

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY  
RIBEIRO

**CAROLINA TORRES AZEVEDO**

**MATURAÇÃO E DENSIDADE MINERAL ÓSSEA DAS NADADEIRAS PEITORAIS  
DE *Sotalia guianensis* (VAN BENEDEN 1864)**

**Campos dos Goytacazes- RJ  
2014**

**CAROLINA TORRES AZEVEDO**

**MATURAÇÃO E DENSIDADE MINERAL ÓSSEA DAS NADADEIRAS PEITORAIS  
DE *Sotalia guianensis* (VAN BENEDEEN 1864)**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

**ORIENTADOR: Leonardo Serafim da Silveira**

**CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ**

**2014**

**CAROLINA TORRES AZEVEDO**

**MATURAÇÃO E DENSIDADE MINERAL ÓSSEA DAS NADADEIRAS PEITORAIS  
DE *Sotalia guianensis* (VAN BENEDEN 1864)**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Aprovada em 3 de Julho de 2014

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>ª</sup>. Tatiana Lemos Bisi (DSc, Ecologia) - MAQUA/UERJ

---

Prof. Vanner Boere Souza (Dsc, Neurociências e Comportamento) - UFV

---

Prof<sup>ª</sup>. Ana Barbara Freitas Rodrigues - (DSc, Anatomia Vet.) - UENF

---

Prof. Leonardo Serafim da Silveira - Orientador (DSc Patologia Vet.) - UENF

Aos,

Meus pais, Victor Gualhano Azevedo e  
Lucinéa Pacheco Torres Azevedo.

**Dedico.**

## AGRADECIMENTO

A Deus por permitir esse crescimento intelectual e espiritual, dando - me saúde, colocando pessoas essenciais durante a caminhada dessa etapa da minha vida e me direcionando em cada obstáculo;

Aos meus pais, Victor Gualhano Azevedo e Lucinéa Pacheco Torres Azevedo, pelo amor, por sempre me apoiarem e darem as condições para que meus sonhos sejam realizados;

As minhas irmãs, Larissa Torres Azevedo e Natália Torres Azevedo, por torcerem por mim e por estarem sempre ao meu lado;

Ao meu sobrinho, Bernardo Rangel, que renova minha energia a cada encontro;

Ao meu namorado, Rubens Rangel da Silva Filho, por estar ao meu lado em mais essa etapa da minha vida;

Ao meu orientador, Leonardo Serafim da Silveira, por todas as experiências vividas, todo o aprendizado transmitido, pela paciência nos momentos difíceis e pela amizade construída;

À Universidade Estadual Norte Fluminense pela estrutura fornecida e à CAPES pela bolsa de fomento concedida;

A toda a equipe da Organização Consciência Ambiental, em especial ao seu diretor Lupércio de Araújo Barbosa, pelo material concedido, pela disponibilidade e por todo conhecimento transmitido;

Às funcionárias do programa de Ciência Animal, Jovana e Conceição, pela paciência e direcionamento às exigências burocráticas;

Ao professor Vanner e à professora Ita, por estarem sempre dispostos a ajudar e por todo o carinho nas idas a Viçosa;

Ao técnico de radiologia do Departamento de Saúde da Universidade Federal de Viçosa, Wanderson, pelas ideias trocadas e pela atenção;

A toda equipe do MAQUA, em especial ao professor José Lailson Brito e ao seu aluno Elitiere Neto, pela colaboração e atenção durante a etapa realizada no laboratório;

Ao David Janiger por todos os artigos disponibilizados sempre que requeridos;

Ao Thiago Rangel pela ajuda com o mapa;

A todos os alunos e funcionários do laboratório de Morfologia e Patologia Animal;

À professora Ana Bárbara, pelo incentivo e pelas ideias trocadas;

Aos funcionários e alunos do laboratório de Zootecnia, em especial ao técnico Almir e ao aluno Wagner, pela ajuda durante a fase executada no laboratório;

À amiga, Mariana Cypriano, por todo apoio, carinho e amizade durante toda a graduação e agora o mestrado;

À amiga, Luisa Teixeira, por me receber sempre com tanto carinho durante as idas ao Rio de Janeiro;

A minha prima, Mariana Gualhano, por estar sempre disponível e pelo carinho durante essa etapa;

Às amigas, Anna Paula Carvalho e Juliana Ywasaki, por estarem sempre por perto e tornarem essa etapa ainda mais gratificante;

Às amigas, Raíssa Azevedo, Letícia Versiani e Isis Demarque pela dedicação e responsabilidade na ajuda para a execução desse trabalho, e por todos os momentos vividos;

Aos amigos, Flavio Soffiati, Carlos Henrique Nogueira, Fábio Queiroz, Caio de Andrade e Cinthya Neves por todos os momentos passados juntos, ajuda e companheirismo;

Aos amigos espirituais que se fazem presentes aconselhando, direcionando e proporcionando equilíbrio;

A toda a banca examinadora, por contribuírem para a melhoria desse trabalho;

A todos que, de alguma forma, contribuíram para execução desse trabalho.

## RESUMO

AZEVEDO, Carolina Torres, M.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Julho 2014. Maturação e densidade mineral óssea das nadadeiras peitorais de *Sotalia guianensis* (VAN BENEDEN 1864). Orientador: Prof. Dr. Leonardo Serafim da Silveira.

