram analisadas as amostras existentes (28 tratos gastrointestinais de tartaruga verde) e realizadas as técnicas supracitadas, que se encontram descritas detalhadamente no Capítulo 3 “Materiais e Métodos”.

Outras atividades realizadas no laboratório incluíram várias necropsias de aves (n~3).

No decorrer do estágio também participámos diariamente nas atividades do Instituto BW, uma Organização Não-Governamental (ONG), situada no mesmo local do estágio curricular. Neste contexto, foi possível auxiliar e acompanhar os médicos veterinários responsáveis durante as suas tarefas diárias. As atividades realizadas incluíam clínica, conservação e reabilitação dos animais selvagens que chegavam e permaneciam no centro (n~100 animais).

Nesta vertente clínica, as tarefas diárias baseavam-se nos cuidados dos animais internados através da sua monitorização, alimentação e medicação. Tive a oportunidade de trabalhar com uma grande variedade de espécies diferentes, incluindo répteis (cágados), mamíferos (gambás, cuícas, tamanduás e macacos) e aves (tucanos, cegonhas, corujas, gaviões, colibris, entre outras espécies) (Figuras 2 e 3).

Numa primeira abordagem, a prática envolvia procedimentos de admissão dos pacientes e um exame clínico com uma avaliação geral. Os protocolos eram diferentes para cada espécie animal e conforme as condições em que se encontravam. Após a receção do animal, este era colocado num ambiente calmo e era hidratado, só depois era realizado um exame físico detalhado. As etapas a seguir envolviam a seleção de eventuais exames complementares de diagnóstico (radiografias, análises sanguíneas e análises de urina) e a formulação de diagnósticos diferenciais.



Figura 2 – Alguns dos casos clínicos do período de estágio. a) Corujinha-do-mato (*Megascops choliba*) órfã; b) Beija-flor (*Amazilia versicolor*) com uma fratura na asa; c) Alimentação de sagui (*Callithrix jacchus*) com lesões neurológicas; d) Exame de estado geral de um tucano (*Ramphastos toco*); e) Tamanduá-bandeira com lesão no dorso, em recuperação (*Tamandua tetradactyla*) (Originais).

Os tratamentos a que assistimos e que realizámos incluíam a gestão de feridas, protocolos de gestão da dor e administração de medicamentos. Também foram realizadas várias eutanásias a animais que se encontravam em sofrimento (aves e mamíferos) (n~6).

Durante o tempo de estágio participei em várias cirurgias (n~13), na sua maioria cirurgias ortopédicas em aves e em mamíferos, principalmente decorrentes de fraturas nas asas e membros, respetivamente (Figura 3). Uma amputação de membro em gambá também foi realizada. Na equipa cirúrgica, desempenhei o cargo de assistente de cirurgião e, por vezes, de anestésista.

Cuidados em neonatologia também foram exercidos em várias espécies de animais (corujas, gambás, cuícas e várias espécies de passeriformes), através de assistência médica e alimentação correta.



Figura 3 – Algumas das cirurgias e uma necropsia realizadas durante o período de estágio. a) Cirurgia ortopédica de gambá (*Didelphis marsupialis*); b) Necrópsia de um pica-pau (*Dryocopus lineatus*); c) Cirurgia ortopédica de uma marreca (*Dendrocygna guttata*) (Originais).

No instituto, o principal objetivo, para além do bem-estar animal, é o retorno de todos os animais que dão entrada no centro, à vida selvagem. Desta forma, assistimos a várias libertações de diferentes espécies de animais reabilitados (n~6), na natureza.

Durante a prática, tive a oportunidade de trabalhar com médicos veterinários e biólogos especialistas na área da medicina e conservação da vida selvagem. Inclusive, foi possível a realização e publicação de dois artigos científicos durante este período (ver Anexo 3 e Anexo 4).

Finalmente, durante o estágio, participámos em diferentes workshops, palestras e atividades, de forma a aprofundar os nossos conhecimentos em medicina e conservação da vida selvagem.

Até ao momento, o presente trabalho resultou na elaboração de dois artigos científicos submetidos para publicação (ver Anexo 5 e Anexo 6).

Capítulo 2 - Introdução

2.1. Tartarugas marinhas

As tartarugas marinhas pertencem à Ordem Testudines, considerada uma das mais primitivas ordens de répteis, sendo o exemplar mais antigo encontrado, datado em 120 milhões de anos (Cadena and Parham 2015).

Atualmente, existem sete espécies de tartarugas marinhas que se encontram divididas por duas famílias: família Dermochelyidae, que possui apenas uma espécie: a tartaruga de couro - *Dermochelys coriacea* (Vandelli, 1761); e a família Cheloniidae, que engloba seis espécies: a tartaruga verde - *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758), a tartaruga cabeçuda - *Caretta caretta* (Linnaeus, 1758), a tartaruga de pente - *Eretmochelys imbricata* (Linnaeus, 1766), a tartaruga oliva - *Lepidochelys olivacea* (Eschscholtz, 1829), a tartaruga de Kemp - *Lepidochelys kempii* (Garman, 1880) e a tartaruga australiana - *Natator depressus* (Garman, 1880).

Sendo de origens terrestres (Gaffney 1990), a tartaruga marinha desenvolveu adaptações morfológicas e fisiológicas específicas para a vida no ambiente aquático, continuando, no entanto, ligada ao ambiente terrestre pela necessidade de reprodução - ovopostura. Desta forma, para uma locomoção subaquática eficiente: 1) assumiu um perfil hidrodinâmico, mais baixo e simplificado, com as margens da carapaça afiladas (Gaffney et al. 1987); 2) os membros adquiriram um aspeto de remo, achatados, com falanges alongadas (Miller 1997); 3) perdeu a capacidade de retração da cabeça (Witherington 2017). As suas características morfológicas e mecânicas devem, portanto, refletir um compromisso entre a eficiência para o meio aquático e a eficácia para a movimentação em terra.

Pode-se afirmar que a distribuição geográfica das tartarugas marinhas é ampla, existindo animais em todas as bacias oceânicas, desde o Ártico até à Tasmânia (Meylan AB and Meylan PA 1999). Apesar desta distribuição, as tartarugas marinhas são representadas por espécies que diferem amplamente nos seus ciclos sazonais, faixas geográficas e comportamento, existindo também diferenças consideráveis entre as populações da mesma espécie (Márquez 1990).

Assim, a tartaruga verde apresenta uma distribuição mundial, sendo encontrada maioritariamente em zonas tropicais e subtropicais, já a tartaruga de pente e a tartaruga cabeçuda, são encontradas tipicamente em águas tropicais (Witherington 2017). Pelo contrário, a tartaruga de couro é conhecida por fazer migrações em águas mais frias, por vezes polares, tendo a distribuição mais ampla. A tartaruga de Kemp e a tartaruga australiana são as únicas espécies não cosmopolitas. A primeira é restrita ao Golfo do México e costa

leste dos Estados Unidos, com alguns indivíduos ocasionalmente encontrados na Europa Ocidental e a tartaruga australiana, é endêmica na costa australiana (Meylan AB and Meylan PA 1999).

2.2. *Chelonia mydas*

2.2.1. Caracterização fenotípica

Para além das diferenças de cor e de tamanho, as seis espécies de tartarugas da família Cheloniidae podem ser identificadas através do número de escamas pré-frontais que apresentam na cabeça, através do número de placas laterais da carapaça, da forma da mandíbula, do número de garras em cada barbatana e do número de escudos inframarginais do plastrão (Wyneken 2001, 2003).

A tartaruga verde caracteriza-se por apresentar um par de escamas pré-frontais na cabeça, sendo a carapaça lisa, com quatro pares de placas laterais (Figura 4a). A cabeça tem uma forma arredondada, o bico é rombo em perfil, sendo a mandíbula fortemente serrilhada de forma a permitir o corte das ervas e algas marinhas com que se alimentam. Esta espécie exibe apenas uma garra em cada barbatana e 4 placas inframarginais de cada lado do plastrão. A cor da carapaça altera-se com a idade, sendo preta quando bebês, castanha na idade juvenil e, em adultas, fica verde-acinzentada podendo conter manchas amarelas ou castanhas (Figura 4a, 4b e 4c). É a única espécie de tartaruga marinha que apresenta o plastrão branco aquando do nascimento (Figura 4c), tornando-se branco-amarelado à medida que cresce (Márquez 1990; Wyneken 2001, 2003; Witherington 2017).

O peso da tartaruga verde adulta pode variar entre os 90 e os 200 kg e o comprimento curvilíneo de carapaça (CCC) dos 80 aos 140 cm, sendo considerada a maior das tartarugas marinhas de carapaça dura (família Cheloniidae) (Márquez 1990; Witherington 2017). Entre as diferentes populações do mundo são observadas variações de peso e de tamanho, sendo os animais do oceano Atlântico e Pacífico normalmente mais pesados do que os encontrados no oceano Índico e na zona do Caribe (Márquez 1990; Pritchard and Mortimer 1999).



Figura 4 – Tartaruga verde. a) Carapaça de tartaruga verde juvenil. Observar a coloração castanha da carapaça e os quatro pares de placas laterais. b) Tartaruga verde adulta. Notar a coloração da carapaça, verde com manchas acastanhadas. c) Tartaruga verde recém-nascida. Reparar na coloração preta da carapaça e no plastrão branco (Originais).

2.2.2. Habitat e ciclo de vida

A tartaruga verde tem uma distribuição global, sendo a maioria dos locais de nidificação e de alimentação situada nos trópicos (Miller 1997). Esta espécie é altamente migratória, realizando movimentos e migrações complexos através de habitats geograficamente distintos (Seminoff 2004).

Assim como as outras espécies de tartarugas marinhas, as da espécie *C. mydas* alternam entre três habitats: zonas oceânicas; zonas neríticas de forrageamento, onde ocorre a alimentação; e zonas de reprodução, onde se dá a corte, cópula e nidificação (Figura 5) (Márquez 1990; Bolten 2003; Milton and Lutz 2003b; Reich et al. 2007).



Figura 5 – Ciclo de vida da tartaruga verde. Zonas de habitat (zona de reprodução, zona oceânica e zona nerítica) e diferentes fases de vida (I, II e III) da tartaruga verde (Original).

Quando o ciclo de vida começa, centenas de tartarugas recém-nascidas emergem simultaneamente do ninho, partindo num percurso direto até ao mar. Durante os primeiros anos de vida (3 a 5 anos no oceano Atlântico) as tartarugas verdes ficam à deriva na zona oceânica (Reich et al. 2007). Quando se tornam juvenis e jovens adultos, migram para as zonas neríticas, onde se encontram as áreas de forrageamento (Witherington 2017).

Na maior parte do tempo, a tartaruga verde habita a zona nerítica, localizando-se perto da costa. Periodicamente, as fêmeas fazem migrações reprodutivas, das áreas de alimentação para as áreas de nidificação, que correspondem às suas praias natais, onde vão realizar a desova. Nestas migrações as fêmeas ocupam temporariamente a zona oceânica (Márquez 1990; Plotkin 2003). Ocorrem, aproximadamente, a cada 2 anos, podendo variar de 1 a 4 anos, dependendo da população e de influências externas (como a qualidade e quantidade dos alimentos) (Márquez 1990). Os machos também abandonam a área de forrageamento e migram para os locais de nidificação, ocorrendo a cópula perto da praia onde a fêmea vai desovar (Carr 1965). A maioria das tartarugas verdes fazem entre 2 e 5 desovas em cada temporada de reprodução, em intervalos de 10 a 17 dias (Miller 1997). Em cada desova, a fêmea coloca em média entre 85 e 145 ovos, sendo o tempo de incubação de 48 a

70 dias. Após a época de nidificação, a fêmea faz uma nova migração e regressa para uma área de forrageamento costeira (Márquez 1990).

O conhecimento do ciclo de vida da tartaruga verde é fundamental para entender o seu papel no ecossistema marinho, assim como os seus hábitos alimentares e potenciais interações com atividades humanas, permitindo a criação de estratégias de conservação eficazes para esta espécie.

2.2.3. Dieta e hábitos alimentares

A dieta das tartarugas verdes está intimamente associada com a utilização espacial e temporal do habitat e com as mudanças ontogénicas experienciadas durante o seu ciclo de vida (Bjorndal 1997). Após a eclosão dos ovos, as tartarugas recém-nascidas movem-se para o mar, onde permanecem num ambiente pelágico. Nesta fase alimentam-se principalmente de matéria animal, algas flutuantes, organismos encontrados à superfície do mar e uma variedade de cnidários (como as medusas) (Witherington et al. 2012; Price et al. 2017; Witherington 2017). Passado três a cinco anos no mar, as tartarugas deslocam-se para habitats neríticos, perto da costa (Price et al. 2017). Nesta transição, há uma alteração na sua alimentação, passando de uma dieta omnívora, com fortes tendências carnívoras, para uma dieta herbívora (Bjorndal 1997; Price et al. 2017). Nesta nova fase, alimentam-se principalmente de algas e ervas marinhas, podendo também consumir matéria animal em pequena quantidade, como medusas, esponjas do mar, pequenos crustáceos e pequenos peixes (Bjorndal 1997; Witherington 2017).

De forma a facilitar a mudança de hábitos alimentares, ocorre uma alteração na função fisiológica do intestino, passando a ser possível a realização de fermentação intestinal de ervas e macroalgas marinhas para a produção de ácidos gordos voláteis para energia. Além disso, esta mudança de dieta é acompanhada por uma alteração na composição e especificidade da microbiota intestinal (Bjorndal 1980).

Segundo Price et al. (2017), a microbiota intestinal é particularmente importante na medida em que ajuda o sistema imunitário do hospedeiro, sintetiza aminoácidos essenciais e auxilia na digestão de carboidratos complexos, influenciando diretamente a saúde das tartarugas marinhas. Assim, nesta fase de alteração de hábitos alimentares, poderá ocorrer uma depressão no sistema imunitário da tartaruga, deixando a tartaruga mais vulnerável a possíveis agentes de doença e parasitas (Werneck 2011).

As tartarugas verdes são a única espécie com uma alimentação herbívora, quando na fase adulta, ocupando um nicho de alimentação único entre as tartarugas marinhas (Bjorndal 1997).

2.2.4. Papel da tartaruga verde no ecossistema marinho

As tartarugas verdes têm um papel importante na saúde do ecossistema marinho na medida em que servem de transportadoras biológicas de nutrientes e de energia, alterando a dinâmica do ecossistema (Bouchard and Bjorndal 2000). Segundo Bjorndal (1980), as tartarugas verdes são também capazes de alterar diretamente a estrutura, morfologia e produtividade da comunidade de plantas aquáticas das suas áreas de alimentação; alterar a distribuição e densidade dos organismos presentes no ecossistema; e as relações predador - presa existentes.

Além disso, as tartarugas verdes atuam como espécies sentinelas do ecossistema marinho (Caro and O'Doherty 1999; Milton and Lutz 2003a; Aguirre and Lutz 2004; Domiciano et al. 2017). O seu estado de saúde pode revelar informações importantes sobre o estado do seu habitat. A sua afinidade por habitats costeiros, a dependência tanto do ambiente marinho como do terrestre, os hábitos alimentares, a longa vida útil e alta suscetibilidade a alterações biológicas e químicas no seu habitat, fazem das tartarugas verdes, assim como as outras espécies de tartarugas marinhas, candidatas ideais para atuar como espécies sentinela dos ecossistemas marinhos (Milton and Lutz 2003a; Aguirre and Lutz 2004).

2.2.5. Estado de conservação

Atualmente, os números de tartarugas marinhas estão drasticamente reduzidos a tal ponto que seis das sete espécies de tartarugas marinhas, com a exceção da tartaruga australiana, são consideradas em perigo, em estado crítico ou vulneráveis, segundo a lista vermelha da União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN). A tartaruga verde é uma das espécies que se encontra em perigo de extinção e os números de indivíduos continuam a diminuir (Seminoff 2004).

Com o objetivo de promover e facilitar medidas de conservação, de forma a impedir a sua diminuição contínua e restaurar as populações a níveis sustentáveis, esta espécie tem sido alvo de vários acordos legislativos internacionais e convenções (Godoy 2016). Assim, a tartaruga verde é atualmente protegida mundialmente pela Convenção sobre o Comércio Internacional das Espécies da Fauna e da Flora Silvestres Ameaçadas de Extinção (CITES 2019), Apêndice I.

2.2.6. Principais ameaças às populações

As principais causas de morte das tartarugas marinhas podem ser divididas em impactos antropogênicos, causas naturais e causas desconhecidas (Flint 2013).

Os impactos antropogênicos são a principal causa do colapso das populações de tartarugas verdes (Lutcavage et al. 1997) e incluem:

1. a pesca, constituindo uma das mais importantes causas de mortalidade desta população (Marcovaldi et al. 2002; Lewison et al. 2004; Wallace et al. 2010). O problema central da pesca é a captura acidental, em que as tartarugas são um subproduto da atividade (Hall et al. 2000), sendo capturadas principalmente por redes de arrasto, redes de emalhar e “longlines”, resultando no seu afogamento (Flint 2013; Jerdy et al. 2020);
2. a captura para consumo da carne, cartilagem e ovos de tartaruga verde é, juntamente com a pesca, uma das ameaças mais prejudiciais às populações da espécie *C. mydas* (Márquez 1990; Seminoff 2004; Flint 2013);
3. a captura para produção de jóias, óleos e ornamentos, derivados da carapaça e corpo da tartaruga (Márquez 1990; Flint 2013);
4. aprisionamento e conseqüente afogamento da tartaruga por detritos antropogênicos e distúrbios intestinais causados pela sua ingestão (Flint 2013);
5. degradação ou perda de habitat nas praias de nidificação e áreas de alimentação (Seminoff 2004);
6. mudanças climáticas induzidas pelo homem, que provocam danos nos ecossistemas oceânicos, mudanças na temperatura da água e do ambiente, variações no nível da água do mar e alteração da proporção sexual dos embriões (Flint 2013).

Segundo Herbst e Jacobson (2003), o impacto antropogênico pode ainda afetar a disseminação de agentes patogênicos e facilitar surtos de doenças. Por exemplo, novos fatores de stress para o animal, como a degradação de habitats, introdução de poluição no ecossistema e mudanças climáticas devido ao aquecimento global, podem levar a uma maior suscetibilidade à infecção (Harvell et al. 1999; Ward and Lafferty 2004).

É de extrema importância o conhecimento de como os fatores antropogênicos podem afetar as populações de tartarugas marinhas para o sucesso dos programas de conservação (Lutcavage et al. 1997).

2.3. População de *C. mydas* na costa brasileira

2.3.1. Habitats, distribuição e padrões migratórios

A tartaruga verde é a espécie mais prevalente no litoral brasileiro (Reis et al. 2009; ICMBio 2011). Inclusive, o estado do Rio de Janeiro serve de zona migratória, habitat de desenvolvimento juvenil e de área de alimentação para esta espécie (Almeida et al. 2011; Tagliolatto et al. 2020).

No Brasil, existem sete áreas de ressurgência costeiras, estando a mais intensa localizada no nordeste do estado do Rio de Janeiro, Cabo Frio (Coelho-Souza et al. 2012). Estas regiões de ressurgência são fontes importantes de produtividade marinha, criando pontos de biodiversidade elevada (Kämpf and Chapman 2016). Caracterizam-se pela ascensão de águas frias profundas, ricas em nutrientes, para a superfície. Desta forma, estes nutrientes ficam disponíveis para serem utilizados pelo fitoplâncton, gerando altos níveis de produtividade primária que se propagam pela cadeia alimentar (Costa and Fernandes 1993; Valentin 2001; Coelho-Souza et al. 2012). Consequentemente, a disponibilidade de alimento aumenta e a concentração de organismos nestes locais é elevada, constituindo importantes áreas de alimentação para as tartarugas verdes no estado do Rio de Janeiro (Costa and Fernandes 1993; Valentin 2001; Reis et al. 2017).

Apesar de serem frequentemente encontrados indivíduos juvenis ao longo de toda a costa brasileira, há poucos registros de ocorrências de adultos (Marcovaldi MA and Marcovaldi GG 1999; Tagliolatto et al. 2020). Isto deve-se ao facto de as áreas de reprodução da tartaruga verde, serem praticamente limitadas às ilhas oceânicas, obrigando a que ocorra uma migração de milhares de quilómetros da área de alimentação na costa brasileira, para estes locais (Luschi et al. 1998; Marcovaldi MA and Marcovaldi GG 1999; Almeida et al. 2011). As áreas de desova primárias localizam-se nas ilhas oceânicas: Atol das Rocas (estado do Rio Grande do Norte), Arquipélago de Fernando de Noronha (estado de Pernambuco) e Ilha da Trindade (estado do Espírito Santo) (Bellini et al. 1996; Bellini and Sanches 1996; ICMBio 2011) (Figura 6). Na costa brasileira, as áreas de desova secundárias ocorrem no litoral norte do estado da Bahia e esporadicamente nos estados do Espírito Santo, Sergipe e Rio Grande do Norte (Almeida et al. 2011) (Figura 6).



Figura 6 – Principais áreas de desova da tartaruga verde no Brasil. Localização das ilhas oceânicas de desova primária (Atol das Rocas, Arquipélago de Fernando de Noronha e Ilha da Trindade) e áreas de desova secundária marcadas a azul (litoral norte do estado do estado da Bahia) (Adaptado de (Bellini et al. 2013)).

Ainda, segundo Mortimer e Carr (1987), as tartarugas que desovam na Ilha da Ascensão - uma das maiores agregações reprodutivas no Oceano Atlântico, têm a sua área de alimentação no litoral brasileiro, tornando esta migração uma das mais notáveis no mundo animal devido à longa distância percorrida.

2.3.2. Estado de conservação

As ameaças às populações da tartaruga verde variam geograficamente. Assim, a classificação do estado de conservação dada pela lista vermelha da União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN) pode ter variações para diferentes populações mundiais (Godfrey and Godley 2008).

No Brasil, a população de *C. mydas* está incluída no Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção (ICMbio 2016), sendo classificada como espécie “vulnerável”.

2.3.3. Estratégias adotadas para a conservação

Em 1976 foi aprovada no Brasil a legislação que protege parcialmente a tartaruga verde, sendo a colheita restrita a indivíduos maiores que 80 cm durante uma temporada anual de caça. Posteriormente, em 1986 foi declarada a proteção total de todas as espécies de tartarugas marinhas. Apesar dos avanços na regulamentação, a pressão internacional continuou, com o objetivo de serem implementados programas de conservação das tartarugas marinhas no território brasileiro. Assim, em 1980 foi iniciado um programa de Conservação Nacional das Tartarugas Marinhas – o projeto TAMAR, com o objetivo de investigar e implementar um programa de conservação para as tartarugas marinhas da costa brasileira (Marcovaldi MA and Marcovaldi GG 1999). Desde então, o projeto foi expandido e atualmente, é constituído por uma rede de estações com atividades de conservação e monitoramento associadas, de forma a providenciar a proteção de todas as tartarugas marinhas e dos seus ovos ao longo da costa brasileira e nas ilhas oceânicas. Um dos aspetos mais importantes do projeto, é o envolvimento da comunidade e a educação nas aldeias da zona costeira. O objetivo será aumentar a consciência local sobre a importância de um ecossistema marinho saudável, que inclui tartarugas marinhas (Marcovaldi MA and Marcovaldi GG 1999).

Atualmente, o Brasil é também signatário da Convenção sobre o Comércio Internacional de Espécies Ameaçadas da Flora e Fauna Silvestres de Extinção (CITES) e da Convenção Interamericana para a Proteção e Conservação das Tartarugas Marinhas (IAC). Além disso, as principais áreas de desova de *C. mydas* nas ilhas oceânicas brasileiras e outros locais relevantes para a conservação da espécie estão protegidas por Unidades de

Conservação Federais e Municipais, garantindo a proteção *in situ* dos ninhos, das tartarugas recém-nascidas e das fêmeas que vão a terra desovar (Parque Nacional Marinho de Fernando de Noronha e a Reserva Biológica de Atol das Rocas) (Almeida et al. 2011; ICMBio 2011).

2.3.4. Principais ameaças atuais

Apesar dos progressos feitos na proteção e recuperação dos ecossistemas marinhos em algumas áreas, os impactos antropogênicos diretos e indiretos continuam a ameaçar a população de tartarugas verdes no litoral brasileiro (Hamann et al. 2010).

A captura acidental, especialmente por atividades de pesca costeira (redes de emalhar artesanais e pesca de cerco), continua a ser uma das principais ameaças das tartarugas verdes na costa do Rio de Janeiro (Monteiro et al. 2016; Tagliolatto et al. 2020).

