Nicolle Veiga Sydney

Ontogenia e assimetria craniana do boto-cinza, *Sotalia guianensis*

(Cetacea: Delphinidae).

Ontogeny and asymmetry of estuarine dolphin skull, *Sotalia guianensis*

(Cetacea: Delphinidae).

**SÃO PAULO
2010**

Nicolle Veiga Sydney

Ontogenia e assimetria craniana do boto-cinza, *Sotalia guianensis*
(Cetacea: Delphinidae).

Ontogeny and asymmetry of estuarine dolphin skull, *Sotalia guianensis*
(Cetacea: Delphinidae).

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biociências da Universidade de São
Paulo, para a obtenção de Título de
Mestre em Ecologia, na área de
Ecologia de Ecossistemas Aquáticos e
Terrestres.

Orientador: Dr. Sergio Rosso

SÃO PAULO
2010

Sydney, Nicolle Veiga

Ontogenia e assimetria craniana do
boto-cinza, *Sotalia guianensis* (Cetacea:
Delphinidae).

97 p.

Dissertação (Mestrado) - Instituto de
Biociências da Universidade de São Paulo.
Departamento de Ecologia.

1. *Sotalia guianensis* 2. Ontogenia 3.
Assimetria I. Universidade de São Paulo.
Instituto de Biociências. Departamento de
Ecologia.

Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Orientador(a)

**Nada acontece em contradição à natureza,
só em contradição ao que sabemos dela.**

Dana Scully

Procura Incessante (Arquivo X- terceira temporada)

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Sergio Rosso, pela confiança em mim depositada e por ter aceitado me orientar no projeto que eu tanto queria desenvolver. Também por ter me aberto as portas da USP, permitindo um enorme crescimento pessoal e profissional.

À Érika Hingst-Zaher, a co-orientadora deste trabalho, pelo envolvimento neste projeto, por tantas idéias, falta de idéias, revisões, sugestões, motivação e amizade. Enfim, por toda a sua orientação, desde o auxílio com a escolha dos marcos até as análises finais, o que permitiu a realização deste trabalho.

Aos colegas Fábio Machado e Guilherme Garcia pela ajuda e incentivo com uma técnica até então desconhecida para mim, pelo auxílio com as digitalizações, análises e visualização dos dados, pela alegria compartilhada ao descobrir os erros mínimos no script do R que não permitiam que o mesmo rodasse, mas principalmente pela paciência e pelas minhas dúvidas tão prontamente respondidas.

Ao Pedro Estrela, por ter me dado uma visão mais clara da morfometria geométrica, pelo auxílio com as análises e visualização dos dados, por responder tão prontamente a todas minhas perguntas, muitas vezes sem resposta, e pelo incentivo.

Aos Professores Paulo Inácio Prado e Alexandre Adalardo de Oliveira, por terem me mostrado o mundo da linguagem R.

À Professora Astrid de Matos Peixoto Kleinert, coordenadora do curso de pós-graduação em Ecologia, por solucionar tão prontamente os milhares de problemas dos alunos e por ter sido bastante presente como minha orientadora acadêmica.

À Dalva, secretária do programa de pós-graduação em Ecologia, e à Érika, Vera e Helder, da secretaria de pós-graduação do Instituto de Biociências da USP, por todo auxílio durante o curso e pela preocupação com os alunos.

A Fernando Rosas e Paulo Simões-Lopes, por terem, gentilmente, cedido seus dados relativos à idade dos indivíduos aqui estudados, sem os quais este trabalho não poderia ter sido realizado.

Aos Curadores e técnicos das coleções examinadas, pelo acesso ao material e auxílio durante as visitas. A Mário de Vivo, por permitir que meus estudos fossem realizados na coleção de mastozoologia do Museu de Zoologia da USP. A Paulo Simões-Lopes, curador da coleção do LAMAQ, pela atenção e conversas durante minha visita à coleção. A Emygdio Monteiro-Filho, curador da coleção do IPEC e meu antigo orientador, também por ter me incentivado a ingressar no mundo dos cetáceos. A Fernando Sedor, curador da coleção do MCN e também meu antigo orientador, pelo incentivo inicial e auxílio na elaboração do projeto que hoje se transformou na minha dissertação.

À Talita e Rafael Kamke, por terem me acolhido em sua casa durante minha visita à coleção do LAMAQ.

À CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado e à Idea Wild pela concessão de um notebook e uma máquina fotográfica, extremamente úteis para o desenvolvimento do meu projeto, além de um auxílio-viagem, que permitiu a visita às coleções.

A todos os amigos, de Curitiba e de São Paulo, que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, mas principalmente à Bárbara, Camila e Elaine, que estiveram mais presentes durante o desenvolvimento do projeto. Pelos bons e maus momentos durante a aprendizagem do R e pela tentativa, muitas vezes frustrada, de tentarem entender o que eu estava querendo escrever no script, pelos cafés em momentos de desespero, almoços no bandejão, viagens de barco e avistagens de golfinhos ou observação de hidróides em aquários (afinal, amigo é para estas coisas). Pelas horas de discussão no 701U-Jaçanã, em tentativas frustradas de chegar em casa no meio do congestionamento e pelas coxinhas nos bares da rua Butantã. Mas principalmente, pela amizade.

À minha família por todo incentivo e apoio. Aos meus tios biólogos, Mário e Joana, por me mostrarem a biologia com lindos olhos. Ao meu pai, por toda a sua preocupação e por emprestar o EscortMóvel, que quebramos, indo para Florianópolis visitar a coleção do LAMAQ. Aos meus irmãos Pedro Henrique, por, no fundo, ficar feliz com a bagunça que faço em casa quando volto à Curitiba, e Emmanuel, por ter ficado de mau comigo quando soube que eu me mudaria para São Paulo (mas logo depois ter desficado) e por me fazer tentar entender que brincar é mais legal do que do que escrever a dissertação. À minha vó por todo seu carinho e incentivo. E por fim, à minha mãe por sempre estar ao meu lado, e por me incentivar a fazer o mestrado na USP, já que era a minha vontade, mesmo com a imensa saudade que sentimos.

Ao meu marido Rodrigo, por todo seu apoio, paciência e motivação. Por presentes do tipo “Princípios de morfometria geométrica” e “Morphometrics with R” no dia dos namorados. Por ouvir meus sonhos com os scripts do R no meio da madrugada. Por me levar até Florianópolis de EscortMóvel para visitar à coleção do LAMAQ, e por carregar o Microscribe. Pelas idéias que deu ao projeto e pelas colaborações e revisões que fez a dissertação. Por me fazer feliz.

ÍNDICE

1. Introdução geral.....	01
1.1 Morfometria geométrica.....	03
2. Capítulo 1: Estudo da Ontogenia Craniana de <i>Sotalia guianensis</i>	07
2.1 Introdução.....	07
2.1.1 Objetivos.....	12
2.2 Material e métodos.....	12
2.2.1 Amostra.....	12
2.2.2 Marcos anatômicos.....	15
2.2.3 Digitalização e tratamento geométrico.....	19
2.2.4 Análises.....	21
2.2.4.1 Ontogenia com relação à forma e ao tamanho.....	21
2.2.4.2 Alometria.....	22
2.2.4.3 Assimetria direcional com relação à ontogenia.....	22
2.3 Resultados.....	23
2.3.1 Ontogenia com relação à forma e ao tamanho.....	25
2.3.2 Alometria.....	43
2.3.3 Assimetria direcional com relação à ontogenia.....	47
2.4 Discussão.....	50
2.4.1 Ontogenia com relação à forma e ao tamanho.....	50
2.4.2 Alometria.....	56
2.4.3 Assimetria direcional com relação à ontogenia.....	57
3. Capítulo 2: Estudo da Assimetria Craniana de <i>Sotalia guianensis</i>	59
3.1. Introdução.....	59
3.2. Material e métodos.....	63
3.2.1 Amostra.....	63
3.2.2 Marcos anatômicos e digitalização.....	65
3.2.3 Tratamento geométrico.....	65
3.2.4 Análises.....	65
3.3. Resultados.....	66
3.3.1 Assimetria com relação à forma e ao tamanho.....	66
3.4. Discussão.....	74
4. Conclusão Geral.....	79
5. Resumo.....	82
6. Abstract.....	83
7. Referências bibliográficas.....	85

LISTA DE FIGURAS:

Figura 1: Marcos anatômicos selecionados, em vistas dorsal, ventral, lateral direita e posterior em um exemplar de *Sotalia guianensis* (MZSP 036).

Figura 2: A. Braço digitalizador MicroScribe®-3D. B. Ponteira, pela qual as coordenadas são obtidas.

Figura 3. Forma média dos crânios amostrados, em vistas: ventral (a), dorsal (b), posterior (c) e lateral esquerda (d).

Figura 4. Variação do tamanho do crânio (tamanho do centróide) com a idade para *Sotalia guianensis*.

Figura 5. Variação do tamanho do crânio (tamanho do centróide) com o logaritmo de idade para *Sotalia guianensis*.

Figura 6. Variação da forma do crânio (primeiro componente principal) com a idade para *Sotalia guianensis*.

Figura 7. Plote dos dois primeiros componentes principais, onde infantes estão representados em vermelho, jovens em verde e adultos em azul.

Figura 8. Variação da forma do crânio (segundo componente principal) com a idade para *Sotalia guianensis*, onde infantes estão representados em vermelho, jovens em verde e adultos em azul.

Figura 9. Alteração da forma do crânio para o primeiro e segundo componente principal, estando os indivíduos correspondentes aos valores extremos negativos representados em cinza e extremos positivos em vermelho.

Figura 10. Alteração de posicionamento dos marcos 8 e 41 para indivíduos com diferentes valores de PC2.

Figura 11. Plote da função linear discriminante, onde os infantes estão representados pela letra a, jovens pela letra b e adultos pela letra c.

Figura 12. Variação de tamanho com a idade para face (A) e neurocrânio (B) de *Sotalia guianensis*.

Figura 13. Variação de forma com a idade para face (A) e neurocrânio (B) de *Sotalia guianensis*.

Figura 14. Variação de tamanho (A) e forma (B) com a idade para o pré-maxilar de *Sotalia guianensis*.

Figura 15. Variação de tamanho (A) e forma (B) com a idade para a região do parietal de *Sotalia guianensis*.

Figura 16. Variação de tamanho (A) e forma (B) com a idade para o côndilo occipital de *Sotalia guianensis*.

Figura 17. Variação de tamanho (A) e forma (B) com a idade para o basicrânio de *Sotalia guianensis*.

Figura 18. Forma craniana média de infantes, jovens e adultos (nesta ordem) nas vistas dorsal (A) e ventral (B).

Figura 19. Forma craniana média de infantes, jovens e adultos (nesta ordem) nas vistas lateral direita (A) e posterior (B).

Figura 20. Deposição óssea ao longo da ontogenia para o forame magno. Os crânios pertencem, respectivamente, aos espécimes: LAMAQ 1174 (0,5 ano), LAMAQ 1104 (4 anos), LAMAQ 1203 (9 anos), LAMAQ 1180 (25 anos) e as setas mostram o sentido da deposição óssea para cada classe etária. A seta vermelha mostra parte da cavidade do forame magno que ainda não foi preenchida.

Figura 21. Relação alométrica para o crânio de *Sotalia guianensis*.

Figura 22. Relação alométrica para face (A) e neurocrânio (B) de *Sotalia guianensis*.

Figura 23. Relação alométrica para o pré-maxilar (A), região do parietal (B), côndilo occipital (C) e basicrânio (D) de *Sotalia guianensis*.

Figura 24. Plote dos dois primeiros componentes principais, onde o lado direito do crânio está representado em azul e o lado esquerdo em verde.

Figura 25. Relação entre o segundo componente principal e o tamanho do centróide, onde o lado direito do crânio está representado em azul e o lado esquerdo em verde.

Figura 26. Relação entre o primeiro componente principal e a idade, onde o lado direito do crânio está representado em azul e o lado esquerdo em verde, para a amostra contendo infantes, jovens e adultos (A), somente infantes e jovens (B) e somente adultos (C).

Figura 27. Plote dos dois primeiros componentes principais da superposição dos quadrados mínimos para os lados direito e esquerdo do crânio.

Figura 28. Plote dos dois primeiros componentes principais da superposição dos quadrados mínimos para os lados direito e esquerdo das subunidades cranianas face (A) e neurocrânio (B).

Figura 29. Plote dos dois primeiros componentes principais da superposição dos quadrados mínimos para os lados direito e esquerdo das seguintes estruturas: pré-maxilar (A), região do parietal (B), côndilo occipital (C) e basicrânio (D).

Figura 30. Forma média dos hemicrânios esquerdo em verde e direito, espelhado sobre o esquerdo, em azul, em vista lateral.

Figura 31. Vista dorsal da forma média de parte da face, onde o lado esquerdo está representado em verde e o direito, espelhado sobre o esquerdo, em azul, sendo possível visualizar a diferença entre os lados para os maxilares e pré-maxilares.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Exemplares utilizados neste estudo (capítulo 1), com suas respectivas idades estimadas, onde fêmeas estão representadas pela letra F, machos pela letra M e indivíduos com sexo indeterminado pela letra I.

Tabela 2. Descrição dos marcos anatômicos.

Tabela 3. Marcos anatômicos correspondentes às estruturas cranianas estudadas.

Tabela 4. Valor da repetibilidade calculada para cada coordenada dos marcos anatômicos selecionados.

Tabela 5. Resultado da ANOVA entre idade e tamanho de centróide e da MANOVA entre idade e os dois primeiros componentes principais para diferentes estruturas cranianas analisadas.

Tabela 6. Características morfológicas para cada classe etária. Seguir o texto para informações mais detalhadas.

Tabela 7. Resultado da ANOVA entre tamanho de centróide e primeiro componente principal para diferentes estruturas cranianas analisadas.

Tabela 8. Exemplares utilizados neste estudo (capítulo 2), com suas respectivas idades estimadas, onde fêmeas estão representadas pela letra F, machos pela letra M e indivíduos com sexo indeterminado pela letra I.

Tabela 9. Resultado da ANOVA entre os lados e tamanho de centróide e da MANOVA entre os lados e os dois primeiros componentes principais para diferentes estruturas cranianas analisadas.

1. INTRODUÇÃO GERAL

O boto-cinza, *Sotalia guianensis* (van Bénédén, 1864), é um pequeno cetáceo comum no litoral brasileiro, que ocorre desde Honduras na América Central até o Estado de Santa Catarina no sul do Brasil (Geise e Borobia, 1987; Simões-Lopes, 1988; Borobia *et al.*, 1991; Monteiro-Filho *et al.*, 2006-a) e segundo Carvalho (1963), acompanha a distribuição dos manguezais. Pertence à subordem Odontoceti, a qual apresenta representantes com dentes, crânio assimétrico, ossos nasais atrofiados e maxilares que sobrepõe os frontais (Paula Couto, 1979). A família Delphinidae, na qual o boto-cinza é enquadrado, é a que apresenta o maior número de espécies e é caracterizada por uma forte depressão craniana, onde se aloja o melão, e também pela presença de um rostro bastante longo (Monteiro-Filho *et al.*, 2006-b). O crânio dos cetáceos sofreu um processo conhecido como teleoscopia, onde ossos da região anterior (como o maxilar e pré-maxilar) se deslocaram em direção posterior, encobrindo, algumas vezes, determinados ossos desta região como, por exemplo, o frontal (Miller, 1923; Simões-Lopes e Menezes, 2008). Este processo, segundo Rommel (1990), alterou o tamanho e a forma de diversos ossos do crânio.

Uma série de estudos envolvendo variação de tamanho craniano e corporal foram realizados com cetáceos odontocetos através da utilização da morfometria tradicional (Ness, 1967; Sergeant *et al.*, 1973; Miyazaki, 1980; Yurick e Gaskin, 1988; Borobia, 1989; Slooten, 1991; Galatius e Jesperen, 2005; Macleod *et al.*, 2007, entre outros). Porém, através da morfometria convencional nem sempre é possível descrever ou representar a variabilidade de forma dos organismos, uma vez que a forma, neste caso, está relacionada ao tamanho, sofrendo forte influência do mesmo. Informações sobre a forma craniana dos

odontocetos de maneira geral e especificamente de *Sotalia guianensis* são bastante escassas, existindo, até agora, apenas três estudos sobre alterações cranianas de forma envolvendo odontocetos, onde a mesma é analisada isoladamente do tamanho (Monteiro-filho *et al.*, 2002; Higa *et al.*, 2002, Amaral *et al.*, 2009). Sabe-se, contudo, que a forma também é um componente de extrema relevância para estudos morfométricos, uma vez que inúmeros processos biológicos geram alteração de forma entre os indivíduos ou entre suas estruturas. Além disso, a análise da forma pode revelar causas de variações e transformações morfológicas (Zelditch, 1992), o que torna necessário um estudo onde a variabilidade craniana de *S. guianensis* seja avaliada também por este fator.

Apesar da grande alteração de forma e tamanho sofrida por alguns ossos do crânio dos cetáceos (Rommel, 1990), seu crânio, assim como o dos demais mamíferos, pode ser subdividido em duas regiões principais, sendo elas face e neurocrânio (Porto, 2009). Esta divisão é feita com base no tecido de origem e desenvolvimento ósseo, sendo que as mesmas apresentam diferentes padrões de crescimento (Cheverud, 1982). Nos mamíferos eutérios o crescimento do neurocrânio se mostra precoce quando comparado à face, estando, na maioria das vezes, completamente formado no início da vida pós-natal, enquanto que a face mostra um desenvolvimento tardio, completando seu desenvolvimento posteriormente. Já para os mamíferos metatérios é possível verificar o padrão oposto, onde o neurocrânio apresenta um desenvolvimento tardio e a face um desenvolvimento precoce (Moore, 1981; Smith, 1996).