A espécie *Sotalia guianensis*, boto-cinza, é encontrada pelo litoral brasileiro e sua carcaça proporciona oportunidades para diversos estudos sobre a espécie, sendo o esqueleto muitas vezes a estrutura que resta devido ao processo de decomposição. Mesmo assim, poucos são os estudos que utilizam partes do esqueleto para o entendimento do padrão de maturação física e massa óssea. O objetivo do presente estudo é entender o desenvolvimento ósseo dos animais encontrados encalhados no litoral do Espírito Santo, através de mensurações em estruturas ósseas e de deposição da massa óssea nas nadadeiras peitorais. Foram utilizados 43 animais, em que foi mensurado o comprimento total do corpo (CT) e medidas da largura, da região anterior e da posterior das nadadeiras peitorais (L.N.P; C.A.N.P; C.P.N.P). Após as medidas, estas foram desarticuladas, maceradas e tiveram suas estruturas ósseas (rádio, ulna e úmero) medidas segundo o comprimento e a largura (Crad; Lrad; Culin; Lulin; Cum; Lum). As massa óssea das três estruturas foram mensuradas através da técnica de absorciometria de raio-x de dupla energia (DEXA). Todas as variáveis foram correlacionadas com a idade, determinada pela leitura de camadas de crescimento na dentina dos dentes, que foram obtidos após a maceração da carcaça. As variáveis das nadadeiras foram testadas pelo critério de Akaike para escalonamento do melhor modelo de crescimento quando correlacionadas com a idade, e para o modelo alométrico quando correlacionadas com o comprimento total. Foi verificado se há diferença de massa óssea entre macho e fêmea e entre os lados direito e esquerdo pelos testes  $U$  de Mann Whitney e  $t$  de student dependendo do teste de normalidade (Shapiro-Wilk) das variáveis. Foi testada a eficácia do DEXA pelo coeficiente de variação (cv%) e correlação da massa óssea com o peso das cinzas pela análise de regressão linear. Além disso, foi verificado se há diferença de massa óssea em animais de três diferentes regiões de ocorrência do litoral do estudo pelo escalonamento da variável DMO em curva de crescimento com seus respectivos intervalos de confiança. Para todas as variáveis correlacionadas com a idade o melhor modelo de crescimento foi o de Brody. Através dele pode-se observar que as nadadeiras param de crescer por volta dos dois anos de idade e o comprimento total do corpo aos 5.5 anos, apresentando essas estruturas crescimento precoce (alometria negativa) em relação ao CT. A metodologia aplicada para mensuração da massa óssea mostrou-se eficaz ( $R^2=0.9181$  e  $cv= 7.8\%$ ). Não houve diferença de densidade óssea entre nadadeira direita e esquerda ( $p>0.05$ ), macho e fêmea ( $p>0.05$ ) e nem entre os animais das três diferentes regiões, pois todas estavam dentro do mesmo intervalo de confiança. A deposição da massa óssea é acentuada no início da vida com posterior estabilização por volta dos treze anos de idade, não sendo aconselhado o uso da técnica para estimar a idade em animais mais velhos que esta idade.

**Palavras-chave:** Boto-cinza, Massa óssea, Maturidade Física

## ABSTRACT

AZEVEDO, Carolina Torres, M.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Julho 2014. Maturation and bone mineral density of the flippers of *Sotalia guianensis* (VAN BENEDEN 1864). Orientador: Prof. Dr. Leonardo Serafim da Silveira.

The species *Sotalia guianensis*, Guiana dolphin, is found throughout the Brazilian coast, and its carcass provides opportunities for various studies about the species, many times, the skeleton is the structure that remains due to the decomposition process. Nevertheless, there are few studies that use parts of skeleton for understanding the pattern of physical maturation and bone mass. The aim of the present study is understand the bone development of animals found stranded on the coast of the Espírito Santo, through the measurements in bone structures and deposition of bone mass in the flippers. Forty-three animals were used, in which measured the total body length (TL) and measures of width and the length of the part anterior and posterior of the flippers (W.F; L.A.F; L.P.F). After the measurements, the flippers were disarticulated, macerated and had their bone structures (radius, ulna e humerus) determined according to the length and width (Lrad; Wrad; Luln; Wuln; Lum; Wum). The bone mass of the three structures were measured using the technique of the x-ray absorptiometry dual energy (DEXA). All variable was correlated with age, determined by the reading of the growth layers in the dentine of teeth, which was obtained after the maceration of the carcass. The variables of the fins were tested by the Akaike's criterion for staggering of the best growth model when correlated with age, and when the allometric model correlated with the total length. It was checked for differences of bone mass between male and female, and right and left side by the tests  $U$  of Mann Whitney and  $t$  of student depending on the normally test (Shapiro-Wilk) of variables. DEXA efficiency was tested by the coefficient of variation (cv %) and correlation of the bone mass with the ash weight by linear regression analysis. Furthermore, it was verified if there are differences in bone mass in animals from three different regions of occurrence of coastline in the study by the staggering in the growth curve with their respective confidence intervals. For all variables correlated with age, the best growth model was the Brody. Through the model can be observed that the fins stop growing around the age of two years old and the total body length around 5.5 years old, presents this structures early growth (negative allometric) compared to TL. The methodology used to measure bone mass proved to be effective ( $R^2=0.9181$  e  $cv= 7.8\%$ ). There was no difference in bone density between right and left fin ( $p>0.05$ ), male e female ( $p>0.05$ ) and nor between the animals of three different regions, for they were all within the same confidence interval. The deposition of bone mass is sharply early in life with subsequent stabilization at about thirteen years old, and is not advisable to use the technique to estimate the age in older animals of this age.