Outro fator que contribui igualmente para a mortalidade da espécie *C. mydas*, é a elevada prevalência de doenças que as tartarugas desta área apresentam (Tagliolatto et al. 2020). Embora sejam classificadas como causas de morte naturais, podem estar indiretamente associadas a impactos antropogênicos, como a poluição e mudanças climáticas (Harvell et al. 1999; Ward and Lafferty 2004; Domiciano et al. 2017). Uma vez que a tartaruga marinha atua como espécie sentinela, estes dados podem indicar a existência de degradação ambiental nas zonas costeiras do estado do Rio de Janeiro (Milton and Lutz 2003a; Aguirre and Lutz 2004; Domiciano et al. 2017; Tagliolatto et al. 2020).

Segundo Santos et al. (2011), alguns dos ecossistemas marinhos costeiros do litoral brasileiro encontram-se realmente com elevadas taxas de degradação. Medidas de conservação que se concentrem na preservação destes habitats são também necessárias para além dos programas já existentes que se concentram no animal em si.

A ingestão de resíduos antropogênicos, especialmente os relacionados com a atividade pesqueira, foram verificados em 60% das tartarugas analisadas no estudo de Macedo et al. (2011) e confirmaram-se também elevados no estudo mais recente de Tagliolatto et al. (2020). O risco da ingestão destes resíduos consiste na alteração da função digestiva e obstrução do trato digestivo, com eventual morte do animal. Efeitos subletais podem também ocorrer, devido à absorção de toxinas, redução da alimentação e consequentes condições crônicas de desnutrição (Bjorndal et al. 1994).

As leis ambientais que estão em vigor atualmente no Brasil proíbem a captura, consumo e comércio de produtos e subprodutos de tartarugas marinhas. Apesar disso, evidências do consumo de tartarugas verdes ainda são observadas ao longo da costa, ameaçando a sobrevivência da espécie (Tagliolatto et al. 2020).

Considerando a importância que o litoral brasileiro apresenta no ciclo de vida da tartaruga verde, existe uma necessidade urgente de implementação de ações de conservação adicionais para controlar as ameaças enumeradas.

2.4. Parasitismo nas tartarugas marinhas

2.4.1. Princípios gerais de parasitologia

O tipo de relacionamento em que diferentes organismos vivem em estreita associação uns com os outros, seja permanente ou temporariamente, é chamado de simbiose. O grau variável de benefício unilateral ou mútuo, de indiferença, ou até de dano em associações simbióticas, deram origem a termos como: mutualismo, em que ambos os organismos beneficiam com a associação; comensalismo, onde um organismo beneficia da associação e ao outro é indiferente; forésia, na qual um organismo transporta outro, sem se prejudicarem; e parasitismo (Bowman 2014).

O parasitismo é um tipo de interação ecológica simbiótica onde uma das partes, o parasita, é beneficiado da associação com o hospedeiro. Por definição, o parasita tem efeitos negativos no hospedeiro (Bowman 2014).

Os parasitas incluem vírus, bactérias, protozoários, helmintos e artrópodes (Anderson and May 1979; Bowman 2014). Assim, o termo “parasitas” refere-se a um número imenso de diferentes espécies, em que se utilizam vários parâmetros diferentes para os classificar em grupos menores. Classificações frequentes incluem a divisão taxonômica, com a distinção de classes em macro e microparasitas (Tabela 1) e a divisão de acordo com a sua localização. Dentro desta última, são encontrados termos como endoparasitismo (parasitas que vivem dentro do corpo do hospedeiro) e ectoparasitismo (parasitas que vivem na superfície externa do hospedeiro) (Bowman 2014).

Os conceitos de macroparásita e microparásita foram introduzidos pela primeira vez na literatura científica por Anderson e May (1979). Segundo os mesmos autores, os microparasitas caracterizam-se pelo seu tamanho pequeno, por apresentarem tempos de geração curtos, taxas de reprodução direta no hospedeiro extremamente elevadas e tendência para induzirem imunidade específica nos hospedeiros sobreviventes à infecção. Enquanto que os macroparasitas podem identificar-se pelo seu tamanho relativamente maior, por apresentarem tempos de geração mais longos que os microparasitas, pela multiplicação direta no hospedeiro se encontrar ausente ou ocorrer a um ritmo baixo e pela imunidade induzida no hospedeiro ser não-específica (Anderson and May 1979; Morand and Deter 2008; Han and Altizer 2013).

Tabela 1 – Divisão taxonômica de parasitas em duas classes: macro e microparasitas.

Macroparasitas		Microparasitas
Helminthes	Artrópodes	
Trematodes	Insetos	Bactérias
Cestodes	Aracnídeos	Protozoários
Nematodes	Crustáceos	Vírus
Acantocéfalos		

O tamanho, tipo de alimentação, modo de transmissão, localização e lesões provocadas pelos parasitas exercem várias consequências no hospedeiro, tanto a nível da sua sobrevivência e fecundidade, como na sua capacidade de realizar funções básicas (Morand and Deter 2008).

Tipicamente, quando se pensa em infeções parasitárias de animais selvagens, associa-se a um contexto negativo. Normalmente, este pensamento é correto, visto serem causas de perigo para a vida selvagem e possivelmente, de extinção (Pedersen et al. 2007). No entanto, os parasitas são também componentes integrais dos ecossistemas, incluindo dos marinhos (Santoro and Mattiucci 2009). São ubiqüitários na vida dos animais selvagens e representam um componente importante da diversidade biológica. Os parasitas podem influenciar o comportamento dos hospedeiros, regular o tamanho da população hospedeira, mediar interações competitivas entre hospedeiros e agir como engenheiros do ecossistema (Thomas et al. 1999; Møller 2007; Morand and Deter 2008; Lefèvre et al. 2009). Reduções nos tamanhos das populações e a perda de espécies parasitárias de uma população podem, portanto, ter impactos significativos no funcionamento do ecossistema, influenciando também outros membros da comunidade biológica (Dobson et al. 2008).

Para além de todos estes fatores, os parasitas podem ainda funcionar como indicadores da biodiversidade geral do ecossistema e do funcionamento do próprio ecossistema (como por exemplo, a estabilidade da cadeia alimentar) (Mattiucci and Nascetti 2007).

Desta forma, é necessário um equilíbrio na gestão das infeções parasitárias da vida selvagem. Em certas situações, podem representar uma ameaça para as populações de animais selvagens, sendo o tratamento essencial. No entanto, também haverá casos em que a presença contínua de parasitas é importante para a saúde dos hospedeiros individualmente, por exemplo, ao estimular a imunidade adquirida (Morand and Deter 2008).

A recolha e análise de dados sobre a diversidade e ecologia de parasitas dos ecossistemas naturais são claramente muito importantes quando se fala em conservação de espécies.

2.4.2. Introdução ao estudo da parasitologia nas tartarugas marinhas

Atualmente, para além das inúmeras ameaças às populações de tartarugas marinhas causadas pelo homem, também existem ameaças naturais, como a predação e doenças de etiologias diversas (toxicológicas, fisiológicas, microbianas e parasitárias) (Alfaro 2008; Flint 2013; Chapman et al. 2019).

De facto, o parasitismo não recebe a mesma importância em termos de gestão de conservação como os impactos antropogénicos (Flint et al. 2010). No entanto, a pesquisa nesta área deve ser encarada como um componente integral na investigação da doença, visto existirem espécies parasitárias que são causas significativas de morbilidade e mortalidade nas populações de tartarugas marinhas (Flint et al. 2010; Flint 2013).

A fauna parasitária das tartarugas marinhas é bastante variada, incluindo micro e macroparasitas como protozoários, helmintes, artrópodes e anelídeos (Greiner 2013). De facto, entre todos os répteis, as tartarugas são a espécie que possui a maior e mais rica comunidade de helmintes (Aho 1990). Apesar deste facto, Aznar et al. (1998) sugeriu que a diversidade de parasitas nas tartarugas marinhas é determinada por razões históricas, visto terem sido os únicos répteis, com exceção das cobras aquáticas, a colonizar o ambiente pelágico. Assim, devido às barreiras fisiológicas entre as tartarugas marinhas e outros hospedeiros marinhos, a transferência de parasitas é impedida. O mesmo não acontece entre espécies diferentes de tartarugas marinhas, visto compartilharem o mesmo ancestral comum.

Os diferentes habitats que são utilizados e os diferentes hábitos alimentares em áreas geográficas distintas influenciam a composição e a riqueza das comunidades parasitárias das diferentes espécies de tartarugas (Pérez-Ponce De León et al. 1996; Aznar et al. 1998). Consequentemente, dependendo da dieta de cada espécie de tartaruga, a probabilidade de infeção por parasitas em comum pode aumentar (Santoro and Mattiucci 2009).

Assim como noutros hospedeiros, os parasitas presentes nas tartarugas marinhas constituem um importante fator ecológico de saúde, dado terem a capacidade de causar doenças e de contribuir, inclusive, para a sua morte (Gordon et al. 1998; Jerdy et al. 2019).

2.4.3. Parasitas das tartarugas marinhas

2.4.3.1. Ectoparasitas

As tartarugas marinhas apresentam alguns ectoparasitas anelídeos e artrópodes descritos, sendo uma exceção deste conceito o artrópode *Chelonacarus elongatus*, um ácaro que habita a parede da cloaca das tartarugas da espécie *C. mydas* (Pence and Wright 1998). São conhecidas duas importantes espécies de anelídeos, *Ozobranchus branchiatus* (Menziés, 1791) e *Ozobranchus margoí* (Apáthy, 1890), que se localizam principalmente nas superfícies de tecido mole da axila e áreas inguinais, podendo também fixar-se ao redor dos olhos, boca e cloaca. Estes parasitas alimentam-se do sangue do hospedeiro através da ventosa oral, podendo provocar anemia e macerações da pele, quando em número elevado (George 1997). Também foi demonstrado por Greenblatt et al. (2004), que esta espécie poderá ser vetor do herpesvírus, associado com a fibropapilomatose das tartarugas marinhas, uma doença neoplásica debilitante, caracterizada pela presença de múltiplos fibropapilomas cutâneos benignos (Herbst et al. 1999; Lackovich et al. 1999).

2.4.3.2. Endoparasitas

Relativamente aos endoparasitas, poucos protozoários foram descritos nas tartarugas marinhas (Greiner 2013). Apesar deste facto, a coccidiose por *Caryospora cheloniae* tem sido associada a eventos de mortalidade em massa. As coccídeas são tradicionalmente associadas ao trato gastrointestinal, no entanto, a espécie *C. cheloniae* está associada a infeções com disseminação sistémica, causando alterações significativas no cérebro e consequentes perturbações neurológicas do hospedeiro (Gordon et al. 1993).

As tartarugas marinhas são hospedeiras de uma grande variedade de helmintos, correspondendo a maior parte a trematodes e nematodes e na sua maioria, localizados no trato gastrointestinal (George 1997). Não têm sido reportados cestodes em tartarugas marinhas (George 1997). No entanto, estas podem servir de hospedeiros intermediários a tubarões que se alimentam de tartarugas infetadas por larvas (Greiner 2013).

Os trematodes são os parasitas mais diversos e numerosos encontrados nas tartarugas marinhas (Greiner 2013). São adquiridos, maioritariamente, através da ingestão de moluscos, que servem de hospedeiros intermediários (Esch et al. 2001). Assim, estes parasitas são encontrados mais frequentemente em espécies com uma dieta vegetariana, como é o caso da tartaruga verde (Santoro and Mattiucci 2009). Quando a infeção é pequena, limitam-se a causar pequenas irritações no hospedeiro, mas em grande número podem debilitar gravemente o hospedeiro e provocar sinais clínicos de doença (George 1997).

Os trematodes pertencentes à família Pronocephalidae (trematodes gastrointestinais) e à família Spirorchiidae (trematodes cardiovasculares) são os que apresentam maior riqueza de espécies e maiores efeitos patológicos, respetivamente (Pérez-Ponce de León and Brooks 1995; Greiner 2013).

Dentro da família Pronocephalidae destacam-se poucas espécies parasitárias com capacidade de causar alterações patológicas no hospedeiro. O estudo de Santoro et al. (2007) demonstrou a associação entre as espécies do género *Charaxicephaloides* e *Charaxicephalus robustus* com petéquias hemorrágicas e lesões ulcerativas na mucosa gástrica de tartarugas verdes. Da mesma forma, foi confirmada a relação entre *Rameshwarotrema uterocrescens* com esofagite ulcerativa necrosante e possível obstrução esofágica completa, com consequente morte do hospedeiro (Santoro et al. 2007; Ribeiro et al. 2017; Jerdy et al. 2019). Este parasita tem, inclusive, capacidade de propagação por via hematogena, podendo causar hepatite granulomatosa, esplenite e nefrite. Assim, a infeção por *R. uterocrescens* em tartarugas verdes juvenis pode ser fatal, afetando um número substancial de indivíduos (Jerdy et al. 2019).

Ainda dentro dos trematodes, a espirorquidiose foi proposta como sendo uma causa significativa de morbilidade e mortalidade nas populações de tartarugas marinhas (Flint et al. 2010). De facto, segundo o estudo de Gordon et al. (1998), a infeção poderá afetar até 98% das tartarugas verdes encalhadas e contribuir para a mortalidade de até 40% das mesmas. Os parasitas adultos residem no coração e nos vasos sanguíneos principais, causando espessamento epitelial das paredes dos vasos e vasculite. Os ovos são disseminados para todo o sistema vascular, causando lesões como vasculite e reações granulomatosas no local de alojamento. Os locais mais comuns para a ocorrência de lesões são o cérebro, pulmões, fígado, rins, e intestinos do animal (George 1997; Gordon et al. 1998; Flint et al. 2010). Apesar de já terem sido reportados pelo menos 10 géneros de espirorquídeos restritos às tartarugas marinhas, apenas 4 deles foram associados a doença e respetiva patologia: *Carettacola* Manter & Larson 1950, *Hapalotrema* Looss 1899, *Neosporichis* Price 1934 e *Learedius* Price 1934 (Flint 2013; Werneck et al. 2016c). O ciclo de vida destes parasitas só foi esclarecido recentemente por Cribb et al. (2017) e Buron et al. (2018), através da descoberta de esporocistos e cercárias num gastrópode (*Thylaeodus* cf. *Rugulosus*) e em duas poliquetas (*Amphitrite ornata* e *Enoplobranchus sanguineus*), respetivamente, funcionando como hospedeiros intermediários para as tartarugas marinhas.

Em comparação com o alto número de trematodes descritos, poucas espécies de nematodes são conhecidas nas tartarugas marinhas (Santoro and Mattiucci 2009). Os nematodes *Anisakis* sp., *Sulcascaris sulcata* (Anisakidae) e espécies da família Kathlanidae

(*Kathlania leptura* e *Tonaudia tonaudia*) foram já reportadas no trato gastrointestinal de várias espécies de tartarugas (Lichtenfels et al. 1978; Lester et al. 1980; Orós et al. 2004). As formas larvares destes nematodes desenvolvem-se em bivalves, cefalópodes, crustáceos e peixes. Desta forma, a tartaruga cabeçuda, apresentando uma dieta carnívora generalista, é o principal hospedeiro destes parasitas (Lichtenfels et al. 1978; Lester et al. 1980). As lesões provocadas incluem úlceras gástricas, gastrite e enterites hemorrágicas no hospedeiro (Lester et al. 1980; George 1997; Orós et al. 2004).

2.4.4. Estudos da fauna parasitária em *C. mydas*

Os estudos sobre análises parasitológicas em tartarugas marinhas são ainda escassos. No entanto, nos últimos anos verificou-se um aumento de pesquisas neste tópico, provavelmente relacionado com o maior interesse na compreensão da ecologia desta espécie ameaçada.

Até ao momento, a pesquisa realizada em tartarugas verdes adultas inclui estudos no Egito (Sey 1977) e Costa Rica (Santoro et al. 2006). Mais recentemente, no Brasil, saíram dois artigos com pesquisa referente a tartarugas verdes juvenis do estado do Espírito Santo (Binoti et al. 2016; Gomes et al. 2017). Apenas um artigo foi publicado relativo à fauna parasitária de tartarugas verdes juvenis nos estados de São Paulo e região sul do Rio de Janeiro, Brasil (Werneck and Silva 2015).

No estudo realizado por Binoti et al. (2016) foram analisadas 212 tartarugas juvenis das quais 50% estavam parasitadas. No total, foram encontradas sete famílias diferentes de trematodes que incluíram 19 espécies de helmintes. Por sua vez, no estudo de Gomes et al. (2017) foram analisadas 36 tartarugas juvenis, das quais 94% apresentaram parasitas. Foram encontradas representantes de 18 espécies de trematodes pertencentes a quatro famílias. Em ambos os estudos, os parasitas mais prevalentes encontrados pertencem à família Pronocephalidae (*Metacetabulum invaginatium*, *Cricocephalus albus* e *Pronocephalus obliquus*) e Microscaphidiidae (*Neoctangium travassosi*). Resultados compatíveis foram obtidos no estudo de Werneck e Silva (2015) em que foram analisados 136 animais juvenis, dos quais 66% estavam positivos à presença de parasitas. Neste último trabalho, foram encontrados representantes de 26 espécies de trematodes agrupados em seis famílias. Apesar do parasita mais prevalente pertencer à família Spirorchidiidae (*Learedius learedi*), foi seguido pelos mesmos parasitas mais prevalentes encontrados nos outros dois estudos (*Metacetabulum invaginatium*, *Cricocephalus albus*, *Pronocephalus obliquus* e *Neoctangium travassosi*) também realizados em tartarugas encontradas no litoral brasileiro.

A revisão bibliográfica de Werneck e Silva (2016) apresenta uma lista de parasitas descritos até ao momento em tartarugas marinhas da região Neotropical (América Central e América do Sul), incluindo os que até à data foram descritos no Brasil.

Na região brasileira, foram já encontradas nas tartarugas verdes 41 espécies de helmintes (trematodes e nematodes) distribuídas por doze famílias (Tabela 2).

Novos estudos são necessários, principalmente em locais ainda não investigados. Os principais objetivos deverão incluir: o melhor esclarecimento sobre os ciclos de vida dos helmintes, a distribuição geográfica das diferentes espécies parasitárias e hospedeiros e ainda, o melhor conhecimento das rotas migratórias das tartarugas marinhas (Filho et al. 2017).

Tabela 2 – Helmintes encontrados até ao momento em estudos realizados em *C. mydas* no Brasil. Parte I.

Helminthes	Referências
Trematoda	
Família Brachycoeliidae	
<i>Cymatocarpus solearis</i>	Werneck e Silva (2015)
Família Calycodidae	
<i>Calycodes anthos</i>	Binoti et al. (2016)
Família Cladorchiidae	
<i>Schizamphistomum scleroporom</i>	Werneck e Silva (2015); Gomes et al. (2017)
Família Gorgoderidae	
<i>Plesiochorus cymbiformis</i>	Binoti et al. (2016)
Família Microscaphidiidae	
<i>Angiodictyum longum</i>	Werneck e Silva (2015); Binoti et al. (2016); Gomes et al. (2017)
<i>Angiodictyum parallelum</i>	Werneck e Silva (2015); Gomes et al. (2017)
<i>Deuterobaris intestinalis</i>	Gomes et al. (2017)
<i>Deuterobaris proteus</i>	Werneck e Silva (2015); Gomes et al. (2017)
<i>Microscaphidium reticulare</i>	Werneck e Silva (2015)
<i>Neoctangium travassosi</i>	Travassos et al. (1969); Werneck e Silva (2015); Binoti et al. (2016); Gomes et al. (2017)
<i>Polyangium linguatula</i>	Teixeira de Freitas e Lent (1938); Travassos et al. (1969); Werneck e Silva (2015); Binoti et al. (2016)
Família Plagiorchiidae	
<i>Enodiotrema megachondrus</i>	Werneck et al. (2016a)

Tabela 2 – Helmintes encontrados até ao momento em estudos realizados em *C. mydas* no Brasil. Parte II.

Helmintes	Referências
Trematoda	
Família Pronocephalidae	
<i>Charaxicephaloides polyorchis</i>	Gomes et al. (2017)
<i>Charaxicephalus robustus</i>	Binoti et al. (2016); Gomes et al. (2017)
<i>Cricocephalus albus</i>	Ruiz (1946); Travassos et al. (1969); Werneck e Silva (2015); Binoti et al. (2016); Gomes et al. (2017)
<i>Cricocephalus megastomum</i>	Werneck e Silva (2015); Binoti et al. (2016); Gomes et al. (2017)
<i>Desmogonius baldassinae</i>	Werneck et al. (2021)
<i>Diaschistorchis pandus</i>	Werneck e Silva (2015)
<i>Metacetabulum invaginatium</i>	Teixeira de Freitas e Lent (1938); Ruiz (1946); Travassos et al. (1969); Werneck e Silva (2015); Binoti et al. (2016); Gomes et al. (2017)
<i>Pleurogonius linearis</i>	Ruiz (1946); Travassos et al. (1969); Werneck e Silva (2015); Binoti et al. (2016); Gomes et al. (2017)
<i>Pleurogonius longiusculus</i>	Ruiz (1946); Travassos et al. (1969); Werneck e Silva (2015); Binoti et al. (2016); Gomes et al. (2017)
<i>Pleurogonius trigonocephalus</i>	Travassos et al. (1969); Werneck e Silva (2015); Gomes et al. (2017)
<i>Pleurogonius lobatus</i>	Ruiz (1946); Travassos et al. (1969); Werneck e Silva (2015); Binoti et al. (2016); Gomes et al. (2017)
<i>Pronocephalus obliquus</i>	Travassos et al. (1969); Werneck e Silva (2015); Binoti et al. (2016); Gomes et al. (2017)
<i>Pronocephalus trigonocephalus</i>	Ruiz (1946); Travassos et al. (1969); Binoti et al. (2016); Gomes et al. (2017)
<i>Pyelosomum cochlear</i>	Werneck e Silva (2015); Binoti et al. (2016)
<i>Pyelosomum crassum</i>	Ruiz (1946); Travassos et al. (1969); Werneck e Silva (2015)
<i>Rameshwarotrema uterocrescens</i>	Werneck e Silva (2015); Ribeiro et al. (2017); Jerdy et al. (2019)
<i>Ruicephalus minutus</i>	Ruiz (1946); Travassos et al. (1969); Werneck e Silva (2015); Binoti et al. (2016)

Tabela 2 – Helmintes encontrados até ao momento em estudos realizados em *C. mydas* no Brasil. Parte III.

Helmintes	Referências
Trematoda	
Família Rhytidodidae	
<i>Rhytidodes gelatinosus</i>	Werneck e Silva (2015)
<i>Rhytidododes similis</i>	Werneck et al. (2015b)
Família Spirorchidae	
<i>Amphiorchis indicus</i>	Werneck e Silva (2013); Werneck e Silva (2015)
<i>Amphiorchis solus</i>	Werneck et al. (2011); Werneck e Medeiros (2016)
<i>Carettacola stunkardi</i>	Werneck et al. (2013)
<i>Hapalotrema postorchis</i>	Werneck et al. (2015a)
<i>Learedius learedi</i>	Werneck et al. (2006); Werneck e Silva (2015); Binoti et al. (2016); Gomes et al. (2017)
<i>Monticellius indicum</i>	Werneck et al. (2008); Werneck e Silva (2015)
<i>Neospororchis schistosomatoides</i>	Werneck et al. (2016b)
Família Telorchidae	
<i>Orchidasma amphiorchis</i>	Teixeira de Freitas e Lent (1938); Travassos et al. (1969); Binoti et al. (2016)
Nematoda	
Família Anisakidae	
<i>Sulcascaaris sulcata</i>	Teixeira de Freitas e Lent (1946)
Família Kathlaniidae	
<i>Kathlania leptura</i>	Travassos (1918)
<i>Tonaudia freitasi</i>	Vicente e Santos (1968)

Capítulo 3 - Objetivos da Dissertação

3.1. Objetivo principal do estudo

O objetivo do presente estudo foi realizar a análise dos parasitas existentes no trato gastrointestinal de tartarugas verdes juvenis, provenientes do estado do Rio de Janeiro, Brasil.

