



UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO GRANDE DO NORTE – UERN  
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS – FANAT  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS NATURAIS – PPGCN  
MESTRADO EM CIÊNCIAS NATURAIS – MCN



ÉRICA DAIANY ALVES DE SOUSA

**MORFOLOGIA E ONTOGENIA DO ARCO HIÓIDE EM BOTOS-CINZA, *Sotalia guianensis* (VAN BÉNÉDEN, 1864).**

MOSSORÓ  
2019

ÉRICA DAIANY ALVES DE SOUSA

**MORFOLOGIA E ONTOGENIA DO ARCO HIÓIDE EM BOTOS-CINZA, *Sotalia guianensis* (VAN BÉNÉDEN, 1864).**

Dissertação de mestrado apresentada à banca examinadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais (PPGCN), na linha de pesquisa Diagnóstico e Conservação Ambiental, com Ênfase nos Aspectos Físicos, Químicos e Biológicos em Ambientes Marinhos.

Orientador: Prof. Dr. Flávio José de Lima Silva  
Coorientadora: Prof. Dra. Ana Bernadete Lima Fragoso

MOSSORÓ  
2019

**Catálogo da Publicação na Fonte.  
Universidade do Estado do Rio Grande do Norte.**

S725m Sousa, Érica Daiany Alves de  
MORFOLOGIA E ONTOGENIA DO ARCO HIÓIDE EM  
BOTOS-CINZA, *Sotalia guianensis* (VAN BÉNÉDEN,  
1864).. / Érica Daiany Alves de Sousa. - Mossoró/RN,  
2019.

41p.

Orientador(a): Prof. Dr. Flávio José de Lima Silva.

Coorientador(a): Profa. Dra. Ana Bernadete Lima  
Fragoso.

Dissertação (Mestrado em Programa de Pós-  
Graduação em Ciências Naturais). Universidade do  
Estado do Rio Grande do Norte.

1. Cetáceos. 2. Variação morfológica. 3.  
Desenvolvimento ósseo. 4. Maturidade física. I. Silva,  
Flávio José de Lima. II. Universidade do Estado do Rio  
Grande do Norte. III. Título.

ÉRICA DAIANY ALVES DE SOUSA

MORFOLOGIA E ONTOGENIA DO ARCO HIÓIDE EM BOTOS CINZA, *Sotalia guianensis* (VAN BÉNÉDEN, 1864).

Dissertação de mestrado apresentada à banca examinadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais (PPGCN), na linha de pesquisa Diagnóstico e Conservação Ambiental, com Ênfase nos Aspectos Físicos, Químicos e Biológicos em Ambientes Marinhos.

Orientador: Prof. Dr. Flávio José de Lima Silva  
Coorientadora: Prof. Dra. Ana Bernadete Lima Fragoso

Aprovado em: \_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_

#### **BANCA EXAMINADORA**

---

Dr. Flávio José de Lima Silva – Universidade do Estado do Rio Grande do Norte.

---

Dr<sup>a</sup>. Ana Bernadete Lima Fragoso – Universidade do Estado do Rio Grande do Norte.

---

Dr<sup>a</sup>. Fernanda Loffler Niemeyer Attademo - Centro de Estudos e Monitoramento Ambiental.

MOSSORÓ  
2019

Aos meus pais por sempre acreditarem em mim e por terem abdicado de suas vidas em prol das realizações e da felicidade de seus filhos.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a DEUS, por me conceder saúde e sabedoria para seguir em frente. Por colocar em meu caminho pessoas amigas e preciosas.

Aos meus pais, Josemar e Josenilda, pelo amor incondicional que me mostrou a direção correta e me ensinou a ter fé na vida. Por acreditarem em mim, e não medirem esforços para a concretização dos meus sonhos.

Ao meu querido esposo, Alexandre Félix, por ser tão importante na minha vida. Sempre ao meu lado, me pondo para cima e me fazendo acreditar que posso fazer mais que imagino. Obrigada por ter feito do meu sonho o nosso sonho!

Ao meu orientador, Flávio Lima pelo suporte profissional e orientação indispensável em mais uma etapa da minha vida.

À minha coorientadora, Ana Bernadete Lima Fragoso pela oportunidade de realizar este trabalho. Agradeço por todos os ensinamentos compartilhados de forma admirável, e por me guiar quando não sabia que caminho seguir.

Agradeço ao Prof. Carlos Eduardo, por toda ajuda durante a realização deste trabalho. Sua contribuição foi essencial para a concretização desta pesquisa. Meu muito obrigada!

Aos amigos do Laboratório de Monitoramento de Biota Marinha – PCCB/UERN, Marcus, Carlos, Ticiane, Hyêza e Laiany por todo apoio. Agradeço a Pedro pela amizade e por todas as caronas e em especial às florzinhas (Déborah, Rysonely e Heloisa) por sempre estarem ao meu lado, me apoiando, segurando minha mão nos momentos difíceis. Obrigado a todos pelas palavras de conforto. Amizade para vida inteira.

Agradecer a toda equipe do Projeto Cetáceos da Costa Branca – PCCB/UERN, por fornecer o material para realização do trabalho e pela experiência que me foi proporcionada.

À toda equipe do corpo docente do MCN, pelo compartilhamento do conhecimento, tendo papel fundamental na formação dos seus aprendizes.

Ao colega, Nilton Marques, pela contribuição na confecção do desenho ilustrativo do aparato hióide e pelo apoio.

Meu muito obrigado a todos que contribuíram de alguma forma, mesmo com uma simples palavra de conforto, para a concretização deste estudo.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

**Ninguém vence sozinho... GRATA A TODOS!**

## RESUMO

Os cetáceos são componentes vitais da biodiversidade aquática marinha e fluvial. O registro de mortalidade pode ser feito a partir do recolhimento de carcaças encalhadas ao longo das praias, à deriva ou provenientes da captura acidental. O presente estudo visa verificar o grau de desenvolvimento e caracterizar o aparato hióide, bem como descrever as diferenças observadas durante o desenvolvimento ósseo, por meio de análises morfológicas e morfométricas em botos cinza (*Sotalia guianensis*). Os exemplares foram oriundos de carcaças registradas durante monitoramento periódico realizado no litoral da Bacia Potiguar (RN/CE). Para o presente estudo foram selecionados 75 exemplares de *S. guianensis* tombados na coleção osteológica do Laboratório de Monitoramento de Biotas Marinhas – Projeto Cetáceos da Costa Branca (PCCB), da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte (UERN), entre 2006 e 2017. As peças ósseas de carcaças de boto-cinza encalhados mortos em praias, após coletados foram processadas e armazenadas para caracterização osteológica. A determinação da maturidade física dos botos foi realizada por meio da análise do grau de fusão das suturas cranianas e das epífises vertebrais. O desenvolvimento ósseo do hióide foi comparado com o grau de desenvolvimento do esqueleto dos indivíduos para classificação etária. Análise óssea macroscópica foi realizada para descrição anatômica e medidas do hióide foram tomadas para comparação ontogenética. O teste de regressão foi aplicado para correlacionar o comprimento corpóreo padrão com cada uma das dez medidas realizadas nas peças ósseas do aparato hióide. Testes paramétricos (Shapiro-Wilk e Kolmogorov-Smirnov) e não paramétricos (Mann-whitney e Kruskal-Wallis) foram atribuídos para verificar se existiria variação ontogenética significativa. Com a proposta de união das duas categorias (juvenil e subadulto), verificou-se visualmente uma separação entre as três classes etárias apresentadas (filhote, juvenil e adulto). Os resultados verificados demonstram que a população de *S. guianensis* estudada apresenta variação ontogenética no grau de fusão dos ossos basais de acordo com o desenvolvimento dos indivíduos ao longo de sua vida. Podendo o grau de fusão das peças ósseas do arco hióide determinar o estágio de seu desenvolvimento por meio de classes etárias, bem como a determinação da maturidade física na espécie, sobretudo naqueles exemplares que não dispõem do esqueleto completo. O uso da análise de desenvolvimento em ossos do aparato hióide em carcaças de *S. guianensis* evidenciou que a maioria dos animais encalhados pertence a espécimes imaturos juvenis e permitiu a definição de cinco categorias (A, B, C, D e E) de desenvolvimento ósseo, além de possibilitar a estimativa da classificação etária (filhote, juvenil e adulto). As análises

mostraram que as medidas atribuídas às peças ósseas do arco hióide são boas para estimar o tamanho corpóreo, sendo a melhor delas comprimento do tirohial (CPTIR). ( $MD = -0,05144 + 0,9984 * x$ ) com  $r = 0,8810$  ( $p < 0,005$ ). O estudo das peças do arco hióide, contribui para a classificação etária e a maturidade física de exemplares que não apresentam o esqueleto por completo.

**Palavras-chaves:** Cetáceos. Variação morfológica. Desenvolvimento ósseo. Maturidade física. .

## ABSTRACT

Cetaceans are vital components of aquatic marine and river biodiversity. The mortality record can be made from the collection of carcasses stranded along the beaches, adrift or from accidental catch. The present study aims to verify the degree of development and to characterize the hyoid apparatus, as well as to describe the differences observed during bone development, through morphological and morphometric analyzes in gray dolphins (*Sotalia guianensis*). The samples were from carcasses recorded during periodic monitoring conducted on the Potiguar Basin coast (RN / CE). For the present study, 75 specimens of *S. guianensis* were selected from the osteological collection of the Biota Marinha Monitoring Laboratory - Cetáceos da Costa Branca (PCCB), from the State University of Rio Grande do Norte (UERN) between 2006 and 2017. The bone pieces of buto-gray carcasses stranded dead on beaches, after being collected were processed and stored for osteological characterization. The determination of the physical maturity of the porpoises was performed by analyzing the degree of fusion of the cranial sutures and the vertebral epiphyses. Bone development of the hyoid was compared with the degree of skeletal development of individuals for age classification. Macroscopic bone analysis was performed for anatomical description and measurements of the hyoid were taken for ontogenetic comparison. The regression test was applied to correlate the standard body length with each of the ten measures performed on the bone parts of the hyoid apparatus. Parametric (Shapiro-Wilk and Kolmogorov-Smirnov) and non-parametric tests (Mann-whitney and Kruskal-Wallis) were assigned to verify if significant ontogenetic variation existed. With the proposal of union of the two categories (juvenile and subadult), a separation between the three presented age classes (puppy, juvenile and adult) was visually verified. The results show that the population of *S. guianensis* studied shows ontogenetic variation in the degree of fusion of the basal bones according to the development of the individuals throughout their life. The degree of fusion of the bony parts of the hyoid arch can determine the stage of its development by means of age classes, as well as the determination of the physical maturity in the species, especially in those specimens that do not have the complete skeleton. The use of the developmental analysis in bones of the hyoid apparatus in carcasses of *S. guianensis* showed that the majority of beached animals belong to juvenile immature specimens and allowed the definition of five categories (A, B, C, D and E) of bone development, besides allowing the estimation of the age classification (puppy, juvenile and adult). The analyzes showed that the measurements attributed to the hyoid arch bone pieces are good for estimating body size, the best of which is the thyrochial length

(CPTIR). ( $MD = -0.5144 + 0.9984 * x$ ) with  $r = 0.8810$  ( $p < 0.005$ ). The study of the parts of the hyoid arch contributes to the age classification and the physical maturity of specimens that do not present the skeleton completely.