1.1 Morfometria geométrica

A morfometria geométrica (Bookstein 1991; Rohlf e Marcus, 1993) é uma técnica que vem sendo amplamente utilizada para comparação da forma de organismos e permite que as variações de forma sejam analisadas e testadas estatisticamente. Com a morfometria tradicional (sensu Marcus, 1990) a variação de forma é analisada através da correlação entre pares de medidas lineares, não utilizando nenhuma informação sobre a geometria da forma biológica estudada, apenas descrevendo o padrão de covariação entre as medidas (Moraes, 2004). Além disso, a mesma pode apresentar muitas vezes redundância de informação com a presença de medidas paralelas de uma mesma estrutura. A definição de forma mais utilizada em estudos de morfometria geométrica é: “todas as propriedades de uma configuração de pontos que não se alterem por efeitos de tamanho, posição e orientação” (Bookstein, 1989; Monteiro e Reis, 1999). Sendo assim, fica evidente que com o emprego da morfometria convencional a forma e o tamanho não podem ser analisados separadamente, uma vez que as informações de forma são dependentes e estão sujeitas ao efeito do tamanho (Monteiro e Reis, 1999).

Utilizando a morfometria geométrica é possível obter descrições independentes de forma e tamanho, o que não era obtido com a morfometria tradicional. A aquisição de dados em morfometria geométrica ocorre a partir de marcos anatômicos, pontos que são escolhidos em determinada estrutura e que podem trazer explicações sobre processos biológicos, além de evidenciar alterações morfológicas entre os organismos estudados (Monteiro e Reis, 1999). As coordenadas destes pontos de referência são capturadas, em duas ou em três dimensões, o que possibilita a determinação da posição exata de cada ponto e assim, a reconstrução geométrica da forma, a qual pode ser representada graficamente. A

remoção do efeito de tamanho sobre a forma é realizada através da padronização de todas as configurações para uma mesma medida de tamanho, além de eliminar efeitos de localização e orientação no espaço. Desta forma pode-se avaliar tanto o tamanho quanto a forma isoladamente (Monteiro e Reis, 1999; Moraes, 2004).

A superposição ortogonal dos quadrados mínimos, conhecida também como superposição de Procrustes (Rohlf e Slice, 1990) é uma técnica que faz a translação, o reescalonamento e a rotação da configuração de marcos anatômicos, a fim de diminuir a diferença existente entre as configurações e permitir assim, a verificação da real diferença existente entre elas, removendo efeitos de posicionamento e tamanho. Na superposição dos quadrados mínimos, todos os espécimes são superpostos a uma configuração de referência, conhecida também como configuração de consenso, que deve ser a configuração média da amostra (Monteiro e Reis, 1999; Moraes, 2004). Segundo Rohlf (1998), é necessário que a configuração de consenso utilizada seja a média de todas as configurações, uma vez que deste modo, evita-se um desvio de localização no espaço da forma, gerando-se uma distribuição homogênea das configurações em torno da configuração média. Assim sendo, a forma média ocupa o lugar mais equidistante possível de todas as configurações da amostra, fazendo com que a diferenciação de forma verificada seja a menor possível (Moraes, 2004).

O centróide, ponto médio de uma configuração de pontos, é o ponto cujas coordenadas são as médias de todas as coordenadas da configuração. A distância de Procrustes entre dois indivíduos é medida através da soma dos quadrados das distâncias entre cada marco anatômico das duas configurações. Já a medida de tamanho utilizada para redimensionar as configurações é conhecida como tamanho do centróide, a qual é calculada

como a raiz quadrada da soma dos quadrados das distâncias entre cada ponto da configuração analisada e o ponto correspondente da configuração de referência. Sendo assim, quanto maior for a configuração, maior será a distância entre cada ponto e o seu centróide, resultando em um alto valor de tamanho de centróide (Monteiro e Reis, 1999; Moraes, 2004; Clemente-Carvalho, 2005).

Com a utilização desta técnica, tanto a forma quanto o tamanho craniano podem ser analisados a partir de componentes representativos de forma e tamanho, sendo eles os componentes principais e o tamanho do centróide, respectivamente. É esperado que as variáveis morfométricas, tanto as geométricas como as tradicionais, sejam correlacionadas. Isto porque são marcos anatômicos ou medidas com alguma ligação funcional, genética ou de desenvolvimento. A análise de componentes principais (PCA - principal component analysis) é realizada de maneira que as coordenadas originais sejam padronizadas, através da translação, reescalonamento e rotação, com relação a uma configuração de referência, gerando um novo banco de dados. A partir das novas coordenadas alinhadas, uma nova matriz de variância entre as coordenadas é gerada, sob a qual será realizada a análise dos componentes principais. Com este processo, as variáveis originais são substituídas por novas variáveis, os componentes principais (PCs - principal components), os quais são independentes entre si. O objetivo desta análise é facilitar a interpretação dos dados, uma vez que o novo conjunto de variáveis representa a covariação entre as variáveis originais e a variação da amostra pode ser descrita, frequentemente, com poucos PCs, o que simplifica a variação que deve ser explorada (Zelditch, 1992). Os componentes principais representam os eixos de maior variação no espaço de forma, os quais normalmente não são os mesmos eixos utilizados para representar os dados inicialmente. Sendo assim, a análise dos

componentes principais também facilita a visualização do conjunto de dados e a investigação de padrões entre eles, quando estes estão presentes. Os valores utilizados são aqueles encontrados ao longo de cada um dos eixos e representam a projeção de cada indivíduo em determinado componente principal (Monteiro e Reis, 1999).

Além disso, com a morfometria geométrica é possível verificar diferenças na forma para regiões específicas de alguma estrutura, podendo-se isolar, por exemplo, determinado osso do crânio, a partir da seleção prévia de marcos anatômicos que representem bem cada região da configuração estudada. Com isso, uma análise exploratória de cada região ou subunidade em questão pode ser realizada, em busca de diferentes padrões de forma (Rohlf e Marcus, 1993; Moraes, 2003).

Nos capítulos seguintes, as variações de forma e tamanho do crânio de *Sotalia guianensis* serão abordadas ao longo da sua ontogenia e também com relação à assimetria direcional.

2.CAPÍTULO 1: Estudo da Ontogenia Craniana de *Sotalia guianensis*.

2.1 INTRODUÇÃO

Os estudos de ontogenia buscam verificar as alterações sofridas por determinado organismo ao longo de seu desenvolvimento, sendo que, para analisar alterações morfológicas ao decorrer da ontogenia, é ideal que sejam utilizados os componentes forma e tamanho (Gould, 1977; Zelditch *et al.*, 1992; Hingst-Zaher *et al.*, 2000; Penin *et al.*, 2002; Berge e Penin, 2004; Jorgensen e Sheil, 2008; entre outros). Como discorrido anteriormente, utilizando a morfometria geométrica é possível obter descrições independentes de forma e tamanho, o que não é possível com o emprego da morfometria tradicional (Monteiro e Reis, 1999; Moraes, 2004). Sendo assim, a utilização da morfometria geométrica em estudos de ontogenia permite que sejam obtidos componentes independentes de forma e de tamanho, sendo possível analisar as alterações ontogenéticas de ambos os fatores, as quais podem apresentar diferenciações (Berge e Penin, 2004; Zelditch, 2004). Ainda, as relações alométricas (relação entre forma e tamanho) podem ser estudadas, verificando-se puramente a alteração de forma relacionada à alteração de tamanho (Zelditch, 2004), além de ser possível localizar e comparar, de maneira gráfica e visual, a variabilidade ontogenética entre diferentes regiões da estrutura em estudo (Monteiro e Reis, 1999; Hingst-Zaher *et al.*, 2000).

O componente genético apresenta uma grande influência na regulação e nos padrões de crescimento durante o desenvolvimento do indivíduo. Contudo, a ontogenia pode ser influenciada também por variações e pressões ambientais, exibindo uma resposta plástica às condições locais (Atchley, 1984; Sebens, 1987). A regulação ontogenética realizada pelo

controle genético ocorre pela ativação ou repressão de determinados genes, os quais podem alterar a atividade metabólica, composição química e tamanho das células, gerando flutuações enzimáticas e hormonais, deposição de proteínas e gorduras e, por fim, o crescimento do organismo. A duração do processo de desenvolvimento e crescimento, assim como o período de ocorrência de passos críticos no processo ontogenético, é determinado pela regularidade dos ciclos de atividade gênica (Atchley, 1984). Por outro lado, condições ambientais como temperatura, disponibilidade de alimento, densidade populacional, ou até mesmo status social, podem influenciar os processos ontogenéticos, provocando aumento ou redução de crescimento, ou inibindo, por exemplo, o desenvolvimento de determinada estrutura. (Pough, 1980; Sebens, 1987; Begon *et al.*, 2007; Carroll, 2006).

O primeiro passo, porém, para a realização de pesquisas envolvendo ontogenia morfológica pós-natal é determinar a idade ou classe etária dos indivíduos contidos na amostra, para então analisar as diferenças morfológicas conforme o tempo de vida dos mesmos.

Estudos de estimativa de idade de cetáceos odontocetos vêm sendo realizados desde a década de 1950, quando Nishiwaki e Yagi (1953) demonstraram a possibilidade da utilização da técnica de contagem de camadas anuais de crescimento (GLG - “growth layer group”) nos dentes desses animais, logo após Scheffer, em 1950, ter demonstrado o mesmo para pinípedes. As camadas de crescimento são formadas pela deposição contínua de dentina e de cimento, tecidos que podem mostrar registros dos processos do desenvolvimento destes animais (Della Serra e Ferreira, 1979; Cate, 2001). A partir do número de camadas de crescimento e sua correlação com a idade já conhecida do animal,

pode se estabelecer o número de anos que correspondem a uma camada de crescimento para cada espécie (Hohn, 1990). Para *Sotalia guianensis*, cada camada tem sido considerada como correspondente a um ano, podendo ser estabelecido também, meio ano para a última GLG que não estiver completamente formada (Rosas, 2000; Rosas *et al.*, 2003; Ramos *et al.*, 2008). Além disso, para esta espécie, as classes etárias podem ser definidas com base no grau de maturidade sexual, sendo que indivíduos com até cinco anos são considerados imaturos sexualmente e indivíduos com idade a partir de seis anos, maduros sexualmente (Schmiegelow, 1990; Ramos *et al.*, 2000; Rosas e Monteiro-Filho, 2002).

Uma série de estudos sobre ontogenia já foi realizada com cetáceos odontocetos através da utilização da morfometria convencional (Kasuya, 1972; Sergeant *et al.*, 1973; Kasuya e Brownell, 1979; Miyazaki, 1980; Slooten, 1991; Barreto, 1995). Especificamente para *Sotalia guianensis*, sabe-se que o mesmo atinge seu tamanho máximo entre cinco (Borobia, 1989) e sete (Ramos *et al.*, 2000) anos de idade, sendo que o padrão encontrado é o mesmo para machos e fêmeas desta espécie (Borobia, 1989; Ramos *et al.*, 2000). Simões-Lopes e Menezes (2008) verificaram ainda, uma série de diferenças morfológicas entre crânios de indivíduos infantes e adultos, como por exemplo: - grau de fuscionamento dos ossos, onde indivíduos infantes apresentam suturas aparentes ou parcialmente fusionadas; - presença ou ausência de cristas, onde indivíduos adultos normalmente apresentam cristas desenvolvidas (como a supra-occipital e a temporal); - impossibilidade de visualização de determinados ossos, como por exemplo, dorsalmente, os frontais, os quais passam a ficar encobertos pelos maxilares em indivíduos mais velhos.

Todavia, apesar da existência de informações sobre o comportamento do tamanho com relação à idade para *S. guianensis*, geradas através dos estudos de morfometria, e dos estudos morfológicos de observação qualitativa, informações sobre alterações da forma ao longo da ontogenia são raras. Sendo assim, sabendo-se que a forma é um componente bastante importante para estudos morfométricos (Zelditch, 1992), fica evidente a necessidade de um estudo onde a ontogenia seja avaliada também por este fator.

Além de verificar a diferenciação de forma e tamanho com relação à idade para estudos de ontogenia, é possível investigar também padrões que se alterem ao longo do desenvolvimento do animal. A alometria, por exemplo, é analisada através do estudo da relação entre forma e tamanho. É esperado que a alometria esteja presente nos indivíduos, uma vez que jovens normalmente apresentam padrões ecológicos diferentes dos adultos, podendo mostrar diferentes estratégias alimentares, modo de deslocamento ou comportamento, por exemplo. Sendo assim, indivíduos melhores adaptados ao seu ambiente tendem a apresentar alterações de forma associadas às alterações de tamanho, o que permite a adaptação contínua ao meio durante o crescimento, aumentando consequentemente seu valor adaptativo.

Além disso, outra questão que pode ser investigada com relação à ontogenia é a alteração nos padrões de assimetria craniana direcional, a qual é característica de cetáceos odontocetos e é discutida detalhadamente no segundo capítulo desta dissertação. É possível que o grau de assimetria aumente ou diminua com o crescimento dos indivíduos, podendo ser mais marcada em indivíduos jovens ou em adultos. Segundo Simões-Lopes e Menezes (2008), o pré-maxilar direito, diferentemente do esquerdo, pode alcançar o nasal em alguns

casos, porém só em indivíduos adultos. Tal fato gerou a hipótese, no presente estudo, de que a assimetria se acentua ao longo do desenvolvimento.

Ainda, sabendo-se que em mamíferos eutérios o desenvolvimento da face é tardio com relação ao neurocrânio (Moore, 1981; Smith, 1996), as subunidades do crânio, assim como algumas estruturas cranianas específicas, podem ser analisadas isoladamente, a fim de investigar a existência de diferenças nos padrões de desenvolvimento entre as mesmas. Como o desenvolvimento do neurocrânio é mais acelerado que o da face, estando quase totalmente desenvolvido já no momento do nascimento do animal, é possível que maiores alterações, tanto de forma quanto de tamanho, com o passar da idade, sejam verificadas na face e nas estruturas pertencentes a esta subunidade. Entender a integração ontogenética entre as unidades cranianas é extremamente relevante para estudos evolutivos do crânio, assim como para a compreensão das trajetórias ontogenéticas cranianas (Zelditch, 1992).

Desta maneira, este estudo se propôs a analisar a ontogenia craniana em *Sotalia guianensis*, utilizando a morfometria geométrica como ferramenta, a fim de verificar e representar visual e graficamente as alterações de forma e de tamanho no decorrer do desenvolvimento. Além disso, buscou-se também investigar alterações em padrões de alometria e assimetria ao longo do desenvolvimento, através da análise do crânio como um todo, assim como de suas subunidades de desenvolvimento e de estruturas cranianas específicas.

2.1.1 Objetivos:

-Analisar o comportamento da forma e do tamanho craniano de *Sotalia guianensis* ao longo da ontogenia, buscando verificar o momento em que estes componentes se estabilizam ao longo do desenvolvimento, e também a possibilidade de diferenciação de classes etárias através da forma craniana.

-Verificar a presença de um padrão alométrico para o crânio de *S. guianensis*, assim como para as subunidades e estruturas cranianas, investigando a existência de diferenças nos padrões de alometria entre as mesmas.

-Analisar a assimetria craniana direcional desta espécie ao longo da ontogenia, buscando verificar alterações no grau de assimetria conforme a classe etária, investigando um suposto aumento de assimetria em indivíduos mais velhos.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Amostra

Para este estudo, foi utilizado um total de 67 crânios de *Sotalia guianensis* depositados nas seguintes instituições: Instituto de Pesquisa em Cananéia (IPEC), Laboratório de Mamíferos Aquáticos (LAMAQ/UFSC) e Museu de Ciências Naturais da Universidade Federal do Paraná (MCN/UFPR) (Tab. 1). Foram utilizados somente indivíduos cuja idade era conhecida, uma vez que este era um dado imprescindível para o estudo. Além disso, muitos dos crânios disponíveis nas coleções apresentavam a extremidade do rosto quebrada ou então a ausência de algum osso, o que impossibilitou a utilização dos mesmos neste estudo, limitando o número de espécimes possíveis de serem analisados em 67.

Como a ausência de dimorfismo sexual já foi observada para *Sotalia guianensis* (Borobia, 1989) e não foi detectada por Monteiro-Filho *et al.* (2002), os espécimes de ambos os sexos e com sexo indeterminado foram analisados em conjunto. Além disso, Monteiro-Filho *et al.* (2002) verificaram a inexistência de diferenciação morfométrica entre indivíduos com ocorrência nas regiões Sul, Sudeste e Nordeste, o que fez com que os espécimes com diferentes áreas de distribuição fossem também analisados em conjunto. Estes espécimes tiveram suas idades determinadas através da contagem das camadas anuais de crescimento do dentes por Rosas *et al* (2003), Ramos *et al.* (2008) e Sydney e Monteiro-Filho (submetido) e as classes etárias foram definidas conforme a maturidade sexual, além de ser estabelecida uma nova classe, na tentativa de diferenciar infantes com menos de um ano de idade.

Tabela 1. Exemplares utilizados neste estudo, com suas respectivas idades estimadas, onde fêmeas estão representadas pela letra F, machos pela letra M e indivíduos com sexo indeterminado pela letra I.

Exemplar	Idade	Sexo
IPEC011	1	F
IPEC018	30	F
IPEC029	17	F
IPEC061	11	F
IPEC067	27	F
IPEC023	8	M
IPEC121	10	M
IPEC099	14	M
IPEC116	0,8	F
IPEC137	0,4	F
IPEC027	0,25	M
IPEC086	0,75	F
IPEC013	13	M
IPEC022	6	M
IPEC128	2	M
IPEC131	1	F
IPEC076	15	F
IPEC091	5	M
IPEC073	25	F
IPEC040	21	M
IPEC063	0	M
IPEC070	0,5	M
IPEC072	0,6	M
MCN004	12	I
MCN028	3	M
MCN031	31	F
MCN042	24	F
MCN044	4	I
MCN027	15	M
MCN060	18	M
MCN013	29	I
MCN010	13	F
MCN112	2	I
MCN019	4	F

Exemplar	Idade	Sexo
MCN071	3	M
MCN072	23	M
MCN135	20	M
MCN091	7	F
MCN049	1,5	I
MCN110	9	F
MCN114	7	I
MCN113	26	F
MCN025	5	I
MCN055	6	I
MCN050	11	I
MCN086	17	I
LAM1218	20	F
LAM1219	15	F
LAM1223	1	M
LAM1226	5,5	M
LAM1083	12	M
LAM1079	17	F
LAM1180	25	F
LAM1208	20	F
LAM1175	19	M
LAM1178	1,5	M
LAM1179	1,5	M
LAM1203	9	F
LAM1108	11	M
LAM1130	9	F
LAM1073	8	I
LAM1082	10,5	M
LAM1222	4,5	M
LAM1174	0,5	M
LAM1236	1	F
LAM1104	4	F
LAM1239	2	M

2.2.2 Marcos Anatômicos

Inicialmente foram definidos os marcos anatômicos, pontos que são escolhidos em determinada estrutura e que podem trazer explicações sobre processos biológicos, além de evidenciar alterações morfológicas entre os organismos estudados (Monteiro e Reis, 1999). No total foram selecionados 61 marcos, sendo 18 para a região dorsal, 19 para a região ventral, 14 para a região lateral e 10 para a região do côndilo occipital (Fig.1). O crânio foi dividido nessas quatro regiões, para facilitar a visualização e a captura dos marcos anatômicos. Os pontos escolhidos estão descritos na tabela 2 e foram selecionados de maneira que permitisse a abrangência e representação de todo o crânio.