**Keywords: Guiana dolphin, Bone Mass, Physical Maturity.**



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1:</b> Distribuição da espécie <i>Sotalia guianensis</i> (IUCN b, 2012).....	15
<b>Figura 2:</b> <i>Sotalia guianensis</i> proveniente de encalhe no litoral do Espírito Santo (Arquivos da Organização Consciência Ambiental (ORCA), Vila Velha – ES, 2007). .....	15
<b>Figura 3:</b> Estruturas ósseas da nadadeira peitoral da espécie <i>Sotalia guianensis</i> : <b>U</b> : úmero; <b>R</b> : rádio; <b>UL</b> : ulna; <b>i</b> : intermédio; <b>cn</b> : cuneiforme; <b>un</b> : unciforme; <b>mg</b> : magno; <b>na</b> : navicular; <b>tz</b> : trapézio e <b>MI, MII, MIII, MIV e MV</b> : metacarpos (Arquivo pessoal, 2013). .....	19
<b>Figura 4:</b> Secção de dente do <i>Sotalia guianensis</i> evidenciando camadas de crescimento; indica linha acessória (AL), linha neonatal (NL) e duas GLG's (1 e 2) (ROSAS <i>et al.</i> , 2003). .....	24
<b>Figura 5:</b> Mapa do estado do Espírito Santo evidenciando as quatro microrregiões litorâneas, os limites do estado e as localizações dos portos (ARQUIVO PESSOAL, 2014). .....	28
<b>Figura 6:</b> Esquema demonstrativo das mensurações externas do <i>Sotalia guianensis</i> ; <b>A</b> : comprimento total; <b>B</b> : largura da nadadeira peitoral; <b>C</b> : comprimento posterior da nadadeira peitoral; <b>D</b> : comprimento anterior da nadadeira peitoral (MOURA, 2009-modificado). .....	29
<b>Figura 7:</b> Gráficos das curvas de crescimento de Brody para as variáveis: <b>a</b> ) DMO úmero: densidade mineral óssea do úmero; <b>b</b> ) DMO rádio: densidade mineral óssea do rádio; <b>c</b> ) DMO Ulna: densidade mineral óssea da ulna; <b>d</b> ) Culn: comprimento da ulna; <b>e</b> ) Luln: largura da ulna; <b>f</b> ) Cum: comprimento do úmero; <b>g</b> ) Lum: largura do úmero; <b>h</b> ) Crad: comprimento do radio; <b>i</b> ) Lrad: largura do rádio; <b>j</b> ) C.P.N.P: comprimento posterior da nadadeira peitoral; <b>l</b> ) C.A.N.P: comprimento anterior da nadadeira peitoral;; <b>m</b> ) L.N.P: largura da nadadeira peitoral;; <b>n</b> ) CT. <i>Sotalia guianensis</i> do litoral do Espírito Santo. Campos dos Goytacazes, 2014.....	38
<b>Figura 8:</b> Correlação entre peso das cinzas e densidade mineral óssea (DMO) do úmero da nadadeira peitoral da espécie <i>Sotalia guianensis</i> do litoral do Espírito Santo, através da regressão linear com intercepto e sua respectiva equação e coeficiente de determinação (R <sup>2</sup> ). Campos dos Goytacazes, 2014.....	40
<b>Figura 9:</b> Curva de crescimento de Brody com os intervalos de confiança para comparação da densitometria óssea (DMO) do úmero da espécie <i>Sotalia guianensis</i> em áreas do litoral do Espírito Santo: □ (Nordeste e Rio Doce); Δ (Metropolitana); ○ e (Litoral Sul). Campos dos Goytacazes, 2014. ....	41

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Demonstrativo da média, máximo, mínimo, desvio padrão e grau de liberdade (G.L) de variáveis da espécie <i>Sotalia guianensis</i> do litoral do Espírito Santo.....	35
<b>Tabela 2.</b> Valores dos parâmetros do critério de Akaike para o teste de três modelos de curva de crescimento para variáveis da espécie <i>Sotalia guianensis</i> do litoral do Espírito Santo.....	36
<b>Tabela 3.</b> Parâmetros do modelo de curva de crescimento de Brody para variáveis da espécie <i>Sotalia guianensis</i> do litoral do Espírito Santo.....	39
<b>Tabela 4.</b> Parâmetros com seus respectivos intervalos de confiança da equação alométrica de variáveis da espécie <i>Sotalia guianensis</i> do litoral do Espírito Santo...	40

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>11</b>
1.1 OBJETIVOS .....	12
1.1.1 <i>Objetivo geral</i> .....	12
<b>2 REVISÃO LITERÁRIA</b> .....	<b>13</b>
2.1 TAXONOMIA .....	13
2.2 CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DA ESPÉCIE .....	14
2.3 DESCRIÇÃO OSTEOLÓGICA DAS NADADEIRAS PEITORAIS .....	17
2.4 DENSIDADE MINERAL ÓSSEA .....	19
2.4.1 <i>Metodologia</i> .....	19
2.4.2 <i>Massa óssea</i> .....	21
2.5 ESTIMATIVA DE IDADE POR SECÇÃO DENTÁRIA .....	23
2.6 CONSERVAÇÃO .....	25
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>27</b>
3.1 ÁREA DE ESTUDO .....	27
3.2 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS .....	29
3.3 ESTIMATIVA DE IDADE POR SECÇÃO DENTÁRIA .....	30
3.4 DENSITOMETRIA ÓSSEA DAS NADADEIRAS PEITORAIS .....	31
3.5 PESO DAS CINZAS .....	32
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	32
<b>4 RESULTADOS</b> .....	<b>35</b>
<b>5 DISCUSSÃO</b> .....	<b>42</b>
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	<b>50</b>
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>51</b>
<b>APÊNDICES</b> .....	<b>64</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O boto-cinza, espécie *Sotalia guianensis* (Van Beneden 1864), é encontrado encalhado durante todo o ano no litoral brasileiro, proporcionando oportunidades para estudos de causas de morte e de propriedades biológicas (ZERBINI *et al.*, 1999; GUGLIELMINI *et al.*, 2002). Os ossos podem ser a melhor evidência para estudos após a morte, pois são a parte do esqueleto que muitas vezes resistem ao processo de decomposição (CALZADA & AGUILAR, 1996).