3.2. Objetivos específicos do estudo

1. Comparar a carga parasitária e as espécies de parasitas de animais que se encontravam debilitados em vida com os animais que morreram devido a afogamento, com boa condição corporal;
2. Identificar possíveis lesões macroscópicas nos tratos gastrointestinais das tartarugas analisadas e relacionar com a presença de espécies parasitárias;
3. Comparar a carga parasitária e a riqueza de espécies parasitárias encontradas nas tartarugas verdes juvenis analisadas nas diferentes localidades no estado do Rio de Janeiro;
4. Verificar a presença de espécies parasitárias encontradas que ainda não tenham sido descritas no Brasil e na Região Neotropical;
5. Comparar a carga parasitária entre hospedeiros de diferentes gêneros (fêmea e macho);
6. Comparar os dados obtidos com os de outros estudos, previamente realizados, noutros estados do Brasil e na região Neotropical (América Central e América do Sul).

Capítulo 4 - Material e Métodos

4.1. Proveniência das amostras

4.1.1. Área e Período de estudo

De setembro a dezembro de 2020 foram recolhidas 28 tartarugas verdes juvenis das praias do Rio de Janeiro, Brasil. Os animais eram provenientes de diferentes localidades (Figura 7): São Francisco de Itabapoana (21° 26' 3.5874" S 41° 6' 54.9354" O) n = 15, Búzios (22° 44' 53.1276" S 41° 52' 52.644" O) n = 5, Casemiro de Abreu (22° 35' 36.708"S 41° 59' 39.084"O) n = 4, Macaé (22° 22' 18" S 41° 47' 9" O) n = 2, Rio das Ostras (22° 31' 36.8364" S 41° 56' 34.872" O) n = 1 e Unamar (22° 38' 34.08" S 41° 59' 55.7874" O) n = 1. Todos os animais analisados foram encontrados mortos no seu ambiente natural pelo programa de monitorização de praia (PMP) da Bacia de Campos no estado do Rio de Janeiro (Werneck et al. 2018).

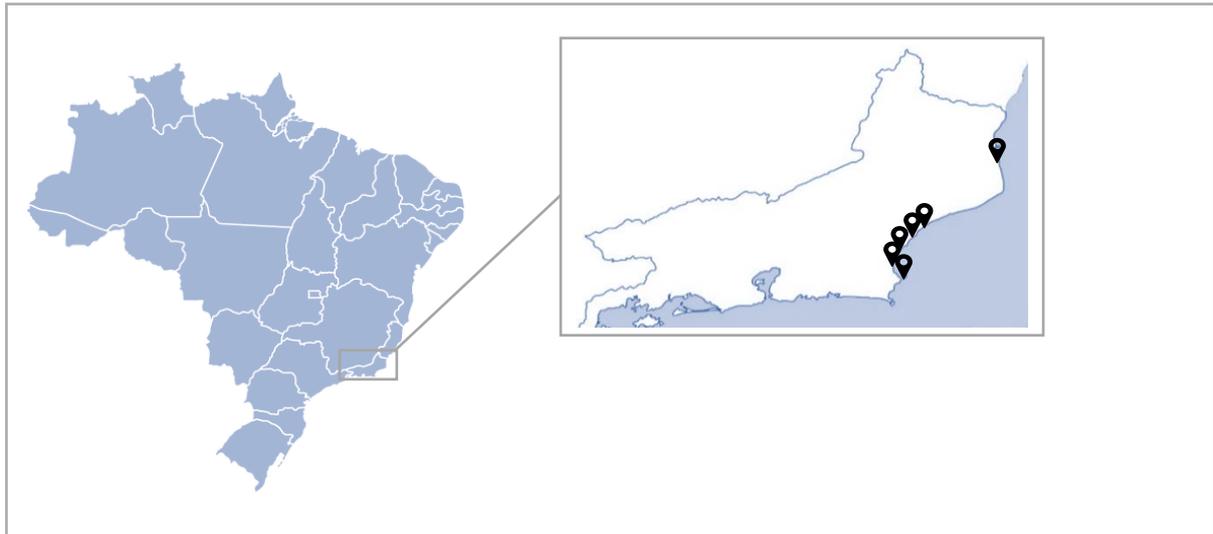


Figura 7 – Área de estudo. Localizações da esquerda para a direita: Búzios, Unamar, Casemiro de Abreu, Rio das Ostras, Macaé e São Francisco de Itabapoana no estado do Rio de Janeiro, Brasil (Original).

4.1.2. Tratamento/Recolha das amostras

A amostra foi constituída por 28 tartarugas verdes juvenis que foram encontradas mortas nas praias do estado do Rio de Janeiro. Todas as necropsias foram realizadas pelo PMP, sendo recolhida a seguinte informação de cada indivíduo: número de identificação da tartaruga; local onde foi encontrada; data em que foi encontrada; comprimento curvilíneo de carapaça (CCC), em centímetros (cm); peso, em quilogramas (kg); condição corporal (Thomson et al. 2009); sexo, através da visualização das gonadas durante a realização da necropsia; e possível causa de morte. Os tratos gastrointestinais dos animais não foram analisados aquando das necropsias, sendo separados e congelados, intactos, para a sua posterior análise.

4.2. Técnica para recolha, separação e identificação dos parasitas

O processamento das amostras foi posteriormente realizado no laboratório da empresa BW Consultoria Veterinária na cidade de Araruama no estado do Rio de Janeiro, entre o período de janeiro a maio de 2021. Foram, então, descongelados os tratos gastrointestinais e realizada a separação do esófago, estômago, intestino delgado e intestino grosso (Figura 8). Individualmente, os órgãos foram abertos através da utilização de tesouras e pinças. Após a abertura, foi realizada a lavagem e raspagem da mucosa e do conteúdo gastrointestinal com a ajuda de uma lâmina histológica e água corrente, sendo todo o conteúdo peneirado (peneiros com malha de 0,4 mm e 0,250 mm) (Figura 9). De seguida, foi efetuada a inspeção visual, com o objetivo de avaliar a presença ou ausência de lesões na

mucosa e a existência ou ausência de resíduos antropogênicos (plástico) no conteúdo gastrointestinal. O material retido nos peneiros foi armazenado em recipientes identificados.

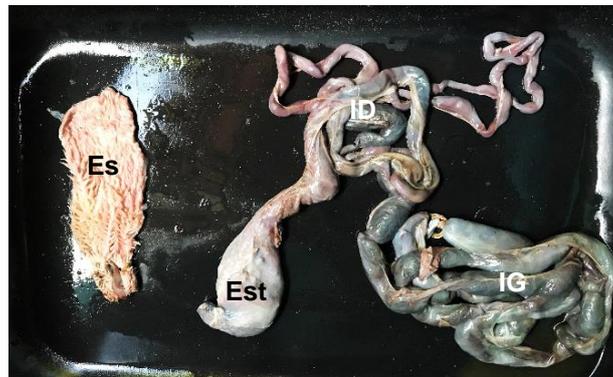


Figura 8 – Separação do trato gastrointestinal de tartaruga verde. Es – esôfago; Est – estômago; ID – intestino delgado; IG – intestino grosso (Original).



Figura 9 – Peneiros utilizados no estudo. a) Lavagem do conteúdo gastrointestinal através dos dois peneiros utilizados; b) peneiro de malha 0,250 mm; c) peneira de malha 0,4 mm (Originais).

A análise do material dos recipientes foi efetuada de seguida, realizando-se a separação dos parasitas do conteúdo gastrointestinal com o auxílio de um estereomicroscópio. Os parasitas foram então removidos, prensados entre lâminas e fixados numa solução de álcool a 70%. Posteriormente, foram corados numa solução de carmim clorídrico e previamente desidratados através de concentrações crescentes de etanol (80%, 90% e 100%). Por fim, sucedeu-se a clarificação dos mesmos com uma solução de eugenol e a montagem em lâminas, utilizando Balsamo do Canadá, para posterior análise morfológica (Figura 10).

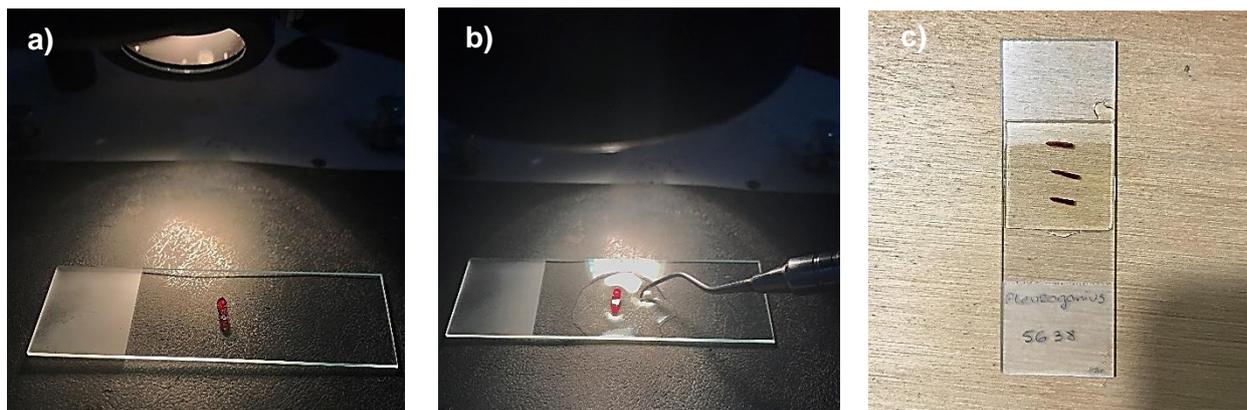


Figura 10 – Montagem dos trematodes em lâminas. a) Posicionamento do trematode na lâmina. b) colocação do Bálsamo do Canadá. c) lâmina final com três trematodes identificados da mesma espécie (Originais).

Amostras representativas de cada espécie encontrada durante o presente estudo foram, por fim, depositadas na Coleção Helmintológica do Instituto Oswaldo Cruz (CHIOC) localizado na cidade do Rio de Janeiro, Brasil.

Para a identificação dos espécimes foram utilizadas as chaves de identificação de género propostas por Gibson et al. (2002), Jones et al. (2005) e Bray et al. (2008), além da literatura específica para cada género e espécie, quando disponíveis.

4.3. Informatização dos dados e análise estatística

A informatização dos resultados obtidos foi efetuada em folha de cálculo de Microsoft Excel 2019[®] e analisada segundo tabelas dinâmicas.

Posteriormente foi calculada a prevalência, intensidade média de infeção e os valores médios de abundância para cada espécie encontrada, através do programa Quantitative Parasitology (Reiczigel et al. 2013). Todos estes conceitos estão definidos de acordo com Bush et al. (1997). Os intervalos de confiança (IC) de 95% para a prevalência foram calculados utilizando o método de Sterne e para a intensidade média e a abundância média foram calculados usando o método Bootstrap Bca com 2.000 replicações.

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa SigmaStat 3.1 (Jandel Scientific Corporation, San Jose, California).

Para analisar as diferenças e comparar a intensidade de infeção entre machos e fêmeas e entre animais afogados versus debilitados foi utilizado o teste não paramétrico Mann–Whitney U. Este teste foi também aplicado para comparar as espécies parasitárias encontradas entre os animais afogados e os animais debilitados. O nível de significância adotado nos testes estatísticos foi de 5%.

Por fim, as diferenças foram consideradas estatisticamente significativas, quando o valor de p foi inferior a 0,05.

Capítulo 5 - Resultados

5.1. Caracterização da amostra

As tartarugas estudadas apresentavam um comprimento curvilíneo de carapaça (CCC) médio de $36,9 \pm 5,6$ cm (com variação entre 27,9 - 51,2 cm) e pesavam em média $4,5 \pm 1,2$ kg (variação de 2,6 - 6,4 kg) (Anexo 1 – Tabela 12, Parte I e II). Na amostra de animais analisados, 75% (21/28) correspondiam ao sexo feminino, 14% (4/28) eram do sexo masculino e 11% (3/28) foram indeterminados (Gráfico 1).

A condição corporal dos animais analisados foi fundamentada num método visual, tendo como base a forma do plastrão da tartaruga. Os animais foram considerados debilitados quando apresentavam um plastrão côncavo, numa condição corporal normal quando o plastrão se encontrava plano e em boa condição corporal quando o plastrão era nitidamente convexo (Thomson et al. 2009). Animais afogados, foram identificados por apresentarem um padrão característico de morte por asfixia causado pelo afogamento. A boa condição corporal, ausência de feridas externas decorrentes de trauma, algas no trato digestivo e ausência de lesões associadas a outras doenças permitiram concluir que os animais se encontravam saudáveis e foram apanhados, num período próximo, por redes de pesca com conseqüente afogamento (Jerdy et al. 2020).

Assim, quanto à suspeita de causa de morte, 57% (16/28) dos animais analisados encontravam-se debilitados quando morreram, 36% (10/28) dos animais tinham como suspeita e causa de morte o afogamento e 7% (2/28) a causa de morte foi dada como indeterminada (Gráfico 2).

Gráfico 1 – Distribuição do sexo das tartarugas verdes da amostra

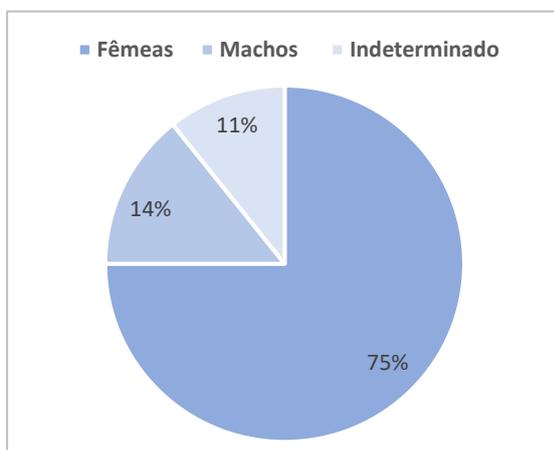
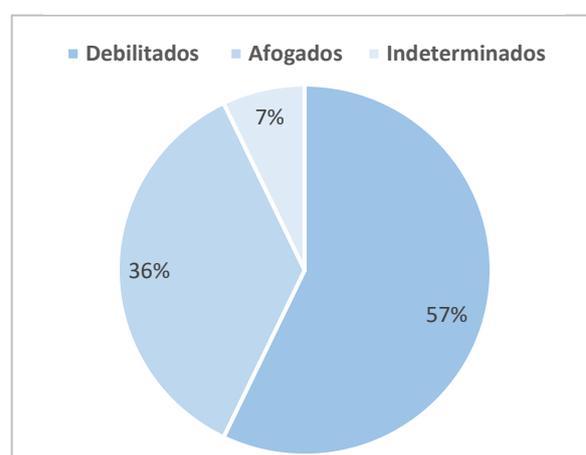


Gráfico 2 – Distribuição das causas de morte das tartarugas verdes da amostra



A maioria das tartarugas analisadas eram provenientes de São Francisco (53,6%), seguindo-se as localizações de Búzios (17,9%), Casemiro de Abreu (17,3%), Macaé (7,1%), Rio das Ostras (3,6%) e Unamar (3,6%).

5.2. Resultados gerais

No total foram recuperados 14 802 helmintos, sendo a intensidade média de infecção de $528,64 \pm 627,52$ (1-2831).

Das 28 tartarugas verdes analisadas no estudo, 100% estavam parasitadas com pelo menos uma espécie de helminte. Apenas duas (7,14%) tartarugas da amostra apresentavam somente uma espécie parasitária. A riqueza de espécies foi de $7,86 \pm 3,83$, variando entre 1 e 17.

No presente estudo os trematodes foram a classe de parasitas predominante nas tartarugas verdes juvenis analisadas. No total foram identificadas 30 espécies de trematodes pertencentes a 5 famílias, incluindo Microscaphidiidae com 9 espécies (Tabela 3), Plagiorchiidae com 3 espécies (Tabela 4), Pronocephalidae com 15 espécies (Tabela 5), Spirorchiidae com 2 espécies (Tabela 6) e Telorchiidae com apenas 1 espécie (Tabela 7). Foi ainda encontrado outro táxon correspondente a 3 larvas de nematode que não foram possíveis de identificar (Tabela 8).

Os trematodes mais prevalentes correspondem às espécies *Cricocephalus albus* com uma prevalência de 89,3%, seguido de *Metacetabulum invaginum* e *Pronocephalus obliquus*, ambos com 82,1% de prevalência e *R. uterocrescens* com 53,6%. As espécies mais abundantes foram *C. albus* (153), *Rameshwarotrema uterocrescens* (124), *Ruicephalus minutus* (89) e *M. invaginum* (47,6).

Apenas 4 espécies de parasitas foram encontradas em mais de 50% dos animais analisados, sendo elas: *C. albus*, *M. invaginum*, *P. obliquus* e *R. minutus*.

Tabela 3 – Prevalência, intensidade média e abundância média de helmintos da família Microscaphidiidae em *Chelonia mydas* (n= 28) provenientes do estado do Rio de Janeiro, Brasil.

Espécie	Nº de parasitas	Infetados	Prevalência (%) (95% IC)	Abundância média (95% IC)	Intensidade média (95% IC)
<i>Angiodictyum posterovitellatum</i>	33	1	3,6 (0,2-17,5)	1,18 (0-3,54)	33
<i>Deuterobaris intestinalis</i>	63	7	25 (11,9-44,6)	2,25 (0,5-6,45)	9 (2,86-19)
<i>Microscaphidium aberrans</i>	87	2	7,1 (1,3-22,9)	3,11 (0-11,9)	43,5 (14-73)
<i>Microscaphidium reticulare</i>	22	2	7,1 (1,3-22,9)	0,786 (0-2,18)	11 (9-11)
<i>Microscaphidium warui</i>	2	1	3,6 (0,2-17,5)	0,0714 (0-0,214)	2
<i>Neotangium travassosi</i>	207	11	39,3 (22,9-59,1)	7,39 (3,5-13,8)	18,8 (10,6-29,1)
<i>Octangium hypalum</i>	124	4	14,3 (5-31,9)	4,43 (0,179-20,9)	31 (2-87,5)
<i>Octangium sagitta</i>	9	1	3,6 (0,2-17,5)	0,321 (0-0,964)	9
<i>Polyangium linguatula</i>	335	8	28,6 (14,2-48,2)	12 (3,14-46,4)	41,9 (14,6-116)

Legenda: Número (Nº); percentagem (%); intervalo de confiança (IC).

Tabela 4 – Prevalência, intensidade média e abundância média de helmintos da família Plagiorchiidae em *Chelonia mydas* (n= 28) provenientes do estado do Rio de Janeiro, Brasil.

Espécie	Nº de parasitas	Infetados	Prevalência (%) (95% IC)	Abundância média (95% IC)	Intensidade média (95% IC)
<i>Enodiotrema</i> sp.	1	1	3,6 (0,2-17,5)	0,0357(0-0,107)	1
<i>Enodiotrema megachondrus</i>	3	2	7,1 (1,3-22,9)	0,107 (0-0,321)	1,5 (1-1,5)
<i>Enodiotrema reductum</i>	39	7	25 (11,9-44,6)	1,39 (0,357-4,76)	5,57 (1,86-15)

Legenda: Número (Nº); porcentagem (%); intervalo de confiança (IC).

Tabela 5 – Prevalência, intensidade média e abundância média de helmintos da família Pronocephalidae em *Chelonia mydas* (n= 28) provenientes do estado do Rio de Janeiro, Brasil.

Espécie	Nº de parasitas	Infetados	Prevalência (%) (95% IC)	Abundância média (95% IC)	Intensidade média (95% IC)
<i>Charaxicephaloides polyorchis</i>	38	5	17,9 (7,3-35,7)	1,36 (0,214-5,68)	7,6 (1,8-23,4)
<i>Charaxicephalus robustus</i>	2	1	3,6 (0,2-17,5)	0,0714 (0-0,214)	2
<i>Cricocephalus albus</i>	4.275	25	89,3 (71,8-97)	153 (93,9-300)	171 (105-334)
<i>Cricocephalus megastomum</i>	120	9	32,1 (17,5-51,8)	4,29 (1,61-11,6)	13,3 (6,22-29,4)
<i>Desmogonius baldassiniae</i>	5	4	14,3 (5-31,9)	0,179 (0,0357-0,357)	1,25 (1-1,5)
<i>Metacetabulum invaginatum</i>	1.333	23	82,1 (64,3-92,7)	47,6 (30,3-81,8)	58 (37,5-95,1)
<i>Pleurogonius</i> sp.	51	3	10,7 (3-28,2)	1,82 (0,214-7,97)	17 (3-29,3)
<i>Pleurogonius laterouterus</i>	533	10	35,7 (19,3-55,4)	19 (6,46-48,4)	53,3 (18,1-117)
<i>Pleurogonius linearis</i>	22	2	7,1 (1,3-22,9)	0,786 (0-3,75)	11 (1-11)
<i>Pleurogonius lobatus</i>	72	7	25 (11,9-44,6)	2,57 (0,786-9,58)	1033 (4-27,5)
<i>Pleurogonius longiusculus</i>	339	13	46,4 (28,2-64,5)	12,1 (3,89-30,6)	26,1 (9,46-59,9)
<i>Pronocephalus obliquus</i>	974	23	82,1 (64,3-92,7)	34,8 (22,3-63,2)	42,3 (27,3-72,4)
<i>Pyelosomum crassum</i>	79	4	14,3 (5-31,9)	2,82 (0,643-7,5)	19,8 (9-31,5)
<i>Rameshwarotrema uterocrescens</i>	3.472	15	53,6 (35,5-71,8)	124 (19,8-534)	231 (36,1-945)
<i>Ruicephalus minutus</i>	2.493	21	75 (55,4-88,1)	89 (42,3-183)	119 (60,9-229)

Legenda: Número (Nº); porcentagem (%); intervalo de confiança (IC).

Tabela 6 – Prevalência, intensidade média e abundância média de helmintos da família Spirorchiidae em *Chelonia mydas* (n= 28) provenientes do estado do Rio de Janeiro, Brasil.

Espécie	Nº de parasitas	Infetados	Prevalência (%) (95% IC)	Abundância média (95% IC)	Intensidade média (95% IC)
<i>Amphiorchis solus</i>	1	1	3,6 (0,2-17,5)	0,0357 (0-0,107)	1
<i>Hapalotrema postorchis</i>	3	1	3,6 (0,2-17,5)	0,107 (0-0,321)	3

Legenda: Número (Nº); porcentagem (%); intervalo de confiança (IC).

Tabela 7 – Prevalência, intensidade média e abundância média de helmintos da família Telorchiidae em *Chelonia mydas* (n= 28) provenientes do estado do Rio de Janeiro, Brasil.

Espécie	Nº de parasitas	Infetados	Prevalência (%) (95% IC)	Abundância média (95% IC)	Intensidade média (95% IC)
<i>Orchidasma amphiorchis</i>	9	4	14,3 (5-31,9)	0,321 (0,0714-0,821)	2,25 (1-3,25)

Legenda: Número (Nº); porcentagem (%); intervalo de confiança (IC).

Tabela 8 – Prevalência, intensidade média e abundância média de larvas de nemátodos em *Chelonia mydas* (n= 28) provenientes do estado do Rio de Janeiro, Brasil.

Espécie	Nº de parasitas	Infetados	Prevalência (%) (95% IC)	Abundância média (95% IC)	Intensidade média (95% IC)
Larva de nemátodos	3	2	7,1 (1,3-22,9)	0,107 (0-0,357)	1,5 (1-1,5)

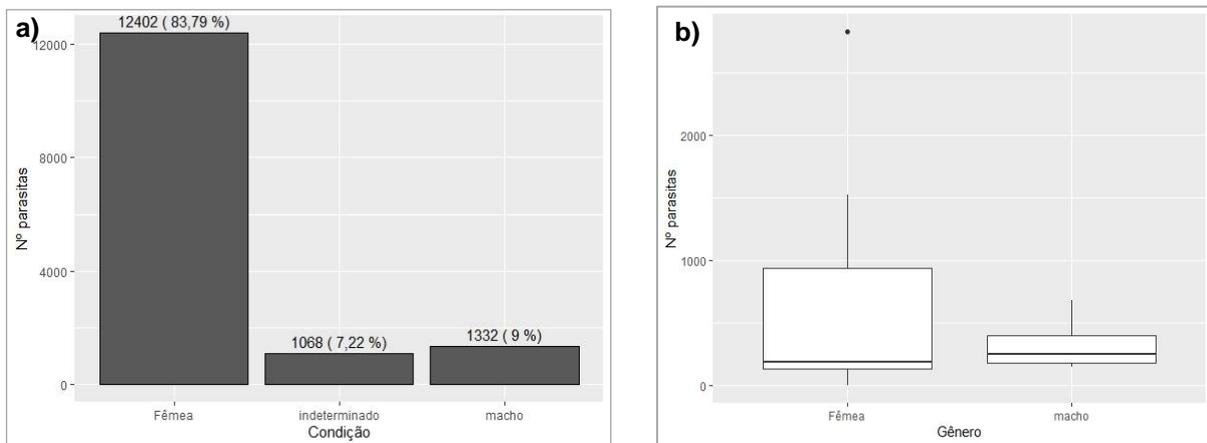
Legenda: Número (Nº); porcentagem (%); intervalo de confiança (IC).