**KEY WORDS:** Cetaceans. Morphological variation. Bone development. Physical maturity.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1. Aparato hióide em boto-cinza (*Sotalia guianensis*). Basihial (B), um par de tirohiais (T), que formam a sua parte basal, enquanto os ceratohiais (C), epihiais (E), estilohiais (S) e timpanohiais (Ty).Fonte: Reidenberg & Jeffrey, 1994.....18
- Figura 2. Localização da área de estudo entre as praias de Aquiraz (CE) e Caiçara do Norte (RN).....19
- Figura 3. Medidas osteológicas do aparato hióide atribuídas conforme descrito na tabela 1. Desenho de Nilton Almeida.....22
- Figura 4. Categorias do grau de fusionamento do aparato hióide em boto-cinza (*S. guianensis*). A (filhote), B (juvenil), C-D (subadulto) e E (adulto).....24
- Figura 5 – Variação do comprimento do tirohial (CPTIRO) = medida d, nas distintas classes etárias. Os quadrados menores correspondem à mediana; os limites da caixa representam os percentuais de 25% e 75% da amostra. As linhas correspondem os valores mínimos e máximos da amostra. CIEsq (classe esqueleto): 1= filhote; 2= juvenil; 3= subadulto e 4= adulto.....29
- Figura 6. Variações no arco hióide da maior largura do basihial (MLGBAS), medida C. Os quadrados menores correspondem à mediana; os limites da caixa representam os percentuais de 25% e 75% da amostra. As linhas correspondem os valores mínimos e máximos da amostra.....31
- Figura 7. Análise de regressão entre o CT (comprimento total) dos botos-cinza com a medida d (comprimento do tirohial) foi que apresentou uma maior correlação ( $r=0,85786$ ).....32
- Figura 8. Gráfico relacionado à classificação etária do esqueleto com a medida F(Comprimento retilíneo do tirohial). (a) classificação do esqueleto em quatro categorias. (b) Classificação do esqueleto em três categorias 1- filhote, 2- juvenil e 3- adulto.....33
- Figura 9. PCA mostrando a variação de classe etária do esqueleto de *Sotalia guianensis*. (a) classificação em quatro categorias filhote, juvenil, subadulto e adulto; (b) nova classificação 1- filhote(em vermelho), 2- juvenil (em verde) e 3 – adulto(em azul).....34

Figura 10. PCA mostrando a variação dos componentes principais (PC1 – 81,5% e PC2 – 52%) quanto a classe etária de exemplares *Sotalia guianensis*. (a) classificação em categorias quanto ao grau de fusão dos ossos basais. A -filhote, B - juvenil, C/D –subadulto e E – adulto; (b) nova classificação 1- filhote, 2- juvenil e 3 – adulto, evidenciando uma separação entre as classes etárias.....35

Figura 11. Análise de regressão entre o comprimento total (CT) e o comprimento do tirohial (CPTIR) que apresentou a melhor predição para o CT ( $r=0,8810$ ).....37

## LISTA DE TABELAS

Tabela 01. Categorias do grau de fusionamento do aparato hióide em boto-cinza (adaptado de Ito e Miyazaki (1990).....	21
Tabela 02. Lista de medidas realizadas para ossos do aparato hióide de <i>Sotalia guianensis</i> . Medidas adaptadas de SIMÕES-LOPES & MENEZES, M. E. 2008.....	21
Tabela 3. Parâmetros estatísticos das dez medidas aferidas ao arco hióide em milímetros, assim como os testes de normalidade, onde N= número de indivíduos; DP= desvio padrão; K-S(p)= teste de normalidade de Kolmogorov- Smirnov e o valor de p; Shapiro-Wilk W (p)= teste de normalidade e respectivos valores de p.....	27
Tabela 4. Teste Mann-Whitney indicando que não houve diferença significativa no desenvolvimento do aparato hióide quanto ao sexo.....	28
Tabela 5. Teste Mann-Whitney relacionando as medidas com a maturidade física (Imaturo = 0 e maturo = 1) dos exemplares.....	28
Tabela 6. Resultados do Teste Kruskal Wallis que indica diferença significativa das medidas com relação às classes etárias pelo esqueleto, onde 1= filhote; 2= juvenil; 3= subadulto e 4= adulto.....	29
Tabela 7. Resultados do Teste Kruskal Wallis que indica diferença significativa das medidas com relação às classes de dente.....	30
Tabela 8. Valores referentes ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis com relação à classe etária estabelecida de acordo com o grau de fusionamento dos ossos tirohiais ao basihial (gl=4). Exemplares classificados como 1= filhote; 2= juvenil; 3= subadulto e 4= adulto.....	30
Tabela 9 Equações estatísticas de regressão e correlações entre as medidas do arco hióide e o CT (comprimento total) com dados logaritimizadas. Todos os dados estatísticos foram significativos (P < 0,005).....	36

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
1.1 Cetáceos.....	15
1.2 Avaliação de maturação em cetáceos.....	16
1.3 Morfologia do aparato hióide.....	17
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>18</b>
2.1 Objetivo Geral .....	18
2.2 Objetivos específicos .....	19
<b>3. METODOLOGIA .....</b>	<b>19</b>
3.1. Área de Estudo .....	19
3.2. Coleta de dados .....	20
3.3. Análise de dados .....	20
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>24</b>
<b>5. CONCLUSÃO.....</b>	<b>38</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>39</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 CETÁCEOS

Os cetáceos são componentes vitais da biodiversidade aquática marinha e fluvial. Sua importância ecológica no ecossistema se relaciona, dentre outros aspectos, com a manutenção do equilíbrio da estrutura trófica e são indicadores ambientais dos ecossistemas aquáticos (DI BENEDITTO, 2010).

Esses mamíferos enfrentam um número crescente de ameaças antrópicas (IBAMA, 2018; DI BENEDITTO et al., 2010). Diversos agravos têm sido notificados ao longo de sua distribuição, afetando o status de conservação das espécies. Entre os principais problemas de conservação do boto-cinza, por exemplo, têm sido atribuídos a capturas acidentais em redes de pesca (MOURA, 2009; ICMBIO, 2018), além de captura intencional, atropelamento e contaminação ambiental.

O boto-cinza, *Sotalia guianensis* (VAN BÉNÉDEN, 1864), é um mamífero aquático pertencente à ordem Cetartiodactyla e a família Delphinidae (CUNHA, 2005) e é um dos cetáceos mais encontrados no litoral brasileiro (IBAMA, 2018). Habita regiões costeiras (FLORES, 2002) e sua distribuição estende-se desde Honduras até o estado de Santa Catarina, no sul do Brasil (SIMÕES-LOPES, 1998). Apesar de relativamente pequeno, animais do gênero *Sotalia*, são robustos e de nadadeiras grandes, medindo entre 1,7 e 2,0 m de comprimento (SILVA & BEST, 1996), sendo já registrado espécimes com comprimento de até 2,20 m (BARROS, 1991; FLORES, 2002). Apresenta coloração cinza escuro na região dorsal e nas nadadeiras e na região ventral a coloração é mais clara, chegando a ser rosada ao cinza claro. A espécie costuma ocupar estuários, baías e desembocadura de grandes rios (JÚNIOR, 2010). O rosto do boto-cinza é proporcionalmente estreito na base em relação aos outros Delphinidae do mesmo porte e sua porção distal é aguda tanto em indivíduos jovens, quanto adultos (SIMÕES-LOPES & MENEZES, 2008). Apresenta 12 pares de costelas vertebrais, sendo que o último par costuma ser flutuante (SIMÕES LOPES & MENEZES, 2008). Os dentes são constituídos por três tecidos: esmalte, dentina e cimento, sendo que os dois últimos apresentam deposição contínua ao longo da vida do animal e formam camadas de crescimento que podem indicar a idade do mesmo (RIDGWAY & HARRISON, 1994).

O boto-cinza é uma das espécies de pequenos cetáceos mais estudada no litoral brasileiro, sendo realizados vários trabalhos em diversas áreas de pesquisa, tais como: genética, biologia comportamental, interação com a pesca e dieta (SILVA et al.) Por habitar regiões costeiras e estuarinas, habitats muitas vezes alterados pelas atividades humanas, *S. guianensis* é uma das espécies de cetáceos que mais sofre com a pressão antrópica no Brasil (ATTADEMO,; IBAMA, 2001; FRAGOSO et al., 2012; MEDEIROS, 2006).

A falta de estudos de longo prazo e as limitadas informações sobre a história natural e hábitos de *S. guianensis* levou a sua classificação como espécie insuficientemente conhecida, no Plano de Ação para os Mamíferos Aquáticos do Brasil (IBAMA, 2001). Isto reflete numa grande importância da realização de estudos mais detalhados sobre essa espécie, gerando uma ampliação sobre o seu conhecimento biológico.

Segundo Rosas e Barreto (2008), sugere que *S. guianensis* deveria ser classificada na categoria “Quase Ameaçada”, considerando as perdas de *habitat* e os níveis de contaminantes detectados e quantificados em várias áreas de ocorrência da espécie, bem como as capturas acidentais em redes de pesca registradas ao longo de toda a sua distribuição. Em 01 de agosto de 2019, a PORTARIA Nº 375, aprovou o Plano de Ação Nacional para Conservação de Cetáceos Marinhos Ameaçados de Extinção - PAN (ICMBio, 2019).

## 1.2 AVALIAÇÃO DE MATURAÇÃO EM CETÁCEOS

O grau de desenvolvimento ou estimativa de idade de um indivíduo pode ser verificado pela análise dentária, pelo comprimento total, pela determinação da maturação sexual e pela análise da coluna vertebral (MOSCATIELLO et al., 2008). De acordo com Di Beditto (2010), a proporção de indivíduos dentro de cada classe de idade reflete o estado reprodutivo das populações e permite o acompanhamento de suas flutuações. Os ossos podem ser a melhor evidência para estudos após a morte, pois são as partes do esqueleto que muitas vezes resistem ao processo de decomposição (CALZADA & AGUILAR, 1996).

A estimativa de idade em *S. guianensis* pode auxiliar na identificação do status reprodutivo com base na maturidade sexual, especialmente em carcaças registradas sem gônadas (ROSAS & MONTEIRO-FILHO, 2002). Através da análise de carcaças encalhadas

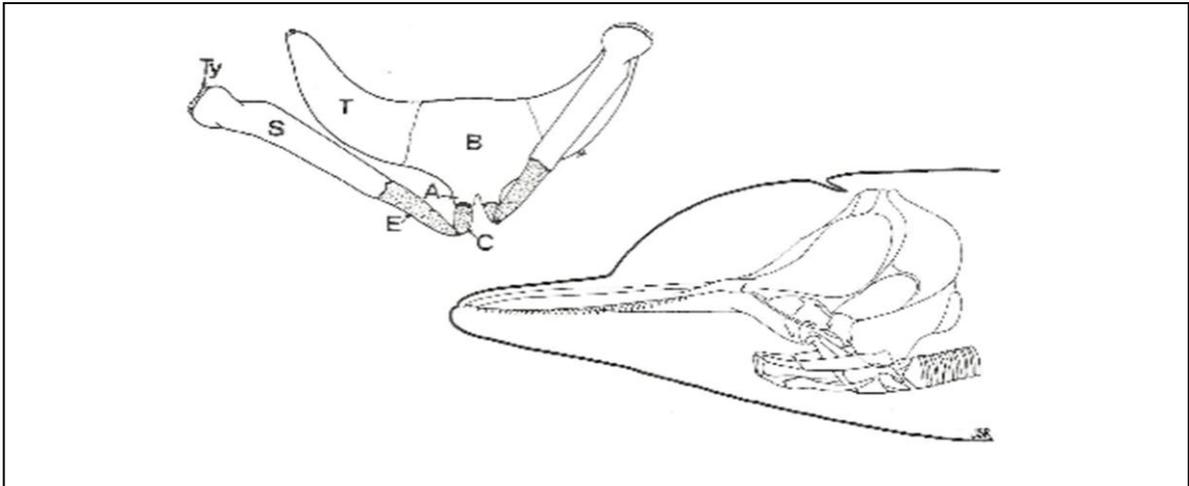
desses animais é possível avaliar a história de vida, doenças, parasitas e também a estimativa de idade dos indivíduos (FRAGOSO, 2006).

O estudo osteológico é essencial para determinação de idade, bem como a identificação da espécie (ÁVILLA et al., 2002). O conhecimento sobre a classe etária é uma ferramenta importante que permite caracterizar as populações, verificar as taxas de mortalidade e a distribuição de classes etárias (ROSAS, 2000; RAMOS et al., 2005). Análises do grau de desenvolvimento ósseo e fusão de elementos do esqueleto vêm sendo utilizados como ferramenta para classificação etária em cetáceos (PERRIN, 1975; ITO & MIYAZAKI, 1990).

### **1.3 MORFOLOGIA DO APARATO HIÓIDE**

O aparato hióide dos odontocetos (Figura 1) serve como principal ponto de fixação de músculos e ligamentos que subsidiam a respiração, a produção de sons e a alimentação (REIDENBERG E LAITMAN, 1994; PRETTO et al., 2008). Nos odontocetos, o arco hióide apresenta uma estrutura padronizada, sendo composto basicamente por uma parte basal e outra suspensória (SIMÕES-LOPES E MENEZES, 2008).

O aparato hióide é composto por um basihial (B), um par de tirohiais (T), que formam a sua parte basal, enquanto os ceratohiais (C), epihiais (E), estilohiais (S) e timpanohiais (Ty) compõem a parte suspensória (Reidenberg & Laitman, 1994). O basihial é um osso único, de forma hexagonal e; geralmente funde-se muito cedo por uma sinostose aos tirohiais que conectam o conjunto à cartilagem tireóide da laringe (SIMÕES-LOPES & MENEZES, 2008). Os estilohiais são os mais longos da série e estão inteiramente ossificados, sendo os outros elementos formados por cartilagem raramente mineralizada (SIMÕES-LOPES & MENEZES, 2008; REIDENBERG & LAITMAN, 1994). Sua extremidade superior é um pouco mais robusta e torcida, fazendo contato com a base do crânio através de timpanohiais cartilaginosos.



**Figura 1.** Aparato hióide em delfínido. Basihial (B), um par de tirohiais (T), que formam a sua parte basal, enquanto os ceratohiais (C), epihiais (E), estilohiais (S) e timpanohiais (Ty).

Fonte: Reidenberg & Jeffrev. 1994.