Para análise do crânio foram utilizados apenas 22 dos 61 pontos, com o objetivo de reduzir o número de variáveis, tornando-o mais compatível com o tamanho amostral. Os marcos selecionados para representar o crânio, assim como as demais subunidades e estruturas cranianas, estão descritos na tabela 3 e foram determinados com base em Simões-Lopes (2006), Simões-Lopes e Menezes (2008) e Porto (2009).

Figura 1. Marcos anatômicos selecionados, em vistas dorsal, ventral, lateral direita e posterior em um exemplar de *Sotalia guianensis* (MZSP 036).

Tabela 2. Descrição dos marcos anatômicos.

VISTA DORSAL

- 1 e 34- extremidade anterior do pré-maxilar (direito e esquerdo)
- 2 e 35 - extremidade anterior da porção do maxilar que encobre o lacrimal (direito e esquerdo)
- 3 e 36 - extremidade lateral do pré-maxilar (direito e esquerdo)
- 4 e 37 - extremidade medial do pré-maxilar (direito e esquerdo)
- 5 e 38 - extremidade posterior do pré-maxilar (direito e esquerdo)
- 6 e 39 - extremidade medial do maxilar (direito e esquerdo)
- 7 e 40 - extremidade medial do parietal (direito e esquerdo)
- 8 e 41 - extremidade posterior do maxilar (direito e esquerdo)
- 9 - ponto médio do nasal
- 10 – ponto de encontro da crista occipital com a crista medial

VISTA VENTRAL

- 11 e 42 - extremidade posterior da curvatura do lacrimal (direito e esquerdo)
- 12 e 43 - extremidade anterior da curvatura do jugal (direito e esquerdo)
- 13 e 44 - extremidade ventral do lacrimal (direito e esquerdo)
- 14 e 45 - extremidade ventro-anterior da fossa mandibular (direito e esquerdo)
- 15 e 46 - extremidade ventro-posterior da fossa mandibular (direito e esquerdo)
- 16 e 47- extremidade medial da fossa mandibular (direito e esquerdo)
- 17 e 48 - extremidade lateral da crista basioccipital (direito e esquerdo)
- 18 e 49 - Intersecção entre ossos frontal, parietal e alisfenóide (direito e esquerdo)
- 19 e 50 - Extremidade anterior da asa do pterigóide (direito e esquerdo)
- 20- ponto médio da extremidade posterior do vômer

VISTA LATERAL

- 21 e 51 – extremidade dorso-posterior da curvatura do parietal (direito e esquerdo)
- 22 e 52 - encontro da curvatura do parietal com a curvatura da crista supraoccipital (direito e esquerdo)
- 23 e 53 - extremidade anterior da curvatura do frontal, na região do parietal (direito e esquerdo)
- 24 e 54 - extremidade ventral do processo pós-orbital do frontal (direito e esquerdo)
- 25 e 55 – extremidade anterior do esquamosal (direito e esquerdo)
- 26 e 56 - encontro da sutura esquamosal basioccipital com a curvatura do esquamosal (direito e esquerdo)
- 27 e 57 - extremidade dorsal da fenda do pterigóide (direito e esquerdo)

VISTA POSTERIOR

- 28 e 58- extremidade ventral do côndilo occipital (direito e esquerdo)
- 29 e 59- extremidade lateral do côndilo occipital (direito e esquerdo)
- 30 e 60- extremidade dorsal do côndilo occipital (direito e esquerdo)
- 31 e 61- extremidade medial do forame magno (direito e esquerdo)
- 32- extremidade superior do forame magno
- 33- extremidade inferior do forame magno

Tabela 3. Marcos anatômicos correspondentes às estruturas cranianas estudadas.

ESTRUTURA	VISTAS DO CRÂNIO			
	Dorsal	Ventral	Lateral	Posterior
Crânio	1,5,7,8,9,10,34,38,40,41	11,17,18,42,48,49	21,23,27,51,53,57	
Face	1,2,3,4,5,6,8,9,34,35, 36,37,38,39,41		23,53	
Neurocrânio	7,10,40	17,18,20,48,49	21,22, 51,52	28,29,30,32,33,58,59,60
Osso pré-maxilar	1,3,4,5,34,36,37,38			
Região do parietal			21,22,23,24,25,26,51,52, 53,54,55,56	
Côndilo occipital				28,29,30,31,32,33,58, 59,60,61
Basicrânio		17,18,19,20,48,49,50		33
Hemicrânio direito	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10	11,12,13,14,15,16,17, 18,19,20	21,22,23,24,25,26,27	28,29,30,31,32,33
Hemicrânio esquerdo	34,35,36,37,38,39,40, 41,9,10	42,43,44,45,46,47,48, 49,50,20	51,52,53,54,55,56,57	58,59,60,61,32,33

2.2.3 Digitalização e tratamento geométrico

Os crânios foram digitalizados utilizando-se um braço articulado digitalizador modelo MicroScribe®-3D (Immersion Corporation – San Jose, CA, United States of America), o qual apresenta em sua extremidade uma ponteira digitalizadora (Fig. 2), pela qual são obtidas as coordenadas de cada ponto. A partir da digitalização dos marcos anatômicos de cada crânio é gerado um conjunto de dados com as coordenadas em três dimensões de cada configuração em um programa de planilha eletrônica.

Entretanto, antes da captura efetiva dos pontos a serem utilizados neste estudo, um teste de repetibilidade foi realizado através da digitalização de 25 espécimes, com três repetições para cada, a fim de verificar a existência de desvios em qualquer marco anatômico e a confiabilidade das configurações que seriam obtidas. O teste de repetibilidade mostra quanto da diferenciação encontrada está ocorrendo devido à real diferença que existe entre as estruturas, e não a um erro de digitalização, e foi calculado através de uma análise de variância (ANOVA). O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$ e intervalo de confiança de 90%; e foi realizado através do programa R v.2.9.1 (R Development Core Team 2009).

Ainda com auxílio do mesmo programa, as configurações de pontos foram superpostas pela técnica de superposição ortogonal dos quadrados mínimos, conhecida também como superposição de Procrustes (Rohlf e Slice, 1990). Esta faz a translação, o reescalonamento e a rotação da configuração de marcos anatômicos, a fim de diminuir o somatório do quadrado das distâncias entre a configuração de referência e os marcos correspondentes. Este processo tem de ser realizado para reduzir a diferença existente entre

as configurações e permitir assim, a verificação da diferença real existente entre elas, tirando efeitos de posicionamento e tamanho. Na superposição dos quadrados mínimos, todos os espécimes são superpostos a uma configuração de referência, representada pela configuração média da amostra. A Função propGPA, do pacote Shapes v1.1-3 (Dryden, 2009) do programa R v.2.9.1, foi empregada para obtenção do tamanho do centróide e dos componentes principais da configuração, ou seja, os componentes de tamanho e forma da amostra, respectivamente. Além disso, na análise de objetos em três dimensões, sete graus de liberdade são perdidos após a superposição de Procrustes (três devido a translação, um ao reescalonamento e três a rotação), e devem ser removidos. Segundo Dryden e Mardia (1998), este problema pode ser resolvido reduzindo a dimensionalidade da amostra, através, por exemplo, da análise dos componentes principais.

Figura 2. A. Braço digitalizador MicroScribe®-3D. B. Ponteira, pela qual as coordenadas são obtidas. (Imagens cedidas por Fernanda Hofmann)

2.2.4 Análises

Todas as análises foram realizadas com auxílio do programa R v.2.9.1 (R Development Core Team, 2009). Para a representação e visualização das configurações em 3D foram utilizados os programas R v.2.9.1 e Morpheus (Slice, 2002).

2.2.4.1 Ontogenia com relação à forma e ao tamanho

Finalizado o tratamento geométrico, foi realizada uma análise multivariada de variância (MANOVA), entre idade e os dois primeiros componentes principais e uma análise de variância (ANOVA), entre idade e o tamanho do centróide, para verificar a existência de alterações de forma e de tamanho conforme a idade. A idade foi transformada e trabalhada como logaritmo para realização das análises, uma vez que possibilitou uma boa aproximação de uma relação linear.

Posteriormente, as mesmas análises foram realizadas, porém avaliando as duas principais subunidades do crânio (face e neurocrânio) separadamente, assim como determinadas regiões e estruturas cranianas específicas (pré-maxilar, região do parietal, côndilo occipital e basicrânio), as quais estão descritas na tabela 3, na busca de padrões de diferenciação que não houvessem sido observados através da análise completa do crânio.

Foi examinada a relação entre primeiro e segundo componentes principais a fim de verificar a existência de diferenciação entre as classes etárias por estes componentes. Em seguida uma análise discriminante foi realizada, através de uma função linear discriminante, na tentativa de visualizar uma maior diferenciação entre as classes. Para verificar a confiabilidade desta discriminação, foi realizada uma análise de validação cruzada, na qual um indivíduo é retirado da amostra, a análise discriminante é realizada sem o mesmo, e em

seguida ele é reclassificado, resultando na probabilidade de um indivíduo ser reclassificado corretamente. A análise discriminante e a análise de validação cruzada foram realizadas com auxílio da função `lda`, do pacote MASS (Venables e Ripley, 2002) do programa R v.2.9.1.

2.2.4.2 Alometria

A existência de alometria craniana foi explorada através de uma análise univariada de variância (ANOVA) entre tamanho e forma, tanto para o crânio completo, como para as estruturas e subunidades cranianas, na busca de diferentes padrões alométricos para diferentes regiões do crânio.

2.2.4.3 Assimetria direcional com relação à ontogenia.

Em uma última etapa foi analisada a relação entre a assimetria direcional e a ontogenia, a fim de verificar a existência de aumento ou diminuição de assimetria conforme a idade. Para isso, o crânio foi analisado separadamente conforme os lados esquerdo ou direito e cada hemicrânio foi trabalhado com sendo uma estrutura única. Para que a superposição dos lados e posterior comparação entre os mesmos pudesse ser realizada, um foi espelhado em relação ao outro, processo descrito no segundo capítulo desta dissertação. A verificação da presença de assimetria de tamanho foi realizada através de uma ANOVA entre tamanho do centróide e os lados, enquanto que a análise de assimetria de forma foi realizada através de uma MANOVA entre os dois primeiros componentes principais e os lados.

2.3 RESULTADOS

A repetibilidade foi calculada para cada um dos 61 marcos anatômicos, sendo que o menor valor encontrado foi 0.91, o que está de acordo com o intervalo de confiança proposto. A Tabela 4 mostra o resultado da repetibilidade para cada coordenada (x, y e z) de cada um dos 61 marcos anatômicos.

Os dois primeiros componentes principais da superposição explicaram 59.26% da variação total de forma na amostra, sendo o primeiro responsável por 43,61% e os segundo por 15,65%. A figura 3 mostra em vista ventral, dorsal, posterior e lateral esquerda, a forma média dos crânios analisados.

Tabela 4. Valor da repetibilidade calculada para cada coordenada dos marcos anatômicos selecionados.

Repetibilidade							
Marco anatômico	Coordenadas			Marco anatômico	Coordenadas		
	X	Y	Z		X	Y	Z
1	0,975848	0,979747	0,956294	32	0,996722	0,961535	0,996605
2	0,965627	0,987591	0,994113	33	0,993863	0,955252	0,992949
3	0,982032	0,990568	0,971235	34	0,998422	0,993994	0,99719
4	0,993045	0,955305	0,985588	35	0,987829	0,98122	0,990396
5	0,974213	0,971135	0,990666	36	0,99041	0,990072	0,983031
6	0,989487	0,984328	0,978357	37	0,99236	0,952716	0,975304
7	0,992676	0,990393	0,992853	38	0,985352	0,971824	0,99786
8	0,987384	0,959458	0,95139	39	0,98688	0,988228	0,96901
9	0,953208	0,93929	0,923819	40	0,972502	0,996551	0,994502
10	0,995694	0,98729	0,989942	41	0,974656	0,986697	0,987893
11	0,966145	0,927789	0,967057	42	0,951617	0,914111	0,985594
12	0,960941	0,975653	0,975264	43	0,971471	0,985754	0,974234
13	0,956844	0,95062	0,941665	44	0,980077	0,953169	0,988121
14	0,951182	0,914115	0,962273	45	0,966411	0,951554	0,992758
15	0,978757	0,931712	0,961594	46	0,976724	0,900814	0,994608
16	0,962515	0,965394	0,977812	47	0,970425	0,969791	0,987807
17	0,974726	0,987215	0,97186	48	0,982959	0,983407	0,958088
18	0,98553	0,990075	0,974658	49	0,995171	0,997651	0,992841
19	0,985902	0,967621	0,98975	50	0,990568	0,972839	0,989009
20	0,998276	0,953739	0,988466	51	0,988186	0,996906	0,980237
21	0,984125	0,982649	0,969996	52	0,983169	0,992995	0,986824
22	0,967484	0,994347	0,98065	53	0,975116	0,95601	0,93789
23	0,967993	0,956826	0,940583	54	0,991986	0,963453	0,992978
24	0,983676	0,957038	0,927834	55	0,984965	0,929315	0,974038
25	0,979034	0,928276	0,960323	56	0,975403	0,983578	0,973619
26	0,973016	0,971496	0,952294	57	0,99544	0,994455	0,994956
27	0,994124	0,995833	0,992235	58	0,973971	0,970073	0,97941
28	0,944718	0,957492	0,972502	59	0,986204	0,967748	0,964764
29	0,930123	0,940055	0,965162	60	0,996662	0,987442	0,993186
30	0,98731	0,975764	0,970782	61	0,985562	0,996928	0,977613
31	0,983636	0,986186	0,981984

Figura 3. Forma média dos crânios amostrados, em vistas: ventral (a), dorsal (b), posterior (c) e lateral esquerda (d).

2.3.1 Ontogenia com relação à forma e ao tamanho

- Ontogenia com relação à forma e ao tamanho para o crânio.

Através da análise de variância (ANOVA) realizada entre tamanho do centróide e logaritmo da idade verificou-se que existe uma relação significativa entre os mesmos ($F = 239.04$ e $P < 2.2e-16$). A figura 4 ilustra o aumento do tamanho do centróide com o aumento da idade, mostrando que o tamanho do indivíduo aumenta até cerca de 8 anos. A relação entre tamanho do centróide e o logaritmo da idade pode ser verificada na figura 5, na qual fica evidenciada uma relação próxima à linear, a qual permite a realização das análises. A análise multivariada de variância (MANOVA), também mostrou uma relação significativa entre os dois primeiros componentes principais e o logaritmo da idade do

indivíduo (Wilks' Lambda = 0.322 e $P < 2.2e-16$), sendo que a figura 6 mostra a alteração do primeiro componente principal conforme a idade. É possível perceber, que assim como para o tamanho, a forma se altera ao longo do desenvolvimento até cerca de oito anos.

Figura 4. Variação do tamanho do crânio (tamanho do centróide) com a idade para *Sotalia guianensis*.

Figura 5. Variação do tamanho do crânio (tamanho do centróide) com o logaritmo de idade para *Sotalia guianensis*

Figura 6. Variação da forma do crânio (primeiro componente principal) com a idade para *Sotalia guianensis*.

O gráfico mostrando a relação entre os dois primeiros componentes principais mostra uma curva onde os indivíduos estão diferenciados quanto às classes etárias, sendo elas: menos de um ano ou infantes (vermelho), entre um e cinco anos ou jovens (verde) e a partir de seis anos ou adultos (azul) (Fig. 7). Pode-se notar que o primeiro componente é o principal responsável pela diferenciação de forma entre infantes e adultos.

Com relação ao segundo componente principal, não foi verificada uma clara diferenciação entre as classes etárias, o que pode ser visualizado também na figura 8. Porém, na figura 7 pode-se observar que um pequeno grupo de indivíduos apresenta valores mais altos de PC2, o que parece diferenciá-los do restante da amostra. Este subgrupo é formado apenas por indivíduos infantes e adultos, sendo que os jovens tendem a apresentar valores mais baixos no eixo do PC2.

Figura 7. Plote dos dois primeiros componentes principais, onde infantes estão representados em vermelho, jovens em verde e adultos em azul.

Figura 8. Variação da forma do crânio (segundo componente principal) com a idade para *Sotalia guianensis*, onde infantes estão representados em vermelho, jovens em verde e adultos em azul.

Na figura 9 é possível notar as principais alterações causadas na forma do crânio com relação ao PC1 e ao PC2. As alterações no eixo do primeiro componente principal, relacionadas principalmente à ontogenia, têm o indivíduo com o valor mais alto de PC1 representado em vermelho (indivíduo muito novo – IPEC027) e o indivíduo com o valor mais baixo em cinza (indivíduo bastante velho – MCN072). Para o PC2, observa-se que o acréscimo de informação, ou seja, uma variação maior do que aquela gerada pelo PC1, ocorre somente para os marcos 8 e 41, extremidade medial do parietal dos lados direito e esquerdo. O mesmo apresenta um posicionamento lateral para indivíduos com valores altos de PC2 (representado em vermelho), medial para indivíduos com valores baixos de PC2

(representado em cinza) e com posicionamento intermediário para indivíduos com valores de PC2 próximos a zero, como pode ser visualizado na figura 10.