5.2.1. Análise da quantidade de parasitas encontrados entre fêmeas e machos

Uma percentagem considerável de parasitas (84%) foi encontrada nas fêmeas analisadas. Apenas 9% dos parasitas foram encontrados nos machos e, nos animais com o sexo indeterminado, foram encontrados 7% dos parasitas totais do presente estudo (Gráfico 3a e Gráfico 3b).

A diferença entre o número de parasitas encontrados nas fêmeas e o número de parasitas encontrados nos machos analisados não é estatisticamente significativa ($p = 0,9714$).

Gráfico 3 – a) número e percentagem de parasitas encontrados nos sexos analisados (fêmea, macho e indeterminado) b) comparação do número de parasitas encontrados nas fêmeas versus nos machos analisados e observação da variação de dados da amostra.



Legenda: Número (Nº); percentagem (%).

5.2.2. Análise por suspeita clínica da causa de morte (entre animais debilitados e afogados)

De acordo com a Tabela 9, é possível verificar que os animais debilitados foram os que apresentaram maior média de CCC, maior número de parasitas, maior riqueza de espécies e maior intensidade média de parasitas a comparar com os animais afogados e indeterminados.

Apesar destes dados, não se verificou uma diferença estatística significativa entre o número de parasitas do grupo de animais debilitados e o número de parasitas do grupo de animais afogados ($p = 0,2916$).

Tabela 9 – Análise por suspeita clínica de morte (em todos os animais analisados, nos debilitados, nos afogados e nos indeterminados) em *Chelonia mydas* (n=28) provenientes do estado do Rio de Janeiro, Brasil.

	Nº hospedeiros	Média ± SD do CCC (cm)	Nº de parasitas recolhidos	Riqueza de espécies ± DP (intervalo)	Intensidade média (IC 95%)
Geral	28	36,9 ± 5,56 (27,9 – 51,2)	14.802	7,9 ± 3,83 (1 – 17)	529 (359-854)
Debilitados	16	38,2 ± 6,66 (27,9 – 51,2)	10.542	9 ± 3,85 (1 – 17)	659 (421-1.140)
Afogados	10	35,4 ± 3,34 (27,9 – 38,9)	4.174	6,4 ± 3,53 (1 – 12)	379 (164-754)
Indeterminado	2	36,3 ± 2,47 (34,5 – 38)	138	5 ± 1,41 (4 – 6)	69 (52-69)

Legenda: Número (Nº); comprimento curvilíneo de carapaça (CCC); centímetros (cm); desvio padrão (DP); intervalo de confiança (IC).

5.2.3. Análise das espécies parasitárias encontradas entre animais debilitados e animais afogados

A maioria das espécies parasitárias foram encontradas predominantemente nos animais debilitados. As exceções incluem o *Cricocephalus albus*, *Charaxicephalus robustus*, *Microscaphidium warui*, *Neotangium travassosi*, *Orchidasma amphiorchis*, *Pronocephalus obliquus* e as larvas de nematode que foram encontrados maioritariamente nos animais afogados (Gráfico 4; Tabela 10).

Em nenhuma espécie parasitária foi verificada uma diferença estatisticamente significativa entre o grupo de animais debilitados e o grupo de animais afogados ($p > 0,05$). A única exceção foi observada no trematode *Ruicephalus minutus* ($p = 0,03337$), sendo possível afirmar que esta espécie se encontra em maior quantidade nos animais debilitados do que nos animais afogados analisados no presente estudo.

Gráfico 4 – Espécies de parasitas encontradas nos animais debilitados versus animais afogados.

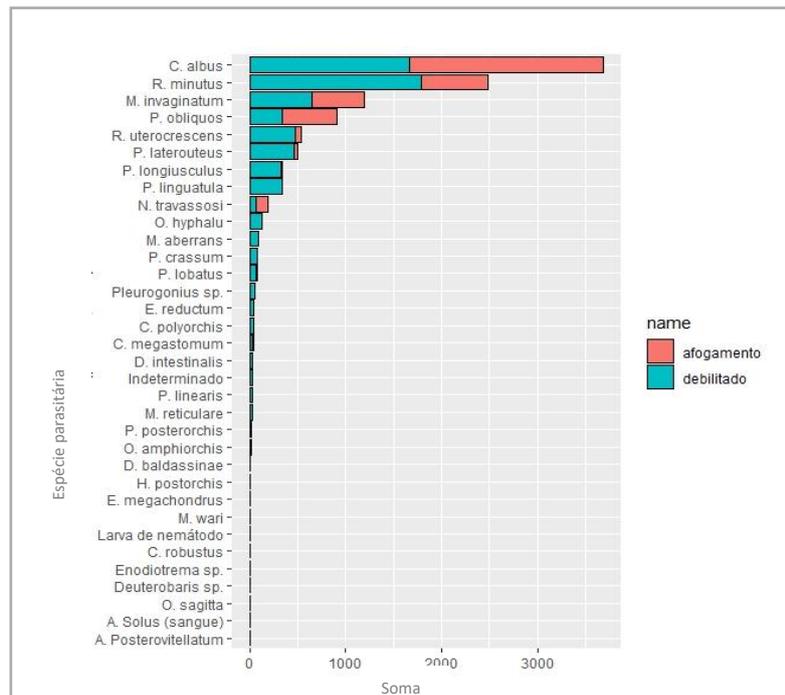


Tabela 10 – Percentagem de cada espécie parasitária por causa de morte (animais afogados e debilitados).

Parasita	Afogamento	Debilitado	Parasita	Afogamento	Debilitado
<i>A. posterovitelatum</i>	0 (0%)	0 (0%)	<i>M. reticulare</i>	0 (0%)	22 (100%)
<i>A. solus (sangue)</i>	0 (0%)	0 (0%)	<i>M. wari</i>	2 (100%)	0 (0%)
<i>C. albus</i>	2016 (55%)	1670 (45%)	<i>N. travassosi</i>	123 (64%)	69 (36%)
<i>C. megastomum</i>	11 (31%)	25 (69%)	<i>O. amphiorchis</i>	6 (67%)	3 (33%)
<i>C. polyorchis</i>	0 (0%)	37 (100%)	<i>O. hyphalu</i>	2 (2%)	122 (98%)
<i>C. robustus</i>	2 (100%)	0 (0%)	<i>O. sagitta</i>	0 (0%)	0 (0%)
<i>D. baldassinae</i>	2 (40%)	3 (60%)	<i>P. crassum</i>	0 (0%)	79 (100%)
<i>D. intestinalis</i>	6 (19%)	25 (81%)	<i>P. laterouteus</i>	30 (6%)	462 (94%)
<i>Deuterobaris</i> sp.	0 (0%)	1 (100%)	<i>P. linearis</i>	1 (5%)	21 (95%)
<i>E. megachondrus</i>	0 (0%)	3 (100%)	<i>P. linguatula</i>	2 (1%)	332 (99%)
<i>E. reductum</i>	1 (3%)	38 (97%)	<i>P. lobatus</i>	13 (18%)	58 (82%)
<i>Enodiotrema</i> sp.	0 (0%)	1 (100%)	<i>P. longiusculus</i>	14 (4%)	324 (96%)
<i>H. postorchis</i>	0 (0%)	3 (100%)	<i>P. obliquus</i>	579 (64%)	332 (36%)
<i>Indeterminado</i>	2 (7%)	27 (93%)	<i>P. posterorchis</i>	0 (0%)	10 (100%)
Larva de nematode	2 (100%)	0 (0%)	<i>Pleurogonius</i> sp.	3 (6%)	48 (94%)
<i>M. aberrans</i>	0 (0%)	87 (100%)	<i>R. minutus</i>	692 (28%)	1794 (72%)
<i>M. invaginatum</i>	544 (46%)	647 (54%)	<i>R. uterocrescens</i>	57 (11%)	478 (89%)

Legenda: Percentagem (%).

5.2.4. Análise por local de origem dos hospedeiros

A amostra foi constituída maioritariamente por animais com origem em São Francisco de Itabapoana n=15 (53,6%). Estes animais foram os que apresentaram maior média de CCC, maior riqueza de espécies e maior número de parasitas recolhidos. Os animais das restantes localizações foram os que apresentaram maior intensidade média de infeção parasitária (Tabela 11).

Tabela 11 – Análise por local de origem das 28 tartarugas verdes (*Chelonia mydas*) analisadas provenientes do estado do Rio de Janeiro, Brasil.

	Nº hospedeiros	Média ± DP do CCC (cm)	Nº de parasitas recolhidos	Riqueza de espécies ± DP (intervalo)	Intensidade média (IC 95%)
Geral	28	36,9 ± 5,56 (27,9 – 51,2)	14 802	7,9 ± 3,83 (1 – 17)	529 (359-854)
São Francisco	15	38,3 ± 5,4 (32,8-51,2)	7 457	9,6 ± 3,5 (4-7)	497 (308-758)
Búzios, Casemiro de Abreu, Macaé, Unamar, Rio das Ostras	13	35,2 ± 5,4 (27,9-48,2)	7 345	5,8 ± 3,1 (1-10)	565 (270-1180)

Legenda: Número (Nº); comprimento curvilíneo de carapaça (CCC); centímetros (cm); desvio padrão (DP); intervalo de confiança (IC).

5.2.5. Análise dos tratos gastrointestinais para a presença de lesões e resíduos antropogénicos

Durante o processamento das amostras e abertura dos tratos gastrointestinais verificou-se a presença de lesões no esófago caudal de 5 tartarugas classificadas como debilitadas, representando 50% (5/10) dos animais dados como debilitados.

Todas as lesões eram caracterizadas pela existência de úlceras difusas com exsudado caseoso necrótico amarelado e consequente obstrução esofágica (Figura 11).

Adicionalmente, um dos tratos gastrointestinais analisados apresentava grande quantidade de resíduos antropogênicos (plástico), principalmente a nível do estômago e intestino delgado do animal (Figura 12).



Figura 11 – Lesões identificadas nos tratos gastrointestinais analisados. Lesões ulcerativas difusas com exsudado caseoso necrótico amarelado no esôfago caudal de três tartarugas verdes juvenis (Original).



Figura 12 – Resíduos antropogênicos do trato gastrointestinal de uma tartaruga verde juvenil (Original).

Capítulo 6 - Discussão

O presente estudo fornece uma das primeiras descrições da composição das espécies parasitárias encontradas em tartarugas verdes juvenis no estado do Rio de Janeiro, Brasil.

Como proposto por Aznar et al. (1998) e por Santoro et al. (2006), a maioria dos helmintes encontrados no estudo são específicos de tartarugas marinhas. A exceção são as espécies *Criocephalus albus*, *Orchidasma amphiorchis* e *Polyangium linguatula*, que foram já identificadas noutros hospedeiros (Blair 1986; Aznar et al. 1998; Blair 2005).

As preferências dietéticas influenciam amplamente a natureza das comunidades de helmintes nas espécies de tartarugas marinhas (Werneck et al. 2015c). Consequentemente, sendo a tartaruga verde uma espécie herbívora na sua fase juvenil e adulta, seria previsível que a maioria dos parasitas gastrointestinais encontrados fossem da classe dos trematodes (Pérez-Ponce De León et al. 1996). O que se confirmou com os resultados da presente análise.

Assim como noutros estudos realizados em tartarugas verdes (Santoro et al. 2006; Werneck and Silva 2015; Binoti et al. 2016; Gomes et al. 2017), a prevalência de parasitas encontrados nas tartarugas analisadas foi bastante elevada. Estes resultados observados nesta espécie podem ser explicados pela disponibilidade de possíveis hospedeiros intermediários na dieta, aliados à mudança de habitat e, ainda, à alteração drástica dos hábitos alimentares experienciada pelas tartarugas verdes. Este período de mudanças corresponde a um novo desafio imunológico para estes animais. Estas três condições associadas também à condição corporal do animal, podem representar um fator de stress nestes organismos e resultar numa maior vulnerabilidade a possíveis agentes de doença e parasitas (Werneck 2011).

As 28 tartarugas juvenis analisadas encontravam-se parasitadas (100%). Esta prevalência observada na região norte do estado do Rio de Janeiro é superior à prevalência de parasitas encontrada por Werneck e Silva (2015) (66,2%) em tartarugas com a mesma idade provenientes do norte do estado de São Paulo e região sul do estado do Rio de Janeiro. Da mesma forma, comparando com a prevalência obtida nos estudos de Binoti et al. (2016) (50%) e de Gomes et al. (2017) (94,4%), no estado do Espírito Santo, observamos que a prevalência de tartarugas parasitadas é também superior no presente estudo.

Todas as espécies identificadas foram relatadas anteriormente em tartarugas verdes no Brasil, exceto sete espécies: *Angiodictyum posterovitellatum* (Microscaphidiidae), *Microscaphidium aberrans* (Microscaphidiidae), *Microscaphidium warui* (Microscaphidiidae), *Octangium hyphalum* (Microscaphidiidae), *Octangium sagitta* (Microscaphidiidae),

Enodiotrema reductum (Plagiorchiidae) e *Pleurogonius laterouterus* (Pronocephalidae) que apresentam novos registros geográficos nesta área. Inclusive, *A. posterovitellatum* e *P. laterouterus* ainda não tinham sido identificados em tartarugas verdes na região Neotropical (Werneck and Silva 2016).

Das 30 espécies identificadas no presente estudo, metade (15 espécies) pertencem à família Pronocephalidae. Considerando o estudo realizado em tartarugas verdes adultas na Costa Rica (Santoro et al. 2006), observamos que o maior número de espécies encontradas pertencia, igualmente, à mesma família. Estes dados indicam que tartarugas adultas e tartarugas juvenis compartilham as mesmas espécies parasitárias, como já tinha sido previsto no estudo de Werneck e Silva (2015). Possivelmente, esta infecção é adquirida através de hospedeiros intermediários presentes na alimentação (algas e ervas marinhas) dos animais analisados (Pérez-Ponce De León et al. 1996).

Os trematodes encontrados com maior prevalência foram as espécies *C. albus* (89,3%), seguido de *M. invaginatium* (82,1%), *P. obliquus*, (82,1%) e *R. uterocrescens* (53,6%). Resultados similares foram observados nos estudos de Binoti et al. (2016) e Gomes et al. (2017) no estado do Espírito Santo, em que as mesmas espécies foram as mais prevalentes, com a exceção de *R. uterocrescens*. A espécie *N. travassosi* foi também uma das mais prevalentes nestes dois estudos. Resultados comparáveis foram também obtidos no estudo de Werneck e Silva (2015) em animais provenientes do norte de São Paulo e região sul do estado do Rio de Janeiro. Aqui, duas das espécies mais prevalentes identificadas foram igualmente *C. albus* e *M. invaginatium*. Contudo neste estudo, a espécie mais prevalente foi o trematode *Learedius learedi*, uma espécie de espiroquídeo que parasita o sistema circulatório das tartarugas marinhas. Tendo em conta estes três estudos já realizados e a presente análise, é possível concluir que as espécies *C. albus* e *M. invaginatium* são as espécies mais frequentemente encontradas em *C. mydas* na costa brasileira, até ao momento.

Comparando os resultados com o estudo realizado por Santoro et al. (2006) em tartarugas verdes da Costa Rica, é possível demonstrar a influência que a distribuição geográfica pode ter também na comunidade de parasitas das tartarugas da mesma espécie, uma vez que a prevalência de espécies encontradas por Santoro et al. (2006) foi muito diferente da prevalência encontrada na presente análise. As espécies *Learedius learedi*, *Microscaphidium reticulare*, *Pyelosomum coclhear* e *Cricocephalus resectus* foram as mais prevalentes nesse estudo.

No presente trabalho, apenas foi analisado o trato gastrointestinal dos hospedeiros. Desta forma, dificilmente seria encontrado um número elevado de parasitas sanguíneos como aconteceu nos estudos realizados por Werneck e Silva (2015) e Santoro et al. (2006), em que

foi realizada uma pesquisa direcionada a essas espécies parasitárias. Os únicos parasitas sanguíneos encontrados neste estudo foram as espécies *Amphiorchis solus* (n= 1) e *Haplotrema postorchis* (n=3), provavelmente devido à rotura de vasos sanguíneos de tartarugas infetadas, aquando da abertura do mesentério e da separação do trato gastrointestinal dos restantes órgãos.

A riqueza de espécies encontradas neste trabalho ($7,86 \pm 3,83$) foi superior ao número médio de espécies encontradas no estudo realizado em tartarugas juvenis de Werneck e Silva (2015) (4.74 [CI: 4.03 - 5.46]) e no estudo realizado por Gomes et al. (2017) ($4,29 \pm 2,19$), o que não seria expectável.

As tartarugas verdes juvenis antes de irem para uma zona nerítica, perto da costa brasileira, encontravam-se numa zona oceânica, em mar aberto. Aqui, praticamente não são encontradas formas infetadas de parasitas, contactando pela primeira vez com estas quando realizam a mudança de habitat e de dieta (Aznar et al. 1998). Assim, pelo curto período de residência que ainda possuem numa zona costeira, teriam, até então, limitada a aquisição de espécies parasitárias, como demonstrado no estudo de Werneck e Silva (2015).

Contudo, podem existir três importantes fatores a ter em conta no norte do estado do Rio de Janeiro que não existiam nos estudos realizados anteriormente no estado do Espírito Santo (Gomes et al. 2017) e no norte do estado de São Paulo e região sul do estado do Rio de Janeiro (Werneck and Silva 2015). Em primeiro lugar, é importante perceber que na área de estudo existe o principal sistema de ressurgência costeira, em que a sua intensidade é a mais alta das outras zonas de ressurgência que existem no litoral brasileiro (Coelho-Souza et al. 2012). Esta região representa fontes importantes de produtividade marinha, gerando altos níveis de produtividade primária que se propagam pela cadeia alimentar. Consequentemente, a concentração de organismos neste local é elevada, incluindo possivelmente, a concentração de hospedeiros intermediários e espécies parasitárias (Costa and Fernandes 1993; Valentin 2001; Coelho-Souza et al. 2012; Reis et al. 2017). Esta poderá ser a principal explicação para a maior riqueza de espécies parasitárias encontradas no presente estudo. Em segundo lugar, a existência de rios que desaguam no mar na área analisada pode também influenciar a riqueza de espécies parasitárias, na medida em que aumenta a disponibilidade de alimento que se propaga também ao longo da cadeia alimentar. Consequentemente, a concentração de organismos e espécies de parasitas na área aumentam também. Por último, como nunca foi realizado um estudo nesta área, poderá ser um acontecimento normal na população de tartarugas verdes da região norte do Rio de Janeiro.

Estes três fatores podem explicar o facto das tartarugas analisadas na presente pesquisa possuírem uma maior prevalência de parasitas e uma maior intensidade de infeção

parasitária do que as tartarugas analisadas nos outros estados do Brasil. Da mesma forma, podem fundamentar os novos registros geográficos das espécies identificadas nas tartarugas estudadas, que ainda não tinham sido descritas nas tartarugas juvenis dos outros estados brasileiros.

Das tartarugas marinhas estudadas, uma percentagem elevada (36%) apresentava como suspeita de causa de morte o afogamento. Esta informação confirma que a captura acidental continua a ser uma das principais ameaças para esta espécie no litoral do estado do Rio de Janeiro, como descrito no estudo recente de Tagliolatto et al. (2020). Apesar das medidas já tomadas visando a redução da captura acidental e da mortalidade de tartarugas marinhas pela atividade pesqueira, são necessárias mais estratégias com resultados concretos e duradouros (Marcovaldi et al. 2002; ICMBio 2011).

No mesmo estudo de Tagliolatto et al. (2020), foi demonstrada uma alta prevalência de doenças como fator que contribui para a mortalidade das tartarugas analisadas na região do Rio de Janeiro. Estas doenças podem estar indiretamente associadas a impactos antrópogénicos, como a poluição (Domiciano et al. 2017). Esta informação pode explicar a alta percentagem (57%) de animais encontrados debilitados no presente estudo e a possibilidade da poluição poder estar a influenciar negativamente a saúde das tartarugas marinhas, levando ao aparecimento de doenças e consequente debilitação do animal nas áreas de estudo.

Um dos animais analisados apresentava grande quantidade de plástico no trato gastrointestinal. Apesar desta descoberta, não foram encontradas lesões macroscópicas no trato gastrointestinal e a causa de morte foi o afogamento. Desta forma, não pode ser discutido o impacto da ingestão de resíduos antropogénicos nas tartarugas verdes no presente trabalho. Não obstante, existem evidências pelo estudo de Tagliolatto et al. (2020) que as áreas costeiras ao longo do Rio de Janeiro apresentam grandes quantidades de detritos antropogénicos no ambiente marinho, introduzidos principalmente por sistemas fluviais e por habitantes e turistas com práticas inadequadas de descarte.

As doenças esofágicas são comuns em tartarugas marinhas (Santoro et al. 2007). As principais causas relatadas incluem a ingestão de anzóis, resultando em perfuração esofágica (Orós et al. 2005), formação de divertículos associados a infeção por *Aerococcus viridans* (Torrent et al. 2002) e esofagite associada ao trematode *R. uterocrescens* (Santoro et al. 2007; Ribeiro et al. 2017; Jerdy et al. 2019).

Já foi demonstrado em diversos estudos que o trematode *R. uterocrescens* parasita as glândulas do esófago caudal da tartaruga verde (Santoro et al. 2007; Ribeiro et al. 2017; Jerdy et al. 2019). Para além de causar esofagite necrosante ulcerativa grave com infeção

bacteriana secundária e, por vezes, obstrução total do esófago, tem também capacidade de propagação hematogena associada a hepatite, esplenite e nefrite. Assim, a infeção por *R. uterocrescens* em *C. mydas* pode ser fatal, afetando um número substancial de indivíduos (Jerdy et al. 2019).

Em cinco dos animais considerados debilitados foram observadas lesões esofágicas (Figura 11). Todas as lesões tinham a mesma apresentação, caracterizando-se pela existência de úlceras difusas com exsudado caseoso necrótico amarelado e, por vezes, obstrução esofágica. Nestas tartarugas, o trematode *R. uterocrescens* foi encontrado em grande número, principalmente no esófago. Com base nas evidências encontradas na presente análise e com base nos resultados de outros autores já citados (Santoro et al. 2007; Ribeiro et al. 2017; Jerdy et al. 2019), podemos reconhecer que a presença deste parasita pode, de facto, ser a causa destas lesões. Ademais, a sua presença pode explicar a baixa condição corporal destes animais e o estado debilitado em que se encontravam quando foi realizada a necropsia, visto que as lesões observadas levavam à obstrução quase completa do esófago, impedindo a alimentação das tartarugas. Este estudo demonstra, mais uma vez, o potencial parasitismo fatal, por vezes indireto, do trematode *R. uterocrescens* em tartarugas verdes.

Apenas larvas de nematodes imaturos foram recolhidas durante o trabalho. Infelizmente, não foi possível identificar estes parasitas uma vez que não foram observadas as características taxonómicas relevantes. Provavelmente os animais analisados podem ser um hospedeiro acidental ou paraténico, impedindo o desenvolvimento completo do nematode, como proposto por Santoro et al. (2010).

Nesta análise não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas na intensidade média de infeção entre fêmeas e machos e entre animais debilitados (baixa condição corporal) e afogados (boa condição corporal) ($p > 0,05$). Os mesmos resultados sucederam-se para as diferentes espécies parasitárias entre animais debilitados e afogados, em que também não se verificou uma correlação estatística significativa ($p > 0,05$).

Relativamente à amostra do presente estudo, pode-se afirmar que não foi equitativa. O número de fêmeas ($n=21$, 75%) analisadas foi muito superior ao número de machos analisados ($n=4$, 14%), acabando por influenciar os dados estatísticos do estudo. Desta forma, o número de parasitas encontrados nas fêmeas foi previsivelmente muito superior ao número de parasitas totais encontrados nos machos, contudo não foi observada uma diferença estatisticamente significativa na quantidade de parasitas entre os dois grupos ($p > 0,05$).