Embora haja estudos realizados com base no aparato hióide para estimativa de idade em algumas espécies de odontocetos (p. ex. PERRIN, 1995; ITO E MIYAZAKI, 1990; GALATIUS E KINZE, 2003) e em botos-cinza (SIMÕES-LOPES E MENEZES, 2006; RAMOS, 2005; PRETTO et al., 2008), estudos com arco hióide em *S. guianensis* estão restritos a morfologia (PRETTO et al., 2008).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 GERAL

Correlacionar padrões de determinação do desenvolvimento do boto-cinza (*Sotalia guianensis*), utilizando o comprimento total, o fusionamento das vértebras, o grau de sutura do crânio e o fechamento da cavidade pulpar dos dentes; e verificar se o arco hióide pode ser utilizado para avaliação de desenvolvimento osteológico e para estimativa etária dos espécimes.

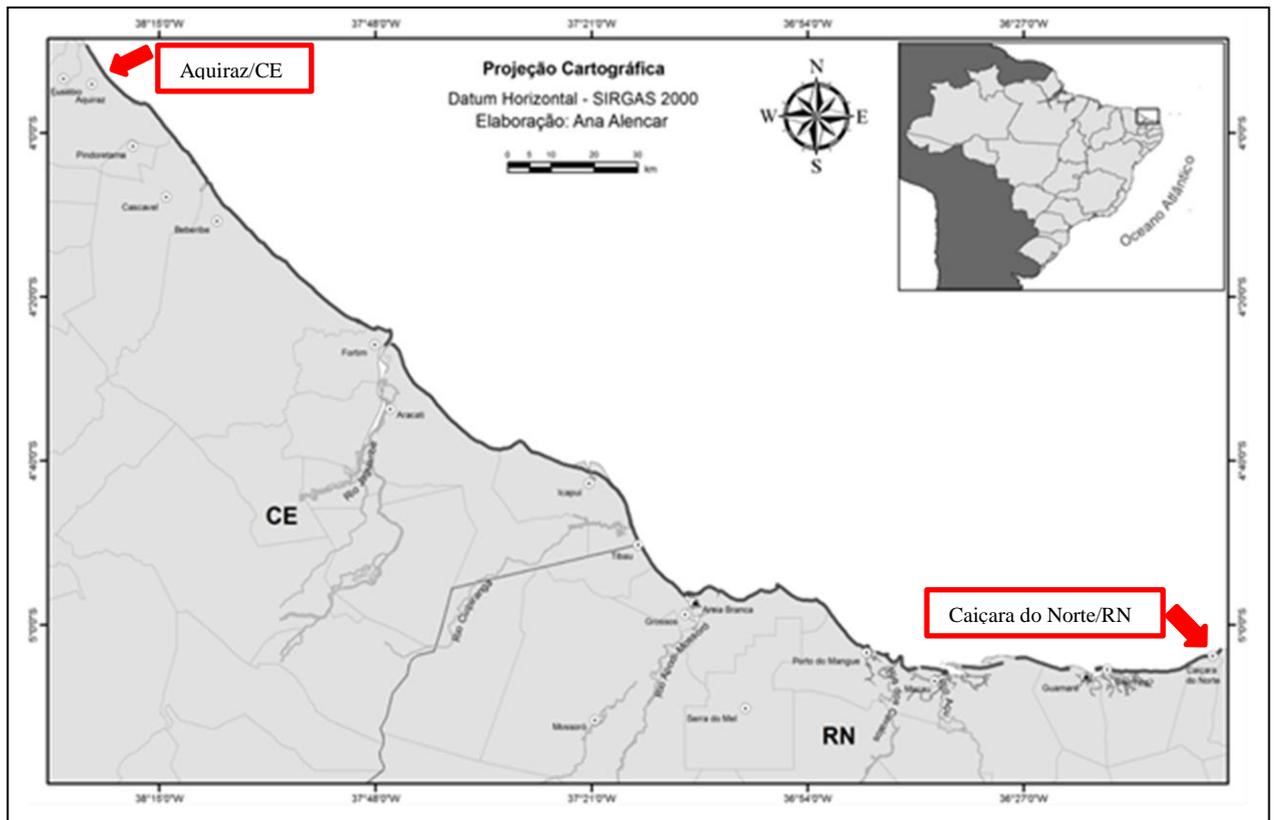
## 2.2 ESPECÍFICOS

- I. Testar a correlação entre os caracteres do aparato hióide com tamanho e sexo em boto-cinza (*S. guianensis*);
- II. Avaliar a relação do desenvolvimento ósseo do arco hióide entre as classes etárias.
- III. Encontrar equações de medição para estimativa corporal em boto-cinza, utilizando medidas aferidas aos ossos do arco hióide.

## 3 METODOLOGIA

### 3.1 ÁREA DE ESTUDO

Os exemplares foram oriundos de carcaças de *S. guianensis* registradas durante monitoramento periódico realizado nas praias da região da Bacia Potiguar, entre os municípios de Caiçara do Norte ( $05^{\circ}05'28.6''$  S e  $36^{\circ}17'37.9''$  O), no Rio Grande do Norte, e o município de Aquiraz ( $03^{\circ}49'20.9''$  S e  $38^{\circ}24'07.8''$  O), no Ceará, compreendendo uma extensão de aproximadamente 332,84 km (Figura 2).



**Figura 2.** Localização da área de estudo entre as praias de Aquiraz (CE) e Caiçara do Norte (RN).

### 3.2 COLETA DE DADOS

Para o presente estudo foram selecionados 75 exemplares de *S. guianensis* tombados na coleção osteológica do Laboratório de Monitoramento de Biota Marinha – Projeto Cetáceos da Costa Branca (PCCB), da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte (UERN), entre julho de 2006 e julho 2017.

Os indivíduos foram diferenciados quanto ao tamanho, sexo, data e localidade de encalhe de acordo com as informações contidas no banco de dados do PCCB/UERN. Para o tamanho dos indivíduos foi considerado comprimento total (CT), medido da extremidade da maxila até o entalhe central na nadadeira caudal, por meio de trena milimétrica.

As peças ósseas de carcaças de botos-cinza (*S. guianensis*) encalhados mortos em praias, após coletadas foram processadas e armazenadas para caracterização osteológica. Os esqueletos foram processados e limpos por meio de maceração, onde as carcaças foram colocadas em tanques de maceração contendo água para que pudessem ser decompostas, proporcionando a recuperação dos ossos.

Após a maceração o material osteológico foi lavado com o auxílio de escovas e detergente neutro para que resíduos de tecidos fossem retirados e logo após foram expostas ao sol para o processo de secagem. As ossadas, depois de limpas e secas, foram catalogadas, tombadas e armazenadas na Coleção do Laboratório de Monitoramento de Biota Marinha – Projeto Cetáceos da Costa Branca, do Departamento de Ciências Biológicas. Ossos pequenos foram armazenados em sacos plásticos para que não fossem perdidas nenhuma peça durante o procedimento.

### 3.3 ANÁLISE DOS DADOS

A determinação da maturidade física dos botos foi realizada por meio da análise do grau de fusão das suturas cranianas e das epífises vertebrais (PERRIN, 1975). Espécimes com as suturas totalmente fusionadas foram considerados animais maduros e sem fusão ou com linha aparente, como espécimes imaturos.

Os ossos do aparato do hióide foram analisados macroscopicamente quanto ao grau de desenvolvimento e fusionamento ósseo das estruturas tirohiais com o basiial (Tabela 01). A determinação da classe etária em botos-cinza foi realizada com base no estudo aplicado por

Ito e Miyazaki (1990), para golfinhos do gênero *Stenella*, no qual os ossos do aparato hióide foram classificados, de acordo com o estágio de fusão entre os ossos basais.

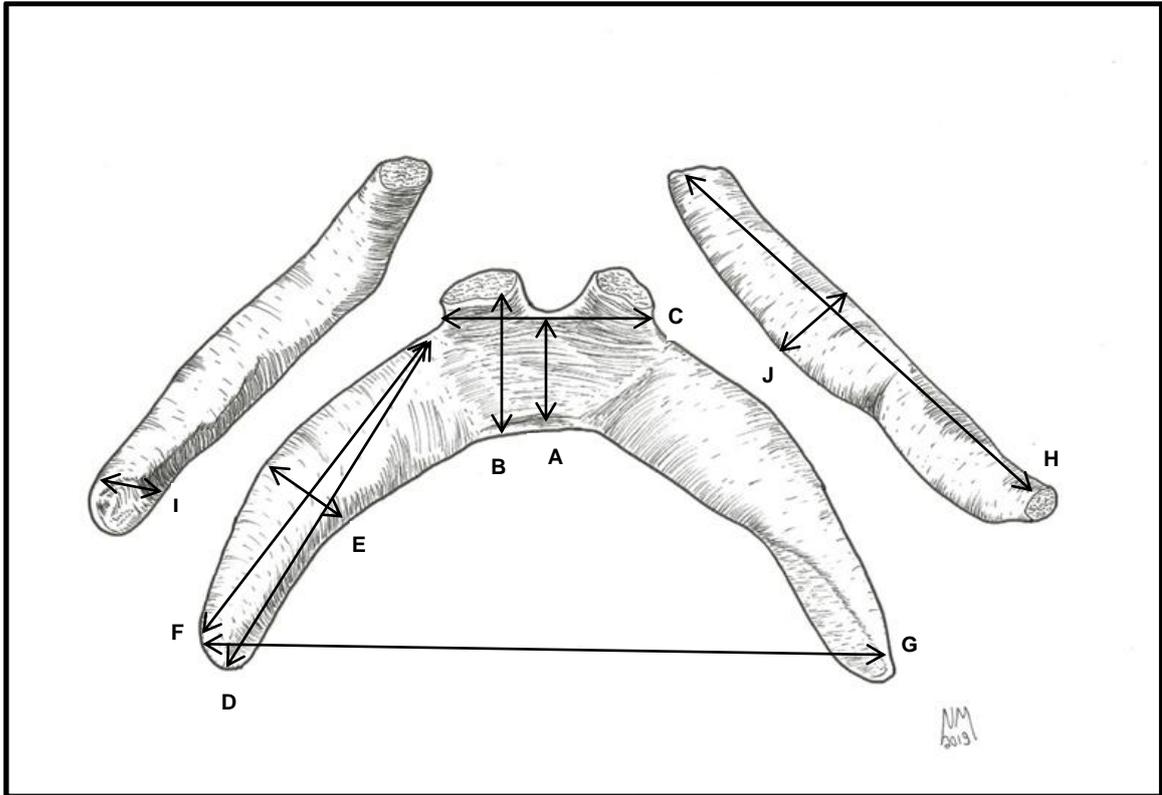
**Tabela 01.** Categorias do grau de fusão do aparato hióide em boto-cinza (adaptado de Ito e Miyazaki, 1990).

<b>Categoria</b>	<b>Classe etária</b>	<b>Descrição do grau de fusão das peças ósseas</b>
<b>A</b>	FILHOTE	Ossos em Calcificação.
<b>B</b>	JUVENIL	Ossos formados, porém o basiial e tirohiais não fusionados.
<b>C</b>	SUBADULTO	Ossos totalmente formados, tirohial parcialmente fusionado ao basiial.
<b>D</b>	SUBADULTO	Ossos formados, tirohiais fusionados ao basiial, mas com linha de fusão aparente.
<b>E</b>	ADULTO	Fusão completa dos tirohiais ao basiial, sem linha de fusão evidente.

Estudos morfológicos e morfométricos foram realizados nos ossos do aparato hióide para estimativa de idade. Análise macroscópica foi empregue para descrição anatômica e os ossos foram submetidos a dez medições, baseado em medidas aplicado em aparato hióide de odontocetos (SIMÕES-LOPES & MENEZES, M. E., 2008). As medidas foram tomadas com o uso de paquímetro digital (Tabela 02 e figura 3).

**Tabela 02.** Lista de medidas realizadas para ossos do aparato hióide de *Sotalia guianensis*. Medidas adaptadas de Simões-Lopes & Menezes, M. E. 2008.

<b>Medidas Atribuídas</b>	<b>Acrônimo</b>
A. Comprimento ao centro do basiial	CPCBAS
B. Maior comprimento do basiial	MCBAS
C. Maior largura do basiial	MLGBAS
D. Comprimento do tirohial	CPTIR
E. Largura ao centro do tirohial	LGCTIRO
F. Comprimento retilíneo do tirohial	CPRETIRO
G. Comprimento total dos ossos basais fusionados ou não	CPTOBAS
H. Comprimento do estilohial	CPEST
I. Largura da extremidade cranial do estilohial	LGEXCEST
J. Largura ao centro do estilohial	LGCEST



**Figura 3.** Medidas osteológicas do aparato hióide atribuídas conforme descrito na tabela 1. Desenho de Nilton Almeida, 2019.

A análise estatística descritiva (mínimo, máximo, média e desvio padrão) dos caracteres morfométricos foi realizada para comparação dos dados provenientes dos aparatos hióides, com informações do tamanho, sexo e maturidade física dos botos, utilizando a ferramenta *Statistic 10* após organização dos dados em planilhas via *software Excel 2010*. O teste *t* de Student foi aplicado para verificar se existe diferença entre sexo (macho e fêmea), utilizando cada medida, separadamente, atribuídas aos ossos do aparato hióide. A análise exploratória verificou a presença de outlier que foi excluído à posteriori (ZUUR, 2010).