Figura 9. Alteração da forma do crânio para o primeiro e segundo componente principal, estando os indivíduos correspondentes aos valores extremos negativos representados em cinza e extremos positivos em vermelho.

Como as classes etárias não puderam ser claramente diferenciadas através da análise de componentes principais, uma análise discriminante foi realizada na tentativa de verificar uma maior diferenciação entre as mesmas. Com a análise discriminante todos os indivíduos foram separados corretamente nas classes etárias correspondentes, como pode ser visualizado na figura 11.

Figura 10. Alteração de posicionamento dos marcos 8 e 41 para indivíduos com diferentes valores de PC2.

Figura 11. Plote da função linear discriminante, onde os infantes estão representados pela letra a, jovens pela letra b e adultos pela letra c.

Porém, a análise de validação cruzada mostrou que a probabilidade de reclassificação correta de um indivíduo é muito baixa, sendo que, em média, apenas 32,3 dos 67 indivíduos foram reclassificados corretamente, o que resulta em uma probabilidade de reclassificação correta inferior a 50%.

- Ontogenia com relação à forma e ao tamanho para as subunidades cranianas.

Quando as subunidades foram avaliadas isoladamente, a relação entre logaritmo de idade e tamanho foi significativa tanto para a face ($F = 201.4$ e $P < 2.2e-16$) quanto para o neurocrânio ($F = 221.35$ e $P < 2.2e-16$) (Fig. 12). Do mesmo modo, a relação entre forma e idade pode ser verificada em ambas as subunidades, apesar de a mesma não ter sido tão evidente para o neurocrânio como foi para face, sendo os valores: Wilks' Lambda = 0.358 e $P = 8.62e-15$ para a face e Wilks' Lambda = 0.356 e $P = 4.52 e-15$ para o neurocrânio (Fig. 13).

Figura 12. Variação de tamanho com a idade para face (A) e neurocrânio (B) de *Sotalia guianensis*.

Figura 13. Variação de forma com a idade para face (A) e neurocrânio (B) de *Sotalia guianensis*.

- Ontogenia com relação à forma e ao tamanho para estruturas cranianas específicas.

Partindo para a análise de estruturas específicas do crânio, foi verificada uma relação significativa entre log de idade e tamanho de centróide (através de uma ANOVA), assim como entre log de idade e forma (através de uma MANOVA), para todas as estruturas cranianas estudadas, conforme a tabela 5.

Tabela 5. Resultado da ANOVA entre idade e tamanho de centróide e da MANOVA entre idade e os dois primeiros componentes principais para diferentes estruturas cranianas analisadas.

Estrutura	ANOVA	MANOVA
Pré-maxilar	F = 193.70 e P < 2.2e-16	Wilks' Lambda = 0.304 e P < 2.2e-16
Região do parietal	F = 221.08 e P < 2.2e-16	Wilks' Lambda = 0.415 e P = 5.841e-13
Côndilo occipital	F = 81.579 e P = 4.349e-13	Wilks' Lambda = 0.251 e P < 2.2e-16
Basicrânio	F = 171.94 e P < 2.2e-16	Wilks' Lambda = 0.267 e P < 2.2e-16

As figuras de número 14 a 17 ilustram a variação de tamanho e forma com a idade, para cada estrutura craniana avaliada, sendo possível observar que, apesar das relações analisadas terem sido todas significativas, a relação entre forma e idade para o basicrânio não é tão evidente quanto para as demais estruturas. Além disso, a estrutura da curva de alteração da forma com a idade é semelhante para o pré-maxilar e para o côndilo occipital, onde existe uma diminuição dos valores do primeiro componente principal à medida que a idade aumenta, o que foi observado também para a subunidade face. Da mesma forma, a curva obedece ao mesmo padrão para o basicrânio e para a região do parietal, onde os valores do primeiro componente principal aumentam ao longo da idade, o que foi observado também para o neurocrânio.

A. Relação entre tamanho do pré-maxilar e idade

B. Relação entre forma do pré-maxilar e idade

Figura 14. Variação de tamanho (A) e forma (B) com a idade para o pré-maxilar de *Sotalia guianensis*.

A. Relação entre tamanho da região do parietal e idade

B. Relação entre forma da região do parietal e idade

Figura 15. Variação de tamanho (A) e forma (B) com a idade para a região do parietal de *Sotalia guianensis*

Figura 16. Variação de tamanho (A) e forma (B) com a idade para o côndilo occipital de *Sotalia guianensis*.

Figura 17. Variação de tamanho (A) e forma (B) com a idade para o basicrânio de *Sotalia guianensis*.

A forma média de cada classe etária pode ser visualizada em vistas dorsal e ventral, na figura 18, e lateral e posterior, na figura 19. Nota-se, em vista dorsal, que a distância entre a extremidade posterior dos maxilares (marcos 7 e 40) e a extremidade medial do parietal (marcos 8 e 41), em contato com o supraoccipital, diminui ao longo do desenvolvimento, reduzindo a visualização do frontal, o que já havia sido observado por Simões-Lopes e Menezes (2008), como marcado em vermelho na figura 18. No presente estudo, porém, podemos observar que esta aproximação entre os maxilares e a extremidade medial do parietal parece ser gradual, sendo menor em infantes, intermediária em jovens e maior em adultos. Verificou-se ainda, que a distância entre a crista occipital (marco 10), reduzida em infantes e mais desenvolvida em adultos, e o nasal (marco 9), apresenta o mesmo comportamento, reduzindo-se progressivamente durante o desenvolvimento. Com relação a estes pontos, verificou-se também que, em infantes, a linha imaginária que une os mesmos, é uma linha quase que paralela ao eixo central craniano, o qual separa os lados esquerdo e direito. Em indivíduos jovens e adultos esta linha está bastante longe de ser paralela a tal eixo, uma vez que o nasal assume uma posição à esquerda do eixo central. Com relação ao pré-maxilar, observou-se uma aproximação do seu processo ascendente (marcos 5 e 38) em relação ao nasal ao longo do desenvolvimento, sendo possível verificar, contudo, que o pré-maxilar direito apresenta um crescimento maior em direção posterior do que o mesmo osso do lado esquerdo, para todas as classes etárias.

Já para vista ventral, poucas alterações puderam ser visualizadas. Nota-se uma tendência de alinhamento entre os pontos que representam a intersecção entre os ossos frontal, parietal e alisfenóide (marcos 18 e 49) e a extremidade posterior do vômer (marco 20) durante a ontogenia. Indivíduos infantes apresentam os pontos 18 e 49 localizados em

posição posterior em relação ao ponto que representa o vômer, enquanto que jovens apresentam estes pontos quase alinhados e adultos os apresentam alinhados.

Com relação à vista lateral, foi possível notar que a extremidade posterior do parietal (representada pelos marcos 21 e 51) é mais pronunciada quanto mais velho é o indivíduo, observando-se um aumento gradativo desta extremidade ao longo da ontogenia. Além disso, verificou-se um deslocamento dorso-anterior dos pontos 22 e 52, representantes da crista temporal, à medida que o indivíduo envelhece, como pode ser verificado na figura 19A. Ainda em vista lateral, foi observado que infantes apresentam o nasal (marco 9) em um posicionamento ventral em relação ao ponto médio da crista supraoccipital (marco 10), sendo que durante o desenvolvimento a localização destes marcos tende a adquirir um posicionamento onde os mesmos estejam em uma mesma altura. Para esta análise o crânio foi posicionado de maneira que os marcos 1 e 32 estivessem alinhados (como realizado por Monteiro-Filho *et al.*, 2002)

Por fim, em vista posterior verificou-se que a extremidade do parietal (marcos 21 e 51) se aproxima gradualmente da extremidade superior do forame magno (marco 32) durante o desenvolvimento, estando estes pontos mais afastados em infantes e mais próximos em adultos. Ainda, foi observado que o posicionamento destes pontos no espaço formam uma linha reta imaginária em indivíduos mais velhos, porém em infantes os pontos 21 e 51 apresentam um posicionamento ligeiramente ventral em relação ao marco 32. Isto porque ocorre uma redução do forame magno à medida que o indivíduo envelhece, com a extremidade superior deste assumindo uma posição cada vez mais inferior (Fig. 19 e 20). Na figura 20 é possível ainda observar como ocorre a deposição óssea que altera a forma do forame magno. Como já observado por Simões-Lopes (2006), infantes apresentam a

abertura do forame em forma de V invertido. No presente estudo, podemos observar que esta cavidade, em formato de V invertido, se acentua em jovens e posteriormente uma deposição óssea passa a preencher esta região do forame, o qual assume um formato arredondado em sua extremidade superior, em adultos. A ilustração mostra este processo em indivíduos de meio ano (onde é verificada a extremidade em forma de V invertido), quatro anos (onde a extremidade está mais conspícua), nove anos (onde a deposição preencheu quase que completamente esta cavidade, restando um pequeno espaço aberto em posição superior) e 25 anos (onde a extremidade já se encontra arredondada). A tabela 6 traz um resumo das características morfológicas de cada classe etária, as quais foram detalhadas acima.

Figura 18. Forma craniana média de infantes, jovens e adultos (nesta ordem) nas vistas dorsal (A) e ventral (B).

Figura 19. Forma craniana média de infantes, jovens e adultos (nesta ordem) nas vistas lateral direita (A) e posterior (B).

Tabela 6. Características morfológicas para cada classe etária. Seguir o texto para informações mais detalhadas.

	INFANTES	JOVENS	ADULTOS
DORSAL	<ul style="list-style-type: none"> - grande distância entre os maxilares e o supraoccipital - grande distância entre o nasal e a crista supraoccipital - crista supraoccipital pouco desenvolvida ou ausente -ponto médio do nasal próximo do eixo central craniano, levemente deslocado para a esquerda - processo ascendente do pré-maxilar distante do nasal (quando comparado a jovens adultos) 	<ul style="list-style-type: none"> - distância intermediária entre os maxilares e o supraoccipital - distância intermediária entre o nasal e a crista supraoccipital -crista supraoccipital desenvolvida -ponto médio do nasal afastado do eixo central craniano, deslocado para a esquerda - processo ascendente do pré-maxilar próximo ao nasal (quando comparado a infantes) 	<ul style="list-style-type: none"> -pequena distância entre os maxilares e o supraoccipital -pequena distância entre o nasal e a crista supraoccipital -crista supraoccipital bastante desenvolvida -ponto médio do nasal afastado do eixo central craniano, deslocado para a esquerda -processo ascendente do pré-maxilar próximo ao nasal (quando comparado a jovens)
VENTRAL	<ul style="list-style-type: none"> - marcos 28 e 49 em posição posterior ao marco 20 	<ul style="list-style-type: none"> - marcos 18, 49 e 20 quase alinhados 	<ul style="list-style-type: none"> - marcos 18, 49 e 20 alinhados
LATERAL	<ul style="list-style-type: none"> - extremidade posterior do parietal pouco pronunciada (quando comparado a jovens e adultos) -crista temporal ausente ou pouco desenvolvida -ponto médio do nasal em posicionamento ventral em relação ao ponto médio da crista supraoccipital 	<ul style="list-style-type: none"> - extremidade posterior do parietal pronunciada (quando comparado a infantes) -crista temporal desenvolvida -ponto médio do nasal em posicionamento quase alinhado ao ponto médio da crista supraoccipital 	<ul style="list-style-type: none"> - extremidade posterior do parietal bastante pronunciada (quando comparado a infantes e jovens) - crista temporal bastante desenvolvida - ponto médio do nasal em posicionamento quase alinhado ao ponto médio da crista supraoccipital
POSTERIOR	<ul style="list-style-type: none"> -extremidade posterior do parietal afastada da extremidade superior do forame magno (quando comparado a jovens adultos) -extremidade superior do forame magno em posição dorsal com relação aos marcos 21 e 51 	<ul style="list-style-type: none"> -extremidade posterior do parietal próxima à extremidade superior do forame magno (quando comparado a infantes) -extremidade superior do forame magno em posição ventral (quando comparado à infantes) 	<ul style="list-style-type: none"> -extremidade posterior do parietal próxima à extremidade superior do forame magno (quando comparado a infantes jovens) - extremidade superior do forame magno em posição ventral (quando comparado a infantes e jovens)

Figura 20. Deposição óssea ao longo da ontogenia para o forame magno. Os crânios pertencem, respectivamente, aos espécimes: LAMAQ 1174 (0,5 anos), LAMAQ 1104 (4 anos), LAMAQ 1203 (9 anos), LAMAQ 1180 (25 anos) e as setas mostram o sentido da deposição óssea para cada classe etária. A seta vermelha mostra parte da cavidade do forame magno que ainda não foi preenchida.

2.3.2 Alometria

- Relação alométrica para o crânio.

Foi verificada a existência de uma relação alométrica negativa entre forma e tamanho do crânio para esta espécie ($F = 297.42$ e $P < 2.2e-16$), como pode ser observado na figura 21, onde o valor do primeiro componente principal diminui à medida que o tamanho do centróide aumenta.

Figura 21. Relação alométrica para o crânio de *Sotalia guianensis*.

- Relação alométrica para as subunidades cranianas.

Posteriormente, foi analisada a relação alométrica para as diferentes subunidades cranianas, sendo encontrados valores significativos para esta relação tanto para a face ($F = 374.88$ e $P < 2.2e-16$), quanto para o neurocrânio ($F = 76.38$ e $P = 1.426e-12$). Porém, é possível notar que enquanto o neurocrânio apresenta uma relação positiva entre tamanho e forma do crânio, a face apresenta esta relação negativa, onde os valores do primeiro componente principal diminuem com o aumento de tamanho (Fig. 22), assim como para o crânio completo.

Figura 22. Relação alométrica para face (A) e neurocrânio (B) de *Sotalia guianensis*.

- Relação alométrica para estruturas cranianas específicas

Em seguida, foram verificadas as relações alométricas para estruturas cranianas específicas, sendo encontrados valores significativos para todas as estruturas analisadas, exceto para o basicrânio. A tabela 7 mostra os valores da análise de variância (ANOVA) realizada entre tamanho e forma para cada uma das estruturas avaliadas, com a figura 23 ilustrando estas relações.

Tabela 7. Resultado da ANOVA entre tamanho de centróide e primeiro componente principal para diferentes estruturas cranianas analisadas.

Estrutura	ANOVA
Pré-maxilar	F = 423.98 e P < 2.2e-16
Região do parietal	F = 83.019 e P = 3.154e-13
Côndilo occipital	F = 41.221 e P = 1.809e-08
Basicrânio	F = 3.2693 e P = 0.07522

Figura 23. Relação alométrica para o pré-maxilar (A), região do parietal (B), côndilo occipital (C) e basicrânio (D) de *Sotalia guianensis*.

2.3.3 Assimetria direcional com relação à ontogenia

A assimetria craniana foi verificada somente com relação à forma (Wilks' Lambda = 0.05 e $P < 2.2e-16$), uma vez que a ANOVA que buscava verificar a existência de diferença de tamanho do centróide entre os lados não foi significativa ($F = 0.277$ e $P = 0.5995$). O tamanho médio de centróide encontrado para os lados direito e esquerdo foi 466.2239 e 462.8083, respectivamente. Com relação à assimetria craniana de forma, nota-se que o segundo componente principal é o melhor indicador da diferença entre os dois lados, ficando claro que o lado esquerdo apresenta valores mais altos ao longo do eixo do PC2 (Fig 24). Além disso, verificou-se ainda que o padrão alométrico é o mesmo para ambos os lados, como mostra a figura 25. Quando adultos são analisados separadamente de jovens e infantes, percebe-se que existe um padrão de assimetria diferente entre os dois grupos. É possível notar uma separação clara entre os lados esquerdo e direito para indivíduos adultos com relação ao primeiro componente principal, o que não ocorre para indivíduos de até cinco anos, como pode ser visualizado na figura 26.

Figura 24. Plote dos dois primeiros componentes principais, onde o lado direito do crânio está representado em azul e o lado esquerdo em verde.

Figura 25. Relação entre o segundo componente principal e o tamanho do centróide, onde o lado direito do crânio está representado em azul e o lado esquerdo em verde.

Figura 26. Relação entre o primeiro componente principal e a idade, onde o lado direito do crânio está representado em azul e o lado esquerdo em verde, para a amostra contendo infantes, jovens e adultos (A), somente infantes e jovens (B) e somente adultos (C).

Voltando a figura 18, a qual ilustra as formas cranianas médias de cada classe etária, podemos notar, em vista dorsal, um aumento da assimetria durante o desenvolvimento. Como discutido anteriormente, a linha imaginária que une os marcos anatômicos representantes do nasal (9) e do ponto médio da crista supraoccipital (10) é uma linha quase que paralela ao eixo central craniano (que separa os lados esquerdo e direito), em infantes. Em indivíduos jovens e adultos esta linha está bastante longe de ser paralela a tal eixo, uma vez que o nasal assume uma posição à esquerda do eixo central, evidenciando a assimetria craniana.

2.4 DISCUSSÃO

2.4.1 Ontogenia com relação à forma e ao tamanho

- Ontogenia com relação à forma e ao tamanho do crânio

A partir dos resultados obtidos pôde-se observar que tanto o tamanho quanto a forma craniana de *Sotalia guianensis*, levando-se em consideração o primeiro componente principal, variam até cerca de oito anos, estabilizando-se logo após esta idade, ou seja, pouco após o indivíduo atingir a maturidade sexual. Os resultados referentes ao tamanho estão de acordo com o estudo feito por Ramos *et al.* (2000), que afirma que os indivíduos desta espécie atingem seu tamanho máximo por volta dos sete anos de idade. Os resultados referentes à forma, aliados aos resultados da análise alométrica do crânio, mostram que existe uma relação muito próxima a linear entre tamanho e forma, resultando em uma ausência de alteração de forma quando é ausente a alteração de tamanho. Este resultado era esperado, uma vez que se sabe que ocorre uma adaptação contínua ao longo do

desenvolvimento, não sendo necessárias, normalmente, novas adaptações de forma a um determinado tamanho, quando o crescimento se encontra estagnado (Zelditch, 2004).

Com relação ao primeiro componente principal, pode-se notar uma pequena distinção entre as classes etárias, porém apesar da existência de uma variação de forma até cerca de oito anos de idade, as classes etárias não puderam ser claramente diferenciadas através da análise de componentes principais.