Este resultado estatístico de falta de correlação na quantidade de parasitas entre fêmeas e machos era o esperado. A tartaruga verde adulta realiza um elevado número de

migrações ao longo da vida. Nas épocas de reprodução, a fêmea permanece durante mais tempo na zona de reprodução, perto da praia onde realiza as desovas. Enquanto que o macho, pelo contrário, realiza várias migrações em alto mar para várias zonas de reprodução, regressando em seguida à sua zona de alimentação. Assim, seria expectável que as fêmeas apresentassem um maior número de parasitas, sendo que estão durante um período mais longo em contacto com formas infetantes de trematodes. Em contrapartida, os machos permanecem mais tempo num ambiente pelágico, reduzindo as possibilidades de infeção pelos mesmos (Santoro et al. 2006). Contudo, este estudo em específico foi realizado com tartarugas verdes juvenis, que ainda não atingiram a maturidade sexual e ainda não realizaram migrações reprodutivas. Desta forma, é expectável que não exista diferença significativa entre a intensidade de infeção das fêmeas e dos machos.

Animais com sinais de debilidade (baixa condição corporal) não apresentaram maiores taxas de infeção em relação aos animais provenientes de afogamento (boa condição corporal). O mesmo aconteceu nos estudos anteriormente realizados no Brasil (Werneck and Silva 2015; Binoti et al. 2016; Gomes et al. 2017), em que não existiu uma diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos de animais. De facto, a infeção por trematodes na tartaruga verde é realizada através de hospedeiros intermediários possivelmente presentes na alimentação (algas e ervas marinhas) (Esch et al. 2001). Quando o animal se encontra debilitado e com uma baixa condição corporal, provavelmente, é devido a um processo crónico que levou à diminuição da sua alimentação num período de tempo arrastado. No momento em que a tartaruga deixa de se alimentar, deixa também de contactar com as formas infetantes parasitárias, diminuindo a carga parasitária que possui. Contudo, é de realçar que os endoparasitas podem também gerar e / ou contribuir com condições que levam à debilidade e mortalidade do animal.

Possivelmente, todos os hospedeiros analisados no estudo pertencem à mesma população, visto não existirem grandes diferenças entre a intensidade média de infeção e riqueza de espécies entre os animais das diferentes localidades consideradas.

Acreditamos também que as tartarugas verdes juvenis analisadas pertencem à mesma população das tartarugas estudadas no norte do estado de São Paulo e região sul do estado do Rio de Janeiro (Werneck and Silva 2015) e das tartarugas do estado do Espírito Santo (Binoti et al. 2016; Gomes et al. 2017), visto apresentarem grande parte das espécies parasitárias em comum. Além disso, as áreas geográficas consideradas são relativamente próximas e são ocupadas maioritariamente por tartarugas verdes juvenis (Marcovaldi MA and Marcovaldi GG 1999; Tagliolatto et al. 2020). Evidências genéticas são necessárias para confirmar esta hipótese.

A recolha e análise de dados sobre a diversidade e ecologia de espécies parasitárias nos ecossistemas naturais são claramente muito importantes em termos de conservação. O estudo de parasitas em tartarugas marinhas pode fornecer informações extremamente relevantes sobre a ecologia dos seus hospedeiros, os padrões de migração realizados e o estado da cadeia trófica do habitat. Uma compreensão completa do ciclo de vida, da distribuição geográfica das espécies parasitárias e do seu impacto nas diferentes espécies de tartarugas marinhas está ainda longe de ser atingida. Desta forma, novos estudos são necessários para uma melhor compreensão do impacto do parasitismo dos quelónios nesta área, nomeadamente ao nível da sua ecologia, do seu estado sanitário e da saúde do ecossistema marinho.

Capítulo 7 - Conclusão

Apesar dos estudos da fauna parasitológica em tartarugas marinhas serem ainda escassos, nos últimos anos verificou-se um aumento da pesquisa nesta área. A análise da sua comunidade parasitária deve ser encarada como um componente integral na investigação da doença e na conservação desta espécie ameaçada de extinção.

A costa brasileira serve de zona migratória, habitat de desenvolvimento juvenil e de área de alimentação para a tartaruga verde. Alguma pesquisa na área parasitária tinha sido já realizada nos estados do Espírito Santo, norte do estado de São Paulo e região sul do estado do Rio de Janeiro. Contudo, na região norte do estado do Rio de Janeiro ainda nenhum estudo tinha sido elaborado.

Assim, foi efetuada a análise parasitológica dos tratos gastrointestinais de tartarugas verdes juvenis (*Chelonia mydas*), provenientes da região norte do estado do Rio de Janeiro.

As nossas descobertas revelaram que a riqueza de espécies, a intensidade média de infecção e a prevalência de parasitas foram maiores nesta região do que nas áreas analisadas em estudos anteriores. Este resultado, associado às espécies encontradas com novos registos geográficos, sugere que a região norte do estado do Rio de Janeiro, provavelmente, apresenta uma peculiaridade que as demais regiões não apresentavam. Acreditamos que estas diferenças sejam resultado da existência de um sistema de ressurgência costeira mais intenso nesta área, da presença de vários rios que desaguam no mar na região analisada e/ou ainda um acontecimento normal das tartarugas desta região.

Ademais, confirmámos que a captura acidental continua a ser uma das principais ameaças para a tartaruga verde no litoral do estado do Rio de Janeiro. Estratégias com resultados concretos e duradouros para a redução da captura acidental pela atividade pesqueira são ainda necessárias.

Pela quantidade de animais encontrados debilitados levantamos a hipótese de a poluição estar a influenciar negativamente a saúde das tartarugas marinhas, levando ao aparecimento de doenças e conseqüente debilitação do animal nas áreas de estudo.

Acreditamos também que as tartarugas verdes juvenis analisadas nas diferentes localidades pertenciam à mesma população. Da mesma forma, consideramos que os animais analisados anteriormente nos estados do Espírito Santo, São Paulo, região sul do Rio de Janeiro e os animais da amostra do presente estudo pertencem à mesma população. Evidências genéticas são necessárias para confirmar esta hipótese.

Por último, mais investigação da comunidade parasitária, não só da tartaruga verde, mas também das outras espécies de tartarugas marinhas é necessária, principalmente em

locais ainda não investigados no Brasil e outras zonas do globo, de forma a serem reunidos mais dados que ajudem à compreensão do impacto das parasitoses nestes quelônios e no seu estatuto de conservação.

Capítulo 8 - Referências Bibliográficas

- Aguirre AA, Lutz PL. 2004. Marine Turtles as Sentinels of Ecosystem Health: Is Fibropapillomatosis an Indicator? *EcoHealth*. 1(3):275–283. doi:10.1007/s10393-004-0097-3.
- Aho JM. 1990. Helminth communities of amphibians and reptiles: comparative approaches to understanding patterns and processes. In: Esch GW, Bush AO, Aho J.M., editors. *Parasite Communities: Patterns and Processes*. New York: Chapman and Hall. p. 157–195.
- Alfaro A. 2008. Synopsis of infections in sea turtles caused by virus, bacteria and parasites: an ecological review. In: Rees AF, Frick MG, Panagoulou A, Williams K, editors. *Proceedings of the 27th Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation*. Miami, FL: NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFC-569, 30.
- Almeida A de P, Santos AJB, Thomé JCA, Belini C, Baptistotte C, Marcovaldi MÂ, Santos AS, Lopez M. 2011. Avaliação do Estado de Conservação da Tartaruga Marinha *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) no Brasil. *Biodiversidade Brasileira*. 1(1):18–25.
- Anderson RM, May RM. 1979. Population biology of infectious diseases: Part I. *Nature*. 280:361–367. doi:10.1038/280361a0.
- Aznar FJ, Badillo FJ, Raga JA. 1998. Gastrointestinal Helminths of Loggerhead Turtles (*Caretta caretta*) from the Western Mediterranean: Constraints on Community Structure. *Journal of Parasitology*. 84(3):474–479. doi:10.2307/3284708?uid=3737952&uid=2&uid=4&sid=21104186644251.
- Bellini C, Marcovaldi MÂ, Sanches TM, Grossman A, Sales G. 1996. Atol das Rocas biological reserve: seconde largest *Chelonia* rookery in Brazil. *Marine Turtle Newsletter*. 72:1–2.
- Bellini C, Sanches TM. 1996. Reproduction and Feeding of Marine Turtles in the Fernando de Noronha Archipelago, Brazil. *Marine Turtle Newsletter*. 74:12–13.
- Bellini C, Santos AJB, Grossman A, Marcovaldi MA, Barata PCR. 2013. Green turtle (*Chelonia mydas*) nesting on Atol das Rocas, north-eastern Brazil, 1990-2008. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 93(4):1117–1132. doi:10.1017/S002531541200046X.
- Binoti E, Gomes MC, de Calais Junior A, Werneck MR, Martins IVF, Boeloni JN. 2016. Helminth fauna of *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) in the south of Espírito Santo State in Brasil. *Helminthologia*. 53(2):195–199. doi:10.1515/helmin-2016-0012.
- Bjorndal KA. 1980. Nutrition and grazing behavior of the Green Turtle, *Chelonia mydas*, a seagrass herbivore. *Marine Biology*. 56(2):147–154.
- Bjorndal KA. 1997. Foraging Ecology and Nutrition of Sea Turtles. In: Lutz PL, Musick JA, editors. *The Biology of Sea Turtles*. Vol. 1. Boca Raton (FL): CRC Press. p. 199–222.
- Bjorndal KA, Bolten AB, Lagueux CJ. 1994. Ingestion of Marine Debris by Juvenile Sea Turtles in Coastal Florida Habitats. *Marine Pollution Bulletin*. 28(3):154–158.
- Blair D. 1986. A Revision of the Subfamily Microscaphidiinae (Platyhelminthes: Digenea: Microscaphidiidae) Parasitic in Marine Turtles (Reptilia: Chelonia). *Australian Journal of Zoology*. 34(2):241–277.

- Blair D. 2005. Family Pronocephalidae Looss, 1899. In: Jones A, Bray RA, Gibson DI, editors. Keys to the Trematoda. Vol. 2. London, UK: CABI Publishing. p. 361–380.
- Bolten AB. 2003. Variation in Sea Turtle Life History Patterns: Neritic vs. Oceanic Developmental Stages. In: Lutz PL, Musick JA, Wyneken J, editors. The Biology of Sea Turtles. Vol. 2. Boca Raton (FL): CRC Press. p. 243–254.
- Bouchard SS, Bjorndal KA. 2000. Sea Turtles as Biological Transporters of Nutrients and Energy from Marine to Terrestrial Ecosystems. *Ecology*. 81(8):2305. doi:10.2307/1771116.
- Bowman DD. 2014. *Georgis' parasitology for veterinarians*. 10th ed. Missouri: Elsevier Saunders.
- Bray RA, Gibson DI, Jones A. 2008. Keys to the Trematoda. Bray RA, Gibson DI, Jones A, editors. Wallingford: CABI.
- Buron I, Colon BL, Siegel SV, Oberstaller J, Rivero A, Kyle DE. 2018. First evidence of polychaete intermediate hosts for *Neospororchis* spp. marine turtle blood flukes (Trematoda: Spirorchiidae). *International Journal for Parasitology*. 48:1097–1106. doi:10.1016/j.ijpara.2018.08.002.
- Bush AO, Lafferty KD, Lotz JM, Shostak AW. 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *Journal of Parasitology*. 83(4):575–583. doi:10.2307/3284227.
- Cadena EA, Parham JF. 2015. Oldest known marine turtle? A new protostegid from the Lower Cretaceous of Colombia. *PaleoBios*. 32:1–42.
- Caro TM, O'Doherty G. 1999. On the use of surrogate species in conservation biology. *Conservation Biology*. 13(4):805–814. doi:10.1046/j.1523-1739.1999.98338.x.
- Carr A. 1965. The Navigation of the Green Turtle. *Scientific American*. 78–85.
- Chapman PA, Cribb TH, Flint M, Traub RJ, Blair D, Kyaw-Tanner MT, Mills PC. 2019. Spirorchiidiasis in marine turtles: The current state of knowledge. *Diseases of Aquatic Organisms*. 133:217–245. doi:10.3354/dao03348.
- [CITES] Convention on International Trade in Endangered species of Wild Fauna and Flora. 2019. Appendix I.
- Coelho-Souza SA, López MS, Guimarães JRD, Coutinho R, Candella RN. 2012. Biophysical interactions in the Cabo Frio upwelling system, southeastern Brazil. *Brazilian Journal of Oceanography*. 60(3):353–365. doi:10.1590/S1679-87592012000300008.
- Costa PAS, Fernandes F da C. 1993. Seasonal and Spatial Changes of Cephalopods Caught in the Cabo Frio (Brazil) Upwelling Ecosystem. *Bulletin of Marine Science*. 52(2):751–759.
- Cribb TH, Crespo-Picazo JL, Cutmore SC, Stacy BA, Chapman PA, García-Párraga D. 2017. Elucidation of the first definitively identified life cycle for a marine turtle blood fluke (Trematoda: Spirorchiidae) enables informed control. *International Journal for Parasitology*. 47(1):61–67. doi:10.1016/j.ijpara.2016.11.002.

- Dobson A, Lafferty KD, Kuris AM, Hechinger RF, Jetz W. 2008. Homage to Linnaeus: How many parasites? How many hosts? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 105(1):11482–11489. doi:10.1073/pnas.0803232105.
- Domiciano IG, Domit C, Bracarense APFRL. 2017. The green turtle *Chelonia mydas* as a marine and coastal environmental sentinels: Anthropogenic activities and diseases. *Semina: Ciências Agrárias*. 38(5):3417–3434. doi:10.5433/1679-0359.2017v38n5p3417.
- Esch GW, Curtis LA, Barger MA. 2001. A perspective on the ecology of trematode communities in snails. *Parasitology*. 123: S57–S75.
- Filho MRCM, Andrade MF, Domit C, Silva-Souza ÂT. 2017. A review of helminths of the green turtle (*Chelonia mydas*) in Brazil. *Oecologia Australis*. 21(1):17–26. doi:10.4257/oeco.2017.2101.02.
- Flint M. 2013. Free-Ranging Sea Turtle Health. In: Wyneken J, Lohmann KJ, Musick JA, editors. *The Biology of Sea Turtles*. Vol. 3. Boca Raton (FL): CRC Press. p. 379–391.
- Flint M, Blair D, Patterson-Kane J, Kyaw-Tanner M, Mills PC. 2010. Blood flukes (Spirorchidae) as a major cause of marine turtle mortality in Queensland. In: XII International Congress of Parasitology. Melbourne, Australia: Medimond. p. 57–61.
- Gaffney ES. 1990. *The comparative osteology of the Triassic turtle Proganochelys*. 194th ed. New York: Bulletin of the American Museum of Natural History.
- Gaffney ES, Hutchinson JH, Jenkins FA, Meeker LJ. 1987. Modern Turtle Origins: The Oldest Known Cryptodire. *Science*. 237:289–291.
- George RH. 1997. Health Problems and Diseases of Sea Turtles. In: Lutz PL, Musick JA, editors. *The Biology of Sea Turtles*. Vol. 1. Boca Raton (FL): CRC Press. p. 364–375.
- Gibson DI, Jones A, Bray R. 2002. *Keys to the Trematoda*. Gibson DI, Jones A, Bray RA, editors. Wallingford: CABI.
- Godfrey MH, Godley BJ. 2008. Seeing past the red: Flawed IUCN global listings for sea turtles. *Endangered Species Research*. 6(2):155–159. doi:10.3354/esr00071.
- Godoy DA. 2016. *The ecology and conservation of green turtles (Chelonia mydas) in New Zealand*. Albany, New Zealand.
- Gomes MC, Martins IVF, Werneck MR, Pavanelli L. 2017. Ecologia da comunidade de helmintos gastrointestinais de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) recolhidas no litoral do Espírito Santo. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 69(3):644–650.
- Gordon AN, Kelly WR, Cribb TH. 1998. Lesions Caused by Cardiovascular Flukes (Digenea: Spirorchidae) in Stranded Green Turtles (*Chelonia mydas*). *Veterinary Pathology*. 35(1):21–30. doi:10.1177/030098589803500102.
- Gordon AN, Kelly WR, Lester RJ. 1993. Epizootic mortality of free-living green turtles, *Chelonia mydas*, due to coccidiosis. *Journal of Wildlife Diseases*. 29(3):490–494. doi:10.7589/0090-3558-29.3.490.
- Greenblatt RJ, Work TM, Balazs GH, Sutton CA, Casey RN, Casey JW. 2004. The *Ozobranchus leech* is a candidate mechanical vector for the fibropapilloma-associated

- turtle herpesvirus found latently infecting skin tumors on Hawaiian green turtles (*Chelonia mydas*). *Virology*. 321(1):101–110. doi:10.1016/j.virol.2003.12.026.
- Greiner EC. 2013. Parasites of Marine Turtles. In: Wyneken J, Lohmann KJ, Musick JA, editors. *The Biology of Sea Turtles*. Vol. 3. Boca Raton (FL): CRC Press. p. 428–443.
- Hall MA, Alverson DL, Metuzals KI. 2000. By-Catch: Problems and Solutions. *Marine Pollution Bulletin*. 41(1–6):204–219.
- Hamann M, Godfrey MH, Seminoff JA, Arthur K, Barata PCR, Bjorndal KA, Bolten AB, Broderick AC, Campbell LM, Carreras C, et al. 2010. Global research priorities for sea turtles: Informing management and conservation in the 21st century. *Endangered Species Research*. 11(3):245–269. doi:10.3354/esr00279.
- Han BA, Altizer S. 2013. Diseases, Conservation and. In: *Encyclopedia of Biodiversity*. Vol. 2. Athens: Elsevier Inc. p. 523–538.
- Harvell CD, Kim K, Burkholder JM, Colwell RR, Epstein PR, Grimes DJ, Hofmann EE, Lipp EK, Osterhaus ADME, Overstreet RM, et al. 1999. Emerging Marine Diseases-Climate Links and Anthropogenic Factors. *Science*. 285(5433):1505–1510.
- Herbst LH, Jacobson ER. 2003. Practical Approaches for Studying Sea Turtle Health and Disease. In: Lutz PL, Musick J, Wyneken J, editors. *The Biology of Sea Turtles*. Vol. 2. Boca Raton (FL): CRC Press. p. 386–403.
- Herbst LH, Jacobson ER, Klein PA, Balazs GH, Moretti R, Brown T, Sundberg JP. 1999. Comparative Pathology and Pathogenesis of Spontaneous and Experimentally Induced Fibropapillomas of Green Turtles (*Chelonia mydas*). *Vet Pathol*. 36:551–564.
- [ICMBio] Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. 2011. Plano de Ação Nacional Para Conservação Das Tartarugas Marinhas. 25th ed. Brasília.
- [ICMBio] Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. 2016. Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção. Brasília.
- [IUCN] International Union for Conservation of Nature [Internet]. 2021. Cambridge: IUCN; [accessed 2021 June 15]. <https://www.iucnredlist.org>.
- Jerdy H, Mastrangelli A, Lacerda P, Baldassin P, Scarelli AC, Werneck MR, Carvalho E. 2020. Anoxia Effects in Asphyxiated Green Sea Turtles (*Chelonia mydas*) Caught in an Artisanal Fishing Net on the Coast of Brazil. *Journal of Comparative Pathology*. 176:67–70. doi:10.1016/j.jcpa.2020.02.002.
- Jerdy H, Werneck M, Veloso R, Baldassin P, Netto HG, Barbosa C, Bianchi M, Ribeiro RB, Carvalho ECQ. 2019. Fatal *Rameshwarotrema uterocrescens* infection with ulcerative esophagitis and intravascular dissemination in green turtles. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*. 9:281–284. doi:10.1016/j.ijppaw.2019.06.006.
- Jones A, Bray R, Gibson D. 2005. Keys to the Trematoda. Jones A, Bray RA, Gibson DI, editors. Wallingford: CABI.
- Kämpf J, Chapman P. 2016. The Functioning of Coastal Upwelling Systems. In: *Upwelling Systems of the World: A Scientific Journey to the Most Productive Marine Ecosystems*. 1st ed. Switzerland: Springer. p. 31–65.

- Lackovich JK, Brown DR, Homer BL, Garber RL, Mader DR, Moretti RH, Patterson AD, Herbst LH, Oros J, Jacobson ER, et al. 1999. Association of herpesvirus with fibropapillomatosis of the green turtle *Chelonia mydas* and the loggerhead turtle *Caretta caretta* in Florida. *Diseases of Aquatic Organisms*. 37:89–97. doi:10.3354/dao037089.
- Lefèvre T, Lebarbenchon C, Gauthier-Clerc M, Missé D, Poulin R, Thomas F. 2009. The ecological significance of manipulative parasites. *Trends in Ecology and Evolution*. 24(1):41–48. doi:10.1016/j.tree.2008.08.007.
- Lester RJG, Blair D, Heald D. 1980. Nematodes from Scallops and Turtles from Shark Bay, Western Australia. *Aust J Mar Freshwater Res*. 31:713–717.
- Lewison RL, Crowder LB, Read AJ, Freeman SA. 2004. Understanding impacts of fisheries bycatch on marine megafauna. *Trends in Ecology and Evolution*. 19(11):598–604. doi:10.1016/j.tree.2004.09.004.
- Lichtenfels JR, Bier JW, Madden PA. 1978. Larval Anisakid (*Sulcascaris*) Nematodes from Atlantic Molluscs with Marine Turtles as Definitive Hosts. Source: *Transactions of the American Microscopical Society*. 97(2):199–207.
- 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. *Royal Society*. 265(1412):2279–2284. doi:10.1098/rspb.1998.0571.
- Lutcavage ME, Plotkin P, Witherington B, Lutz PL. 1997. Human Impacts on Sea Turtle Survival. In: Lutz PL, Musick JA, editors. *The Biology of Sea Turtles*. Vol. 1. Boca Raton (FL): CRC Press. p. 388–404.
- Macedo GR, Pires TT, Rostán G, Goldberg DW, Leal DC, Neto AFG, Franke CR. 2011. Ingestão de resíduos antropogênicos por tartarugas marinhas no litoral norte do estado da Bahia, Brasil. *Ciência Rural*. 41(11):1938–1943.
- Marcovaldi MA, Marcovaldi GG. 1999. Marine turtles of Brazil: the history and structure of Projeto TAMAR-IBAMA. *Biological Conservation*. 91:35–41.
- Marcovaldi MA, Thomé JC, Sales G, Coelho AC, Gallo B, Bellini C. 2002. Brazilian Plan for Reduction of Incidental Sea Turtle Capture in Fisheries. *Marine Turtle Newsletter*. 96:13–16.
- Márquez MR. 1990. *Sea turtles of the world. An annotated and illustrated catalogue of sea turtle species known to date*. 125th ed. Roma: FAO Fisheries Synopsis.
- Meylan AB, Meylan PA. 1999. Introduction to the Evolution, Life History, and Biology of Sea Turtles. In: Eckert KL, Bjorndal KA, Abreu-Grobois FA, Donnelly M, editors. *Research and management techniques for the Conservation of Sea Turtles*. 4th ed. Pennsylvania USA: IUCN/SSC Marine Turtle Specialist Group Publication. p. 1–3.
- Miller JD. 1997. Reproduction in Sea Turtles. In: Lutz PL, Musick JA, editors. *The Biology of Sea Turtles*. Vol. 1. Boca Raton (FL): CRC Press. p. 52–71.
- Milton S, Lutz P. 2003b. Sea Turtle Taxonomy and Distribution. In: Shigenaka G, editor. *Oil and Sea Turtles*. Washington, D.C.: National Oceanic and Atmospheric Administration, NOAA's National Ocean Service, Office of Response and Restoration. p. 7–19.