Porém, estudos de maturação óssea e padrões de massa óssea são escassos em mamíferos aquáticos, incluindo a espécie *S. guianensis*. A densidade mineral óssea das nadadeiras das espécies *Tursiops truncatus* e *Stenella coeruleoalba* foi mensurada com o objetivo apenas de descrever um novo padrão de determinação de idade e, apesar disso, nunca foi verificada a precisão e acurácia da técnica.

A massa óssea em mamíferos aquáticos está relacionada a fatores como comportamentos pertencentes a diferentes famílias, ou até mesmo espécies, como profundidade de mergulho, comportamento agressivo, forma de alimentação (sucção e captura) (COZZI *et al.*, 2010), características sexuais, poluição ambiental (SONNE *et al.*, 2004), idade e estatura (GUGLIELMINI *et al.*, 2002; BUTTI *et al.*, 2007; LUCIC *et al.*, 2010).

Doenças ósseas, como perda de massa óssea provocada por altas concentrações de metais pesados, podem facilitar a captura acidental em rede de pesca (VAN BRESSEN *et al.*, 2007) que é a principal ameaça de morte direta à espécie (FLORES & SILVA, 2009). Além de sofrer forte pressão antrópica, o boto-cinza não possui dados suficientes de biologia populacional e de história de vida (IUCN a, 2012), merecendo, portanto, atenção em relação ao seu estado de conservação (ROSAS *et al.*, 2010; BARRETO *et al.*, 2011).

Sendo assim, o objetivo do presente estudo é testar a técnica de absorciometria de raio-x de dupla energia na espécie *S. guianensis* e, através das mensurações, descrever o comportamento da massa óssea, além da maturação óssea de estruturas da região da nadadeira peitoral.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo geral

Investigar o conhecimento sobre o padrão de maturação esquelética e de massa óssea, através da técnica de raio-x de dupla energia, em *Sotalia guianensis*.

### 1.1.2 Objetivos específicos

- Determinar a precisão e a acurácia da metodologia de absorciometria com raio- X de dupla fonte em nadadeiras do boto-cinza;
- Mensurar a densidade mineral óssea (DMO) das nadadeiras peitorais de *S. guianensis*;
- Verificar se a deposição mineral óssea poderá ser utilizada como possível padrão de estimativa de idade;
- Verificar o melhor modelo não linear de crescimento para as variáveis mensuradas;
- Correlacionar a densidade mineral óssea às propriedades biológicas: idade, sexo e comprimento total do corpo;
- Correlacionar mensurações realizadas nas nadadeiras peitorais com a idade e com o comprimento total do corpo;
- Verificar se há diferença de massa óssea dos indivíduos de diferentes locais de ocorrência ao longo do litoral do Espírito Santo;
- Descrever o comportamento da maturação esquelética e massa óssea para a espécie.

## 2 REVISÃO LITERÁRIA

### 2.1 TAXONOMIA

Os cetáceos surgiram a partir de mamíferos terrestres a 50 milhões de anos antes do presente e dentre todos os mamíferos aquáticos (sirênios, pinípedes, mustelídeos e urso polar) são o grupo com maior diversidade de espécies completamente adaptadas à vida na água (BERTA *et al.*, 2006; JEFFERSON *et al.*, 2008).

Anteriormente a Ordem Cetacea se subdividia em outras duas subordens denominadas odontocetos (cetáceos com dentes), que incluíam botos e golfinhos, e misticetos (cetáceos com barbatanas) a qual estavam incluídas as baleias verdadeiras (BARNES, 2002). Porém, estudos fósseis e moleculares recentes demonstram alta relação evolutiva entre cetáceos e o grupo dos artiodáctilos o qual consiste os ungulados com dedos pares como bovinos, ovinos, antílopes, camelos, porcos e os hipopótamos (JEFFERSON *et al.*, 2008). Sendo assim, sugere-se que cetáceos e seus familiares ungulados (artiodáctilos) sejam classificados como duas subordens pertencentes à ordem Cetartiodactyla e que os odontocetos e os misticetos passem a constituir duas infraordens da subordem Cetacea (PERRIN, 2013).

A subordem Cetacea possui 89 espécies, as quais 73 pertencem a 10 famílias da infraordem Odontoceti (PERRIN, 2013). Os odontocetos são cetáceos caracterizados pela presença de dentes para captura de presas, um único orifício respiratório, crânio assimétrico e capacidade de ecolocalização (JEFFERSON *et al.*, 2008).

A família Delphinidae, pertencente à infraordem Odontoceti, é constituída por 36 espécies, que possuem rostro aparente, dentes cônicos, hábitos geralmente marinhos e organização social. Apesar de ser a família mais representativa dos odontocetos, possuem aspectos básicos de evolução, fisiologia, ecologia, comportamento e estruturas da população praticamente desconhecidos (LEDUC, 2009).