Com relação ao segundo componente principal, verificou-se que o mesmo está fortemente relacionado ao marco 8 e 41, porém não respondendo a uma clara diferenciação entre classes etárias. Acredita-se que no início do desenvolvimento pós-natal os marcos 8 e 41 apresentem, frequentemente, um posicionamento lateral (valores altos de PC2), quando comparados aos mesmos marcos em indivíduos jovens, uma vez que o osso parietal prolonga seu crescimento e parece avançar medialmente, fazendo com que tais pontos tenham um posicionamento medial (valores baixos de PC2) em jovens.

Quando comparados adultos e jovens, novamente os jovens mostram uma tendência de posicionamento medial de tais marcos, enquanto adultos tendem a apresentar um posicionamento lateral, como os infantes. Isso ocorre devido ao fato da extremidade do parietal diminuir ou estagnar seu desenvolvimento na idade adulta, dando lugar ao desenvolvimento de ossos como o supraoccipital e o frontal. Porém, esta relação de posicionamento dos pontos não é verificada em todos os indivíduos, existindo infantes, jovens e adultos com diferentes valores de PC2, apesar de indivíduos jovens apresentarem, normalmente, valores mais baixos ao longo do eixo em questão. Assim sendo, o posicionamento lateral destes marcos para infantes e adultos e medial para jovens é apenas uma tendência, uma vez que indivíduos infantes e adultos também apresentaram valores

baixos de PC2. O segundo componente principal, então, parece estar relacionado a algum outro fator que não à ontogenia, como, por exemplo, variabilidade individual.

Além disso, mesmo com as classes etárias sendo claramente diferenciadas através da análise discriminante, a análise de validação cruzada mostrou que a probabilidade de reclassificação correta de um indivíduo é inferior a 50%. Apesar da análise discriminante ter separado os indivíduos em classes etárias, esta é uma análise que tem como finalidade buscar qualquer diferenciação existente entre grupos pré-determinados e discriminá-los a partir disto. Sendo assim, é possível que a mesma diferencie grupos não existentes em um primeiro momento, se pequenas diferenciações entre os mesmos estiverem presentes. Para que a distinção entre grupos seja confiável é necessário o suporte da análise de validação cruzada, uma vez que esta reclassifica um indivíduo que estava ausente da amostra no momento em que a análise discriminante foi realizada, gerando um resultado mais robusto. Nos resultados apresentados, a análise discriminante em conjunto com a análise de validação cruzada não permitiu a classificação confiável dos indivíduos da amostra em classes etárias, invalidando a possibilidade de utilizar a análise discriminante para estimar a idade de indivíduos de *Sotalia guianensis*.

Todavia, através das representações geométricas das formas médias de cada classe etária e da verificação das principais alterações ao longo do PC1, algumas características morfológicas foram estabelecidas como sendo características de cada classe, o que pode contribuir para uma estimativa da classe da qual um espécime pertença.

- Ontogenia com relação à forma e ao tamanho para as subunidades e estruturas cranianas específicas.

Foi verificada uma relação significativa entre idade e tamanho, assim como entre idade e forma para todas as subunidades e estruturas cranianas avaliadas. Porém, foi possível notar que as alterações ontogenéticas de ambos os fatores (tamanho e forma), apresentaram diferenças em muitas das estruturas estudadas. Para o neurocrânio, por exemplo, a alteração de tamanho foi mais evidente que a alteração de forma, já para a face, a diferença entre ontogenia de forma e de tamanho foi muito pequena. Quando comparados neurocrânio e face, foi possível notar que a alteração de forma com relação à idade não é tão evidente para o primeiro como é para o segundo. Com relação às estruturas cranianas, da mesma forma que para o neurocrânio, a alteração de forma com a idade para o basicrânio não foi tão evidente quanto para as demais estruturas analisadas.

Este resultado pode ser explicado, uma vez que, com o neurocrânio tendo um desenvolvimento mais precoce que a face e terminando seu desenvolvimento antes, o mesmo está sujeito a uma alteração de forma menor ao longo do seu desenvolvimento, como era predito. Sendo assim, o mesmo era esperado para o basicrânio, estrutura pertencente à subunidade neurocrânio. Além disso, sabe-se que a porção basal do crânio é a mais conservada, estando menos sujeita a interações epigenéticas (Hallgrímsson *et al.*, 2007; Sperber, 2001), apresentando uma resposta mais baixa às pressões ambientais (Perez *et al.*, 2009). É provável que o fato da maior alteração de forma ao longo do desenvolvimento ter sido verificada para face e para o pré-maxilar (estrutura contida na mesma), seja resultante desta ser a subunidade com o desenvolvimento mais lento, e consequentemente estar mais sujeita a alterações ao longo do crescimento. Além disso,

acredita-se que essa região esteja mais suscetível às pressões seletivas geradas por fatores ecológicos, o que acaba por moldar mais facilmente tal estrutura (Cheverud, 1995; Sperber, 2001, Perez *et al.*, 2009). A exploração da existência desta integração ontogenética entre face e neurocrânio e o entendimento de como ocorrem, em conjunto, os seus desenvolvimentos é um passo importante para a compreensão da trajetória ontogenética do crânio e também para estudos evolutivos cranianos dos odontocetos.

Com relação à região do parietal, a qual apresenta marcos anatômicos das duas subunidades principais, percebe-se um padrão semelhante ao do basicrânio, porém com uma alteração mais clara de forma com a idade. Apesar de conter alguns pontos da subunidade neurocrânio, não faz parte da porção craniana basal, estando sujeita a uma maior variação de forma. Já para o côndilo occipital, estrutura contida na subunidade neurocrânio, foi verificada a presença de alteração de forma com o tamanho, corroborando observações qualitativas realizadas por Simões-Lopes e Menezes (2008) e detalhadas no presente estudo.

Voltando às representações geométricas das formas médias por classe etária, foi verificado que a distância entre o maxilar e a extremidade medial do parietal diminui ao decorrer do desenvolvimento, assim como a distância entre a crista supraoccipital e o nasal, reduzindo a possibilidade de visualização dos frontais. Sendo assim, percebe-se que o processo de teleoscopia, onde ossos da região anterior se deslocam em direção posterior, parece acontecer ao longo de todo o desenvolvimento craniano, sendo mais pronunciado em indivíduos adultos. Da mesma forma, com este processo mais acentuado em adultos, percebe-se o osso pré-maxilar mais próximo ao nasal em indivíduos mais velhos (como já havia sido observado por Simões-Lopes e Menezes, 2008).

Com relação aos marcos representantes da crista temporal, o gradativo deslocamento dos mesmos em direção dorso-anterior durante o desenvolvimento está relacionado ao desenvolvimento da crista no decorrer da ontogenia. À medida que a crista se desenvolve os pontos se deslocam em sentido dorso-anterior, mostrando assim, que o crescimento da crista temporal é gradual ao longo do desenvolvimento. O mesmo foi verificado para a crista supraoccipital, uma vez que, além do processo de teleoscopia estar agindo, o crescimento da crista também é responsável pela aproximação entre o osso supraoccipital e o osso nasal, o que ocorre também de maneira progressiva.

Em vista posterior foi verificado que a extremidade do parietal, além de se estender posteriormente no decorrer do desenvolvimento, também apresenta um crescimento em sentido medial, se aproximando do forame magno ao longo da ontogenia. Novamente, através da análise das formas médias, percebe-se que esta alteração de configuração é gradual, estando a extremidade mais afastada do forame em indivíduos infantis, em posição intermediária em jovens e mais próxima em adultos.

Percebe-se assim, através de tantas alterações gradativas e uma continuidade de desenvolvimento nos indivíduos adultos, que o desenvolvimento do crânio de *Sotalia guianensis* se prolonga bastante na vida pós-natal, o que poderia ser resultante de um processo neotênico. Com relação à regulação ontogenética, é provável que além de estar relacionada ao componente genético, a mesma tenha sido estabelecida também devido às pressões ambientais. É possível que os organismos com desenvolvimento mais lento, gerado por determinada alteração genética que provocou modificações no relógio biológico, tenham tido alguma vantagem sobre os outros. Isto explicaria o prolongamento do desenvolvimento durante a vida pós-natal e algumas suturas cranianas ainda não

fusionadas em indivíduos jovens e adultos. É provável ainda, que este desenvolvimento contínuo verificado no crânio, tenha permitido um maior crescimento cerebral, uma vez que o mesmo não finaliza seu crescimento logo no início da vida do animal.

2.4.2 Alometria

O padrão alométrico verificado para o crânio já era esperado, uma vez que, de maneira geral, os indivíduos apresentam alterações de forma associadas às alterações de tamanho, o que permite a adaptação ao seu ambiente ao longo do desenvolvimento (Zelditch, 2004). O mesmo padrão foi encontrado também nas duas subunidades cranianas, porém com a face mostrando uma relação alométrica negativa, onde os valores do primeiro componente principal diminuem à medida que o tamanho de centróide aumenta, e com o neurocrânio mostrando uma relação alométrica positiva, onde os valores do primeiro componente principal aumentam com o aumento do tamanho do centróide. Notou-se ainda que o padrão verificado para a face foi o mesmo encontrado quando o crânio completo foi analisado, mostrando que o desenvolvimento da face, o qual ocorre durante um período mais longo na vida pós-natal, apresenta uma influência maior nos resultados onde o crânio é estudado em sua totalidade.

Com relação ao padrão alométrico das estruturas cranianas, o resultado mostrou que todas apresentaram uma relação entre aumento de tamanho e alteração de forma, com exceção do basicrânio. Como verificado anteriormente, o basicrânio apresenta um claro aumento de tamanho ao longo do desenvolvimento do animal, se estabilizando por volta dos 8 anos. Porém a alteração de forma, diferentemente da de tamanho, é pouco evidente, fazendo com que a relação alométrica não tenha sido verificada. Isto evidencia novamente

o fato desta região ser a mais conservada do crânio (Hallgrímsson *et al.*, 2007; Sperber, 2001), mostrando que para esta estrutura a forma tende a não se modificar à medida que ocorrem as alterações de tamanho.

Todas as estruturas cranianas apresentaram uma clara alteração de tamanho ao longo da idade, porém a alteração de forma nem sempre foi evidente. Apesar da relação alométrica ter sido significativa para o côndilo occipital, a mesma não é tão clara quanto aquela observada para o pré-maxilar e para a região do parietal. Este resultado é decorrente do fato da alteração de forma ao longo da idade ser menos evidente, apesar de presente, para o côndilo occipital do que para as estruturas supracitadas. Com uma menor modificação da forma ao longo do desenvolvimento, observa-se também, consequentemente, uma menor alteração desta conforme o aumento de tamanho, gerando uma relação alométrica pouco evidente.

2.4.3 Assimetria direcional com relação à ontogenia

A partir dos resultados obtidos, conclui-se que a assimetria craniana de forma está presente no crânio de *Sotalia guianensis*, porém, diferentemente do esperado, a assimetria de tamanho não foi verificada. Tal fato deve-se, possivelmente, ao estudo ter sido realizado analisando-se o crânio completo, maneira como ainda não havia sido estudado quanto à assimetria. Esta questão será discutida em maiores detalhes no segundo capítulo desta dissertação.

A diferenciação entre a forma dos dois lados do crânio foi bastante clara através do segundo componente principal, mostrando dois agrupamentos distintos. Porém, a distinção entre os lados com relação ao primeiro componente principal, foi possível somente em

indivíduos adultos, o que mostra que a assimetria é mais evidente nos mesmos. Além disso, como ilustrado na figura 18, a assimetria da região do osso nasal, o qual se encontra posicionado mais à esquerda em indivíduos adultos, aumenta progressivamente ao longo do desenvolvimento. Tais resultados mostram que a assimetria craniana se acentua durante a ontogenia para esta espécie, como era esperado inicialmente. Para uma melhor compreensão da assimetria craniana direcional em *S. guianensis*, a mesma será discutida e analisada em detalhes no capítulo seguinte desta dissertação.

3.CAPÍTULO 2: Estudo da Assimetria Craniana em *Sotalia guianensis*.

3.1 INTRODUÇÃO

Os cetáceos da subordem Odontoceti, conhecidos também como odontocetos, apresentam dentes, ossos nasais atrofiados e maxilares que sobrepõe os frontais (Paula Couto, 1979). Os mesmos são caracterizados por seus crânios assimétricos, incluindo algumas espécies fósseis (Kellogg, 1928), com um desvio para a esquerda principalmente na região do trato respiratório (Ness, 1967; Yurick e Gaskin, 1988), com exceção de *Pontoporia blainvillei*, a qual apresenta o crânio simétrico (Ness, 1967).

A assimetria pode ser classificada de três formas: anti-simetria, assimetria flutuante e assimetria direcional. A anti-simetria é a situação menos comum, onde um dos lados apresenta maior desenvolvimento, porém sendo este variável. É caracterizada por uma distribuição frequentemente bimodal (podendo ser normal) das diferenças entre os lados da estrutura avaliada. Já a assimetria flutuante é caracterizada por uma distribuição normal dos mesmos valores e por um valor médio de desenvolvimento igual para os dois lados, não sendo regra o maior desenvolvimento de algum dos lados (Moller e Swaddle, 1997). O terceiro tipo ocorre quando existe tendência do desvio ocorrer para um mesmo lado do plano de simetria (Van Valen, 1962), fazendo com que um mesmo lado apresente frequentemente um maior desenvolvimento com relação ao outro, como é o caso dos odontocetos.

A assimetria flutuante é um resultado direto da inabilidade dos indivíduos de se submeterem a um igual desenvolvimento de ambos os lados da simetria bilateral. Esta assimetria é, normalmente, produto de perturbações locais que surgem a partir de

transtornos decorrentes do desenvolvimento interno celular ou de diferenças no ambiente externo. Está, desta forma, mais relacionada a situações de stress. Já a assimetria direcional e a anti-assimetria, são consideradas formas de assimetrias adaptativas (Palmer, 1966; Moller e Swaddle, 1997). Em indivíduos com assimetria direcional é possível prever o lado que será mais desenvolvido, antes mesmo do início do crescimento do organismo. Exemplos deste tipo de assimetria são o número de lobos nos lados esquerdo e direito do pulmão humano e o posicionamento dos olhos do peixe linguado e ouvido externo de muitas espécies de corujas (Moller e Swaddle, 1997; Hubbs e Hubbs, 1945; Norberg, 1977). Em casos de anti-assimetria não é possível prever, porém, qual dos lados será o mais desenvolvido, uma vez que existe a mesma probabilidade de cada um dos lados apresentar o crescimento maior. Um exemplo desta situação é o das garras de caranguejos machos do gênero *Uca* (Crustacea), sendo uma garra sempre mais desenvolvida que a outra, todavia sem um dos lados apresentar tendência maior de crescimento (Moller e Swaddle, 1997; Neville, 1976).

As duas formas de assimetria consideradas adaptativas, são bastante raras, sendo pouco frequentes quando comparadas à simetria e aos diferentes graus de assimetria flutuante (Van Valen, 1962; Palmer, 1966). Acredita-se que estas formas de assimetria adaptativas sejam selecionadas em determinado momento onde as mesmas ofereçam alguma vantagem aos indivíduos que a desenvolvam sobre aqueles que apresentem simetria. Situações em que a assimetria seja vantajosa parecem ser pouco frequentes na natureza, o que resultaria em poucas espécies com este tipo de adaptação (Moller e Swaddle, 1997).

O grau de assimetria varia entre as espécies de odontocetos (Ness, 1967) e segundo Ness (1967), existe uma tendência de aumento da assimetria com o aumento corporal da espécie, mostrando que espécies maiores tendem apresentar um grau mais alto de assimetria. Todavia, existem discordâncias quanto à importância e evolução da assimetria craniana para o grupo em questão, já tendo sido sugerido relação com movimentos locomotores assimétricos, com produção e utilização do sonar e também com a alimentação.

Kükenthal (1908) propôs que a assimetria seria resultado de forças locomotoras assimétricas, as quais eram produzidas a partir de movimentos espiralizados das nadadeiras peitorais, porém Slijper (1936) e Parry (1949) não encontraram evidências deste tipo de movimentação. Já Galatius e Jespersen (2005), verificaram assimetria direcional no esqueleto apendicular de *Phocoena phocoena*, mostrando um maior desenvolvimento do úmero, ulna e escápula direitos, o que sugere a utilização lateralizada das nadadeiras para esta espécie.

Em 1900, Beddard percebeu a existência de correlação entre a assimetria dos odontocetos e o desenvolvimento do complexo nasal, sendo que uma relação funcional foi proposta posteriormente por Wood (1964). Mead (1975) e Yurick e Gaskin (1988), sugeriram que a assimetria poderia ser uma adaptação que permitiu o desenvolvimento do sonar, uma vez que a mesma está relacionada aos sacos nasais e outras estruturas do complexo nasal.

Já Macleod *et al.* (2007), propuseram que a assimetria está interligada com o tamanho máximo da presa, verificando que a diferença de largura entre as coanas anteriores esquerda e direita (proporcional ao comprimento do corpo) está relacionada positivamente

com o tamanho do alimento ingerido. A laringe dos cetáceos odontocetos evolui de maneira que penetra na faringe e permanece segura pelo esfíncter palatofaríngeo, mecanismo que evita que água entre nas vias respiratórias durante a ingestão, mas que também limita o tamanho da presa. Esta limitação é decorrente do fato de que, normalmente, os odontocetos não mastigam seus alimentos (Macleod *et al.*, 2007; Reidenberg e Laitman, 1987), o que é característico de animais de dentição homodonte. Reidenberg e Laitman (1994), sugeriram que a posição da laringe se tornou assimétrica, assim como os sinos piriformes em tamanho, através de uma pressão seletiva que favoreceu indivíduos com um canal alimentar mais largo e lateral, onde a chance de asfixia com grandes alimentos era menor.

Apesar de haver uma série de estudos sobre assimetria de cetáceos odontocetos (Ness, 1967; Yurick e Gaskin, 1988; Galatius e Jespersen, 2005; Macleod *et al.*, 2007; entre outros), a maioria deles caracteriza a assimetria como a diferença de tamanho entre determinadas estruturas pares, normalmente do sistema respiratório. Porém, sabe-se que a forma também é um componente de extrema relevância para estudos morfométricos, uma vez que inúmeros processos biológicos geram alteração de forma entre indivíduos ou entre suas estruturas, como por exemplo, o processo de teleoscopia para os cetáceos, o qual alterou a forma de diversos ossos do crânio (Miller, 1923; Rommel, 1990).