- Milton SL, Lutz P. 2003a. Physiological and Genetic Responses to Environmental Stress. In: Lutz Peter L., Musick J, Wyneken J, editors. *The Biology of Sea Turtles*. Vol. 2. Boca Raton (FL): CRC Press. p. 163–187.
- Møller AP. 2007. Parasitism and the regulation of host populations. In: Thomas F, Renaud F, Guegan J-F, editors. *Parasitism and Ecosystems*. Oxford: Oxford University Press. p. 43–53.
- Monteiro DS, Estima SC, Gandra TBR, Silva AP, Bugoni L, Swimmer Y, Seminoff JA, Secchi ER. 2016. Long-term spatial and temporal patterns of sea turtle strandings in southern Brazil. *Marine Biology*. 163:247-undefined. doi:10.1007/s00227-016-3018-4.
- Morand S, Deter J. 2008. Parasitism and regulation of the host population. In: Thomas F, Guégan J-F, Renaud F, editors. *Ecology and Evolution of Parasitism*. Oxford: Oxford University Press. p. 83–105.
- Mortimer JA, Carr A. 1987. Reproduction and Migrations of the Ascension Island Green Turtle (*Chelonia mydas*). *Copeia*. 1987(1):103–113.
- Orós J, Calabuig P, Déniz S. 2004. Digestive pathology of sea turtles stranded in the Canary Islands between 1993 and 2001. *Veterinary Record*. 155:169–174. doi:10.1136/vr.155.6.169.
- Orós J, Torrent A, Calabuig P, Déniz S. 2005. Diseases and causes of mortality among sea turtles stranded in the Canary Islands, Spain (1998-2001). *Diseases of Aquatic Organisms*. 63(1):13–24. doi:10.3354/dao063013.
- Pedersen AB, Jones KE, Nunn CL, Altizer S. 2007. Infectious diseases and extinction risk in wild mammals. *Conservation Biology*. 21(5):1269–1279. doi:10.1111/j.1523-1739.2007.00776.x.
- Pence DB, Wright SD. 1998. *Chelonacarus elongatus* n. gen., n. sp. (Acari: Cloacaridae) from the Cloaca of the Green Turtle. Source: *The Journal of Parasitology*. 84(4):835–839.
- Pérez-Ponce de León G, Brooks DR. 1995. Phylogenetic relationships of the genera of the Pronocephalidae looss, 1902 (Digenea: Paramphistomiformes). *Journal of Parasitology*. 81(2):267–277. doi:10.2307/3283932.
- Pérez-Ponce De León G., García-Prieto L, León-Règagnon V. 1996. Gastrointestinal Digenetic Trematodes of Olive Ridley's Turtle (*Lepidochelys olivacea*) from Oaxaca, Mexico. Taxonomy and Infracommunity Structure. *J Helminthol Soc Wash*. 63(1):76–82.
- Plotkin P. 2003. Adult Migrations and Habitat Use. In: Lutz PL, Musick JA, Wyneken J, editors. *The Biology of Sea Turtles*. Vol. 2. Boca Raton (FL): CRC Press. p. 225–233.
- Price JT, Paladino FV, Lamont MM, Witherington BE, Bates ST, Soule T. 2017. Characterization of the juvenile green turtle (*Chelonia mydas*) microbiome throughout an ontogenetic shift from pelagic to neritic habitats. *Plos One*. 12(5). doi:10.1371/journal.pone.0177642.
- Pritchard PCH, Mortimer JA. 1999. Taxonomy, external morphology and species identification. In: Eckert KL, Bjorndal KA, Abreu-Grobois FA, Donnelly M, editors. *Research and Management Techniques for the Conservation of Sea Turtles*. 4th ed. IUCN/SSC Marine Turtle Specialist Group Publication. p. 21–38.

- Reich KJ, Bjorndal KA, Bolten AB. 2007. The “lost years” of green turtles: Using stable isotopes to study cryptic lifestages. *Biology Letters*. 3(6):712–714. doi:10.1098/rsbl.2007.0394.
- Reiczigel J, Marozzi M, Fábíán I, Rózsa L. 2019. Biostatistics for parasitologists – a primer to Quantitative Parasitology. *Trends in Parasitology*. 35 (4): 277-281.
- Reis EC, Silveira VV-B, Siciliano S. 2009. Records of stranded sea turtles on the coast of Rio de Janeiro State, Brazil. *Marine Biodiversity Records*. 2:1–4. doi:10.1017/s1755267209001262.
- Reis EC, Goldberg DW, Lopez GG. 2017. Diversidade e distribuição de tartarugas marinhas na área de influência das atividades de E&P na Bacia de Campos. In: Reis E.C., Curbelo-Fernandez MP, editors. *Mamíferos, Quelônios e Aves*. Vol. 7. Rio de Janeiro: Elsevier. p. 121–159.
- Ribeiro RB, Jerdy H, Werneck MR, Goldberg DW, Bianchi M, Carvalho ECQ. 2017. Parasitic Ulcerous Caseous Gastroesophagitis Associated with *Rameshwarotrema uterocrescens* Rao, 1975 (Digenea: Pronocephalidae) in a Juvenile Green Turtle (*Chelonia mydas*, Linnaeus 1758 [testudines: Cheloniidae]): A Case Report. *Journal of Parasitology*. 103(3):292–294. doi:10.1645/16-106.
- Ruiz JM. 1946. Pronocephalidae (Trematoda) Estudo das espécies brasileiras e revisão da Família. 19th ed. São Paulo: Memo. Inst. Butantan.
- Santoro M, Greiner EC, Morales JA, Rodríguez-Ortíz B. 2006. Digenetic trematode community in nesting green sea turtles (*Chelonia mydas*) from Tortuguero National Park, Costa Rica. *J Parasitol*. 92(6):1202–1206.
- Santoro M, Mattiucci S. 2009. Sea Turtle Parasites. In: Wehrtmann IS, Cortés J, editors. *Marine Biodiversity of Costa Rica, Central America*. Berlin, Germany: Springer. p. 507–519.
- Santoro M, Mattiucci S, Paoletti M, Liotta A, Uberti BD, Galiero G, Nascetti G. 2010. Molecular identification and pathology of *Anisakis pegreffii* (Nematoda: Anisakidae) infection in the Mediterranean loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*). *Veterinary Parasitology*. 174(1–2):65–71. doi:10.1016/j.vetpar.2010.08.018.
- Santoro M, Morales JA, Stacy B, Greiner EC. 2007. *Rameshwarotrema uterocrescens* trematode parasitism of the oesophageal glands in green sea turtles (*Chelonia mydas*). *Veterinary Record*. 160(2):59–60. doi:10.1136/vr.160.2.59.
- Santos RG, Martins AS, Farias JN, Horta PA, Pinheiro HT, Torezani E, Baptistotte C, Seminoff JA, Balazs GH, Work TM. 2011. Coastal habitat degradation and green sea turtle diets in Southeastern Brazil. *Marine Pollution Bulletin*. 62:1297–1302. doi:10.1016/j.marpolbul.2011.03.004.
- Seminoff JA. 2004. *Chelonia mydas*. The IUCN Red List of Threatened Species [Internet]. [accessed 2021 June 15]. <https://www.iucnredlist.org/species/4615/11037468>
- Sey O. 1977. Examination of helminth parasites of marine turtles caught along the Egyptian coast. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae*. 23:387–394.
- Tagliolatto AB, Goldberg DW, Godfrey MH, Monteiro-Neto C. 2020. Spatio-temporal distribution of sea turtle strandings and factors contributing to their mortality in south-

- eastern Brazil. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*. 30(2):331–350. doi:10.1002/aqc.3244.
- Teixeira de Freitas JT, Lent H. 1938. Sobre alguns trematodeos parasitos de *Chelonia mydas* (L.), principalmente Paramphistomoides. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 33(1):79–97.
- Teixeira de Freitas JT, Lent H. 1946. “*Porrocaecum sulcatum*” (Rudolphi, 1819). *Rev Bras Biol*. 6(2):235–238.
- Thomas F, Poulin R, Meeus T, Guegan JF, Renaud F. 1999. Parasites and ecosystem engineering: What roles could they play? *Oikos*. 84(1):167–171.
- Torrent A, Dé Niz S, Ruiz A, Calabuig P, Sicilia J, Oró J. 2002. Esophageal Diverticulum Associated with *Aerococcus viridans* Infection in a Loggerhead Sea Turtle (*Caretta caretta*). *Journal of Wildlife Diseases*. 38(1):221–223.
- Travassos L. 1918. Informações sobre a familia Kalhlanidae n. nom. *Rev Bras Biol*. 2:83–88.
- Travassos L, Freitas T, Kohn A. 1969. Trematódeos do Brasil. 67th ed. Rio de Janeiro: Mem. Inst. Oswaldo Cruz.
- Valentin JL. 2001. The Cabo Frio Upwelling System, Brazil. In: Seeliger U, Kjerfve B, editors. *Coastal Marine Ecosystems of Latin America*. Vol. 144. 1st ed. Berlin: Springer. p. 97–105.
- Vicente JJ, Santos E. 1968. Terceira espécie do gênero “*Tonaudia*” Travassos, 1918, (Nemaloda, Kathlaniidae). *Atas da Sociedade de Biologia do Rio de Janeiro*. 12(2):55–56.
- Wallace BP, Lewison RL, Mcdonald SL, Mcdonald RK, Kot CY, Kelez S, Bjorkland RK, Finkbeiner EM, Helmbrecht S, Crowder LB. 2010. Global patterns of marine turtle bycatch. *Conservation Letters*. 3(3):131–142. doi:10.1111/j.1755-263X.2010.00105.x.
- Ward JR, Lafferty KD. 2004. The elusive baseline of marine disease: Are diseases in ocean ecosystems increasing? *PLoS Biology*. 2(4):542–547. doi:10.1371/journal.pbio.0020120.
- Werneck MR. 2011. Estudo da helmintofauna de tartarugas marinhas procedentes da costa brasileira [tese de doutoramento]. São Paulo: Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”.
- Werneck MR, Almeida LG, Baldassin P, Guimarães S, Nunes LA, Lacerda PD, Oliveira ALM. 2018. Sea Turtle Beach Monitoring Program in Brazil. In: *Reptiles and Amphibians*. InTech. p. 23–47.
- Werneck MR, Baldassin P, Torres F, Trazi A, Berger B. 2013. Report of *carettacola stunkardi* (Martin & Bamberger, 1952) dailey, fast & balazs, 1991 (Digenea: Spirorchidae) infecting green turtle *Chelonia mydas* linnaeus, 1758 (Testudines, Cheloniidae) in Brazil. *Brazilian Journal of Biology*. 73(3):675–676. doi:10.1590/S1519-69842013000300030.
- Werneck MR, Becker JH, Gallo BG, Silva RJ. 2006. *Learedius learedi* Price 1934 (Digenea, Spirorchidae) in *Chelonia mydas* Linnaeus 1758 (Testudines, Chelonidae) in Brazil: Case report. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia*. 58(4):550–555. doi:10.1590/S0102-09352006000400016.

- Werneck MR, Binoti É, Martins IVF, de Calais Junior A, Gomes MC, Boeloni JN, Trazzi A, Berger B. 2015b. Occurrence of *Rhytidodoides similis* Price, 1939 (Digenea: Rhytidodidae) and lesions due to spirorchiid eggs in a green turtle, *Chelonia mydas* Linnaeus, 1758 (Testudines, Cheloniidae), from Brazil. *Comparative Parasitology*. 82(2):291–295. doi:10.1654/4747.1.
- Werneck MR, Conti LM, Berger B. 2016a. Report of *Enodiotrema megachondrus* (Looss, 1899) Looss, 1901 (Digenea: Plagiorchiidae) in a green turtle *Chelonia mydas* Linnaeus, 1758 (Testudines, Cheloniidae) from Brazil. *Helminthologia*. 53(4):385–390. doi:10.1515/helmin-2016-0019.
- Werneck MR, Conti LM, Blair D. 2021. *Desmogonius baldassinae* n. sp. (Digenea: Pronocephalidae) collected in a green sea turtle—*Chelonia mydas*—from Brazil. *Parasitology Research*. 106(6):755–771. doi:https://doi.org/10.1007/s00436-021-07164-1.
- Werneck MR, Gallo BMG, Silva RJ. 2008. First report of *Monticellius indicum* Mehra, 1939 (Digenea: Spirorchiidae) infecting *Chelonia mydas* Linnaeus, 1758 (Testudines: Cheloniidae) from Brazil. *Braz J Biol*. 68(2):455–456.
- Werneck MR, Leandro HJ, Carvalho ECQ. 2016c. Spirorchiidiosis and Other Forms of Parasitosis in Sea Turtles on the Coast of Brazil. In: Patterson C, editor. *Sea Turtles: ecology, behavior, and conservation*. New York: Nova Science Publishers, Inc. p. 53–82.
- Werneck MR, Lima EHSM, Gallo BMG, da Silva RJ. 2011. Occurrence of *Amphiorchis solus* (Simha & Chattopadhyaya, 1970) (Digenea: Spirorchiidae) infecting the green turtle *Chelonia mydas* Linnaeus, 1758 (Testudines: Cheloniidae) in Brazil. *Comparative Parasitology*. 78(1):200–203. doi:10.1654/4435.1.
- Werneck MR, Lima EHSM, Pires T, Silva RJ. 2015c. Helminth Parasites of the Juvenile Hawksbill Turtle *Eretmochelys imbricata* (Testudines: Cheloniidae) in Brazil. *Journal of Parasitology*. 101(4):500–503. doi:10.1645/13-479.1.
- Werneck MR, Medeiros LS. 2016. Report of the fourth specimen of *Amphiorchis solus* (Simha & Chattopadhyaya, 1970) Platt, 2002 46 years after the original description. *Helminthologia* (Poland). 53(4):391–395. doi:10.1515/helmin-2016-0020.
- Werneck MR, Silva RJ. 2013. Occurrence of *Amphiorchis indicus* Mehrotra, 1973 (Digenea, Spirorchiidae) infecting green turtle *Chelonia mydas* Linnaeus, 1758 (Testudines, Cheloniidae) in Brazil. *Brazilian Journal of Biology*. 73(1):225–227. doi:10.1590/S1519-69842013000100026.
- Werneck MR, Silva RJ. 2015. Helminth parasites of juvenile green turtles *Chelonia mydas* (Testudines: Cheloniidae) in Brazil. *Journal of Parasitology*. 101(6):713–716. doi:10.1645/15-780.
- Werneck MR, Silva RJ. 2016. Checklist of sea turtles endohelminth in Neotropical region. *Helminthologia*. 53(3):211–223. doi:10.1515/helmin-2016-0045.
- Werneck MR, Souza GB, Berger BC. 2016b. Report of *Neosporichis schistosomatoides* Price 1934 (Digenea: Spirorchiidae) infecting a Green Turtle, *Chelonia mydas* Linnaeus, 1758 (Testudines, Cheloniidae), from Brazil. *Helminthologia* (Poland). 53(1):94–98. doi:10.1515/helmin-2015-0074.

- Werneck MR, Souza GB, Berger BC, Trazzi A, Ribeiro RB, Silva MA, Leandro HJ, Carvalho ECQ. 2015a. Pathological changes by *Hapalotrema postorchis* Rao 1976 (Digenea: Spirorchidae) in a green turtle *Chelonia mydas* Linnaeus 1758 (Testudines, Cheloniidae) from Brazil. *Helminthologia*. 52(2):148–154. doi:10.1515/helmin-2015-0027.
- Witherington B, Hiram S, Hardy R. 2012. Young sea turtles of the pelagic Sargassum-dominated drift community: Habitat use, population density, and threats. *Marine Ecology Progress Series*. 463:1–22. doi:10.3354/meps09970.
- Witherington BE. 2017. Sea Turtles in context: their life history and conservation. In: Manire CA, Norton TM, Stacy BA, Innis CJ, Harms CA, editors. *Sea Turtle Health & Rehabilitation*. J.Ross Publishing. p. 3–19.
- Wyneken J. 2001. *The Anatomy of Sea Turtles*. Miami, FL: NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-470.
- Wyneken J. 2003. The External Morphology, Musculoskeletal System, and Neuro–Anatomy of Sea Turtles. In: Lutz PL, Musick J, Wyneken J, editors. *The biology of sea turtles*. Vol. 2. Boca Raton (FL): CRC Press. p. 40–76.

Capítulo 9 - Anexos

Anexo 1 – Dados de Amostragem.

Tabela 12 – Dados de amostragem. Parte I.

ID	FAI	Local	CCC	Peso	Data	Sexo	Lesão esofágica	Debilidade	Afogamento	Indeterminado
232845	CTA- 5A/FAI005493	São Francisco	51,2	9,5	out/20	Fêmea		x		
235506	CTA- 5A/FAI005638	São Francisco	41,9	6,4	nov/20	Fêmea		x		
237117	CTA- 7A/FAI004053	Búzios	48,2	-	out/20	Fêmea	x	x		
235513	CTA- 5A/FAI005672	São Francisco	33,7	3,5	nov/20	Fêmea			x	
232837	CTA- 5A/FAI005485	São Francisco	48,6	8,2	out/20	Fêmea		x		
237214	CTA- 5A/FAI005738	São Francisco	35,4	4,3	dez/20	Fêmea			x	
245557	CTA- 6B/FAI000927	Rio das Ostras	27,9	3,9	dez/20	Fêmea			x	
237770	CTA- 5A/FAI005778	São Francisco	36,8	3,5	dez/20	Fêmea		x		
245014	CTA- 5A/FAI005713	São Francisco	34,9	3,5	dez/20	Fêmea		x		
245793	CTA- 7A/FAI004135	Búzios	27,9	3,1	dez/20	Macho	x	x		
239034	CTA- 6B/FAI000919	Casemiro de Abreu	37,5	5,7	nov/20	Fêmea			x	
239100	CTA- 7A/FAI004088	Búzios	34	-	nov/20	Ind.	x	x		
245120	CTA- 6B/FAI000926	Casemiro de Abreu	35,9	3,5	dez/20	Fêmea	x	x		
238776	CTA- 7A/FAI004086	Búzios	38	6,4	nov/20	Fêmea				x
201118	CTA- 5A/FAI005691	São Francisco	38,7	4,9	nov/20	Macho		x		
235524	CTA- 6B/FAI000912	Casemiro de Abreu	37,7	9,5	out/20	Fêmea		x		

Tabela 12 – Dados de amostragem. Parte II.

ID	FAI	Local	CCC	Peso	Data	Sexo	Lesão esofágica	Debilitado	Afogamento	Indeterminado
230176	CTA- 5A/FAI005412	São Francisco	38,5	5,05	set/20	Fêmea		X		
230179	CTA- 5A/FAI005415	São Francisco	32,8	2,6	set/20	Fêmea		X		
230177	CTA- 5A/FAI005413	São Francisco	40,5	5,5	set/20	Fêmea		X		
232791	CTA- 5A/FAI005438	São Francisco	38,9	6,1	out/20	Fêmea			x	
237161	CTA- 6B/FAI000817	Macaé	38,9	-	out/20	Ind.			x	
237528	CTA- 7A/FAI004071	Unamar	36,3	3,2	out/20	Fêmea			x	
237173	CTA- 6B/FAI000816	Macaé	31,5	-	out/20	Ind.			x	
235741	CTA- 6B/FAI000808	Casemiro de Abreu	34,5	-	out/20	Fêmea				x
247769	CTA- 7A/FAI004162	Búzios	29,8	3,2	dez/20	Fêmea	x	X		
232856	CTA- 5A/FAI005505	São Francisco	34,8	4,65	out/20	Fêmea			x	
233629	CTA-5A/FAI 005574	São Francisco	33	4,1	nov/20	Macho		X		
233015	CTA- 5A/FAI005556	São Francisco	36,1	4,4	out/20	Macho			x	

Anexo 2 – Resultados das espécies parasitárias encontradas.

Tabela 13 – Resultados das espécies parasitárias encontradas. Parte I.

ID	Ind.	Pleurogonius sp.	Enodiotrema sp.	Larva de nemátodo	Deuterobaris sp.	<i>P. lobatus</i>	<i>P. linearis</i>	<i>P. laterouteus</i>	<i>P. linguatula</i>
232845	6	0	0	0	0	8	0	229	0
235506	9	0	0	0	1	4	0	61	45
237117	1	0	0	0	0	1	0	2	0
235513	0	0	0	0	0	0	0	1	0
232837	0	8	0	0	0	0	21	7	0
237214	0	0	0	0	0	0	0	0	0
245557	0	0	0	0	0	0	0	0	0
237770	0	0	0	0	0	0	0	0	0
245014	0	0	0	0	0	0	0	3	0
245793	0	0	0	0	0	0	0	0	0
239034	0	0	0	0	0	0	0	0	0
239100	0	0	0	0	0	0	0	0	1
245120	0	0	0	0	0	0	0	0	0
238776	0	0	0	0	0	0	0	0	0
201118	0	0	0	0	0	43	0	0	46
235524	0	0	0	0	0	0	0	0	0
230176	0	0	0	0	0	0	0	16	27
230179	0	0	0	0	0	3	0	0	12
230177	12	40	0	0	0	0	0	146	201
232791	1	0	0	0	0	4	1	0	0
237161	0	0	0	0	0	0	0	0	0
237528	1	0	0	0	0	0	0	0	0
237173	0	0	0	2	0	0	0	0	0
235741	1	0	0	1	0	0	0	39	0
247769	0	0	1	0	0	0	0	0	1
232856	0	3	0	0	0	0	0	0	0
233629	0	0	0	0	0	0	0	0	0
233015	0	0	0	0	0	9	0	29	2

Tabela 13 – Resultados das espécies parasitárias encontradas. Parte II.

ID	<i>O. amphiorchis</i>	<i>R. uterocrescens</i>	<i>C. albus</i>	<i>C. megastomum</i>	<i>M. invaginatum</i>	<i>R. minutus</i>	<i>P. obliquos</i>	<i>E. reductum</i>	<i>E. megachondrus</i>
232845	3	0	343	0	34	486	30	4	0
235506	0	2	167	1	73	53	60	1	2
237117	0	2716	34	55	2	2	16	0	0
235513	0	1	71	0	70	3	7	0	0
232837	0	0	61	0	7	19	4	0	1
237214	0	0	60	9	0	0	12	0	0
245557	0	4	229	0	235	81	115	0	0
237770	0	1	16	0	83	35	11	0	0
245014	0	0	101	0	261	521	55	24	0
245793	0	67	131	7	63	1	34	1	0
239034	0	0	1241	0	15	0	85	0	0
239100	0	216	467	11	83	3	8	0	0
245120	0	5	88	18	34	1	24	0	0
238776	0	0	0	0	9	0	0	0	0
201118	0	4	438	0	22	55	34	0	0
235524	0	0	1	0	0	0	0	0	0
230176	0	0	62	0	0	31	0	1	0
230179	0	0	137	0	27	148	53	0	0
230177	0	1	68	0	13	311	9	7	0
232791	1	0	280	0	100	591	217	1	0
237161	1	0	0	0	0	0	0	0	0
237528	0	0	10	0	2	0	119	0	0
237173	0	1	113	1	111	3	15	0	0
235741	0	0	0	0	14	1	15	0	0
247769	0	402	104	17	47	8	36	0	0
232856	4	1	2	0	0	0	0	0	0
233629	0	1	41	0	17	126	6	0	0
233015	0	50	10	1	11	14	9	0	0

Tabela 13 – Resultados das espécies parasitárias encontradas. Parte III.

ID	<i>D. intestinalis</i>	<i>O. hyphalum</i>	<i>O. sagitta</i>	<i>P. longiusculus</i>	<i>C. polyorchis</i>	<i>C. robustus</i>	<i>N. travassosi</i>	<i>H. postorchis</i>	<i>M. reticulare</i>
232845	0	115	0	125	29	0	4	0	0
235506	0	0	0	33	1	0	0	3	13
237117	0	0	0	0	1	0	0	0	0
235513	0	0	0	3	0	2	13	0	0
232837	4	5	0	4	0	0	21	0	0
237214	5	2	0	1	0	0	37	0	0
245557	1	0	0	8	0	0	49	0	0
237770	0	0	0	0	0	0	0	0	0
245014	0	0	0	2	4	0	37	0	9
245793	3	0	0	0	0	0	0	0	0
239034	0	0	0	0	0	0	0	0	0
239100	31	0	0	0	0	0	0	0	0
245120	0	0	0	0	0	0	0	0	0
238776	0	0	9	1	0	0	0	0	0
201118	0	0	0	21	3	0	7	0	0
235524	0	0	0	0	0	0	0	0	0
230176	0	2	0	24	0	0	0	0	0
230179	0	0	0	7	0	0	0	0	0
230177	0	0	0	108	0	0	0	0	0
232791	0	0	0	0	0	0	22	0	0
237161	0	0	0	0	0	0	0	0	0
237528	0	0	0	0	0	0	0	0	0
237173	0	0	0	0	0	0	1	0	0
235741	0	0	0	0	0	0	15	0	0
247769	18	0	0	0	0	0	0	0	0
232856	0	0	0	0	0	0	0	0	0
233629	0	0	0	0	0	0	0	0	0
233015	0	0	0	2	0	0	1	0	0

Tabela 13 – Resultados das espécies parasitárias encontradas. Parte IV.