Os testes de Shapiro-Wilk e Kolmogorov-Smirnov foram aplicados para verificar a normalidade dos dados. Testes não paramétricos foram utilizados quando a normalidade não foi alcançada, entre eles o Mann-Whitney para testar a existência de diferença no crescimento do arco hióide entre machos e fêmeas, assim como o teste Kruskal-Wallis para verificar diferenças entre as classes etárias. A análise dos componentes principais (PCA) foi aplicada para verificar se haveria tendência de formação de grupos quanto às medidas atribuídas e a classificação etária. Teste de regressão foi realizado, entre o comprimento total (CT) dos exemplares e as dez medidas atribuídas ao arco hióide, com a finalidade de obter a equação

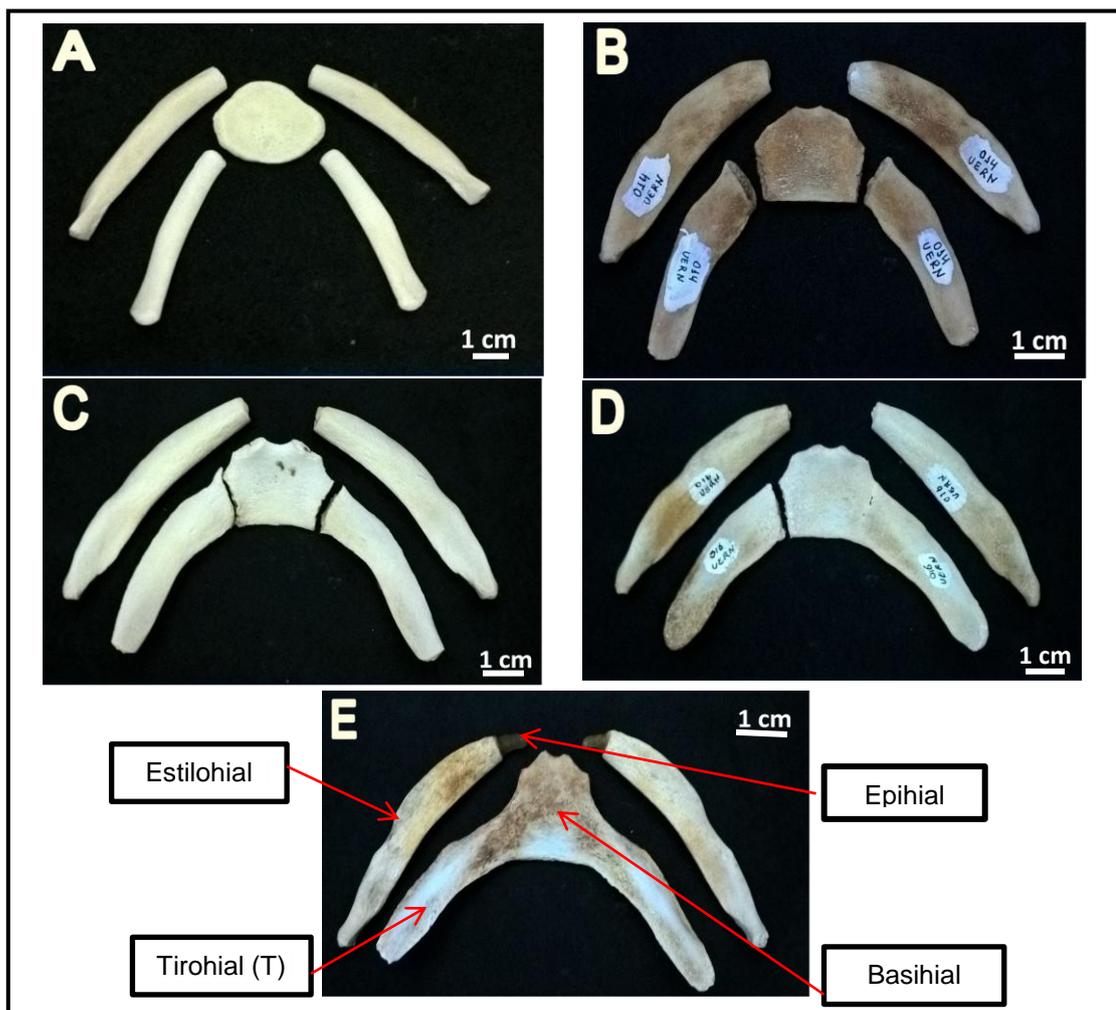
que melhor se ajuste a classificação etária. Foi observado o valor de  $p$  e  $r^2$ , na qual o valor que se aproxima a 1, é o que mais estabelece relação com o tamanho corpóreo.

Foi atribuída uma nova classificação etária para melhor visualização dos grupos, visto que houve grande sobreposição entre valores da mediana de espécimes juvenis e subadultos. Animais classificados na categoria de subadulto apresentavam linha de fusão dos ossos basais aparente, enquanto os juvenis estavam em processo de fusionamento. Os exemplares dentro da categoria subadultos foram agrupados aos juvenis e a estatística foi reaplicada, a fim de verificar uma variação significativa entre as classes etárias, em nível de significância 5%.

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises do grau de desenvolvimento do aparato hióide e do grau de fusionamento entre os tirohiais com o basiial foram realizadas em 75 exemplares de boto-cinza (*S. guianensis*) com comprimento total variando entre 97 e 200 (média 172,78 cm  $\pm$  25,77). As classes etárias foram determinadas em 72 indivíduos que apresentavam as peças ósseas (basiial e tirohial).

O estágio de fusão entre os ossos tirohiais ao basiial do aparato hióide permitiu classificar os indivíduos em quatro classes etárias e em cinco estágios de fusionamento (Filhote – A; Juvenil –B; Subadulto – C/D e Adulto - E) (tabela 1). Os resultados da comparação entre as categorias de fusionamento dos ossos do aparato hióide com as classes etárias (Figura 4), são descritos a seguir.



**Figura 4.** Categorias do grau de fusionamento do aparato hióide em boto-cinza (*S. guianensis*). A (filhote), B (juvenil), C-D (subadulto) e E (adulto).

Na categoria A, os ossos do aparato hióide estavam desarticulados, estilohial em processo de ossificação, com extremidade proximal ainda em formação e o basi-hial em formação apresentando partes cartilaginosas. Esses exemplares compostos por dez filhotes (14%) apresentavam tamanho variando entre 97 e 148 centímetros.

Na categoria B, as estruturas do aparato hióide (estilohiais, basi-hial e tirohiais) já estavam ossificados e formados, porém sem fusão dos tirohiais ao basi-hial. Os trinta e cinco juvenis (49%), possuíam comprimento entre 128 e 200 centímetros.

Já na categoria C (n=5; 29%), os indivíduos possuíam tirohial parcialmente fusionado ao basi-hial. No entanto na categoria D (n=12; 71%), espécimes apresentavam os tirohiais fusionados ao basi-hial, mas com a linha de sutura aparente. Os subadultos correspondem 23% (n=17) dos exemplares analisados, com tamanho variando entre 160 e 200 centímetros de comprimento. O processo de fusão inicia no lado ventral do bordo posterior do basi-hial. Foi observado que existe uma assimetria no fusionamento dos tirohiais esquerdo e direito com o basi-hial, podendo um deles apresentar grau de fusão mais avançado que o outro.

Na categoria E, os exemplares exibiram fusão completa dos tirohiais ao basi-hial, sem a linha de sutura aparente. Dois dos exemplares adultos apresentavam o estilohial com o desenvolvimento cartilaginoso do epihial. Os animais adultos compreenderam 14% (n=10); da amostra, apresentando entre 178 e 200 centímetros.

Em tigre-d'água (*Trachemys dorbignyi*; Duméril & Bibron, 1839), as diferentes estruturas que formam o aparelho hióide apresentam graus variáveis de ossificação (Souza et al., 2000). Em botos-cinza, o processo de ossificação dos ossos basais inicia desde o nascimento do indivíduo, porém esses ossos só se ossificam na fase de desenvolvimento avançado do animal, visto que todos os exemplares englobados na categoria A (filhote) apresentaram peças ósseas em processo de formação.

O fusionamento entre as peças ósseas (tirohiais e basi-hial) iniciou-se em animais classificados como juvenis, apresentando a ossificação do arco hióide. O presente estudo corrobora com a pesquisa realizada por Fettuccia (2010), onde foi observado que o fusionamento entre as peças dos tirohiais ao basi-hial ocorre entre 5 e 6 anos em *S. guianensis* (subadultos). Bogoevich (2011) realizou um trabalho com Tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*, Linnaeus 1758) onde verificou que o tireoióide e o basióiide são fundidos e formam o basitireóiide. Essas observações apresentam uma discordância com o

presente trabalho, visto que para *Sotalia guianensis* essas peças ósseas no início do desenvolvimento do animal estão em processo de ossificação e fusão. Animais maduros, que envolve a população de seres adultos, apresentam essas peças totalmente fusionadas.

Muitos dos exemplares de *S. guianensis* apresentavam a fusão das epífises vertebrais, porém o arco hióide estava em processo de fusão e/ou com linha aparente de fusão. Essas observações corroboram com os resultados encontrados no estudo realizado por Perrin (1975), onde analisando exemplares de *Stenella frontalis* e *Stenella attenuata* observou que o grau de fusão dos ossos do aparato hióide não está diretamente relacionado ao grau de fusão das epífises vertebrais. Aparentemente, os ossos do aparato hióide em *S. guianensis* fusionam mais cedo que as epífises dos corpos vertebrais.

Em espécimes de *Sotalia guianensis*, animais imaturos apresentam tirohial não fusionado ou parcialmente fusionado ao basihial, enquanto espécimes maduros apresentam completa fusão das estruturas do hióide. A mesma característica foi observada por Ito e Miyazaki (1990) em exemplares de *Stenella coeruleoalba*, visto que os ossos do hióide em animais imaturos não apresentam fusão ou os tirohiais podem estar parcialmente fundidos ao basihial. Essas observações também corroboram com o trabalho realizado por Pretto (2004), onde estudando o aparato hióide de odontocetos, verificou-se em *S. guianensis* que o início da fusão basihial/tirohiais se sobrepõe ao estágio de maturação sexual e termina somente após atingir o dobro da idade da maturação sexual da espécie.

O presente estudo conseguiu distinguir os exemplares em cinco categorias de desenvolvimento ósseo (tabela 1), que auxiliou em um melhor entendimento na comparação dos estágios de desenvolvimento do esqueleto e na determinação das classes etárias. Ramos e Di Benedetto (2005) distinguiram, para delfínidos, três categorias de acordo com o grau de fusão dos ossos do hióide (peças do hióide separadas, parcialmente fusionadas e totalmente fusionadas), enquanto Ito e Miyazaki (1990) utilizaram quatro classes de desenvolvimento em ossos do aparato hióide. Os estágios de desenvolvimento e fusão das peças ósseas do arco hióide, contribui para o estudo de classificação etária de indivíduos que estão em processo de decomposição avançada, restando apenas a carcaça e/ou aqueles não apresentam o esqueleto.

As análises indicam que o tamanho padrão do indivíduo não está diretamente relacionado ao seu grau de maturidade física. Um caso raro encontrado neste estudo foi de um juvenil de 200 centímetros que apresentava as epífises vertebrais e peças do hióide não fusionadas. Em animais capturados vivos e/ou sem análise óssea, estima-se a maturidade física e a ontogenia por meio do tamanho corpóreo padrão. O presente estudo mostra que determinar a maturidade física apenas pelo tamanho padrão não é aconselhável, visto que exemplares de *S. guianensis* com grande porte nem sempre podem ser considerados indivíduos maduros.

Dos 75 botos-cinza encalhados, 60 indivíduos apresentavam comprimento total; variando entre 97 e 200 centímetros, com média de 172,78 cm (DP  $\pm$ 25,77) (Tabela 03). A maioria das variáveis não apresentaram distribuição normal através dos testes de Kolmogorov-Smirnov (K-S) e Shapiro-Wilk ( $p=0,0000$ ) (Tabela 3), sendo então aplicados testes não-paramétricos aos dados.

**Tabela 3.** Parâmetros estatísticos das dez medidas aferidas ao arco hióide em milímetros, assim como os testes de normalidade, onde N= número de indivíduos; DP= desvio padrão; K-S(p)= teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e o valor de p; Shapiro-Wilk W (p)= teste de normalidade e respectivos valores de p.