A análise da forma pode revelar causas de variações e transformações morfológicas (Zelditch, 1992), o que torna necessário um estudo onde a assimetria seja caracterizada por este fator. A morfometria geométrica (descrita na introdução geral e empregada no capítulo 1 desta dissertação) é uma técnica que vem sendo utilizada com sucesso para estudos de alteração da forma dos organismos e de suas estruturas.

Além disso, a maioria das espécies, como é o caso do boto-cinza (*Sotalia guianensis*), recebeu pouca atenção sobre este assunto, o que faz com que informações sobre particularidades de sua assimetria sejam ainda escassas. Segundo Simões-Lopes (2006), em uma descrição da morfologia do sincrânio do boto-cinza, baseado em observações qualitativas de exemplares da espécie, a abertura da passagem nasal direita é mais estreita do que a esquerda. Ainda, o autor afirma que o processo ascendente do pré-maxilar direito é mais largo e quase alcança o nasal em alguns exemplares adultos; que os nasais são ligeiramente assimétricos e bipartidos; e que a posição e número de forames no crânio são assimétricos.

Sendo assim, este estudo se propôs a analisar a assimetria craniana em *Sotalia guianensis*, utilizando a morfometria geométrica como ferramenta, a fim de verificar e representar visual e graficamente as alterações de forma e tamanho entre ambos os lados, além de investigar a existência de assimetria, que não tenha sido identificada através de observação qualitativa ou da morfometria tradicional, em outras regiões do crânio.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Amostra

Foram utilizados 35 crânios de *Sotalia guianensis* depositados nas seguintes instituições: Instituto de pesquisa em Cananéia (IPEC), Laboratório de Mamíferos Aquáticos (LAMAQ-UFSC) e Museu de Ciências Naturais da Universidade Federal do Paraná (MCN-UFPR) (Tab. 8).

Como a ausência de dimorfismo sexual já foi observada para *Sotalia guianensis* (Borobia, 1989) e não foi detectada por Monteiro-Filho *et al.* (2002), os espécimes de ambos os sexos e com sexo indeterminado foram analisados em conjunto. Além disso, Monteiro-Filho *et al.* (2002) verificaram a inexistência de diferenciação morfométrica entre indivíduos com ocorrência nas regiões Sul, Sudeste e Nordeste, o que fez com que os espécimes com diferentes áreas de distribuição fossem também analisados em conjunto.

Estes espécimes tiveram suas idades determinadas através da contagem das camadas anuais de crescimento do dentes por Rosas *et al.* (2003), Ramos *et al.* (2008) e Sydney e Monteiro-Filho (submetido) e então selecionados somente os indivíduos adultos, conforme a maturidade sexual (Schmiegelow, 1990; Ramos *et al.*, 2000; Rosas e Monteiro-Filho, 2002), para que a diferenciação relacionada à ontogenia fosse descartada.

Tabela 8. Exemplares utilizados neste estudo, com suas respectivas idades estimadas, onde fêmeas estão representadas pela letra F, machos pela letra M e indivíduos com sexo indeterminado pela letra I.

Exemplar	Idade	Sexo	Exemplar	Idade	Sexo
IPEC018	30	F	MCN135	20	M
IPEC029	17	F	MCN091	7	F
IPEC061	11	F	MCN110	9	F
IPEC067	27	F	MCN114	7	I
IPEC023	8	M	MCN113	26	F
IPEC121	10	M	MCN050	11	I
IPEC099	14	M	LAM1218	20	F
IPEC013	13	M	LAM1219	15	F
IPEC022	6	M	LAM1083	12	M
IPEC076	15	F	LAM1079	17	F
IPEC073	25	F	LAM1180	25	F
IPEC040	21	M	LAM1208	20	F
MCN031	31	F	LAM1175	19	M
MCN042	24	F	LAM1203	9	F
MCN027	15	M	LAM1108	11	M
MCN060	18	M	LAM1130	9	F
MCN010	13	F	LAM1082	10,5	M
MCN072	23	M			

3.2.2 Marcos anatômicos e digitalização

Os marcos anatômicos aqui utilizados foram os marcos de número: 1, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 15, 16, 18, 19, 20, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 29, 30, 31, 32, 33, descritos na tabela 2 e ilustrados na figura 1 do primeiro capítulo, e representam a metade do crânio. A digitalização dos crânios, assim como o teste de repetibilidade, foi realizada como detalhado no capítulo inicial.

3.2.3 Tratamento geométrico

Posteriormente à obtenção das configurações e novamente com auxílio do programa R v.2.9.1 (R Development Core Team, 2009), um dos lados foi espelhado em relação ao outro, multiplicando uma das coordenadas de determinado lado, no caso o direito, por -1, para que ambos pudessem ser comparados e sobrepostos. Depois de espelhadas, as configurações de pontos foram superpostas pela técnica de superposição ortogonal dos quadrados mínimos, descrita no primeiro capítulo.

Assim como na primeira parte do trabalho, os componentes de forma e tamanho da amostra foram obtidos com a função propGPA, do pacote Shapes v1.1-3 (Dryden, 2009) do programa R v.2.9.1.

3.2.4 Análises

Todas as análises foram realizadas com auxílio do programa R v.2.9.1 (R Development Core Team, 2009). Para a representação e visualização das configurações em 3D foram utilizados os programas R v.2.9.1 e Morpheus (Slice, 2002).

Finalizado o tratamento geométrico, foi realizada uma análise multivariada de variância (MANOVA), entre os lados e os dois primeiros componentes principais e uma análise de variância (ANOVA), entre os lados e o tamanho do centróide craniano, a fim de verificar a assimetria de forma e de tamanho. Posteriormente, as mesmas análises foram realizadas, porém avaliando separadamente as duas principais subunidades do crânio (face e neurocrânio), assim como determinadas regiões e estruturas específicas (pré-maxilar, região do parietal, côndilo occipital e basicrânio), na busca de padrões de diferenciação que não tivessem sido observados através da análise completa do crânio.

3.3 RESULTADOS

A repetibilidade foi calculada para cada um dos 61 marcos anatômicos, sendo que o menor valor encontrado foi 0.91, como descrito no capítulo 1. A Tabela 4 mostra o resultado da repetibilidade para cada coordenada (x, y e z) de cada um dos 61 marcos anatômicos. Os dois primeiros componentes principais da superposição explicaram 49.15% da variação total de forma da amostra, sendo o primeiro responsável por 31,9% e o segundo por 17,25%.

3.3.1 Assimetria com relação à forma e ao tamanho

- Assimetria com relação à forma e ao tamanho do crânio.

O valor médio de tamanho do centróide craniano obtido para o lado direito (434.87) foi ligeiramente maior do que aquele para o lado esquerdo (433.42), porém a análise de variância (ANOVA) realizada entre o tamanho do centróide e os lados, mostrou que esta diferença não é significativa ($F = 0.2598$ e $P = 0.6119$). Já a análise multivariada de variância mostrou que a diferença de forma entre os lados é altamente significativa (Wilks'

Lambda = 0.02 e $P < 2.2e-16$). O plot dos dois primeiros componentes principais mostra dois agrupamentos, representados pelos lados direito e esquerdo do crânio (Fig. 27). Pode-se notar que o primeiro componente é o principal responsável pela alteração de forma entre os lados.

Figura 27. Plote dos dois primeiros componentes principais da superposição dos quadrados mínimos para os lados direito e esquerdo do crânio.

- Assimetria com relação à forma e ao tamanho das subunidades cranianas

Quando as subunidades foram avaliadas isoladamente, a assimetria de tamanho pode ser verificada para a face, porém não para o neurocrânio. Analisando-se somente a face encontrou-se uma diferença significativa ($F = 8.0481$ e $P = 0.006$) entre o tamanho do centróide dos lados esquerdo (285.9858) e direito (292.8943), enquanto que para o neurocrânio esta diferença não se mostrou significativa ($F = 0.7235$ e $P = 0.398$), sendo os valores de tamanho de centróide 199.5595 e 200.6210 para os lados esquerdo e direito,

respectivamente. Já a assimetria de forma, foi verificada em ambas as subunidades, sendo os valores: Wilks' Lambda = 0.03 e $P < 2.2e-16$ para a face e Wilks' Lambda = 0.8544 e $P = 0.0051$ para o neurocrânio.

A assimetria de forma para a face foi bastante evidente, seguindo um padrão de assimetria semelhante ao verificado para o crânio completo, onde o PC1 é o principal responsável pela diferenciação de forma entre os lados (Fig. 28A). A figura 31 ilustra a diferença de forma entre os lados esquerdo e direito para parte da face. Contudo, observa-se que para o neurocrânio, a diferença de forma entre os lados é pouco evidente, podendo-se notar que a distribuição ao longo do eixo do PC2 é maior para o lado esquerdo, quando em comparação com o direito (Fig. 28B).

Figura 28. Plote dos dois primeiros componentes principais da superposição dos quadrados mínimos para os lados direito e esquerdo das subunidades cranianas face (A) e neurocrânio (B).

- Assimetria com relação à forma e ao tamanho de estruturas cranianas específicas

Partindo para a análise de estruturas específicas do crânio, a presença de assimetria de tamanho foi verificada através de uma ANOVA entre os lados e o tamanho do centróide, buscando verificar a existência de uma relação significativa entre os mesmos. Já a presença de assimetria de forma foi verificada através de uma MANOVA entre os lados e os dois primeiros componentes principais de forma, a fim de verificar a existência de uma relação significativa entre eles. A tabela 9 traz os resultados destas análises.

Analizando-se somente o pré-maxilar encontrou-se uma diferença significativa entre o tamanho de centróide médio dos pré-maxilares esquerdo e direito (232.0517 e 239.2522). Do mesmo modo, foi verificada assimetria de forma para esta estrutura, sendo evidenciado um padrão semelhante ao da face, com o primeiro componente principal sendo o responsável pela diferença de forma entre os lados (Fig. 29A).

Com relação à região parietal, as assimetrias de tamanho e de forma também foram verificadas, sendo os valores 101.4698 e 97.3408 para os tamanhos de centróide direito e esquerdo, respectivamente. Pode-se observar na figura 29B, que o PC2 é o principal responsável pela diferenciação de forma entre os lados direito e esquerdo, diferentemente do que foi observado para o pré-maxilar.

Analizando-se o côndilo occipital foi verificada ausência de assimetria de tamanho, porém presença de assimetria de forma, apesar da mesma não estar tão clara como a assimetria observada para as duas estruturas anteriores. É possível notar um padrão semelhante ao verificado para a subunidade neurocrânio, onde a diferença de forma entre os lados também foi pouco evidente, sendo verificada uma distribuição maior para o lado esquerdo, porém ao longo do eixo do PC1 e não do PC2 (Fig. 29C).

Já para o basicrânio não foi constatada assimetria de tamanho ou forma, como mostram os resultados da tabela 9. A ausência de assimetria de forma está ilustrada na figura 29D, onde não é possível notar qualquer diferenciação entre os grupos.

Tabela 9. Resultado da ANOVA entre os lados e tamanho de centróide e da MANOVA entre os lados e os dois primeiro componentes principais para diferentes estruturas cranianas analisadas.

Estrutura	ANOVA	MANOVA
Pré-maxilar	F = 10.809 e P = 0.0016	Wilks' Lambda = 0.08 e P < 2.2e-16
Região do parietal	F = 24.355 e P = 5.46e-06	Wilks' Lambda = 0.107 e P < 2.2e-16
Côndilo occipital	F = 0.1378 e P = 0.7118	Wilks' Lambda = 0.7878 e P= 0.0003
Basicrânio	F = 0.0487 e P = 0.8261	Wilks' Lambda = 0.96595 e P = 0.3243

Figura 29. Plote dos dois primeiros componentes principais da superposição dos quadrados mínimos para os lados direito e esquerdo das seguintes estruturas: pré-maxilar (A), região do parietal (B), côndilo occipital (C) e basicrânio (D).

Na figura 30 é possível observar, em vista lateral, a diferença de forma entre a configuração média dos lados esquerdo, representado em verde, e direito, representado em azul. Pode-se notar uma marcada diferença na região do maxilar e pré-maxilar, responsáveis pela maior parte da alteração ao longo do eixo do PC1, como observado na figura 29. Tais diferenciações entre os lados podem ser visualizadas também na figura 31, onde parte da subunidade face está ilustrada em vista dorsal, facilitando a visualização de algumas alterações.

Pode-se notar, na figura 31, que o pré-maxilar direito encontra-se mais desenvolvido que o esquerdo, sendo mais largo, com sua extremidade medial (marco 3) em um posicionamento medial em relação ao mesmo ponto do lado esquerdo. O mesmo é também mais longo, tendo o seu processo ascendente (marco 5) em uma posição posterior quando comparado ao mesmo ponto do lado esquerdo. Com relação ao maxilar, é possível notar que a extremidade medial (marco 6) do osso esquerdo adquire uma posição lateral quando comparada ao mesmo ponto do osso direito. Além disso, na figura 30, observa-se que a extremidade posterior do maxilar direito alcança uma posição ligeiramente mais dorsal do que o mesmo marco do lado oposto, mostrando novamente, um maior desenvolvimento do lado direito.

Ainda na figura 30, podemos observar a diferenciação na região do osso parietal, região responsável pelas maiores alterações ao longo do eixo do segundo componente principal, como visto na figura 29. O marco 22, representante da crista temporal, aparece em uma posição mais dorsal na forma média do lado direito do que o mesmo ponto do lado esquerdo, evidenciando o maior desenvolvimento da crista daquele lado. Além disso, é

possível notar também um distanciamento para o marco 23 entre ambos os lados. O lado direito apresenta a extremidade anterior da curvatura do osso frontal (na região do parietal) em uma posição anterior, com relação ao mesmo ponto para o lado esquerdo, evidenciando novamente um maior desenvolvimento do lado direito do crânio.

Pode-se perceber na figura 31, uma grande distinção entre o ponto médio do nasal (marco 9) entre os lados esquerdo e direito. Porém, o ponto médio do nasal é um ponto ímpar, e foi digitalizado, portanto, uma única vez. Todavia, cada lado craniano foi tratado com uma estrutura única, sendo um espelhado sobre o outro e utilizado além dos marcos pares correspondentes de cada lado, também os pontos centrais (ímpares). Assim sendo, esta diferença entre os pontos que estão representando o nasal, gerada pelo espelhamento de um lado com relação ao outro, mostra uma grande assimetria deste osso. Por fim, para os marcos 2 e 11, observa-se um posicionamento levemente anterior para o lado esquerdo, quando em comparação com o direito.

Figura 30. Forma média dos hemicrânios esquerdo em verde e direito, espelhado sobre o esquerdo, em azul, em vista lateral.

Figura 31. Vista dorsal da forma média de parte da face, onde o lado esquerdo está representado em verde e o direito, espelhado sobre o esquerdo, em azul, sendo possível visualizar a diferença entre os lados para os maxilares e pré-maxilares.

3.4 DISCUSSÃO

Os resultados correspondentes à análise do crânio com um todo mostraram uma diferença significativa entre a forma dos lados esquerdo e direito, confirmando a existência de assimetria de forma para o crânio de *Sotalia guianensis*. Todavia, o mesmo não foi evidenciado com relação ao tamanho do centróide, uma vez que a diferença entre os tamanhos médios de centróide entre os lados não foi significativa. Apesar de uma série de estudos sugerirem a existência de assimetria de tamanho para o crânio dos odontocetos, nenhum deles havia avaliado o crânio inteiro, mostrando diferenças de tamanho somente em determinadas estruturas.

Porém, quando avaliamos separadamente as duas subunidades de desenvolvimento craniano, percebemos que a face apresenta tanto assimetria de forma quanto de tamanho, enquanto que para o neurocrânio é possível verificar somente assimetria de forma. A ausência de assimetria de tamanho para o neurocrânio é possivelmente responsável pelo resultado de ausência de assimetria quando analisamos o crânio completo. Além disso, observando o gráfico dos componentes principais de forma, pode-se notar que a assimetria

é mais marcante na face, onde os lados esquerdo e direito encontram-se mais distanciados entre si quando comparado ao gráfico de diferenciação entre os lados para o neurocrânio. É provável que este fato seja decorrente da face apresentar um desenvolvimento mais lento e tardio, permitindo que a assimetria se acentue durante o crescimento, o que está de acordo com os resultados obtidos no primeiro capítulo deste estudo.

Com relação às estruturas analisadas isoladamente, pode-se perceber que o pré-maxilar exhibe o mesmo padrão da face, apresentando uma separação entre os lados, principalmente através do primeiro componente principal. Esta diferenciação já era esperada uma vez que a assimetria deste osso é bastante clara, podendo ser verificada a partir de breve observação qualitativa do mesmo (Simões Lopes e Menezes, 2008). A partir da assimetria do pré-maxilar e do maxilar podemos notar ainda, que os mesmos, quando pertencentes ao lado direito do crânio, apresentam um desenvolvimento maior do que quando pertencentes ao lado oposto.

Entre os marcos representantes do osso nasal, pertencentes às configurações espelhadas, pode-se verificar uma diferenciação bastante grande, o que é resultante da acentuada assimetria presente nesta espécie. Um indivíduo completamente simétrico teria o ponto médio do nasal exatamente no eixo central que divide o crânio em dois lados. Com isso, se um hemicrânio fosse espelhado sobre o outro, uma sobreposição perfeita destes pontos seria obtida. Se o indivíduo apresentasse, porém, uma leve assimetria flutuante existiria uma pequena diferenciação, possivelmente imperceptível, entre o posicionamento destes marcos. Já um indivíduo com assimetria direcional apresentaria estes pontos mais distantes um do outro, e quanto maior a assimetria da região ou do osso em questão, maior o distanciamento entre eles, uma vez que um marco é o espelho do outro. Como o osso

nasal apresenta um posicionamento bastante assimétrico, se deslocando para o lado esquerdo do crânio ao longo do desenvolvimento, o marco 9, que representa seu ponto médio, apresenta uma diferenciação bastante grande entre o seu posicionamento e o posicionamento do ponto espelhado correspondente. Portanto, fica evidente a forte assimetria existente neste osso.