A espécie *S. guianensis*, pertencente à infraordem Odontoceti e família Delphinidae, passou por grandes discussões taxonômicas, variando de cinco espécies descritas anteriormente a uma única espécie com dois ecótipos (FLORES & SILVA, 2009). Estudo de morfometria craniana (MONTEIRO-FILHO *et al.*, 2002) e de análise genética (CUNHA *et al.*, 2005; CABALLERO *et al.*, 2007) verificaram diferenças entre a espécie de hábito fluvial, encontrada nos afluentes do rio Amazonas, que recebeu o nome de *Sotalia fluviatilis*, e a espécie com hábito marinho, que foi denominada de *S. guianensis*.

## 2.2 CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DA ESPÉCIE

A espécie *S. guianensis*, usualmente chamada de boto-cinza (FLORES & SILVA, 2009), possui distribuição contínua de Honduras, na América Central, ao Brasil, na América do Sul. No Brasil, a espécie está presente do Oiapoque, no estado do Amapá, à Baía de Florianópolis, no estado de Santa Catarina (FLORES & SILVA, 2009; SILVA *et al.*, 2010) (Figura 1). A presença da espécie está altamente relacionada com ambientes costeiros como manguezais, baías e estuários (BOROBIA *et al.*, 1991), com exceção do registro no Arquipélago de Abrolhos na Bahia, onde a espécie é encontrada a 70 Km da costa (FLORES & SILVA, 2009).

O boto-cinza possui a nadadeira dorsal triangular (FLORES, 2002) e essa foi a primeira característica descrita pelo naturalista Alexander Von Humboldt durante uma viagem pela América do Sul e que mais tarde, foi considerada por Hershkovitz (1962) como típica do golfinho do gênero *Sotalia* (CABALLERO *et al.*, 2007). A coloração varia de acordo com a faixa etária (LEATHERWOOD & REEVES, 1983), apresentando os animais mais jovens, o ventre mais rosado, e os adultos mais acinzentado e a região dorsal variando do cinza claro ao cinza azulado (SILVA & BEST, 1996) (Figura 2).



**Figura 1:** Distribuição da espécie *Sotalia guianensis* (IUCN b, 2012).



**Figura 2:** *Sotalia guianensis* proveniente de encalhe no litoral do Espírito Santo (Arquivos da Organização Consciência Ambiental (ORCA), Vila Velha – ES, 2007).



Rosas e Monteiro-Filho (2002) sugerem um sistema de acasalamento promíscuo para a espécie. As fêmeas têm filhotes durante todo o ano, com o tempo de gestação de aproximadamente um ano (FLORES & SILVA, 2009). Estudos demonstraram que os maiores filhotes de zero ano são encontrados no litoral do Espírito Santo, diminuindo gradativamente nos litorais das localidades do Norte do Rio de Janeiro, Sul do Rio de Janeiro e São Paulo (RAMOS *et al.*, 2010). Carvalho *et al.* (2012) registraram neonatos com 122 cm de comprimento total e uma média de 103 cm em animais do Espírito Santo.

A maturidade sexual dos animais do litoral do Rio de Janeiro é alcançada aos seis anos de idade com 180 cm os machos e 160 cm as fêmeas (RAMOS *et al.*, 2000a). No litoral do Paraná e de São Paulo, as fêmeas atingem a maturidade sexual aos seis anos de idade com 164 cm e os machos aos sete anos com 170 cm (ROSAS *et al.*, 2003). Os botos alcançam o tamanho adulto, ou seja, param de crescer com 185 cm, aos sete anos de idade segundo Ramos *et al.* (2000a). Aos sete anos de idade os animais do Espírito Santo apresentam a média do comprimento total do corpo com 187.5 cm, maior do que o registrado para os animais de Rio de Janeiro (CARVALHO *et al.*, 2012).

A idade máxima de adultos, estimada pela leitura de camadas de crescimento presentes no dente dos botos, varia de 30 a 35 anos (ROSAS *et al.*, 2003; ROSAS *et al.*, 2010).

A descoberta da dieta pode ser feita a partir da análise de estruturas como otólitos de peixes, bicos de cefalópodes e restos de carapaças de crustáceos encontradas no estômago dos botos (ZANELATTO, 2001). Estudo feito no litoral do Rio de Janeiro (Di Benedetto & Ramos, 2004) apresentou peixes teleósteos como a dieta preferencial dos botos, seguido de cefalópodes e crustáceos. Vinte e cinco famílias de peixes teleósteos, cinco famílias de cefalópodes e uma família de crustáceo foram identificadas nos hábitos alimentares do boto-cinza, estando todas as espécies diretamente relacionadas ao ecossistema em que o boto habita (ROSAS *et al.*, 2010).

O forrageio pode ocorrer individualmente ou em grupo (JEFFERSON *et al.*, 2008), pois são animais gregários, podendo ser encontrados sozinhos por um curto período de tempo (MONTEIRO-FILHO, 2000). Os grupos possuem de dois a seis indivíduos, porém, grupos de até 60 indivíduos podem ser encontrados e,

raramente agregações com mais de 200, como relatado na Baía de Ilha Grande e Baía de Sepetiba, Brasil (FLORES & SILVA, 2009).