Variável	N	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	DP	K-S (p)	Shapiro-Wilk (p)
CT	60	172,7833	177,4000	97,00000	200,0000	25,77181	0,17121 (p< 0,10)	0,87094 (0,00001)
Medida A	65	26,4075	27,0400	14,38000	33,9500	3,98092	0,9561 (p>0,20)	0,95129 (0,01230)
Medida B	65	27,3691	27,6100	14,36000	35,0200	4,46192	0,14155 (p<0,15)	0,93959 (0,00332)
Medida C	65	30,3757	31,0100	15,58000	42,4100	5,59819	0,11628 (p>0,20)	0,94752 (0,00799)
Medida D	70	52,7476	54,8050	25,59000	65,7400	8,46440	0,16037 (p<0,10)	0,87322 (0,00000)
Medida E	70	13,0409	13,2550	5,54000	17,8100	2,36947	0,13762 (p<0,15)	0,93460 (0,00123)
Medida F	70	53,0414	55,4800	15,42000	71,7600	9,80424	0,16169 (p<0,10)	0,87262 (0,00000)
Medida G	63	98,7670	102,3100	49,21000	116,1400	15,91643	0,17202 (p<0,05)	0,81882 (0,00000)
Medida H	73	72,7153	75,0800	31,25000	84,9400	10,48732	0,21270 (p<0,01)	0,80458 (0,00000)
Medida I	73	10,6534	10,9100	3,43000	13,3500	1,67656	0,13192 (p<0,20)	0,89696 (0,00002)
Medida J	73	13,3226	13,5900	3,75000	16,3300	2,46212	0,19015 (p<0,05)	0,81696 (0,00000)

As análises via teste t de Student aplicado em indivíduos (machos e fêmeas); demonstraram que não existe diferença significativa entre as medidas atribuídas aos ossos do aparato hióide em relação ao sexo dos indivíduos ( $p > 0,05$ ).

Para o teste Mann-Whitney, foi observado que não há diferenças significativas com relação às medidas aplicadas as peças ósseas do aparato hióide quanto ao sexo do indivíduo (Tabela 4).

**Tabela 4.** Teste Mann-Whitney indicando que não houve diferença significativa no desenvolvimento do aparato hióide quanto ao sexo.

Variável	U	Z corrigido	P	Macho	Fêmea
<b>CT</b>	147,5000	0,936297	0,349121	18	20
<b>Medida A</b>	165,0000	0,437921	0,661444	19	19
<b>Medida B</b>	178,0000	0,058389	0,953438	19	19
<b>Medida C</b>	179,0000	0,029195	0,976709	19	19
<b>Medida D</b>	164,0000	-0,467116	0,640417	19	19
<b>Medida E</b>	178,0000	0,058399	0,953431	19	19
<b>Medida F</b>	176,0000	0,116779	0,907035	19	19
<b>Medida G</b>	161,0000	-0,288675	0,772830	18	19
<b>Medida H</b>	179,0000	-0,295039	0,767964	20	19
<b>Medida I</b>	178,0000	0,323122	0,746603	20	19
<b>Medida J</b>	161,5000	-0,786772	0,431416	20	19

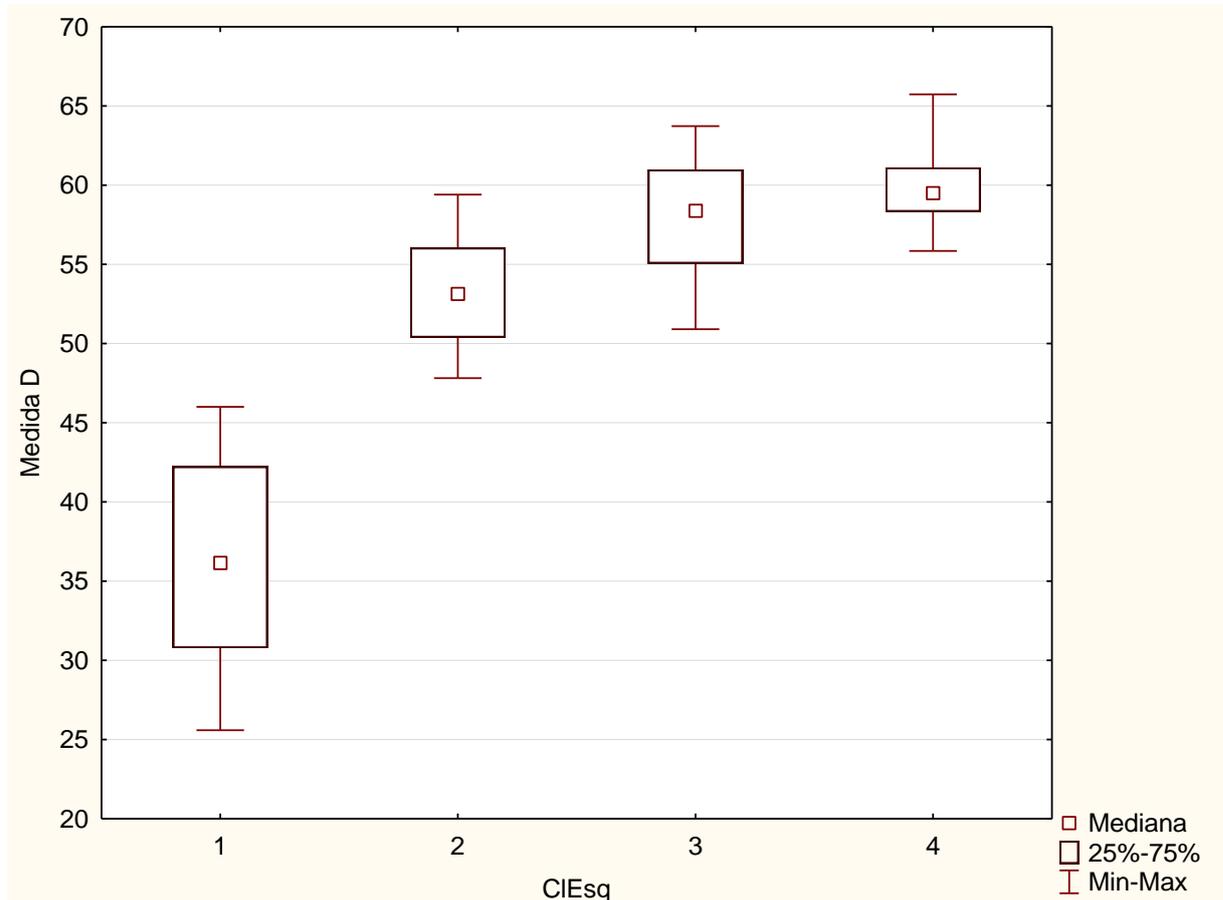
A análise de Mann Whitney; relacionando as medidas atribuídas ao aparato hióide com a maturidade física dos exemplares (imaturo= 0 e maturo= 1), mostrou que, com exceção da medida J (largura ao centro do estilohial), as demais medidas atribuídas foram significativas com relação à maturidade física dos animais (tabela 5).

**Tabela 5.** Teste Mann-Whitney relacionando as medidas com a maturidade física (Imaturo = 0 e maturo = 1) dos exemplares.

Variável	U	Z corrigido	P	0	1
<b>CT</b>	102,5000	-3,18326	0,001456*	49	11
<b>Medida A</b>	100,0000	-3,89510	0,000098*	52	13
<b>Medida B</b>	97,0000	-3,94426	0,000080*	52	13
<b>Medida C</b>	136,0000	-3,30461	0,000951*	52	13
<b>Medida D</b>	73,0000	-4,48556	0,000007*	57	13
<b>Medida E</b>	138,5000	-3,49638	0,000472*	57	13
<b>Medida F</b>	59,0000	-4,69696	0,000003*	57	13
<b>Medida G</b>	62,0000	-4,45839	0,000008*	50	13
<b>Medida H</b>	164,0000	-3,48189	0,000498*	59	14
<b>Medida I</b>	199,0000	-2,99155	0,002776*	59	14
<b>Medida J</b>	324,5000	-1,23304	0,217561	59	14

(\*) Teste significativo com  $p < 0,05000$

Conforme mostra o gráfico na figura 5, existe diferença significativa com relação às medidas aplicadas entre as classes do esqueleto (filhote = 1, juvenil = 2, subadulto = 3 e adulto = 4) de acordo com o teste Kruskal-Wallis (tabela 6).



**Figura 5** – Variação do comprimento do tíbio (CPTIRO) = medida D, nas distintas classes etárias. Os quadrados menores correspondem à mediana; os limites da caixa representam os percentuais de 25% e 75% da amostra. As linhas correspondem os valores mínimos e máximos da amostra. CIEsq (classe esqueleto): 1= filhote; 2= juvenil; 3= subadulto e 4= adulto.

**Tabela 6.** Resultados do Teste Kruskal Wallis que indica diferença significativa das medidas com relação às classes etárias pelo esqueleto, onde 1= filhote; 2= juvenil; 3= subadulto e 4= adulto.

Variável	N	H	GL	P	Filhote	Juvenil	Subadulto	Adulto
<b>CT</b>	60	39,65548	3	0,0000	10	30	9	11
<b>Medida A</b>	65	29,83055	3	0,0000	9	32	11	13
<b>Medida B</b>	65	33,51353	3	0,0000	9	32	11	13
<b>Medida C</b>	65	36,80535	3	0,0000	9	32	11	13
<b>Medida D</b>	70	45,77642	3	0,0000	10	36	11	13
<b>Medida E</b>	70	37,51671	3	0,0000	10	36	11	13
<b>Medida F</b>	70	42,51534	3	0,0000	10	36	11	13
<b>Medida G</b>	63	38,75914	3	0,0000	8	31	11	13
<b>Medida H</b>	73	41,56941	3	0,0000	11	38	10	14

<b>Medida I</b>	73	29,72774	3	0,0000	11	38	10	14
<b>Medida J</b>	73	24,64157	3	0,0000	11	38	10	14

A análise realizada entre as medidas com a classe etária de dentes dos indivíduos pelo teste Kruskal-Wallis, mostraram que as medidas são significativamente distintas de acordo com a classe dentária (tabela 7).

**Tabela 7.** Resultados do Teste Kruskal Wallis que indica diferença significativa das medidas com relação às classes de dente.

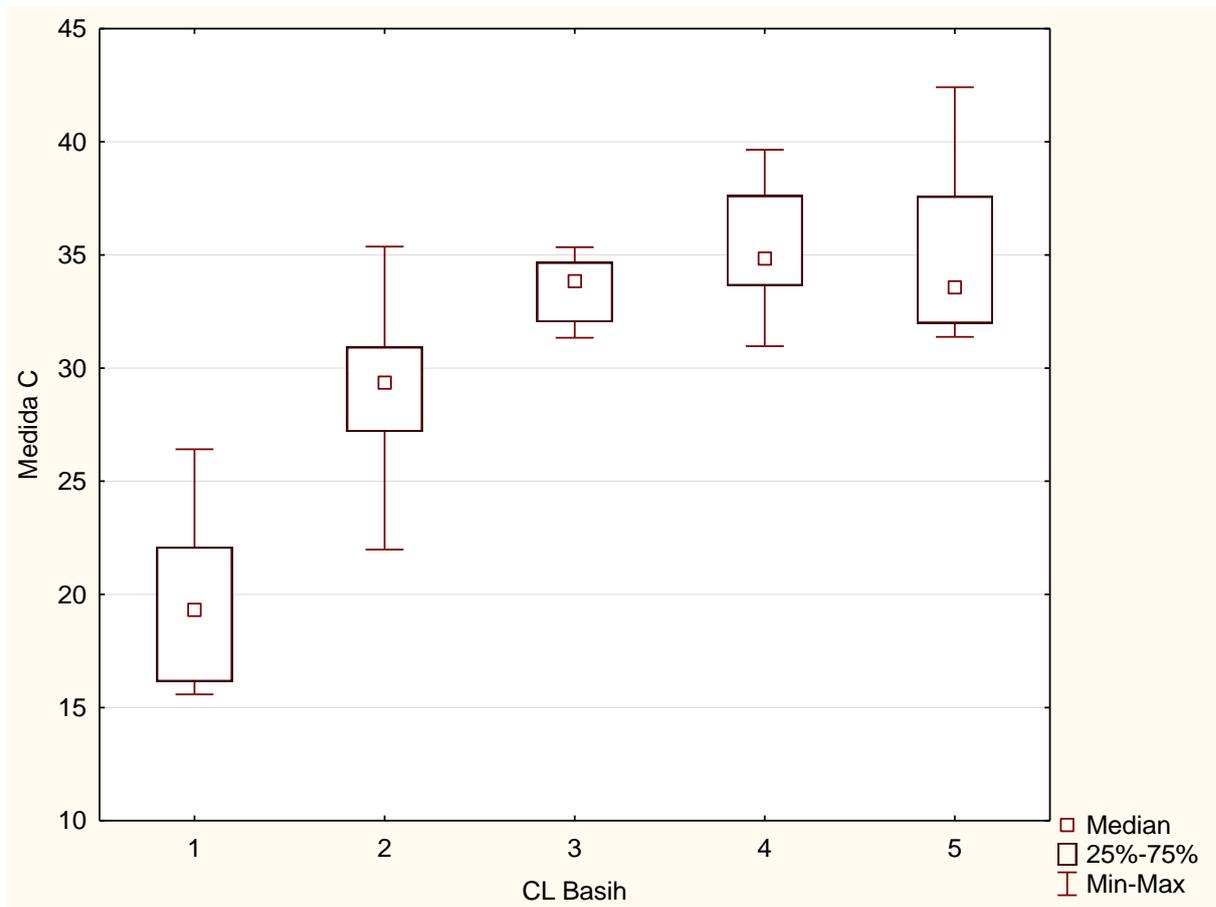
<b>Variável</b>	<b>N</b>	<b>H</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>CT</b>	54	36,87036	5	0,0000	4	4	17	11	9	9
<b>Medida A</b>	59	26,97936	5	0,0001	4	3	18	12	11	11
<b>Medida B</b>	59	30,20620	5	0,0000	4	3	18	12	11	11
<b>Medida C</b>	59	34,03242	5	0,0000	4	3	18	12	11	11
<b>Medida D</b>	64	43,05672	5	0,0000	4	4	21	13	11	11
<b>Medida E</b>	64	35,75709	5	0,0000	4	4	21	13	11	11
<b>Medida F</b>	64	38,96194	5	0,0000	4	4	21	13	11	11
<b>Medida G</b>	57	36,73735	5	0,0000	3	3	18	11	11	11
<b>Medida H</b>	67	36,24528	5	0,0000	5	4	22	14	10	12
<b>Medida I</b>	67	28,21333	5	0,0000	5	4	22	14	10	12
<b>Medida J</b>	67	23,02956	5	0,0003	5	4	22	14	10	12

Para as dez medidas estabelecidas para o arco hióide foi aplicado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis com relação à classe etária, classificado de acordo com o grau de fusão do osso tirohial ao basiial (Gl=4), mostrando haver diferenças significativas nas medidas relacionadas, conforme mostra a tabela 8 e figura 6.