ID	<i>D. baldassinae</i>	<i>P. crassum</i>	<i>M. aberrans</i>	<i>A. Posterovitellatum</i>	<i>M. wari</i>	<i>A. Solus (sangue)</i>
232845	0	39	73	0	0	0
235506	0	9	0	0	0	0
237117	0	0	0	0	0	1
235513	0	0	0	0	0	0
232837	0	0	0	0	0	0
237214	0	0	0	0	0	0
245557	1	0	0	0	0	0
237770	0	0	0	0	0	0
245014	2	0	0	0	0	0
245793	0	0	0	0	0	0
239034	0	0	0	0	0	0
239100	0	0	0	0	0	0
245120	0	0	0	0	0	0
238776	0	0	0	33	0	0
201118	0	0	0	0	0	0
235524	0	0	0	0	0	0
230176	1	22	0	0	0	0
230179	0	0	0	0	0	0
230177	0	9	14	0	0	0
232791	0	0	0	0	2	0
237161	0	0	0	0	0	0
237528	0	0	0	0	0	0
237173	0	0	0	0	0	0
235741	0	0	0	0	0	0
247769	0	0	0	0	0	0
232856	0	0	0	0	0	0
233629	0	0	0	0	0	0
233015	1	0	0	0	0	0

Anexo 3 – Resumo do artigo publicado no jornal científico Helminthologia

HELMINTHOLOGIA, 58, 2: 217 – 224, 2021

Título: Some digenetic trematodes found in a loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*) from Brazil

B. CAVACO¹, L. M. MADEIRA DE CARVALHO¹, M. R. WERNECK^{2*}

¹Interdisciplinary Animal Health Research Centre (CIISA), Faculty of Veterinary Medicine, University of Lisbon,

1300-477 Lisboa, Portugal; ^{2*}BW Veterinary Consulting. Rua Profa. Sueli Brasil Flores n.88, Praia Seca, Araruama, RJ 28970-000(CEP), Brazil, E-mail: max@bwvet.com.br

Summary

This paper reports three recovered species of digeneans from an adult loggerhead sea turtle - *Caretta caretta* (Testudines, Cheloniidae) in Brazil. These trematodes include *Diaschistorchis pandus* (Prionocephalidae), *Cymatocarpus solearis* (Brachycoeliidae) and *Rhytidodes gelatinosus* (Rhytidodidae). The first two represent new geographic records. A list of helminths reported from the Neotropical region, Gulf of Mexico and USA (Florida) is presented.

Keywords: *Caretta caretta*; loggerhead turtle; trematodes; Brazil

Anexo 4 – Resumo do artigo publicado na revista científica Neotropical Helminthology

Neotropical Helminthology, 2021, vol. 15 (2)

Título: Report of *Charaxicephaloides polyorchis* Groschaft and Tenora 1978 (Digenea: Pronocephalidae) in a green turtle – *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) from Brazil

Bruna Cavaco¹, Luis Madeira De Carvalho¹, Lais Modolo Conti² & Max Rondon Werneck^{2*}

¹ Interdisciplinary Animal Health Research Centre (CIISA), Faculty of Veterinary Medicine, University of Lisbon, 1300-477 Lisboa, Portugal

² BW Institute. Rua Profa. Sueli Brasil Flores n.88, Praia Seca, Araruama, RJ (CEP) 28970-000, Brazil

*Corresponding author. Rua Professora Sueli Brasil Flores, n.º 88, bairro da Praia Seca, Araruama-RJ- Brasil. max@bwvet.com.br phone: 055 22 99844-1694

Abstract

This note paper report the occurrence of *Charaxicephaloides polyorchis* Groschaft & Tenora 1978 collected from a green sea turtle - *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) from Brazil. Our specimen is larger than the original description and the following descriptions, providing a new information on this species. This represents the first record with morphometric data of *C. polyorchis* in a green turtle from Brazil and the third record with morphometric data of this trematode.

Keywords: Brazil - *Charaxicephaloides polyorchis* - *Chelonia mydas* – Pronocephalidae

Anexo 5 – Manuscrito submetido para publicação no jornal científico Helminthologia

Título: The first occurrence of *Octangium sagitta* Looss, 1902 and *Octangium hyphalum* Blair, 1987 (Digenea: Microscaphidiidae) found in green sea turtles from Brazil

B. CAVACO¹, L.M. DE CARVALHO¹, M.R. WERNECK²

¹ Interdisciplinary Animal Health Research Centre (CIISA), Faculty of Veterinary Medicine, University of Lisbon, 1300-477 Lisboa, Portugal

² BW Institute. Rua Profa. Sueli Brasil Flores n.88, Praia Seca, Araruama, RJ (CEP) 28970-000, Brazil

Summary:

Two species of digeneans including nine specimens of *Octangium sagitta* (Digenea: Microscaphidiidae) and 124 specimens of *Octangium hyphalum* (Digenea: Microscaphidiidae) were recovered from the gastrointestinal tract of five green sea turtles (*Chelonia mydas*) found stranded on the north coast of Rio de Janeiro, Brazil. This location represents new locality records for both species.

Key words: *Octangium sagitta*; *Octangium hyphalum*; green turtle; *Chelonia mydas*; Rio de Janeiro; Brazil.

Introduction

The subfamily Octangiinae Looss, 1902 (Digenea: Microscaphidiidae) currently includes only two genera. The genus *Octangium* Looss, 1902, which contains the species *Octangium sagitta* Looss, 1902 and *Octangium hyphalum* Blair, 1987. And, the genus *Neoctangium* Ruiz, 1943, which only includes the species *Neoctangium travassosi* Ruiz, 1943.

In the Neotropical region (Central and South America), the species *O. hyphalum* has only been described in green sea turtles - *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) from Costa Rica (Santoro et al., 2006) and *O. sagitta* has already been described in green sea turtles from Puerto Rico (Dyer et al., 1991) and from hawksbill sea turtles - *Eretmochelys imbricata* (Linnaeus, 1766) from Puerto Rico (Fischthal & Acholonu, 1976; Dyer et al., 1995). Despite that, there are still few reports with morphometric data of these parasites to date.

However, there are no reports of *O. hyphalum* and *O. sagitta* on the Brazilian coast (Werneck and Silva, 2016). Thus, the present study reports for the first time these species in juvenile green sea turtles from Rio de Janeiro state, Brazil. Furthermore, it expands the knowledge by offering new morphometric data for the species.

Material and Methods

From September to December 2020, 5 juvenile green sea turtles (curved carapace length ranged from 35 to 51 cm) were found dead on a stretch of sand during beach monitoring activities (Werneck et al., 2018). The 5 juveniles were obtained from the municipalities of São Francisco de Itabapoana (21° 26' 3.5874" S 41° 6' 54.9354" W) and Búzios (22° 44' 53.1276" S 41° 52' 52.644" W), on the north coast of Rio de Janeiro, Brazil. The chelonians were necropsied afterwards, and several trematodes were found in the gastrointestinal tract. Our

epidemiological data regarding prevalence, intensity, mean intensity and mean abundance of both parasites followed the work of Bush et al., 1997).

The collected trematodes were preserved with ethanol 70 %, stained with carmine, and cleared with eugenol. Afterwards the trematodes were pressed between glass slides. Morphometric data was collected with the aid of a Global optics light microscope using the S-EYE software program. Measurements are reported in micrometers, except when indicated, with the mean and standard deviation followed by the range in parenthesis. The helminths were deposited in the Helminthological Collection of the Instituto Oswaldo Cruz in the state of Rio de Janeiro, Brazil

The identification of the parasites was performed using the genus taxonomic key (Blair, 2005) and species proposed by Blair (1987) and also using the original description by Looss (1902). Comparison of our specimens were made with the morphometric data by Looss (1902), Fischthal and Acholonu (1976) and Sey (1977). All these were presented by Blair (1987).

Ethical Approval and/or Informed Consent

For this study formal consent was not required.

Results

During the necropsy, only 1 of the 5 analyzed animals (20 %) contained 9 specimens of *Octangium sagitta* (mean intensity of 9 and mean abundance of 1.8) and in 4 of the 5 studied animals (80 %) were found 124 specimens of *Octangium hyphalum* (intensity of: 2, 2, 5 and 115, mean intensity of 31 and mean abundance of 24.8).

TREMATODA

Family: Microscaphidiidae Travassos, 1922

1. *Octangium sagitta* (Looss, 1899) Looss, 1902

Site of infection: large intestine

Voucher specimen deposited: CHIOC – number requested

Distribution: In *C. mydas* Mediterranean coast of Egypt (Looss, 1902; Sey 1977), Australia, India, Singapore, and Taiwan and *E. imbricata* from India (Blair, 1987), also in *C. mydas* from Puerto Rico (Dyer et al., 1991), Florida (Greiner, 2013) and Brazil (present report)

Measurements: (N = 4) Body 6 ± 1.6 (4.54 – 7.69) mm by 1.7 ± 0.8 (0.99 – 2.98) mm; oral sucker 237 ± 94 (158 – 351) by 285 ± 76 (214 – 377); esophagus 923 ± 396 (490 – 1.269); esophageal bulb 260 ± 87 (191 – 387) by 155 ± 63 (89 – 239); distance from esophageal bulb to anterior testis 752 ± 211 (530 – 951); anterior testis 667 ± 242 (381 – 902) by 666 ± 311 (383 – 994); posterior testis 628 ± 246 (468 – 912) by 489 ± 241 (284 – 755); ovary 206 ± 56 (146 – 258) by 176 ± 73 (99 – 245); eggs (N = 29) 83 ± 4 (71 – 92) by 49 ± 3 (42 – 57).

Octangium sagitta was described by Looss, 1899, originally as *Microscapha sagitta*. Being later inserted in the genus *Octangium* (Looss, 1902).

Sey (1977), also studying animals from Egypt, reported the occurrence of *O. sagitta* in 3 out of 7 (42.8%) green sea turtles analyzed (range 17- 34 specimens).

Fischthal and Acholonu (1978) reported the occurrence of *O. sagitta* in the large intestine of 4 hawksbill sea turtles [mean: 39 (16-86)] from Puerto Rico. Later, Dyer et al.

(1991), describe the occurrence of a single specimen of *O. sagitta* in the large intestine of a green sea turtle from the same region.

Afterwards, Blair (1987) presented a comprehensive review of the genus. In addition to providing the key to the identification of the genus and species included in the subfamily Octangiinae, also determines, based on its findings, that both *Octangium hasta* Looss, 1902 and *Octangium takanoi* Kobayashi, 1921 are considered synonymous with *O. sagitta*.

More recently, Greiner (2013) presented the analysis of 74 green sea turtles from Florida, where 15 524 individuals of *O. sagitta* were recovered from the intestine of 41 hosts (55.4%), presenting a mean intensity of 378.6 (1 – 4.833).

The specimens that we analyzed presented a body with paired caudolateral projections and the vitelline fields reaching close to the cecal bifurcation. These morphological characteristics are compatible with the taxonomy key proposed by Blair (1987). The morphometric analyses of our specimens are comparable to those originally described by Looss (1902) - (*O. sagitta* and *O. hasta*), Sey (1977) and Fischthal and Acholonu (1976), data also presented by Blair (1987). Our specimens are within previously published morphometric limits for the species.

2. ***Octangium hyphalum* Blair, 1987**

Site of infection: stomach, small and large intestine

Voucher specimen deposited: CHIOC – number requested

Remarks: According to Blair (1987), *O. hyphalum* has been reported only in *C. mydas* from Queensland, Australia.

Measurements: (N = 5) Body 9.7 ± 0.8 (8.94 – 10.69) mm by 2.8 ± 0.2 (2.59 – 3.15) mm; oral sucker 520 ± 45 (473 – 571) by 528 ± 37 (486 – 567); esophagus $1,73 \pm 336$ (1,36 – 2,08); esophageal bulb 568 ± 52 (490 – 623) by 601 ± 14 (580 – 615); anterior testis 835 ± 72 (732 – 905) by 806 ± 65 (734 – 877); posterior testis 768 ± 124 (675 – 980) by 680 ± 54 (587 – 725); ovary 415 ± 119 (314 – 546) by 324 ± 112 (205 – 443); eggs (N = 22) 53 ± 6 (38 – 66) by 39 ± 4 (28 – 47).

Blair (1987), analyzing helminths found in green sea turtles from Australia, describes *O. hyphalum*, using as its main characteristic the position of the vitelline fields, which in this species only reach the level between testes. This feature was also found in our specimens.

Later, Santoro et al. (2006) report the occurrence of *O. hyphalum* in 5% (2/40) of the adult female green sea turtles analyzed from Costa Rica, with an average infection intensity of 29.5 ± 12.0 (range: 21-38).

The morphometric analysis revealed that our specimens were larger in practically all aspects analyzed, when compared to the data previously presented for the species. Possibly this is just a variation within the species itself, since this is only the second report presenting morphometric data. In addition, our specimens were pressed between glass slides, which can undoubtedly influence these analyses.

Acknowledgments

The beach monitoring project in Espírito Santo is part of the requirements established by the federal environmental licensing process of the Brazilian Environmental Agency (IBAMA), for the exploration of oil and gas by PETROBRAS at the Campos Basin presalt province. BW Institute is involved in biology and veterinary medicine activities and one of the

main aims is to disseminate scientific study results to contribute to the conservation of aquatic organisms.

Conflict of Interest

Authors state no conflict of interest.

References

- Blair, D. (1987): A revision of the Subfamily Octangiinae (Platyhelminths: Digenea: Microscaphidae) Parasitic in marine turtles (reptilia: Chelonia). *Aust. J. Zool.* 35: 75-92.
- Blair, D. (2005): Family Microscaphidiidae Looss, 1900. In *Keys to the Trematoda*. A. Jones, R. A. Bray and D.I. Gibson (eds.). CABI Publishing and the Natural History Museum, Wallingford, 2: 193-212.
- Bush, A.O.; Lafferty, K.D.; Lotz, J.M.; Shostak, A.W. (1997) – Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al revisited. *J. Parasitol.*, 83 (4), 575-583.
- Dyer, W.G., Williams, E.H.J., Bunkley-Williams, L. (1991): Some Digeneans (Trematoda) of the green turtle, *Chelonia mydas* (Testudines: Cheloniidae) from Puerto Rico. *Proc. Helminthol. Soc. Wash.*, 58(2): 176 – 180.
- Dyer, W.G., Williams, E.H.J., Bunkley-Williams, L. (1995): *Angiodictyum mooreae* n.sp. (Digenea: Microscaphidiidae) and Other digeneans from an Atlantic Hawksbill turtle *Eretmochelys imbricata* from Puerto Rico. *J. Aquat. Anim. Health*, 7(1): 38 – 41. DOI: 10.1577/1548-8667(1995)007<0038:AMNSDM>2.3.CO;2
- Fischthal, J.H., Acholonu, A.D. (1976): Some digenetic trematodes from the Atlantic hawksbill turtle, *Eretmochelys imbricata imbricata* (L) from Puerto Rico. *Proc. Helminthol. Soc. Wash.*, 43(2): 174 – 185.
- Greiner, E. (2013): Parasites of Marine Turtles. In *The Biology of Sea Turtles*. J. Wyneken, K. J. Lohmann and J. A. Musick (eds.). CRC Press, Boca Raton, 3: 428-443.
- Looss, A. (1902): Über neue und bekannte Trematoden aus Seeschildkröten. Nebst Erörterungen zur Systematik un Nomenclatur. *Zoologische Jahrbücher. Abteilung für Systematik Okologie und Geographie der Tiere.* 16, 411–894.
- Looss, A. (1899). Weitere Beiträge zur Kenntniss der Trematoden-Fauna Aegyptens, zugleich Versuch einer natürlichen Gliederung des Genus *Distomum* Retzius. *Zoologische Jahrbücher.* 12: 521-784. DOI:10.5962/bhl.part.2037
- Santoro, M., Greiner, E.C., Morales, J.A., Rodríguez-Ortíz, B. (2006): Digenetic trematode community in nesting green sea turtles (*Chelonia mydas*) from Tortuguero National Park, Costa Rica. *J. Parasitol.*, 92(6): 1202 – 1206. DOI: 10.1645/GE-866R.1
- Sey, O. (1997): Examination of helminth parasites of marine turtles caught along the Egyptian coast. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae*, 23: 387-394.
- Werneck, M. R., Almeida, L. G., Baldassin, P., Guimarães, S., Nunes, L. A., Lacerda, P. D., Oliveira, A. L. M. (2018): Sea Turtle Beach Monitoring Program in Brazil. In *Reptiles and Amphibians*. InTech, 3: 23-47. DOI: 10.5772/intechopen.76647.
- Werneck, M.R.; Silva, R. J. 2016. Checklist of sea turtles endohelminth in Neotropical region. *Helminthologia*, 53: 211 - 223.

Anexo 6 – Manuscrito submetido para publicação no jornal científico Neotropical Helminthology

Título: Helminth Fauna of Juvenile Green Sea Turtles (*Chelonia mydas*) from Rio de Janeiro, Brazil

B. CAVACO¹, L.M. MADEIRA DE CARVALHO¹, M.R. WERNECK²

¹ CIISA—Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Avenida da Universidade Técnica, 1300-477 Lisbon, Portugal

² BW Veterinary Consulting. Rua Profa. Sueli Brasil Flores n.88, Praia Seca, Araruama, RJ (CEP) 28970-000, Brazil

Summary:

The helminth fauna of juvenile green turtles (*Chelonia mydas* Linnaeus, 1758) is still poorly known. The present study offers a parasitological analysis of 28 juvenile green turtles found stranded on the north coast of Rio de Janeiro state, Brazil. All analyzed turtles were infected with helminths (100%). In total, 14 802 trematodes belonging to 30 species and 5 families including Microscaphidiidae, Plagiorchiidae, Pronocephalidae, Spirorchiidae and Telorchidiidae were recovered. Mean species richness was 7.86 ± 3.83 SD and the mean intensity of infection was 528.64 ± 627.52 SD. Also, this location represents new locality records for *Angiodictyum posterovitellatum*, *Microscaphidium aberrans*, *Microscaphidium warui*, *Octangium hyphalum*, *Octangium sagitta*, *Enodiotrema reductum* and *Pleurogonius laterouterus*. This study provides useful information on the parasite fauna of a poorly known stage in the life cycle of green turtles.

Introduction

The green sea turtle (*Chelonia mydas*) is considered the largest of the hard-shell sea turtles (Márquez, 1990). It has a global distribution, with most nesting and feeding sites located in the tropics, being considered a highly migratory species (Miller 1997). The diet of green turtles is closely associated with the spatial and temporal use of the habitat and the ontogenic changes experienced during its life cycle (Bjorndal 1997). Thus, they start the life cycle being omnivores and later become herbivores.

Chelonia mydas is one of the endangered species of sea turtles and the numbers of individuals continue to decline, according to the Red List of Threatened Species (IUCN, 2014).

The green sea turtle is the most prevalent species on the Brazilian coast (Reis et al., 2009; ICMBio, 2011). In the Rio de Janeiro state are found mainly juvenile green sea turtles, serving as a development habitat and feeding area for these animals (Marcovaldi and Marcovaldi 1999; Tagliolatto et al. 2020).

In Brazil, there are still few studies referring to parasitological analysis in green sea turtles that have been carried out. Just recently, two articles were published with research in juvenile green sea turtles, in the state of Espírito Santo (Binoti et al. 2016; Gomes et al. 2017) and one article also with research on the parasitic fauna of juvenile green turtles performed in the state of São Paulo and south of Rio de Janeiro, Brazil (Werneck and Silva 2015).

Here, we report the analysis of gastrointestinal helminth parasites found in 28 juvenile green turtles from Rio de Janeiro, Brazil.

Material and Methods

From September to December 2020, 28 juvenile green turtles were found dead on a stretch of sand during beach monitoring activities (Werneck et al., 2018). The mean of the curved carapace length (CCL) and weight were 36.9 ± 5.6 cm (range: 27.9 – 51.2 cm) and 4.5 ± 1.2 kg (range: 2.6 – 6.4 kg), respectively.

The 28 juveniles were obtained from the municipalities of São Francisco de Itabapoana ($21^{\circ} 26' 3.5874''$ S $41^{\circ} 6' 54.9354''$ W), Búzios ($22^{\circ} 44' 53.1276''$ S $41^{\circ} 52' 52.644''$ W), Casemiro de Abreu ($22^{\circ} 35' 36.708''$ S $41^{\circ} 59' 39.084''$ W), Macaé ($22^{\circ} 22' 18''$ S $41^{\circ} 47' 9''$ W), Rio das Ostras ($22^{\circ} 31' 36.8364''$ S $41^{\circ} 56' 34.872''$ W) and Unamar ($22^{\circ} 38' 34.08''$ S $41^{\circ} 59' 55.7874''$ W), on the north coast of Rio de Janeiro, Brazil.

For the parasitological analysis of the gastrointestinal tract, the esophagus, stomach, small intestine and large intestine were examined. The contents were cleaned and concentrated with sieves (mesh 5 and mesh 60) and examined under a stereomicroscope.

The collected trematodes were preserved with ethanol 70 %, stained with carmine and cleared with eugenol. Morphometric data was collected with the aid of a Global optics light microscope using the S-EYE software program.

Prevalence, mean infection intensity, and mean abundance values, defined according to Bush et al. (1997), were calculated in the Quantitative Parasitology Program (QP 3.0; Reiczigel et al., 2013). The 95% confidence intervals (CI) of prevalence were calculated using Sterne's exact method and those for mean intensity and mean abundance were calculated using bootstrapping with 2,000 replications.

To analyze the differences and compare the number of parasites between male and female turtles and between drowned versus debilitated animals, the non-parametric Mann - Whitney U test was used. This test was also applied to compare the parasitic species found between drowned and debilitated animals and also between the different places of origin of the animals and the number of parasites observed. The significance level adopted in the statistical tests was 5%. These statistical analyzes were calculated using SigmaStat 3.1 (Jandel Scientific Corporation, San Jose, California).

Representative samples of the helminths collected during the study were deposited in the Helminthological Collection of the Instituto Oswaldo Cruz (CHIOC – numbers requested) in the state of Rio de Janeiro, Brazil.

Results and Discussion

Twenty-eight of 28 (100%) juvenile green sea turtles examined were positive for helminths. A total of 14 802 trematodes belonging to 30 species and 5 families, including Microscaphidiidae (9 species), Plagiorchiidae (3 species), Pronocephalidae (15 species), Spirorchiidae (2 species) and Telorchiidae (1 species), were recovered (Table 1). Another taxon was found corresponding to 1 nematode larva that could not be identified. The mean infection intensity was 528.64 ± 627.52 (range: 1-2831) and species richness was 7.86 ± 3.83 (range: 1-17).

Table 1. Prevalence, mean intensity, and mean abundance of helminths parasites identified in *Chelonia mydas* (n=28) from the Rio de Janeiro State, Brazil.