Assim como para o pré-maxilar, para a região do parietal foi verificada a presença de assimetria de tamanho e forma, sendo que a diferenciação entre ambos os lados nesta região é bastante clara a partir do segundo componente principal. Além disso, o lado direito da região do parietal apresentou um desenvolvimento maior do que a mesma região do lado esquerdo, o que ficou evidenciado a partir da comparação entre as formas médias de ambos os lados. Em uma observação qualitativa do crânio é possível perceber que a crista temporal direita (representada pelo marco 22) encontra-se mais desenvolvida que a esquerda em grande parte da amostra, sendo esta diferenciação maior, quanto mais velho é o indivíduo, fato que é, possivelmente, decorrente de um maior desenvolvimento do lado direito.

Além disso, apesar da ausência de assimetria de tamanho para o côndilo occipital, os resultados das análises estatísticas apontaram uma assimetria de forma, mesmo com a separação visual dos dois lados no gráfico não sendo tão clara como para o pré-maxilar. Com relação ao basicrânio, novamente o mesmo mostrou poucas alterações, o que provavelmente está relacionado ao fato de ser a estrutura mais conservada do crânio (Hallgrímsson *et al.*, 2007; Sperber, 2001). Sendo uma estrutura pertencente ao neurocrânio, seu desenvolvimento é precoce, estando com a formação quase completa no momento do nascimento do animal, o que faz com o mesmo esteja menos sujeito às

alterações de forma. Acredita-se que, como a assimetria se acentua ao longo do desenvolvimento e o desenvolvimento do basicrânio não se estende por um longo período na vida pós-natal, a assimetria desta estrutura acaba não sendo desenvolvida. Além disso, é provável que a assimetria seja uma resposta a uma pressão seletiva do ambiente, e sabendo-se que o neurocrânio apresenta, na maioria das vezes, menores respostas às pressões ambientais (Perez *et al.*, 2009), era esperado que maiores alterações fossem encontradas nas estruturas pertencentes à face.

Os resultados aqui obtidos mostraram que o lado direito do crânio apresenta um desenvolvimento maior que o lado esquerdo para várias estruturas cranianas, o que acaba por gerar a assimetria craniana verificada. O osso nasal, porém, apresenta um deslocamento para a esquerda, o que também pode ser resultado do grande desenvolvimento do lado direito, o qual parece avançar em sentido posterior e medial, o que termina por deslocar esta estrutura central para a esquerda. Isto poderia explicar também a pequena diferenciação quanto a posição dos marcos 2 e 11 do lado esquerdo, os quais se encontram em um posicionamento levemente anterior do que quando comparados a tais marcos do lado direito. É possível que o desenvolvimento ósseo em sentido posterior e medial do lado direito, acabe por provocar um pequeno deslocamento do lado esquerdo em sentido anterior.

A partir destas análises, foi possível notar que a forma é um componente de extrema relevância para estudos morfométricos, uma vez que a partir da mesma foram evidenciadas diferenças entre os lados do crânio, as quais não foram evidenciadas pelo tamanho. Desta maneira, pode-se observar a relevância de estudos que analisem de maneira independente forma e tamanho, permitindo a verificação da importância de cada componente nas

alterações morfológicas. Além de evidenciar a existência de assimetria na forma craniana de *Sotalia guianensis*, este estudo verificou a assimetria em estruturas onde a mesma ainda não havia sido observada com metodologias de observação qualitativa ou de morfometria tradicional. Este fato possibilitará o desenvolvimento de novos estudos sobre assimetria, a partir de diferentes estruturas cranianas e para diversos odontocetos, o que deve contribuir para pesquisas que busquem entender possíveis vantagens da assimetria direcional para os odontocetos, se é que as mesmas existem, assim como a maneira pela qual ocorreu a evolução da assimetria craniana neste grupo.

4. CONCLUSÃO GERAL

A partir deste estudo foi possível concluir que existe uma alteração tanto de tamanho, como de forma, no crânio de *Sotalia guianensis* ao longo do seu desenvolvimento, com ambos componentes se estabilizando por volta dos oito anos de idade. Além disso, que as subunidades cranianas, assim como estruturas específicas do crânio, podem apresentar diferentes padrões de desenvolvimento de tamanho, desenvolvimento de forma, alometria e assimetria. Foi verificado ainda, que a subunidade face apresentou uma alteração maior de forma no decorrer do desenvolvimento, quando comparada ao neurocrânio, evidenciando uma adaptação de forma com relação ao tamanho ao longo da ontogenia, mais marcada para esta subunidade. Além disso, através da aplicação da morfometria geométrica, foi possível verificar visual e graficamente a variabilidade ontogenética entre as subunidades de desenvolvimento e estruturas cranianas, como havia sido proposto de início.

Com relação à assimetria, notou-se que existe uma diferenciação no grau desta entre as classes etárias, ficando claro que a mesma se acentua em indivíduos adultos. Para estes, conclui-se que a assimetria é bastante evidente quando o crânio todo é analisado, assim como quando a análise é realizada para a subunidade face. Porém quando analisamos a subunidade neurocrânio, percebemos que esta assimetria não é tão clara.

Analisando os resultados obtidos nos dois capítulos desta dissertação, podemos notar que a face apresenta maiores alterações tanto com relação à ontogenia, quanto com relação à assimetria. Este fato corrobora a idéia de que a face esteja mais sujeita às pressões ambientais, apresentando maiores modificações ao longo da ontogenia, atrelado ao fato do desenvolvimento desta subunidade ser mais lento durante a vida pós-natal, o que permite

maiores alterações e adaptações durante a vida do animal. Além disso, confirmando-se, agora, que a assimetria se acentua ao longo da ontogenia, é natural que a mesma seja mais evidente para a face, uma vez que tal subunidade apresenta maiores modificações ao longo do desenvolvimento.

Ainda, diferentemente do que se conhecia, a assimetria craniana não está presente somente na região do trato respiratório. Foi verificada também, a presença de assimetria na região do osso parietal, no pré-maxilar e também na região do côndilo occipital, apesar da última ser pouco evidente. Além disso, a assimetria de forma foi muitas vezes evidenciada em regiões onde a assimetria de tamanho estava ausente. Sendo assim, conclui-se que a forma é extremamente relevante para estudos morfométricos, uma vez que a partir da mesma foram evidenciadas diferenças entre os lados do crânio, e também entre determinadas estruturas cranianas, que não foram evidenciadas pelo tamanho. Deste modo, percebe-se a importância de estudos que analisem de maneira independente forma e tamanho, permitindo que seja verificada a contribuição de cada componente para as alterações morfológicas detectadas, o que é obtido através da utilização da morfometria geométrica.

Além de evidenciar a alteração de forma e tamanho ao longo da ontogenia e também a existência de assimetria na forma craniana de *Sotalia guianensis*, este estudo verificou a assimetria em estruturas onde a mesma ainda não havia sido observada com metodologias de observação qualitativa ou de morfometria tradicional. Ainda, foi possível detalhar as alterações, independentes, de forma e tamanho, para diferentes regiões do crânio ao longo da ontogenia, o que também não poderia ser feito utilizando-se apenas a morfometria convencional ou observações qualitativas.

Os resultados obtidos neste estudo geraram um aumento de conhecimento sobre a biologia básica desta espécie, revelando os padrões de desenvolvimento conforme a ontogenia e padrões assimétricos para diferentes classes etárias. Além disso, o mesmo irá possibilitar novos estudos sobre os padrões assimétricos para outras espécies de odontocetos, o que ainda é desconhecido, assim como um aprofundamento nas pesquisas sobre a evolução deste processo para o grupo em questão.

5. RESUMO GERAL

Vários estudos sobre ontogenia e assimetria foram e vêm sendo realizados com cetáceos odontocetos através da utilização da morfometria convencional. Frequentemente compara-se o tamanho de estruturas do sistema respiratório de ambos os lados do crânio para avaliar a assimetria de tamanho e analisa-se o aumento de tamanho do corpo com a idade para avaliar ontogenia. Porém, através da morfometria convencional nem sempre é possível descrever ou representar a variabilidade de forma dos organismos, sendo que informações sobre a forma craniana dos odontocetos são bastante escassas. A morfometria geométrica é uma técnica que vem sendo amplamente utilizada em estudos de comparação da forma dos organismos, a qual leva em consideração o caráter geométrico das formas biológicas e analisa estatisticamente sua variação. Além disso, possibilita a realização de descrições independentes de forma e tamanho, o que permite que os mesmos sejam analisados separadamente. Sendo assim, este estudo se propôs a investigar as alterações ontogenéticas na forma e tamanho do crânio do boto-cinza, *Sotalia guianensis*, buscando alterações cranianas entre indivíduos de diferentes classes etárias, além de verificar a existência e analisar a assimetria direcional na forma e tamanho craniano para esta espécie. Para isso, os crânios foram digitalizados através de um braço digitalizador e depois de um tratamento geométrico as configurações geradas foram analisadas estatisticamente, a partir dos seus componentes de forma e tamanho. Foi observada assimetria de tamanho e forma para muitas das estruturas cranianas estudadas, notando-se diferenças com relação à assimetria entre as subunidades de desenvolvimento do crânio. Com relação à ontogenia, verificou-se um padrão semelhante para a alteração da forma e do tamanho com a idade,

evidenciando que, tanto a forma como o tamanho craniano, se estabilizam por volta dos oito anos de idade.

Palavras-chave: *Sotalia guianensis*; morfometria geométrica; ontogenia; assimetria direcional.

6. ABSTRACT

Several studies exploring the ontogeny and asymmetry involving the skull and skeleton of the species of the Suborder Odontoceti have been performed using traditional morphometric techniques. Ontogenetic studies are usually based on the relationship between body size and age, while those focusing on the existence and degree of asymmetry compare the size of skull elements related to the respiratory tract. However, traditional morphometrics can not describe or represent adequately the variability of shape between organisms and therefore information about shape of dolphin skulls are very scarce. Geometric Morphometrics is a toolbox of techniques that is been widely applied in studies comparing the shape of organisms taking into consideration the biological shapes and analyzing their variation statistically. In addition, this technique allows to independently describe both shape and size separately, as well as exploring their relationship. The main objective of this study is to investigate the changes in skull shape and size during the ontogeny for the estuarine dolphin, *Sotalia guianensis*, characterizing the shape of the skull among different age groups. The second goal is to verify and analyze directional asymmetry in skull size and shape for this species. Dolphin skulls were scanned using a Microscribe-3D digitizer, statistically analyzing size and shape of the configurations created after translating, rotating and rescaling the original variables. Asymmetry in size

and shape was detected for some cranial structures. There were also differences in asymmetry degree between the development subunits of the skull. For the ontogenetic trajectory it was detected a similar pattern of changes in shape and in size with age, in which both are stabilizing around eight years old for this species.

Keywords: *Sotalia guianensis*; geometric morphometrics; ontogeny; directional asymmetry.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Referências bibliográficas da Introdução geral:

- Amaral, A. R.; Coelho, M. M.; Marugan-Lobo, J.; Rohlf, F. J. 2009. Cranial shape differentiation in three closely related delphinid cetacean species: Insights into evolutionary history. **Zoology**, 112: 38–47.
- Bookstein, F. L. 1989. “Size and Shape”: a comment on semantics. **Systematics Zoology**, 38: 173-180.
- Bookstein, F. L. 1991. **Morphometrics tools for landmark data: Geometry and biology**. Cambridge University Press, New York. 435 p.
- Borobia, M. 1989. **Distribution and morphometrics of South American dolphins of the genus *Sotalia***. (Dissertação de Mestrado) Macdonald College of McGill University.
- Borobia, M.; Siciliano, S.; Lodi, L.; Hoek, W. 1991. Distribution of the South American dolphin *Sotalia fluviatilis*. **Canadian Journal of Zoology**, 69: 1025-1039.
- Carvalho, C. T. 1963. Sobre um boto comum no litoral do Brasil. (Cetacea: Delphinidae). **Revista Brasileira de Biologia**, 23: 263-276.
- Cheverud, J. M. 1982. Phenotypic, Genetic, and Environmental Morphological Integration in the Cranium. **Evolution**, 36 (3): 499-516.
- Clemente-Carvalho, R. B. G. 2005. **Caracterização qualitativa e quantitativa da ontogenia e do dimorfismo sexual em *Geochelone carborania* e comparação com *G. denticulata* (Testudines, Testudinidae)**. (Dissertação de Mestrado) Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.
- Galatius, A.; Jespersen, A. 2005. Bilateral directional asymmetry of the appendicular skeleton of the harbor porpoise (*Phocoena phocoena*). **Marine mammal science**, 21(3): 410-410.

- Geise, L.; Borobia, M. 1987. New Brazilian Records for *Kogia*, *Pontoporia*, *Grampus*, and *Sotalia* (Cetacea, Physeteridae, Platanistidae, and Delphinidae). **Journal of Mammalogy**, 68(4): 873-875.

- Higa, A.; Hingst-Zaher, E.; Vivo, M.. 2002. Size and shape variability in the skull of *Pontoporia blainvillei* (Cetacea: Pontoporiidae) from the Brazilian Coast. **Latin American Journal of Aquatic Mammals**, 1:145–152.

- Macleod, C. D.; Reidenberg, J. S.; Weller, M.; Santos, M. B.; Herman, J.; Goold, J.; Pierce, G. J. 2007. Breaking Symmetry: The Marine Environment, Prey Size, and the Evolution of Asymmetry in Cetacean Skulls. **The Anatomical Record**, 290: 539-545.

- Marcus, L. F. 1990. Traditional morphometrics. *In*: Rohlf, F. J.; Bookstein, F. L. (eds). **Proceedings of the Michigan morphometrics workshop**. Special Publication Number 2, pp.77-122 . University of Michigan Museum of Zoology, Ann Arbor.

- Miller, G. S. 1923. The Telescoping of the Cetacean Skull. **Smithsonian Miscellaneous collections**, 76(5): 1-71.

- Miyazaki, N. 1980. Preliminary Note on Age Determination and Growth of the Rough-Toothed Dolphin, *Steno bredanensis*, off the Pacific Coast of Japan. *In*: Perrin, W. F.; Myrick, A. C. (eds.). Age determination of toothed whales and sirenians. **Reports of International Whaling Commition**, Special Issue 3.

- Monteiro, L. R.; Reis, S. F. 1999. **Princípios de Morfometria Geométrica**. Editora Holos. 198p.

- Monteiro-Filho, E. L. A.; Monteiro, L. R.; Reis, S. F. 2002. Skull Shape and Size divergence in Dolphins of the Genus *Sotalia*: A Tridimensional Morphometric Analysis. **Journal of Mammalogy**, 83(1): 123-134.

- Monteiro-Filho, E. L. A.; Filla, G. F.; Santos, M. R.; Domit, C.; Oliveira, L. V.; Lima, J. S. 2006-a. Gênero *Sotalia*. *In*: Monteiro-Filho, L. A e Aranha, J. M. R. (orgs.) **Revisões em Zoologia – I**. SEMA/PR. 391p.

- Monteiro-Filho, E. L. A.; Filla, G. F.; Domit, C.; Oliveira, L. V. 2006-b. Ordem Cetacea. *In*: Reis, N. R.; Peracchi, A. L.; Pedro, W. A.; Lima, I. P. (eds.). **Mamíferos do Brasil**. Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 437p.

- Moraes, D. A. A. 2003. Morfometria Geométrica e a “Revolução na Morfometria”: Localizando e Visualizando Mudanças na Forma dos Organismos. **Bioletim**, ano III, n.3.

- Moraes, D. A. A. 2004. **Evolução morfológica do crânio e elementos pós-cranianos dos marsupiais americanos (Didelphimorphia, Paucituberculata, Microbiotheria)**. (Tese de doutorado). Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

- Moore, W. J. 1981. **The mammalian skull**. Cambridge University Press, New York. 369p.

- Ness, A. R. 1967. A measure of asymmetry of the skulls of odontocete whales. **Journal of Zoology**, 153: 209–221.

- Paula Couto, C. 1979. **Tratado de Paleomastozoologia**. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro. 590p.

- Porto, A. G. C. 2009. **Evolução da modularidade no crânio de mamíferos**. (Dissertação de Mestrado). Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

- Rohlf, F. J. 1998. On applications of geometric morphometrics to studies of ontogeny and phylogeny. **Systematic Biology**, 47: 147-158.

- Rohlf, F. J.; Marcus, L. F. 1993. A revolution in morphometrics. **TREE**, 8: 129-132.

- Rohlf, F. J.; Slice, D. E. 1990. Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. **Systematic Zoology**, 39: 40-59.

- Rommel, S. 1990. Osteology of the Bottlenose Dolphin, *In*: Leatherwood, S.; Reeves, R. R.(eds), pp. 29- 49. **The bottlenose dolphin**. San Diego, Academic Press, XVIII. 653p.

- Sergeant, D. E.; Caldweel, D. K.; Caldweel, M. C. 1973. Age, growth and maturity of bottlenosed dolphin (*Tursiops truncatus*) from Northeast Florida. **Journal of Fisheries Research Board of Canada**, 30: 1009-1011.

- Simões-Lopes, P. C. 1988. Ocorrência de uma população de *Sotalia fluviatilis* Gervais, 1853, (Cetacea, Delphinidae) no limite sul de sua distribuição, Santa Catarina, Brasil. **Biotemas**, 1: 57-62.

- Simões-Lopes, P. C.; Menezes, M. E. 2008. Morfologia Esqueletal. In: Monteiro-Filho, E. L. A; Monteiro, K. D. K. A. (eds.), pp 17-38. **Biologia Ecologia e Conservação do Boto-Cinza**. Páginas & Letras Editora e Gráfica, São Paulo.

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

- Smith, K. K. 1996. Integration of craniofacial structures during development in mammals. *American Zoologist*, 36(1): 70-79.

- Yurick D. B.; Gaskin D. E. 1988. Asymmetry in the skull of the harbour porpoise *Phocoena phocoena* (L.) and its relationship to sound production and echolocation. **Canadian Journal of Zoology**, 66: 399-402.