**Tabela 8.** Valores referentes ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis com relação à classe etária estabelecida de acordo com o grau de fusionamento dos ossos tirohiais ao basiial (gl=4). Exemplos classificados como 1= filhote; 2= juvenil; 3/4= subadulto e 5= adulto.

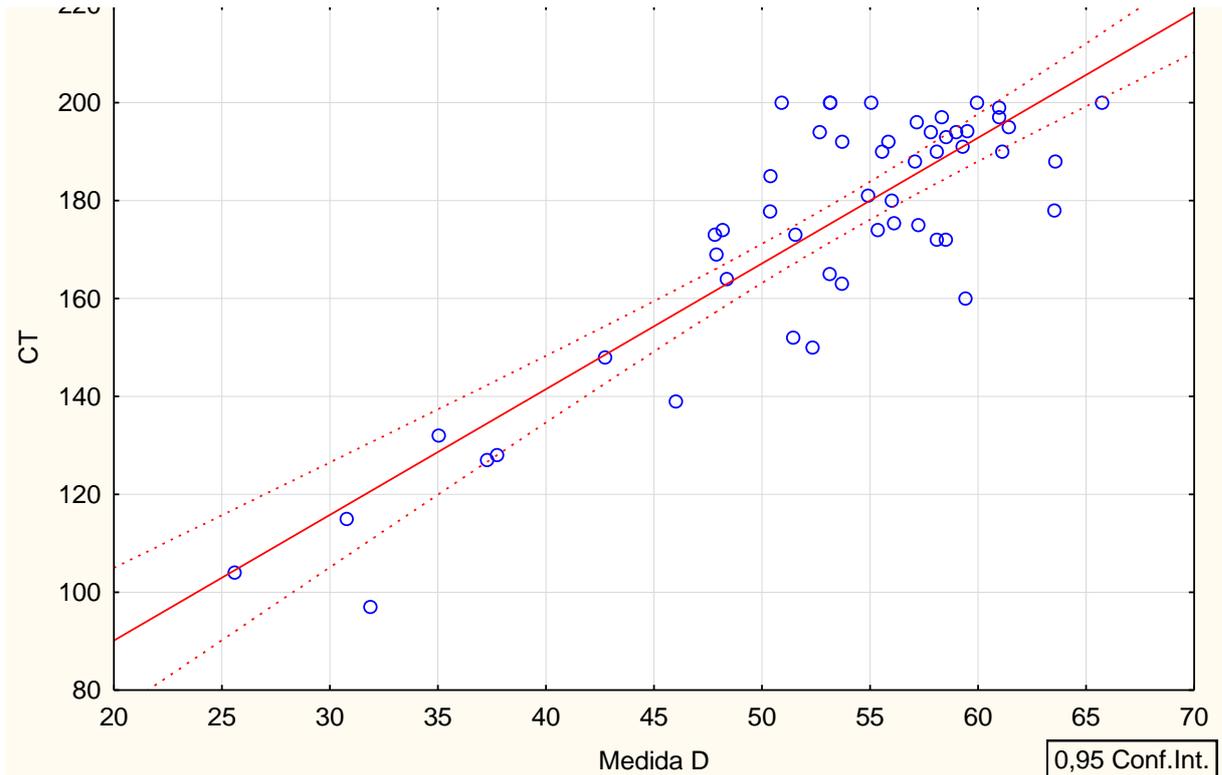
<b>Variável</b>	<b>N</b>	<b>H</b>	<b>GL</b>	<b>P</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>CT</b>	59	32,42998	4	0,0000	9	27	4	11	8
<b>Medida A</b>	65	35,40958	4	0,0000	8	30	5	12	10
<b>Medida B</b>	65	37,20417	4	0,0000	8	30	5	12	10
<b>Medida C</b>	65	44,88685	4	0,0000	8	30	5	12	10
<b>Medida D</b>	70	45,54843	4	0,0000	9	34	5	12	10
<b>Medida E</b>	70	39,08106	4	0,0000	9	34	5	12	10
<b>Medida F</b>	70	41,24367	4	0,0000	9	34	5	12	10
<b>Medida G</b>	63	41,45491	4	0,0000	7	29	5	12	10
<b>Medida H</b>	70	47,41697	4	0,0000	10	34	5	11	10
<b>Medida I</b>	70	30,54851	4	0,0000	10	34	5	11	10

<b>Medida J</b>	70	24,46958	4	0,0001	10	34	5	11	10
-----------------	----	----------	---	--------	----	----	---	----	----



**Figura 6.** Variações no arco hióide da maior largura do basiial (MLGBAS), medida C. Os quadrados menores correspondem à mediana; os limites da caixa representam os percentuais de 25% e 75% da amostra. As linhas correspondem os valores mínimos e máximos da amostra.

Quanto a Correlação de Pearson ( $r^2$ ) entre cada medida do aparato hióide com o comprimento total dos exemplares (CT), a medida D (CPTIR) foi a que apresentou maior correlação ( $r = 0,85786$ ;  $p < 0,05$ ) com o CT do animal, cuja equação  $CT = 38,765 + 2,5679 * \text{Medida D}$ . (figura 7).

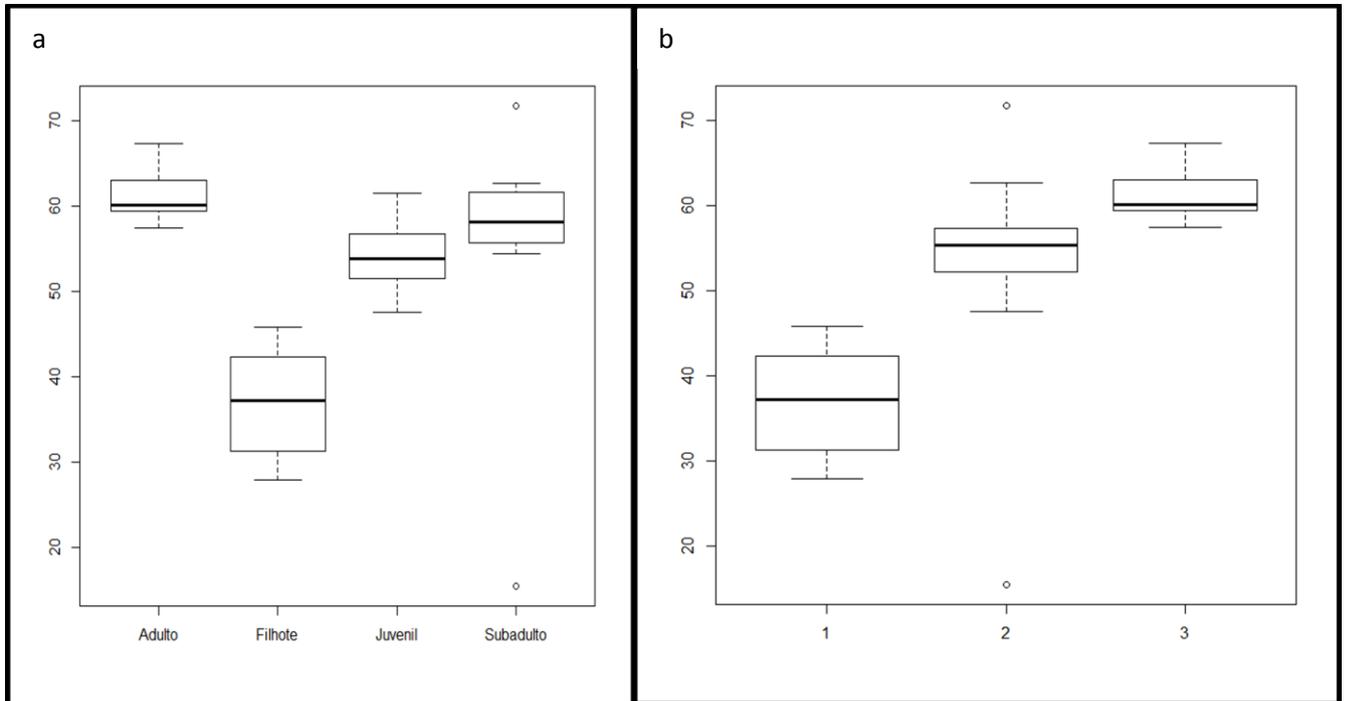


**Figura 7.** Análise de regressão entre o CT (comprimento total) dos botos-cinza com a medida D (comprimento do tirohial) foi que apresentou uma maior correlação ( $r=0,85786$ ).

Com base nas observações realizadas nos gráficos analisados (boxplot e PCA), ficou evidente que não existe variação significativa entre indivíduos juvenis e subadultos, visto que a interpretação entre as duas classes etárias ficou confusa. Com a união das duas categorias, verificou-se claramente uma separação significativa entre as três classes etárias apresentadas (filhote  $n=10$ , juvenil  $n= 52$  e adulto  $n= 10$ ). O desenvolvimento osteológico e o fusionamento das peças ósseas do aparato hióide sofre variação ao longo da vida do animal. Os exemplares filhotes apresentam as peças ósseas desarticuladas e em processo de formação, enquanto animais juvenis tinham ossos formados e os estilóides se encontravam em início de fusionamento ao basiál e/ou com linha de sutura aparente. Quanto aos animais adultos continha ossos basais totalmente fusionados (sem linha de sutura) e formados.

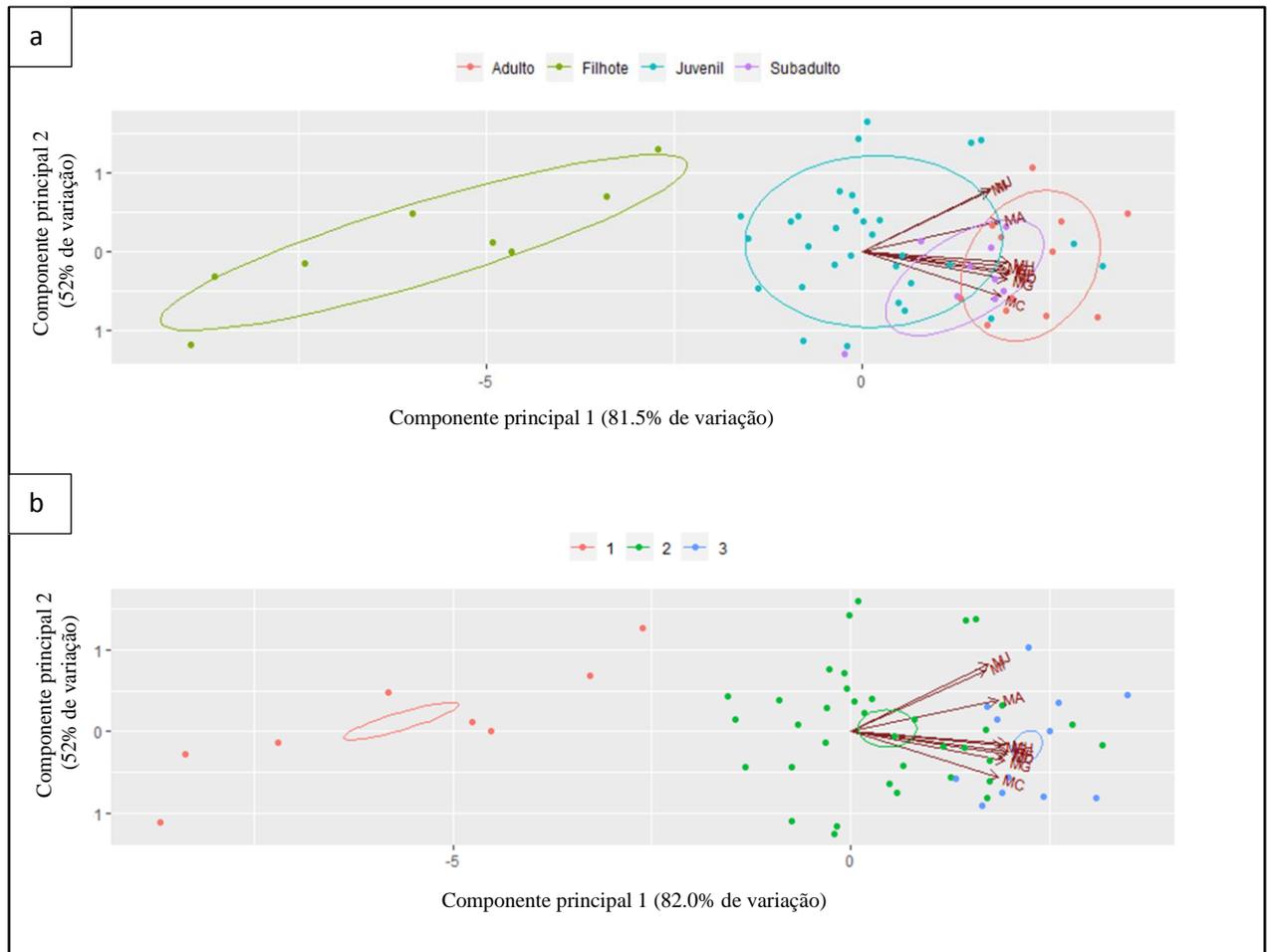
As medidas F (Comprimento retilíneo do tirohial) e G (Comprimento total dos ossos basais fusionados ou não) foram as mais significativas para classificação do esqueleto, quando identificou juvenil e subadulto como uma só classe (Figura 8). Na classificação anterior não era evidente uma diferença entre indivíduos juvenis e subadultos, onde não apresentava uma variação mediana significativa. Na nova classificação, foi possível notar uma diferença