Segundo Di Benedetto & Ramos (2004), a espécie não apresenta dimorfismo sexual, como verificado em estudos de morfometria cranial (BOROBIA, 1989) e de odontometria (RAMOS *et al.*, 2000b; DUTRA, 2010; AZEVEDO, 2012). Ramos (2001) relatou diferenças entre os valores do comprimento total de machos e fêmeas em estudos que abrangiam animais do Espírito Santo, Rio de Janeiro e São Paulo, que apesar de não significativas estatisticamente apresentavam valores maiores para os machos, com exceção do litoral paulista.

### 2.3 DESCRIÇÃO OSTEOLÓGICA DAS NADADEIRAS PEITORAIS

Os mamíferos aquáticos, durante a transição entre a terra e a vida na água, evoluíram as nadadeiras peitorais a partir dos membros anteriores dos mamíferos terrestres, que tinham a função de dar suporte ao peso do corpo durante a locomoção na terra (COOPER, 2009). As nadadeiras peitorais adquiriram características diferentes das dos membros anteriores dos ancestrais terrestres, que contribuíram para propriedades de hidrodinâmica como força e alta flexibilidade (RICHARDSON & OELSCHLÄGER, 2002), influenciando na estabilidade e na precisão de manobras durante a locomoção na água (FISH & ROHR, 1999). Tais transformações incluem modificações na morfologia óssea e na distribuição dos tecidos moles (SANCHES & BERTA, 2010).

Os membros anteriores achatados lateralmente, curtos e robustos, com o cotovelo imóvel e muito próximo ao contorno do corpo (BERTA *et al.*, 2006), são caracterizados osteologicamente pelas regiões que compreendem o úmero, o rádio, a ulna, os metacarpos, os ossos carpais e as falanges (REIDENBERG, 2007). O rádio e ulna estão presos à extremidade distal do úmero, através de uma sincondrose e são caracterizados pela ausência de um centro de reabsorção óssea, que associada à ossificação tardia, resulta em um processo lento de maturidade óssea e a formação de osso esponjoso sem cavidade medular (FELTS, 1966).

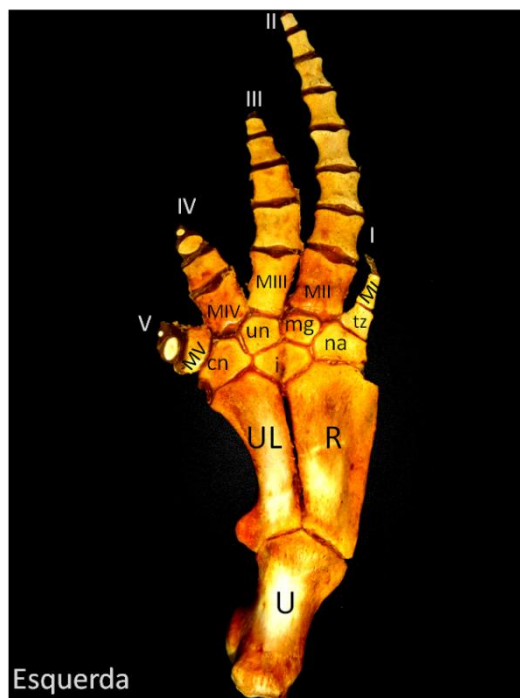
O rádio e ulna, respectivamente, são maiores em comprimento em relação ao úmero, como pode ser constatado nos golfinhos da espécie *Stenella coerulealba* em que a maturação óssea dessas estruturas foi atingida com 7, 6.2 e 5.5 centímetros, respectivamente, entre os 5 e 6 anos de idade nas fêmeas e entre 8 e 9 anos nos machos (CALZADA & AGUILAR, 1996). Além da correlação com a idade, o comprimento da nadadeira possui uma correlação constante com o comprimento total do corpo (FISH & ROHR, 1999).

Os odontocetos desenvolveram formas diferentes no processo olecrano da ulna (SANCHES & BERTA, 2010), apresentando o boto-cinza essa região com variações intraespecíficas e entre as faixas etárias, variando de delgada e de direcionada para o úmero a espessa com o formato arredondado (MENEZES & SIMÕES-LOPES, 1996).

*S. guianensis* apresenta a epífise distal do rádio delimitada por três faces articuladas que fazem contato respectivamente, com os ossos carpais intermédio e navicular e com a cartilagem, diferindo de outros membros da família Delphinidae que apresentam apenas duas faces articulares (MENEZES & SIMÕES LOPES, 1996). Dos seis ossos carpais presentes, três (navicular, intermédio e cuneiforme) estão distribuídos na fila proximal e três estão na fila distal os quais incluem o trapézio, magno e unciforme. Na espécie pode ocorrer a fusão entre o trapézio e o navicular em qualquer fase do desenvolvimento, entre trapézio-navicular e o metacarpo I e entre o carpal cuneiforme e o metacarpo V. Além disso, não há presença de ossos sesamóides e algumas falanges do dedo II podem apresentar forma circular.

Os dedos compostos pelos ossos dos metacarpos e falanges apresentam epífises proximais e distais e caracterizam-se, diferente de outros mamíferos, pelo formato de ampulhetas e pela ausência de facetas articulares (COOPER, 2009). Alguns cetáceos, ao longo da evolução, reduziram o número de dedos e aumentaram o número de falanges (hiperfalangia). Nos odontocetos, o aumento ocorreu nos dígitos II e III (COOPER *et al.*, 2007). Assim como a maioria dos odontocetos (FELTS, 1966), a espécie *S. guianensis* apresenta cinco dígitos os quais o dígito I possui um única falange, o II de 6 a 8 falanges, o dedo III de 3 a 5 falanges, o IV de 2 a 4 falanges e o V de uma a 3 falanges (MENEZES & SIMÕES LOPES, 1996) (Figura 3). Segundo Reidenberg (2007), a hiperfalangia associada

às articulações interfalângicas, contribuem para distribuição da força na ponta da nadadeira.