- Zelditch, M. L.; F. L. Bookstein; Lundrigan, B. L. 1992. Ontogeny of integrated skull growth in the cotton rat *Sigmodon fulviventer*. **Evolution**, 46: 1164-1180.

Referências bibliográficas do capítulo 1:

- Atchley, W. R. 1984. Ontogeny, timing of development, and genetic variance-covariance structure. **The American Naturalist**, 123(4): 519-540.

- Barreto, A. S. 1995. **Idade e Desenvolvimento Craniano de *Tursiops truncatus* (Delphinidae, Cetacea) do Litoral Sul-Sudeste do Brasil**. (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande do Sul, Brasil.

- Begon, M. C.; Townsend, C. R.; Harper, J. L. 2007. **Ecologia - de indivíduos a ecossistemas**. Artmed, Brasil. Quarta edição. 752 p.

- Berge, C.; Penin, X. 2004. Ontogenetic allometry, heterochrony, and interspecific differences in the skull of african apes, using tridimensional Procrustes analysis. **American Journal of Physical Anthropology**, 124: 124-138.

- Borobia, M. 1989. **Distribution and morphometrics of South American dolphins of the genus *Sotalia***. (Dissertação de Mestrado) Macdonald College of McGill University.

- Carroll, S. B. 2006. **Infi nitas formas de grande beleza: como a evolução forjou a grande quantidade de criaturas que habitam o nosso planeta**. Jorge Zahar, Rio de Janeiro. 294 p.

- Cheverud, J.M. 1995. Morphological integration in the Saddle-back Tamarin (*Saguinus fuscicollis*) cranium. **American Naturalist**, 145:63-89.

- Della Serra, O.; Ferreira, F. V. 1976. **Anatomia Dental**. 2^a. Ed. Livraria Editora Artes Médicas, São Paulo.

- Dryden, I. 2009. **Shapes: Statistical shape analysis**. R package version 1.1-3. <http://CRAN.R-project.org/package=shapes>

- Dryden, I. L.; Mardia, K. V. 1998. **Statistical shape analysis**. Wiley, New York. 347 p.

- Gould, S. J. 1977. **Ontogeny and Phylogeny**. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts. 501 p.

- Hallgrímsson, B.; Lieberman D. E.; Liu, W.; Ford-Hutchinson, A.; Jirik, F. R. 2007. Epigenetic interactions and the structure of phenotypic variation in the cranium. **Evolution and Development**, 9: 76–91.

- Hingst-Zaher, E.; Marcus, L.F.; Cerqueira, R. 2000. Application of geometric morphometrics to the study of postnasal size and shape changes in the skull of *Calommys expulsus*. **Hystrix**, 11(1): 99-113.

- Hohn, A. A. 1990. Reading between the lines: analysis of age determination in dolphins. *In*: Leatherwood, S.; Reeves, R. R. (eds.), pp. 575-585. **The Bottlenose Dolphin**. Academic Press, San Diego.

- Jorgensen, M.; Sheil, C. A. 2008. Effects of temperature regime through premetamorphic ontogeny on shape of the chondrocranium in the American Toad, *Anaxyrus americanus*. **Anatomical Record**, 291: 818-826.

- Kasuya, T. 1972. Growth and reproduction of *Stenella coeruleoalba* based on the age determination by means of dentinal growth layers. **Scientific Reporter of Whales Research Institute**, 24: 57 -79.

- Kasuya, T.; Brownell, R. L. 1979. Age Determination, Reproduction, and Growth of the Franciscana Dolphin, *Pontoporia blainvillei*. **Scientific Reporter of Whales Research Institute**, 31 : 45-67.

- Miyazaki, N. 1980. Preliminary Note on Age Determination and Growth of the Rough-Toothed Dolphin, *Steno bredanensis*, off the Pacific Coast of Japan. *In*: Perrin, W. F.; Myrick, A. C. (eds.). Age determination of toothed whales and sirenians. **Reports of International Whaling Commition**, Special Issue 3.

- Monteiro, L. R.; Reis, S. F. 1999. **Princípios de Morfometria Geométrica**. Editora Holos, Ribeirão Preto. 198 p.

- Monteiro-Filho, E. L. A.; Monteiro, L. R.; Reis, S. F. 2002. Skull Shape and Size divergence in Dolphins of the Genus *Sotalia*: A Tridimensional Morphometric Analysis. **Journal of Mammalogy**, 83(1): 123-134.

- Moore, W. J. 1981. **The mammalian skull**. Cambrigde University Press, New York. 369p.

- Moraes, D. A. A. 2004. **Evolução morfológica do crânio e elementos pós-cranianos dos marsupiais americanos (Didelphimorphia, Paucituberculata, Microbiotheria)**. (Tese de doutorado). Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.
- Nishiwaki, M.; Yagi, T. 1953. On the age and growth of teeth in a dolphin, *Prodelphinus coeruleo-albus*. **Scientific Reporter of Whales Research Institute**, 8: 133-146.
- Penin, X.; Berge, C.; Baylac, M. 2002. Ontogenetic study of the skull in modern humans and the common chimpanzees: neotenic hypothesis reconsidered with a tridimensional Procrustes analysis. **American Journal of Physical Anthropology**, 118: 50-62.
- Perez, I. S.; Diniz-Filho, J. A. F.; Rohlf, J. F.; Reis, S. F. 2009. Ecological and evolutionary factors in the morphological diversification of South American spiny rats. **Biological Journal of the Linnean Society**, 98(3): 646–660.
- Pough, F. H. 1980. The advantages of ectothermy for tetrapods. **American Naturalist**, 115: 92-112.
- R Development Core Team. 2009. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.
- Ramos, R. M. A.; Di Benedetto, A. P. M.; Lima, N. R. W. 2000. Relationship between dental morphology, sex, body length and age in *Pontoporia blainvillei* and *Sotalia fluviatilis* (Cetacea) in Northern Rio de Janeiro, Brazil. **Revista Brasileira de Biologia**, 60(2): 283-290.
- Ramos, R. M. A.; Rosas, F. C. W.; Simões-Lopes, P. C.; Zanelatto, R. C.; Dans, S.; Crespo, E. A. 2008. Estimativa de idade. In: Monteiro-Filho, E. L. A; Monteiro, K. D. K. A. pp.193-209. **Biologia Ecologia e Conservação do Boto-Cinza**. Páginas & Letras Editora e Gráfica, São Paulo.
- Rohlf, F. J.; Slice, D. 1990. Extensions of the Procrustes Method for the Optimal Superimposition of Landmarks. **Systematic Zoology**, 39(1):40-59.

- Rosas, F. C. W. 2000. **Interação com a pesca, mortalidade, idade, reprodução e crescimento de *Sotalia guianensis* e *Pontoporia blainvillei* (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, Brasil.

- Rosas, F. C. W.; Monteiro-Filho, E. L. A. 2002. Reproduction of the estuarine dolphin (*Sotalia guianensis*) on the coast of Paraná, southern Brazil. **Journal of Mammalogy**, 83 (2): 507-515.

- Rosas, F. C. W.; Barreto, A. S.; Monteiro-Filho, E. L. A. 2003. Age and growth of the estuarine dolphin (*Sotalia guianensis*) (Cetacea, Delphinidae) on the Paraná coast, Southern Brazil. **Fishery Bulletin**, 101:377-383.

- Scheffer, V. B. 1950. Growth layers on the teeth of Pinnipedia as indication of age. **Science**, 112(2907): 309-311.

- Schmiegelow, J. M. M. 1990. **Estudo sobre cetáceos odontocetes encontrados em praias da região entre Iguape (SP) e baía de Paranaguá (PR)(24^o.42'S-25^o.28'S) com especial referência a *Sotalia fluviatilis* (Gervais, 1853) (Delphinidae).** (Dissertação de Mestrado). Universidade de São Paulo. São Paulo, Brasil.

- Sebens, K. P. 1987. The ecology of indeterminate growth in animals. **Annual Review of Ecology and Systematics**, 18: 371-407.

- Sergeant, D. E.; Caldweel, D. K.; Caldweel, M. C. 1973. Age, growth and maturity of bottlenosed dolphin (*Tursiops truncatus*) from Northeast Florida. **Journal of Fisheries Research Board of Canada**, 30: 1009-1011.

- Simões-Lopes, P. C. 2006. Morfologia do sínclânio do boto-cinza, *Sotalia guianensis* (P.J. van Bénédén) (Cetacea, Delphinidae). **Revista Brasileira Zoologia**, 23(3): 652:660.

- Simões-Lopes, P. C.; Menezes, M. E. 2008. Morfologia Esquelética. *In*: Monteiro-Filho, E. L. A; Monteiro, K. D. K. A. (eds.), pp 17-38. **Biologia Ecologia e Conservação do Boto-Cinza**. Páginas & Letras Editora e Gráfica, São Paulo.

- Slice, D. E. 2002. **Morpheus *et al.*: Software for morphometric research**. Revision 01-30-98-Beta 2002. Department of Biomedical Engineering, Wake Forest University School of Medicine Winston-Salem.

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

- Smith, K. K. 1996. Integration of craniofacial structures during development in mammals. **American Zoologist**, 36 (1):70-79.

- Sperber, G. H. 2001. **Craniofacial development**. BC Decker Inc., Hamilton, Ontario. 220p.

- Sydney, N. V.; Monteiro-Filho, E. L. A. Submetido. Efficiency of wear with decalcification technique for estimating the age of the estuarine dolphin, *Sotalia guianensis* (Cetacea: Delphinidae). **Journal of biosciences**.

- Ten Cate, A. R. T. 1998. **Histologia bucal: desenvolvimento, estrutura e função**. 5^a. Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.

- Venables, W. N.; Ripley, B. D. 2002. **Modern Applied Statistics with S**. 4a. Ed. Springer, New York.

- Zelditch, M. L.; Bookstein, F. L.; Lundrigan, B. L. 1992. Ontogeny of integrated skull growth in the cotton rat *Sigmodon fulviventer*. **Evolution**, 46: 1164–1180.

- Zelditch, M. L.; Sheets, D. H.; Swiderski, D. L.; Fink, W. L. 2004. **Geometric Morphometrics For Biologists: A Primer**. Elsevier Academic Press, New York and London. 437 p.

Referencias bibliográficas do capítulo 2:

- Beddard, E. E. 1900. **A Book of Whales**. G. P. Putnam's Sons, New York. 320 pp.

- Borobia, M. 1989. **Distribution and morphometrics of South American dolphins of the genus *Sotalia***. (Dissertação de Mestrado) Macdonald College of McGill University.

- Dryden, I. 2009. **Shapes: Statistical shape analysis**. R package version 1.1-3. <http://CRAN.R-project.org/package=shapes>

- Galatius, A.; Jespersen, A. 2005. Bilateral directional asymmetry of the appendicular skeleton of the harbor porpoise (*Phocoena phocoena*). **Marine mammal science**, 21(3): 410-410.

- Hallgrímsson, B.; Lieberman D. E.; Liu, W.; Ford-Hutchinson, A.; Jirik, F. R. 2007. Epigenetic interactions and the structure of phenotypic variation in the cranium. **Evolution and Development**, 9: 76–91.

- Hubbs, C. L.; Hubbs, L. C. 1945. Bilateral asymmetry and bilateral variation in fishes. **Papers from the Michigan Academy of Science, Arts and Letters**, 30: 229-311.

- Kellogg, R. 1928. The history of whales. Their adaptation to life in the water. **Quarterly Review of Biology**, 3(1) :29-76, 3(2) :174-208.

- Kükenthal, W. 1908. Ueber die ursache der asymmetrie des walschädels. **Anatomischer Anzeiger**, 33: 609-618.

- Macleod, C. D.; Reidenberg, J. S.; Weller, M.; Santos, M. B.; Herman, J.; Goold, J.; Pierce, G. J. 2007. Breaking Symmetry: The Marine Environment, Prey Size, and the Evolution of Asymmetry in Cetacean Skulls. **The Anatomical Record**, 290: 539-545.

- Mead, J. G. 1975. Anatomy of the external nasal passages and facial complex in the Delphinidae (Mammalia: Cetacea). **Smithsonian Contributions to Zoology**, 207: 1-72.

- Miller, G. S. 1923. The Telescoping of the Cetacean Skull. **Smithsonian Miscellaneous collections**, 76(5): 1-71.

- Moller, A. P.; Swaddle, J. P. 1997. **Asymmetry, development stability, and evolution**. Oxford University Press, Oxford. 292 p.

- Monteiro-Filho, E. L. A.; Monteiro, L. R.; Reis, S. F. 2002. Skull Shape and Size divergence in Dolphins of the Genus *Sotalia*: A Tridimensional Morphometric Analysis. **Journal of Mammalogy**, 83(1): 123-134.

- Ness A. R. 1967. A measure of asymmetry of the skulls of odontocete whales. **Journal of Zoology**, 153: 209–221.

- Neville, A. C. 1976. **Animal Asymmetry**. Edward Arnold, London. 60 p.

- Norberg, R. A. 1977. Occurrence and independent evolution of bilateral ear asymmetry in owls and implications on owl taxonomy. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B**, 280: 375-408.V

- Palmer, A. R. 1996. From symmetry to asymmetry: Phylogenetic patterns of asymmetry variation in animals and their evolutionary significance. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 93:14279-14286.

- Parry, D. A. 1949. The swimming of whales and a discussion of Gray's paradox. **Journal of Experimental Biology**, 26: 24-34.

- Paula Couto, C. 1979. **Tratado de Paleomastozoologia**. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro. 590p.

- Perez, I. S.; Diniz-Filho, J. A. F.; Rohlf, J. F.; Reis, S. F. 2009. Ecological and evolutionary factors in the morphological diversification of South American spiny rats. **Biological Journal of the Linnean Society**, 98(3): 646–660.

- R Development Core Team. 2009. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.
- Ramos, R. M. A.; Di Benedetto, A. P. M.; Lima, N. R. W. 2000. Relationship between dental morphology, sex, body length and age in *Pontoporia blainvillei* and *Sotalia fluviatilis* (Cetacea) in Northern Rio de Janeiro, Brazil. **Revista Brasileira de Biologia**, 60(2): 283-290.
- Ramos, R. M. A.; Rosas, F. C. W.; Simões-Lopes, P. C.; Zanelatto, R. C.; Dans, S.; Crespo, E. A. 2008. Estimativa de idade. *In*: Monteiro-Filho, E. L. A; Monteiro, K. D. K. A. pp.193-209. **Biologia Ecologia e Conservação do Boto-Cinza**. Páginas & Letras Editora e Gráfica, São Paulo.
- Reidenberg J. S.; Laitman J. T. 1987. Position of the larynx in odontoceti toothed whales. **The Anatomical Record**, 218: 98–106.
- Reidenberg J. S.; Laitman J. T. 1994. Anatomy of the hyoid apparatus in Odontoceti (toothed whales): specializations of their skeleton and musculature compared with those of terrestrial mammals. **The Anatomical Record**, 240 (4): 598-624.
- Rommel, S. 1990. Osteology of the Bottlenose Dolphin. *In*: Leatherwood, S.; Reeves, R. R.(eds), pp. 29- 49.**The bottlenose dolphin**. Academic Press, San Diego. 653p.
- Rosas, F. C. W.; Monteiro-Filho, E. L. A. 2002. Reproduction of the estuarine dolphin (*Sotalia guianensis*) on the coast of Paraná, southern Brazil. **Journal of Mammalogy**, 83 (2): 507-515.
- Rosas, F. C. W.; Barreto, A. S.; Monteiro-Filho, E. L. A. 2003. Age and growth of the estuarine dolphin (*Sotalia guianensis*) (Cetacea, Delphinidae) on the Paraná coast, Southern Brazil. **Fishery Bulletin**, 101:377-383.
- Schmiegelow, J. M. M. 1990. **Estudo sobre cetáceos odontocetes encontrados em praias da região entre Iguape (SP) e baía de Paranaguá (PR)(24^o.42'S-25^o.28'S) com especial referência a *Sotalia fluviatilis* (Gervais, 1853) (Delphinidae)**. (Dissertação de Mestrado). Universidade de São Paulo. São Paulo, Brasil.

- Simões-Lopes, P. C. 2006. Morfologia do sincrânio do boto-cinza, *Sotalia guianensis* (P.J. van Bénédén) (Cetacea, Delphinidae). **Revista Brasileira Zoologia**, 23(3): 652:660.

- Simões-Lopes, P. C.; Menezes, M. E. 2008. Morfologia Esqueletal. *In*: Monteiro-Filho, E. L. A; Monteiro, K. D. K. A. (eds.), pp 17-38. **Biologia Ecologia e Conservação do Boto-Cinza**. Páginas & Letras Editora e Gráfica, São Paulo.

- Slice, D. E. 2002. **Morpheus et al.: Software for morphometric research**. Revision 01-30-98-Beta 2002. Department of Biomedical Engineering, Wake Forest University School of Medicine Winston-Salem.

- Slijper, E. J. 1936. Die Cetaceen vergleichend - anatomisch und systematisch. **Capita Zoologica**, 6/7: 1–590.

- Sperber, G. H. 2001. **Craniofacial development**. BC Decker Inc., Hamilton, Ontario. 220p.

- Sydney, N. V.; Monteiro-Filho, E. L. A. Submetido. Efficiency of wear with decalcification technique for estimating the age of the estuarine dolphin, *Sotalia guianensis* (Cetacea: Delphinidae). **Journal of biosciences**.

- Van Valen, L. 1962. A study of fluctuating asymmetry. **Evolution** 16: 125-142.

- Wood, F. G. 1964. General Discussion. *In*: **Marine Bio-acoustics**, Vol.1. Tavolga, W. N (ed.), pp. 395-398. Pergammon Press, New York. 413p.

- Yurick D. B.; Gaskin D. E. 1988. Asymmetry in the skull of the harbour porpoise *Phocoena phocoena* (L.) and its relationship to sound production and echolocation. **Canadian Journal of Zoology**, 66: 399–402.

- Zelditch, M. L.; Bookstein, F. L.; Lundrigan, B. L. 1992. Ontogeny of integrated skull growth in the cotton rat *Sigmodon fulviventer*. **Evolution**, 46: 1164–1180.