aplausível entre as classes etárias. Essas medidas deram um panorama melhor, visto que adequou a classificação para juvenil.



**Figura 8.** Gráfico relacionado à classificação etária do esqueleto com a medida F(Comprimento retilíneo do tirohial). (a) classificação do esqueleto em quatro categorias. (b) Classificação do esqueleto em três categorias 1- filhote, 2- juvenil e 3- adulto.

A análise dos componentes principais (PCA) foi realizada, utilizando a classificação do esqueleto em três categorias (filhote, juvenil e adulto) para correlacionar com as variáveis (dez medidas do arco hióide), a fim de identificar se haveria tendência de formação de grupos (figura 9). Essa análise permitiu visualizar a tendência de formação de três grupos distintos (filhote, juvenil e adulto), possibilitando um entendimento mais resolutivo a cerca da trajetória ontogenética. Diferentemente da classificação inicial em quatro categorias (filhote, juvenil, subadulto e adulto) onde é confuso a distinção entre animais subadultos e adultos.



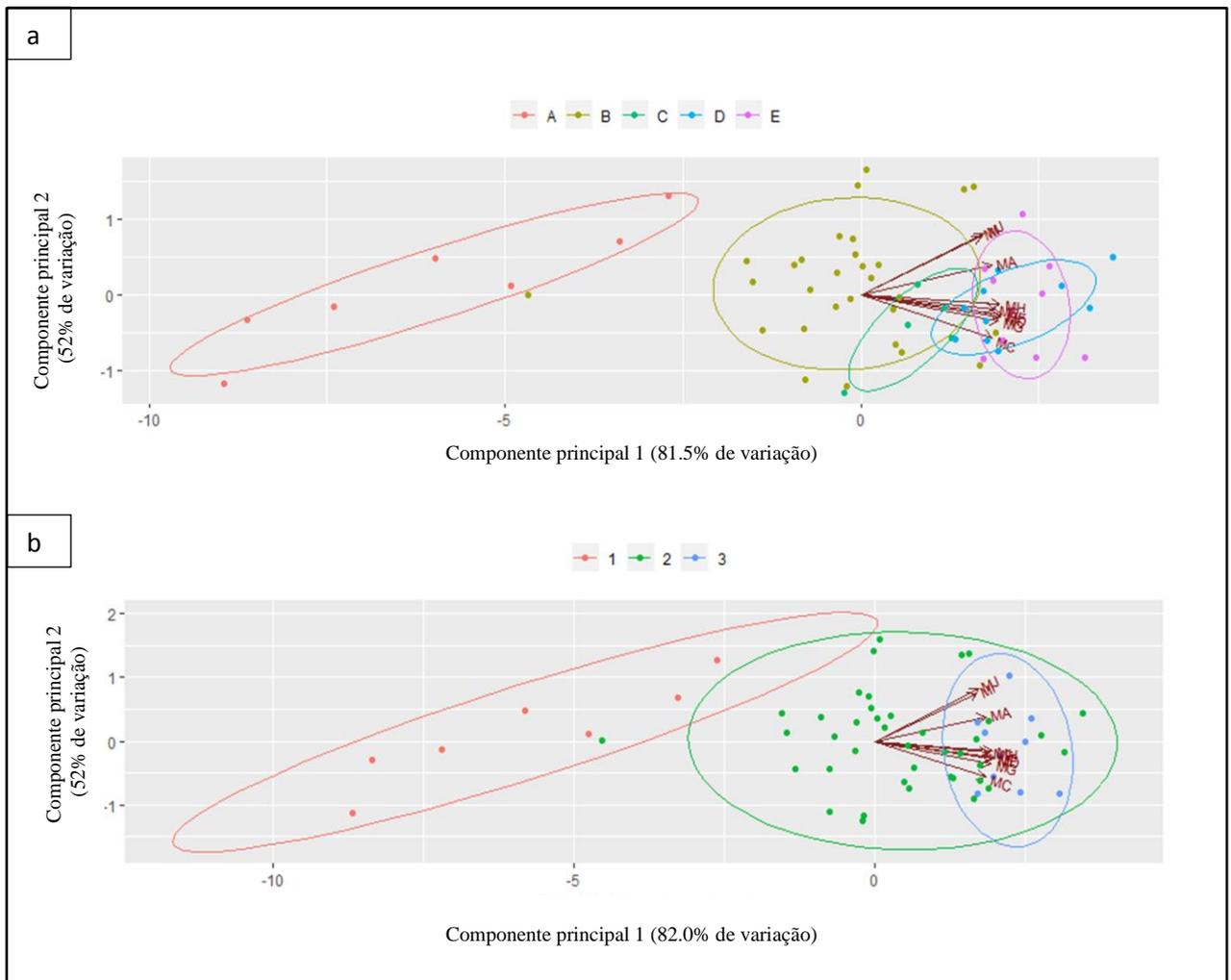
**Figura 9.** PCA mostrando a variação de classe etária do esqueleto de *Sotalia guianensis*. (a) classificação em quatro categorias filhote, juvenil, subadulto e adulto; (b) nova classificação 1- filhote (em vermelho), 2- juvenil (em verde) e 3 – adulto (em azul).

O perfil morfométrico de indivíduos juvenis está mais conciso na proposição por três grupos. A medida F (Comprimento retilíneo do tirohial) foi mais significativa para a discriminação da classe etária, diferenciando claramente filhotes, juvenis e adultos (figura 10 b).

Os ossos do aparato hióide se desenvolvem e ossificam ao longo de sua vida. O tirohial no estágio inicial do indivíduo vai estar em processo de desenvolvimento e ossificação.

A medida C (largura máxima do basiial) aplicada ao osso hióide não se mostrou uma importante medida na avaliação conjunta de todas as classes, pois se destacou apenas para animais classificados na categoria de filhote, visto que o basiial nesses indivíduos, ainda está em processo de ossificação (formação). O basiial se desenvolve na fase de filhote para juvenil. Animais juvenis e adultos já apresentam os ossos basais totalmente formados. Desta

forma, foi possível averiguar que a largura do osso basiial não cresce de acordo com o desenvolvimento do animal.



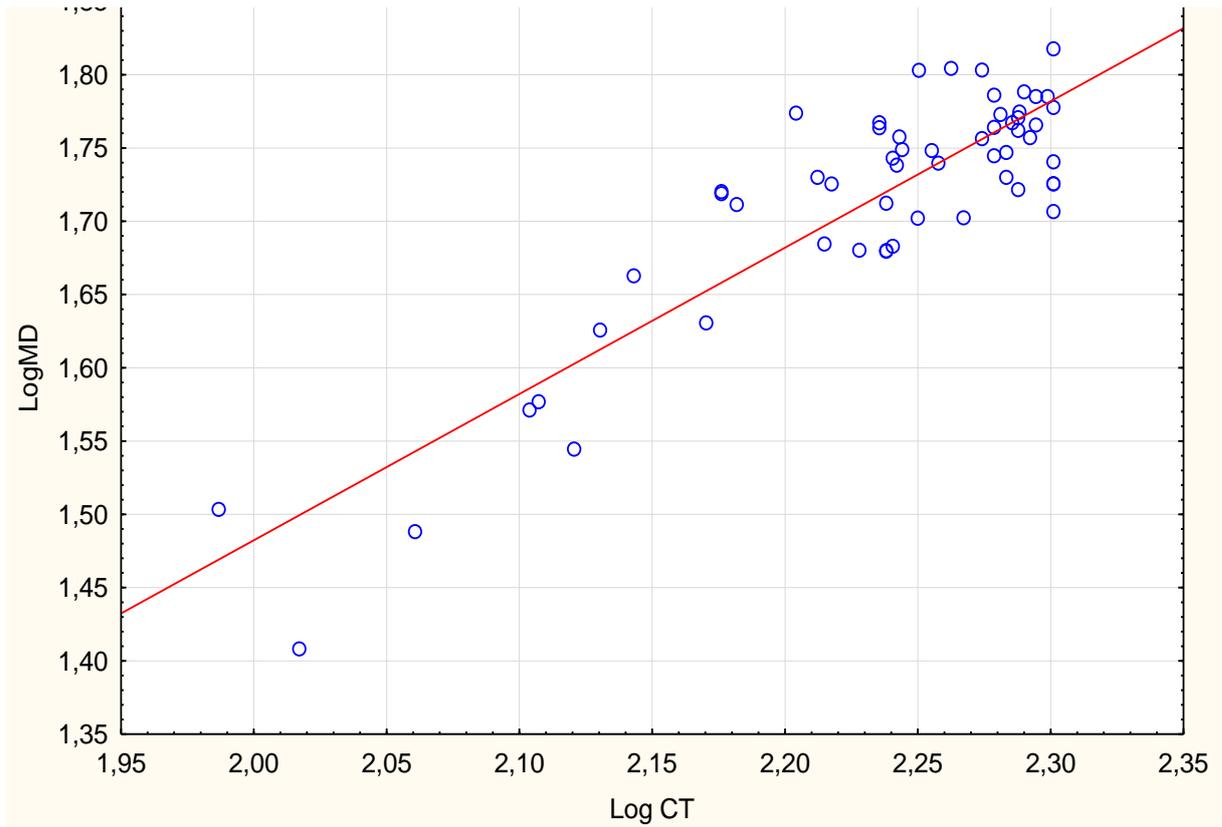
**Figura 10.** PCA mostrando a variação dos componentes principais (PC1 – 81,5% e PC2 – 52%) quanto a classe etária de exemplares *Sotalia guianensis*. (a) classificação em categorias quanto ao grau de fusão dos ossos basais. A -filhote, B - juvenil, C/D –subadulto e E – adulto; (b) nova classificação 1- filhote, 2- juvenil e 3 – adulto, evidenciando uma separação entre as classes etárias.

As correlações do CT (comprimento total) com as dez medidas do aparato hióide revelaram boa predição (Tabela 9), principalmente a medida de comprimento ao centro do basiial (CPCBAS) apresentando  $r^2 > 0,89$  e a medida comprimento do tirohial (CPTIR),  $r = 0,8810$ .

**Tabela 9.** Equações estatísticas de regressão e correlações entre as medidas do arco hióide e o CT (comprimento total) com dados logaritimizadas. Todos os dados estatísticos foram significativos ( $P < 0,005$ ).

<b>CT x Medidas</b>	<b>N</b>	<b>Equação de Regressão</b>	<b>F</b>	<b>R</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>P</b>
<b>A. CPCBAS</b>	54	MA= -4913+0,8538*x	115,8295	0,8307	0,8901	0,0000
<b>B. MCBAS</b>	54	MB= -0,7832+0,99*x	151,9306	0,8631	0,7450	0,0000
<b>C. MLGBAS</b>	54	MC= -0,9912+1,1015*x	136,9981	0,8513	0,7248	0,0000
<b>D. CPTIR</b>	57	MD= -0,5144+0,9984*x	190,8418	0,8810	0,7762	0,0000
<b>E. LGCTIRO</b>	57	ME= -1,3103+1,0819*x	148,8908	0,8545	0,7302	0,0000
<b>F. CPRETIRO</b>	57	MF= -0,2412+0,8752*x	29,2855	0,5894	0,3474	0,0000
<b>G. CPTOBAS</b>	53	MG= -0,3537+1,0453*x	139,9980	0,8561	0,7329	0,0000
<b>H. CPEST</b>	59	MH= -0,1203+0,8854*x	112,2219	0,8143	0,6631	0,0000
<b>I. LGEXCEST</b>	59	MI= -0,8847+0,8521*x	57,0763	0,7073	0,5003	0,0000
<b>J. LGCEST</b>	59	MJ= -1,4462+1,1475*x	75,6583	0,7551	0,5703	0,0000

A medida do arco hióide que mais se ajustou ao comprimento total dos exemplares foi o comprimento do tirohial (CPTIR)  $r=8810$  (Figura 11). A equação de regressão assim como o valor da correlação estão presentes na Tabela 10.