**Figura 3:** Estruturas ósseas da nadadeira peitoral da espécie *Sotalia guianensis*: **U**: úmero; **R**: rádio; **UL**: ulna; **i**: intermédio; **cn**: cuneiforme; **un**: unciforme; **mg**: magno; **na**: navicular; **tz**: trapézio e **MI, MII, MIII, MIV e MV**: metacarpos (Arquivo pessoal, 2013).

## 2.4 DENSIDADE MINERAL ÓSSEA

### 2.4.1 Metodologia

Anteriormente a quantificação da densidade mineral óssea em cetáceos era baseada no peso do osso inteiro pelo volume através do princípio de Arquimedes (FELTS, 1966; WALL, 1983), que consiste na mensuração da densidade em  $\text{g/cm}^3$  através do deslocamento de água passiva em que o volume do osso equivale ao volume de água deslocada pelo próprio osso (STEIN, 1989; COZZI *et al.*, 2009).

Atualmente outros métodos como tomografia computadorizada quantitativa e absorciometria de fóton único podem ser usados para mensurações da densidade mineral óssea. Porém, a absorciometria de raio-x de dupla energia (DEXA) é

considerada uma técnica não invasiva, rápida, precisa e, por isso, amplamente utilizada em humanos e em outros animais de pequeno e grande porte como gatos, coelhos, cachorros, suínos, ovelhas, cavalos, iguanas, ferrets e primatas não humanos (GRIER *et al.*, 1996; TURNER, 2001; BORGES *et al.*, 2008).

O método (DEXA) é capaz de determinar a quantidade de mineral em gramas (conteúdo mineral ósseo/BMC) em uma determinada projeção do osso e, com isso, obter o que é chamado de densidade mineral óssea (BMD em g/cm<sup>2</sup>). Portanto, na verdade, a mensuração é realizada em área e não em volume (CASTRO, 2004).

Para tal mensuração estão disponíveis no mercado três marcas de aparelhos que são Hologic, Nordland e Lunar que, apesar de apresentarem especificações similares, utilizam diferentes metodologias de implementação de fonte de energia, diferentes técnicas de calibração e diferentes formas de seleção da área de interesse (ARAÚJO, 1995), e segundo Tothill *et al.* (1993), os aparelhos Hologic e Nordland apresentavam resultados bastante aproximados, ao passo que Lunar apresenta valores superiores, possivelmente pela diferente forma de calibração. Hagiwara *et al.* (1993) indicam o uso de Hologic em detrimento de Norland para estudo em ratos por apresentar melhor precisão.

A precisão do método é decorrente da estabilidade da fonte de radiação e da diferença entre os níveis de energia que se diferenciam ao atravessarem os diferentes tecidos do corpo (SARTORI & RESNICK, 1990; CASTRO, 2004). Para obtenção de resultados precisos é necessário respeitar o posicionamento correto da amostra e identificar a região de interesse a ser mensurada. Além disso, para animais de pequeno porte é necessário um programa que aumenta a resolução em conjunto com um suporte de acrílico ou plástico que imitará o tecido mole, permitindo maior eficácia na detecção das bordas ósseas (GRIER *et al.*, 1996). Para mensuração da densidade mineral óssea das nadadeiras peitorais de odontocetos foram testados dois programas: Subregion Analysis Lumbar Spine® (aplicado em humanos) (GUGLIELMINI *et al.*, 2002; BUTTI *et al.*, 2007) e Rat Whole Body® (utilizado em animais de pequeno porte) (LUCIC *et al.*, 2010). Segundo Lucic *et al.* (2010) ambos poderiam ser aplicados com a mesma eficácia nas nadadeiras peitorais de golfinhos.

Aconselha-se que o conhecimento da precisão e da acurácia do método seja obtido antes mesmo do início do experimento para verificação do grau de erro para

cada espécie (ROZENBERG *et al.*, 1995; BORGES *et al.*, 2008). A precisão do método, capacidade de obtenção do mesmo resultado em repetidas mensurações, é adquirida pela medição do coeficiente de variação (CV%). A acurácia pode ser obtida pela comparação de resultados provenientes de diferentes métodos (GRIER *et al.*, 1996). Alguns trabalhos testaram a acurácia da utilização da DEXA em camundongos, comparando dois diferentes sistemas (Norland XR-26 e Hologic QDC-1000/W) (HAGIWARA *et al.*, 1993) ou comparando os resultados com o peso das cinzas e com o conteúdo de cálcio (CAZES *et al.*, 1994; ROZENBERG *et al.*, 1995).

#### 2.4.2 Massa óssea

Registros paleontológicos demonstram o aumento da densidade óssea na fase inicial da adaptação marinha seguida de uma fase com estruturas ósseas mais rarefeitas (FELTS, 1966). Ao comparar a densidade (massa/volume) entre os membros anteriores de mamíferos terrestres e os dos aquáticos, Wall (1983) verificou que para contornar a flutuabilidade, os membros dos mamíferos aquáticos apresentavam uma maior densidade do que os dos terrestres. Porém, a aquisição do colapso pulmonar, que contornou a flutuabilidade durante os mergulhos profundos, provocou uma redução secundária da densidade nos membros de cetáceos e pinípedes. Segundo Gray *et al.* (2007), a alta densidade confere aos animais de águas rasas o controle da flutuabilidade estática, e a baixa, aos de águas profundas, o controle da flutuabilidade dinâmica. Para Lucic *et al.* (2009), manobras lentas e precisas estão associadas a maior mobilidade das nadadeiras relacionada a músculos mais bem desenvolvidos e maior densidade mineral óssea.