Species	Number of parasites	Infected hosts	% Prevalence (95% CI)	Mean abundance (95% CI)	Mean intensity (95% CI)
Microscaphidiidae					
<i>Angiodictyum posterovittatum</i>	33	1	3.6 (0.2-17.5)	1.18 (0-3.54)	33
<i>Deuterobaris intestinalis</i>	63	7	25 (11.9-44.6)	2.25 (0.5-6.45)	9 (2.86-19)
<i>Microscaphidium aberrans</i>	87	2	7.1 (1.3-22.9)	3.11 (0-11.9)	43.5 (14-73)
<i>Microscaphidium reticulare</i>	22	2	7.1 (1.3-22.9)	0.786 (0-2.18)	11 (9-11)
<i>Microscaphidium warui</i>	2	1	3.6 (0.2-17.5)	0.0714 (0-0.214)	2
<i>Neotangium travassosi</i>	207	11	39.3 (22.9-59.1)	7.39 (3.5-13.8)	18.8 (10.6-29.1)
<i>Octangium hyphalum</i>	124	4	14.3 (5-31.9)	4.43 (0.179-20.9)	31 (2-87.5)
<i>Octangium sagitta</i>	9	1	3.6 (0.2-17.5)	0.321 (0-0.964)	9
<i>Polyangium linguatula</i>	335	8	28.6 (14.2-48.2)	12 (3.14-46.4)	41.9 (14.6-116)
Plagiorchiidae					
<i>Enodiotrema</i> sp.	1	1	3.6 (0.2-17.5)	0.0357(0-0.107)	1
<i>Enodiotrema megachondrus</i>	3	2	7.1 (1.3-22.9)	0.107 (0-0.321)	1.5 (1-1.5)
<i>Enodiotrema reductum</i>	39	7	25 (11.9-44.6)	1.39 (0.357-4.76)	5.57 (1.86-15)
Pronocephalidae					
<i>Charaxicephaloides polyorchis</i>	38	5	17.9 (7.3-35.7)	1.36 (0.214-5.68)	7.6 (1.8-23.4)
<i>Charaxicephalus robustus</i>	2	1	3.6 (0.2-17.5)	0.0714 (0-0.214)	2
<i>Cricocephalus albus</i>	4,275	25	89.3 (71.8-97)	153 (93.9-300)	171 (105-334)
<i>Cricocephalus megastomum</i>	120	9	32.1 (17.5-51.8)	4.29 (1.61-11.6)	13.3 (6.22-29.4)
<i>Desmogonius baldassiniae</i>	5	4	14.3 (5-31.9)	0.179 (0.0357-0.357)	1.25 (1-1.5)
<i>Metacetabulum invaginatum</i>	1,333	23	82.1 (64.3-92.7)	47.6 (30.3-81.8)	58 (37.5-95.1)
<i>Pleurogonius</i> sp.	51	3	10.7 (3-28.2)	1.82 (0.214-7.97)	17 (3-29.3)
<i>Pleurogonius laterouterus</i>	533	10	35.7 (19.3-55.4)	19 (6.46-48.4)	53.3 (18.1-117)
<i>Pleurogonius linearis</i>	22	2	7.1 (1.3-22.9)	0.786 (0-3.75)	11 (1-11)
<i>Pleurogonius lobatus</i>	72	7	25 (11.9-44.6)	2.57 (0.786-9.58)	1033 (4-27.5)
<i>Pleurogonius longiusculus</i>	339	13	46.4 (28.2-64.5)	12.1 (3.89-30.6)	26.1 (9.46-59.9)
<i>Pronocephalus obliquus</i>	974	23	82.1 (64.3-92.7)	34.8 (22.3-63.2)	42.3 (27.3-72.4)
<i>Pyelosomum crassum</i>	79	4	14.3 (5-31.9)	2.82 (0.643-7.5)	19.8 (9-31.5)
<i>Rameshwarotrema uterocrescens</i>	3,472	15	53.6 (35.5-71.8)	124 (19.8-534)	231 (36.1-945)
<i>Ruicephalus minutus</i>	2,493	21	75 (55.4-88.1)	89 (42.3-183)	119 (60.9-229)
Spirorchiidae					
<i>Amphiorchis solus</i>	1	1	3.6 (0.2-17.5)	0.0357 (0-0.107)	1
<i>Hapalotrema postorchis</i>	3	1	3.6 (0.2-17.5)	0.107 (0-0.321)	3
Telorchiidae					
<i>Orchidasma amphiorchis</i>	9	4	14.3 (5-31.9)	0.321 (0.0714-0.821)	2.25 (1-3.25)
Nematode larvae					
	3	2	7.1 (1.3-22.9)	0.107 (0-0.357)	1.5 (1-1.5)

The prevalence in this study, as well as in other studies carried out with green sea turtles, is quite high. We believe that these results found in this species are due to the availability of possible intermediate hosts in the diet, combined with a change of habitat and with the drastic change in eating habits experienced by this species. This period of change corresponds to a new immunological challenge for these animals. These three conditions, also associated with the body condition of the animal, can represent a stress factor in these chelonians and result in a greater vulnerability to possible disease agents and parasites (Werneck, 2011).

Species richness and mean infection intensity were higher in this study than in studies already carried out in other Brazilian states (Werneck and Silva 2015; Binoti et al. 2016; Gomes et al. 2017). This discovery, associated with the species that were found with new geographic

records, suggest that the northern region of the state of Rio de Janeiro probably presents a peculiarity that the other regions did not present. First, it is important to realize that in the study area there is the coastal upwelling system with the highest intensity of the Brazilian coast (Coelho-Souza et al., 2012). This region represents important sources of marine productivity, generating high levels of primary productivity that propagate through the food chain. Consequently, the concentration of organisms at this site is high, possibly also including the concentration of parasitic species (Costa and Fernandes 1993; Valentin 2001; Coelho-Souza et al. 2012; Reis et al. 2017). Second, the existence of rivers that flow into the sea in the analyzed area can also influence the richness of parasitic species and their quantity.

As proposed by Aznar et al. (1998) and by Santoro et al. (2006), most of the helminths found in the study are specific to sea turtles. The exceptions are the species *Cricocephalus albus*, *Orchidasma amphiorchis*, *Polyangium linguatula* and *Rameshwarotrema uterocrescens*, which have already been identified in other hosts (Blair 1986, 2005; Aznar et al. 1998).

In the present study, trematodes were the predominant class of parasites in the analyzed juvenile green turtles, as expected. All species identified have been previously reported in the same host. However, *Angiodictyum posterovitellatum*, *Microscaphidium aberrans*, *Microscaphidium warui*, *Octangium hyphalum*, *Octangium sagitta*, *Enodiotrema reductum* and *Pleurogonius laterouterus* have not been previously reported in Brazil, representing new locality records. In fact, *A. posterovitellatum* and *P. laterouterus* had not yet been identified in green turtles in the Neotropical region (Central and South America), according to Werneck and Silva (2016).

Only 4 species of parasites were found in more than 50% of the animals analyzed: *C. albus*, *M. invaginatum*, *P. obliquus* and *R. minutus*.

Cricocephalus albus was the most prevalent species (89,3%), followed by *M. invaginatum* (82,1%), *P. obliquus* (82,1%) and *R. uterocrescens* (53,6%). Comparable results were observed in the studies by Binoti et al., (2016) and by Gomes et al., (2017), in the state of Espírito Santo and by Werneck and Silva (2015), with animals from São Paulo and from the south of the state of Rio de Janeiro.

More than half (57%) of the analyzed turtles were debilitated (low body condition) at the time of death and in 36%, the cause of death was drowning (good body condition, absence of external wounds and algae in the digestive tract). This information confirms that accidental capture remains one of the main threats for this species in the coast of Rio de Janeiro state, as described in the recent study by Tagliolatto et al. (2020).

In five of the animals considered debilitated, esophageal lesions were found. All lesions had the same presentation, characterized by the existence of diffuse ulcers with yellowish necrotic caseous exudate and, at times, total esophageal obstruction. In these turtles, the trematode *R. uterocrescens* was found in high numbers, mainly in the esophagus. Based on the evidence found in the present analysis and based on the studies already performed (Santoro et al., 2007; Ribeiro et al., 2017; Jerdy et al., 2019), we can recognize that the presence of this parasite, may in fact, be the cause of these lesions.

No significant relationships were found among all the factors recorded: mean intensity of infection between males and females ($p>0.05$), and between debilitated (low body condition) and drowned (good body condition) animals ($p>0.05$). The same results occurred for the different parasitic species between debilitated and drowned animals, in which there was no statistically significant correlation ($p>0.05$).

Possibly, all hosts analyzed in the study belong to the same population, as there are no major differences between the mean intensity of infection and species richness among the animals from the different locations analyzed. We also believe that the analyzed juvenile green sea turtles belong to the same population as the turtles studied in the state of São Paulo

(Werneck and Silva, 2015) and the turtles from the state of Espírito Santo (Binoti et al. 2016; Gomes et al. 2017), as they have several parasitic species in common. Genetic evidence is needed to confirm this hypothesis.

References

Aznar, F. J., Badillo, F. J., Raga, J. A. (1998): Gastrointestinal helminths of loggerhead turtles (*Caretta caretta*) from the western Mediterranean: Constraints on community structure. *Journal of Parasitology* 84: 474–479.

Binoti, E., Gomes, M. C., De Calais Junior, A., Werneck, M. R., Martins, I.V.F., Boeloni, J. N. (2016): Helminth fauna of *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) in the south of Espírito Santo State in Brazil. *Helminthologia*, 53(2): 195-199.

Bjorndal, K.A. (1997): Foraging Ecology and Nutrition of Sea Turtles. *In* The Biology of Sea Turtles, P. L. Lutz and J. A. Musick (eds.). CRC Press, Boca Raton, 1: 199-122.

Blair, D. (1986): A Revision of the Subfamily Microscaphidiinae (Platyhelminthes: Digenea: Microscaphidiidae) Parasitic in Marine Turtles (Reptilia: Chelonia). *Australian Journal of Zoology*, 34(2): 241-277.

Blair, D. (2005): Family Pronocephalidae Looss, 1899. *In* Keys to the Trematoda. A. Jones, R. A. Bray and D.I. Gibson (eds.). CABI Publishing and the Natural History Museum, Wallingford, 2: 361-380.

Bush, A. O., Lafferty, K. D., Lotz, J. M., Shostak, A.W. (1997): Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *Journal of Parasitology*, 83: 575–583.

Coelho-Souza, S. A., López, M. S., Guimarães, J. R. D., Coutinho, R., Candella, R. N. (2012): Biophysical interactions in the Cabo Frio upwelling system, southeastern Brazil. *Brazilian Journal of Oceanography*, 60 (3): 353-365.

Costa, P. A. S., Fernandes, S.C. (1993): Seasonal and Spatial Changes of Cephalopods Caught in the Cabo Frio (Brazil) Upwelling Ecosystem. *Bulletin of Marine Science*, 52 (2):751-759.

Gomes, M.C., Martins, I. V. F., Werneck, M. R., Pavanelli, L. (2017): Ecologia da comunidade de helmintos gastrointestinais de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*) recolhidas no litoral do Espírito Santo. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 69(3): 644-650.

ICMBio (2012): Plano de Ação Nacional Para Conservação Das Tartarugas Marinhas. 25: 1-119.

IUCN (International Union for Conservation of Nature) (2014): The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.3. Available at: www.iucnredlist.org. Accessed 10 May 2021.

Jerdy, H., Werneck, M., Veloso, R., Baldassin, P., Netto, H. G., Barbosa, C., Bianchi, M., Ribeiro, R. B., Carvalho, E. C. Q. (2019): Fatal *Rameshwartrema uterocrescens* infection with ulcerative esophagitis and intravascular dissemination in green turtles. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 9: 281-284.

Marcovaldi, M. A., Marcovaldi, G. G. (1999): Marine turtles of Brazil: the history and structure of Projeto TAMAR-IBAMA. *Biological Conservation*, 91: 35-41.

Márquez, M. (1990): Sea turtles of the world. An annotated and illustrated catalogue of sea turtle species known to date. *FAO Fisheries Synopsis*, 125 (11): 13-29.

Miller, J. D. (1997): Reproduction in Sea Turtles. *In* The Biology of Sea Turtles, P. L. Lutz and J. A. Musick (eds.). CRC Press, Boca Raton, 1: 52-71.

Reiczigel, J., Rozsa, L., Reiczigel, A. (2013): Quantitative Parasitology (QPweb), version 1.0.9, Available at <http://www2.univet.hu/qpweb>. Accessed 20 March 2021.

Reis, E. C., Goldberg, D. W., Lopez, G. G. (2017): Diversidade e distribuição de tartarugas marinhas na área de influência das atividades de E&P na Bacia de Campos. *In* Mamíferos, Quelônios e Aves, E. C. Reis and M. P. Curbelo-Fernandez (eds.). Elsevier, Rio de Janeiro, 7: 121-159.

Reis, E. C., Silveira, V., Siciliano, S. (2009): Records of stranded sea turtles on the coast of Rio de Janeiro State, Brazil. *Marine Biodiversity Records*, 2: 1-4.

Ribeiro, R. B., Jerdy, H., Werneck, M. R., Goldberg, D. W., Bianchi, M., Carvalho, E. C. Q. (2017): Parasitic Ulcerous Caseous Gastroesophagitis Associated with *Rameshwarotrema uterocrescens* Rao, 1975 (Digenea: Pronocephalidae) in a Juvenile Green Turtle (*Chelonia mydas*, Linnaeus 1758 [testudines: Cheloniidae]): A Case Report. *Journal of Parasitology*, 103(3): 292-294.

Santoro, M., Greiner, E. C., Morales, J. A., Rodríguez-Ortíz, B. (2006): Digenetic trematode community in nesting green sea turtles (*Chelonia mydas*) from Tortuguero National Park, Costa Rica. *J. Parasitol.*, 92 (6): 1202-1206.

Santoro, M., Morales, J. A., Stacy, B., Greiner, E. C. (2007): *Rameshwarotrema uterocrescens* trematode parasitism of the oesophageal glands in green sea turtles (*Chelonia mydas*). *Veterinary Record*, 160(2): 59-60.

Tagliolatto, A. B., Goldberg, D. W., Godfrey, M. H., Monteiro-Neto, C. (2020): Spatio-temporal distribution of sea turtle strandings and factors contributing to their mortality in south-eastern Brazil. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 30(2): 331-350.

Valentin, J. L. (2001): The Cabo Frio Upwelling System, Brazil. *In* Coastal Marine Ecosystems of Latin America. U. Seeliger and B. Kjerfve (eds.). Springer, Berlin, 144: 97-105.

Werneck, M. R. (2011): Estudo da helmintofauna de tartarugas marinhas procedentes da costa brasileira. Tese (Doutorado). Universidade Estadual Paulista. Botucatu, SP.

Werneck, M. R., Almeida, L. G., Baldassin, P., Guimarães, S., Nunes, L. A., Lacerda, P. D., Oliveira, A. L. M. (2018): Sea Turtle Beach Monitoring Program in Brazil. *In* Reptiles and Amphibians. InTech, 23-47. DOI: 10.5772/intechopen.76647.

Werneck, M. R., Silva, R.J. (2016): Checklist of sea turtles endohelminths in Neotropical region. *Helminthologia*, 53: 211–223.

Werneck, M. R., Silva, R. J. (2015): Helminth parasites of juvenile green turtles *Chelonia mydas* (Testudines: Cheloniidae) in Brazil. *Journal of Parasitology*, 101(6): 713-716.

Anexo 7 – Parasitas de tartaruga verde (Parte I)

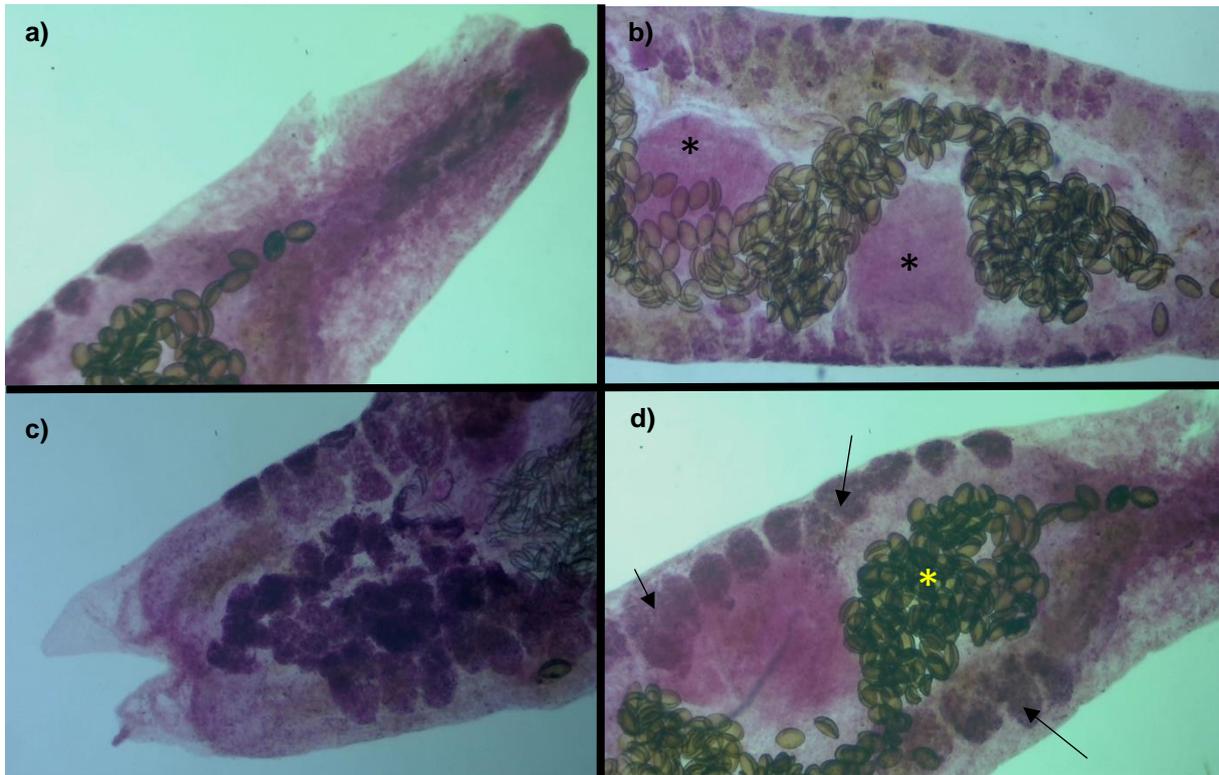


Figura 13 – *Octangium sagitta* (Looss, 1899) Looss, 1902 (Digenea: Microscaphidiidae) encontrado em *Chelonia mydas* juvenil do Rio de Janeiro, Brasil. a) extremidade anterior; b) testículo anterior e testículo posterior (*); c) região posterior; d) vitelária (setas) e ovos (*) (Originais).

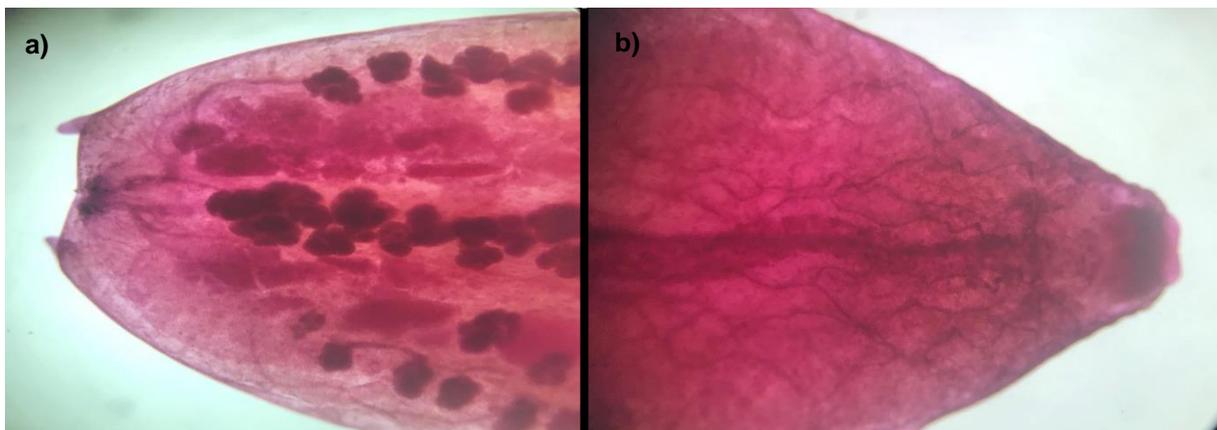


Figura 14 – *Octangium hyphalum* Blair, 1987 (Digenea: Microscaphidiidae) encontrado em *Chelonia mydas* juvenil do Rio de Janeiro, Brasil. a) extremidade posterior; b) extremidade anterior (Originais).

Anexo 7 – Parasitas de tartaruga verde (Parte II)

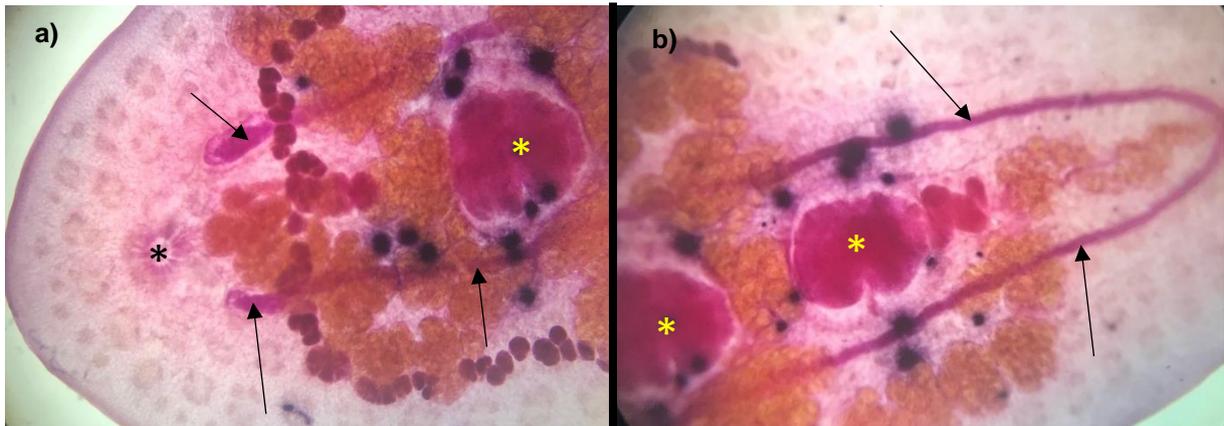


Figura 15 – *Deuterobaris intestinalis* Mehrotra, 1973 (Digenea: Microscaphidiidae) encontrado em *Chelonia mydas* juvenil do Rio de Janeiro, Brasil. a) região posterior; poro excretor (*), cecos intestinais (setas), testículo posterior (*); b) região anterior; cecos intestinais (setas), testículos posterior e anterior (*) (Originais).

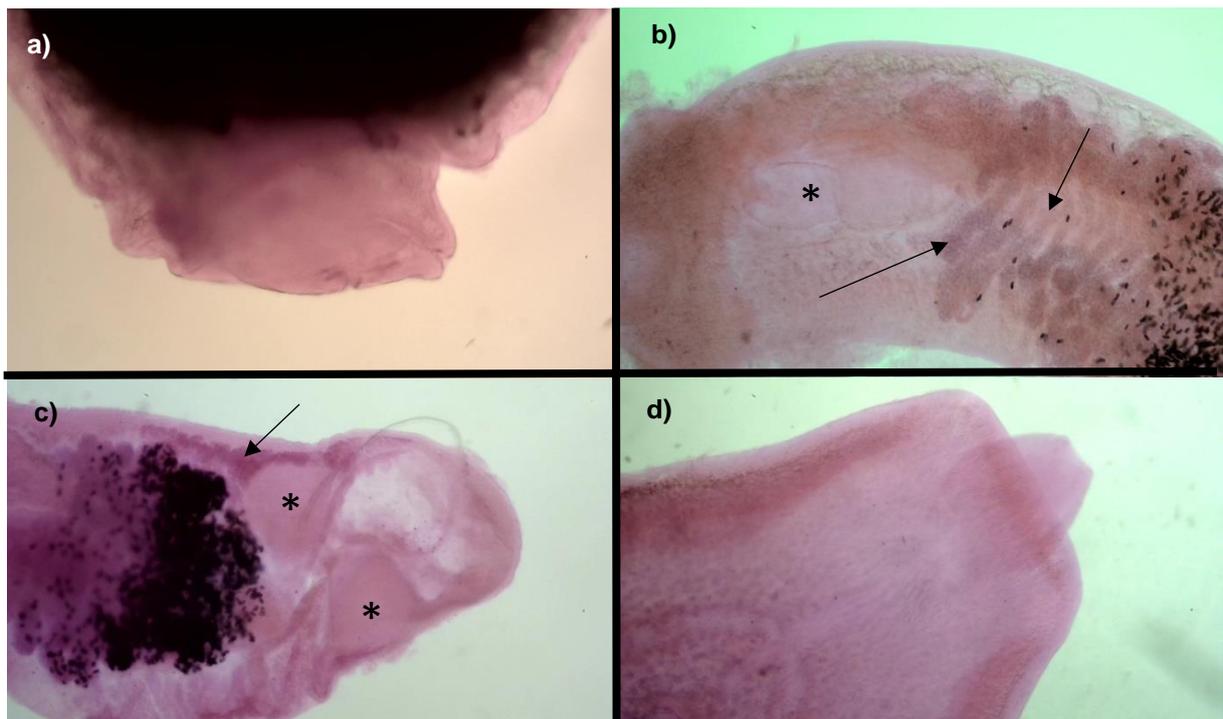


Figura 16 – Parasitas encontrados em *Chelonia mydas* juvenil do Rio de Janeiro, Brasil. a) extremidade posterior de *Neoctangium travassosi* Ruiz, 1943 (Digenea: Microscaphidiidae); b) *Cricocephalus albus* (Kuhl & van Hasselt, 1822) Looss, 1899, bolsa do cirro (*) e alças uterinas (setas); c) extremidade posterior de *Pronocephalus obliquus* Looss, 1899 (Digenea: Pronocephalidae), testículo anterior e testículo posterior (*), vitelária (seta); d) extremidade anterior de *Deuterobaris intestinalis* Mehrotra, 1973 (Digenea: Microscaphidiidae) (Originais).