**Figura 11.** Análise de regressão entre o comprimento total (CT) e o comprimento do tirohial (CPTIR) que apresentou a melhor predição para o CT ( $r=0,8810$ ).

O grupo com um maior índice de encalhe, no presente estudo, correspondem à classe etária juvenil. Animais em início de maturação são os mais vulneráveis ao encalhe. A alta mortalidade de juvenis dentro de uma população pode ocasionar um desequilíbrio na estrutura do grupo, uma vez que esses indivíduos não alcançaram a maturidade sexual (HOHN ET AL., 1996). Os dados dos encalhes são em muitas ocasiões a fonte primária de informações sobre distribuição, abundância e biologia de muitas espécies, e conseqüentemente contribuem para definição do status de conservação dos cetáceos (PYENSON, 2010).

Os resultados verificados demonstram que a população de *S. guianensis* estudada apresenta variação ontogenética no grau de fusão dos ossos basais de acordo com o desenvolvimento dos indivíduos ao longo de sua vida. Podendo o grau de fusão das peças ósseas do arco hióide determinar o estágio de seu desenvolvimento por meio de classes etárias, bem como a determinação da maturidade física na espécie, sobretudo naqueles exemplares que não dispõem do esqueleto completo.

## 5 CONCLUSÃO

A análise de desenvolvimento em ossos do aparato hióide em carcaças de *S. guianensis* evidenciou que a maioria dos animais encalhados pertence a espécimes imaturos juvenis, apresentando ossos ossificados e em processo de fusão. Animais em início de maturação são os mais vulneráveis ao encalhe.

O presente estudo permitiu a definição de cinco estágios de desenvolvimento e fusão das peças ósseas do arco hióide, bem como a possibilitar a estimativa da classificação etária dos indivíduos; filhote (A) ossos em Calcificação; Juvenil (B) ossos formados, porém o basihial e tirohiais não fusionados.; Subadulto (C) ossos totalmente formados, tirohial parcialmente fusionado ao basihial; (D) ossos formados, tirohiais fusionados ao basihial, mas com linha de fusão aparente e Adulto (E) fusão completa dos tirohiais ao basihial, sem linha de fusão evidente.

A partir das análises, foi possível observar que as principais medidas lineares para diferenciação entre as classes etárias (filhote, juvenil e adulto) estudadas foram as discriminantes F (CPRETIRO) e medida G (CPTOBAS). As análises mostraram que as medidas atribuídas às peças ósseas do arco hióide são boas para estimar o tamanho corpóreo, sendo a melhor delas comprimento do tirohial (CPTIR). ( $MD = -0,5144 + 0,9984 * x$ ) com  $r = 0,8810$  ( $p < 0,005$ ).

O presente estudo se mostrou eficaz na determinação da maturidade física e na classificação de faixa etária dos exemplares, o que pode ser bastante útil em estudos de esqueletos incompletos. A tendência de formação de três grupos distintos (filhote, juvenil e adulto), possibilita um entendimento mais resolutivo a cerca da trajetória ontogenética, sendo possível um estudo mais avançado dentro de cada classe, podendo auxiliar em medidas de manejo e conservação da espécie.

## REFERÊNCIAS

- ÁVILLA, Francisco José Capibaribe *et al.* **Osteologia do Bonto-Cinza, *Sotalia fluviatilis* Gervais, 1854**, da Costa do Estado do Ceará, Brasil. Fortaleza, 2002. 35: 145- 155.
- BARROS, N. B. Recent cetacean records for southeastern Brazil. **Marine Mammal Science**, 1991. 7 (3): 296-306.
- CUNHA, H.A.; *et. al.*, Riverine and marine ecotypes of *Sotalia* dolphins are different species. **Marine Biology**. 147: 1432- 1793. 2005.
- DI BENEDITTO, A. P. M.; SICILIANO, S.; RAMOS, R. M. A. **Cetáceos: introdução à biologia e metodologia básica para o desenvolvimento de estudos**. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz (Escola Nacional de Saúde Pública). p. 20-67. 2010.
- FETTUCCIA, D. C.; SILVA, V. M. F. SIMÕES-LOPES, P. C. **Morfologia e ontogenia pós-craniana das espécies do gênero *Sotalia* (Gray, 1866) (Cetacea, Delphinidae)**. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA. Tese (Biologia de Água Doce e Pesca Interior). Manaus, Amazonas, 2010.
- FLORES, P. A. C. 2002. **Tucuxi *Sotalia fluviatilis***, p. 1267-1269. In: W. F. PERRIN; B. WÜRSIG & J. G. M. THEWISSEN (Eds). *Encyclopedia of marine mammals*. Cambridge, Academic Press, 1414p.
- FLORES, P. A. C. **Tucuxi *Sotalia fluviatilis*** In: PERRIN, W. F. ; WÜRSIG, B.; THEWISSEN, G. M.(eds) *Encyclopedia of Marine Mammals*. San Diego: Academic Press, p. 1267-1269. 2002.
- FRAGOSO, Ana Bernadete Lima. **Alterações morfológicas e patológicas em esqueletos e nadadeiras peitorais de boto-cinza, *Sotalia guianensis* (Van Beneden, 1864), do litoral brasileiro**. Rio de Janeiro, 2006.130f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Zoologia. Ciências Biológicas. Universidade Federal do Rio de Janeiro/ Museu Nacional.
- FRAGOSO, A. B. L. *et al.*, **Diversidade de Espécies de Mamíferos Marinhos Encalhados no litoral oeste do Estado do Rio Grande do Norte**. In: Anais do XXIX Congresso Brasileiro de Zoologia XXIX Congresso Brasileiro de Zoologia. Salvador, 2012.
- IBAMA. **Mamíferos Aquáticos do Brasil. Plano de Ação**. MMA / IBAMA. Brasília-DF, 2001. 79 p
- ITO, H.; MIYAZAKI, N. **Skeletal Development of the Striped Dolphin (*Stenella coeruleoalba*) in Japanese Waters**. *Journal of the Mammalogical Society of Japan*, v. 14, p.79-96, 1990.
- JÚNIOR, J. M. S. **OS GOLFINOS DE NORONHA: the dolphins of noronha**. 1º ed. SÃO PAULO, 2010.

MEDEIROS, P.S.A.P. **Encalhes de cetáceos ocorridos no período de 1984 a 2005 no litoral do Rio Grande do Norte, Brasil.** Dissertação de Mestrado em Bioecologia Aquática, Universidade Federal Do Rio Grande do Norte, 2006. 57 p.

MOURA, J. F. **O Boto-Cinza (*Sotaliaguianensis*) como Sentinela da saúde do Ambientes Costeiros:** estudo das concentrações de mercúrio no estuário Amazônico e Costa Norte do Rio de Janeiro. Dissertação (Mestrado em Ciências na Área de Saúde Pública e Meio Ambiente). Rio de Janeiro, Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, 24p., 2009.

MOSCATIELLO, V.A.M.; LEDERMAN, H.; MOSCATIELLO, R.A. *et al.* **Maturação das vértebras cervicais e sua correlação com a idade óssea da mão e punho como indicadores no tratamento ortodôntico.** *Rev. Dental Press. Ortodon. Ortop. Facial*, v.13, p.92-100, 2008.

PERRIN, W. F. Variation of spotted and spinner porpoise (genus *Stenella*) in the eastern Tropical Pacific and Hawaii. **Bull. Scripps Inst. Oceanogr.**, v. 21, p. 1-206, 1975.

PERRIN, W.F., e MYRICK J.R. 1980. Age determination of toothed whales and sirenians. **International Whaling Commission, special issue 3.** Cambridge, U.K.

PRETTO, D. J.. **Estudo do aparato hióide de odontocetos (Mammalia, Cetacea) do sul do Brasil.** Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação, Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil, 59pp. 2004.

PRETTO, D.J.; OLIVEIRA, G.; GRAIPEL, M.E.; SIMÕES-LOPES, P.C. Morfologia do aparato hióide de algumas espécies de odontocetos do sul do Brasil. **Biotemas**, v. 22, n1, p.111-120, 2008.

PYENSON N.; Carcasses on the coastline: measuring the ecological fidelity of the cetacean stranding record in the eastern North Pacific Ocean. **Paleobiology** 36 (3): 453–480. 2010 <https://doi.org/10.1666/09018.1>

RAMOS, R.M.A. e DI BENEDITTO, A.P.M. **Guia para estudo de cetáceos: Métodos para determinação de idade em cetáceos odontocetos.** Editora da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, v. 3, 38 p., 2005.

REIDENBERG, J. S.; LAITMAN, J. T. Anatomy of the hyoid apparatus in odontoceti (Toothed Whales): specializations of their skeleton and musculature compared with those of terrestrial mammals. **The Anatomical Record**, v. 240, p. 598-624, 1994.

ROSAS, F. C. W.; BARRETO, A. S. **História natural do Boto-cinza, *Sotalia guianensis* (Van Bénéden, 1864).** In: **II Workshop do nordeste: pesquisa e conservação de *Sotalia guianensis*** / Marcos R. Rossi-Santos, Maria do Socorro Santos Reis (coordenadores). – Ilhéus: Editus, 2008. (p. 95-104). 276p.

ROSAS, F. C. W. **Interação com a pesca, Mortalidade, idade, reprodução e crescimento de *Sotaliaguianensis* e *Pontoporiablainvillei* (Cetacea, Delphinidae e Pontoporidae) no litoral sul do estado de São Paulo e litoral do estado do Paraná, Brasil.** Tese de Doutorado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR. 2000.

ROSAS, F. C. W. and MONTEIRO-FILHO, E. L. A., Reproduction of the estuarine dolphin (*Sotalia guianensis*) on the coast of Paraná, southern Brazil. **Journal of Mammalogy**. 2002.

SILVA, Sandy Kelly Souza Marques da Silva ; ARCOVERDE, Danilo Leal; LIMA, Renata Emin. **VARIAÇÃO MORFOLÓGICA DO CRÂNIO DE BOTO-CINZA, *Sotalia guianensis* (VAN BÉNÉDEN, 1864), EM DUAS ÁREAS DO LITORAL PARAENSE, COSTA LESTE DO MARAJÓ E ILHA DE ALGODOAL/MAIANDEUA**. 63ª Reunião Anual da SBPC. DISPONIVEL EM: <<http://www.sbpcnet.org.br/livro/63ra/resumos/resumos/4472.htm>> Acesso em 12 de agosto 2018.

SILVA, V.M.F.; Best, R.C. **Tucuxi – *Sotalia fluviatilis* (Gervais, 1853)**. In: S.H. Ridgeway S.H.; Harrison R. (Eds). Handbook of Marine Mammals: The first book of dolphins. London & New York: Academic Press, 1994. v.5, p.43-69.

SIMÕES-LOPES, P. Ocorrência de uma população de *Sotalia fluviatilis* Gervais, 1853 (Cetácea: Delphinidae) no limite sul da sua distribuição, Santa Catarina, Brasil. **Biotemas**, Florianópolis, v. 1, p. 57-62, 1988.

SIMÕES-LOPES, P. C. e MENEZES, M. E. **Morfologia Esqueletal**. In: Monteiro-Filho, E. L. A. e Monteiro, K. D. K. A. (Eds.) Biologia, Ecologia e Conservação do Boto-Cinza. São Paulo: Páginas & Letras Editora e Gráfica.p. 21-43, 2008.

SCHEFFER, V.B., e MYRICK, J.R. 1980. A **Review of studies to 1970 of growth layers in teeth of marine mammals**. Rep. Int. Whal. Comm. Special issue. 3:51-63.

SOUZA, A. M.; LIMA, L. A. B.; MALVASIO, A. **Estudo do esqueleto em *Trachemys dorbignyi* (Duméril & Bibron) (Reptilia, Testudines, Emydidae)**. Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo. Rua do Matão, Travessa 14, 101 . 05508900 São Paulo, São Paulo, Brasil. 2) Campus Universitário de Araguaína, Fundação Universidade do Tocantins. Araguaína, Tocantins, Brasil. Revta bras. Zoor. 17 (4): 1041 -1063,2000.

SLOOTEN, E. Age, Growth, and Reproduction in Hector's Dolphins. **Canadian Journal of Zoology**, 69: 1689-1700. 1991.