A redução da densidade óssea documentada em odontocetos é caracterizada pela substituição do osso cortical (compacto) e suas cavidades medulares por osso esponjoso (MASS, 2009) e foi acompanhada pelo desenvolvimento de um tecido conjuntivo denso que ajudou a manter a força nesses membros (BERTA *et al.*, 2006). Ossos trabeculares, por serem mais metabolicamente ativos (FOGELMAN & BLANKE, 2000), podem ser melhores indicadores de influências de diversos

fatores em detrimento dos ossos compactos. Portanto, alterações de massa óssea em ossos corticais e trabeculares respondem de forma diferente quando influenciada por poluições ambientais (LIND *et al.*, 2003) e a perda óssea não é uniforme em todo o esqueleto, não permitindo que medições em um osso serem extrapoladas para outro osso (BERNING *et al.*, 1989).

A densidade mineral óssea em humanos pode ser influenciada por diversos fatores como o genético, idade, massa corporal, sexo, deficiências hormonais, nível de atividades físicas, vitaminas e medicamentos. (BRANDÃO & VIERA, 1999; NASCIMENTO & PACCINI, 2009). Os indivíduos iniciam o processo de maturação óssea ainda nas primeiras semanas da vida embrionária. Na infância e adolescência, o crescimento ósseo é acentuado até que na fase adulta o pico de massa óssea ( $\text{g/cm}^2$ ) é atingindo entre os 21-25 anos. O pico de massa é definido como a quantidade máxima de massa óssea, que se acumula do nascimento até a maturidade do esqueleto (GILSANZ & MORA, 2003). Após o pico, e um período de estabilidade, inicia-se uma perda gradativa da densidade mineral óssea por volta dos 45 anos (PESSOA *et al.*, 1997). Tais comportamentos podem diferenciar entre os sexos, porém, a diferença torna-se mais evidente na fase da puberdade (FAULKNER *et al.*, 1996) em que meninas atingem o pico de massa óssea antes dos meninos (BAILEY *et al.*, 1999).

Em cetáceos, a idade foi correlacionada com densidade mineral óssea das nadadeiras peitorais das espécies *Stenella coeruleoalba* e *Tursiops truncatus*, objetivando verificar se o método poderia ser usado como novo padrão para estimativa de idade nesses animais. Além disso, a densidade foi correlacionada com o comprimento total do corpo e com medidas externas das nadadeiras peitorais e correlações positivas foram encontradas, assim como com a idade. Diferença sexual em relação à densidade também foi o enfoque desses trabalhos, porém apesar de registrado maior densidade para machos do que para fêmeas, diferenças estatísticas não foram constatadas (GUGLIELMINI *et al.*, 2002; BUTTI *et al.*, 2007; LUCIC *et al.*, 2009; LUCIC *et al.*, 2010).

Profundidade de mergulho, comportamentos agressivos e forma de alimentação (sucção ou captura) são outros fatores que podem estar diretamente relacionados à densidade mineral óssea em cetáceos (COZZI *et al.*, 2010). Variações ambientais também podem influenciar diretamente a composição óssea

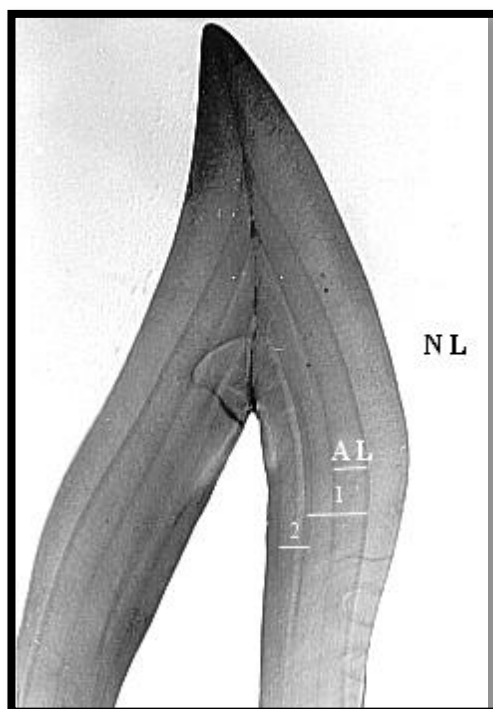
como verificado por Lind *et al.* (2003) em estudos com foca-cinzenta (*Halichoerus grypus*) e por Sonne *et al.* (2004) em estudos com ursos polares (*Ursus maritimus*), em que foi verificado diferença de densidade em períodos de poluição e não poluição.

## 2.5 ESTIMATIVA DE IDADE POR SECÇÃO DENTÁRIA

Os dentes dos odontocetos, utilizados para captura e dilaceração de presas, diferem de outros mamíferos por serem todos iguais (homodontia) e por apresentarem uma única dentição durante toda a vida (monofiodontes) (DI BENEDETTO *et al.*, 2010). Por essas características, a técnica para estimativa de idade, descrita por Hohn *et al.* (1989), consiste na leitura de estruturas, que podem ser definidas e contadas (HOHN, 1990), as quais são registradas todos os anos nos tecidos dentina e cimento presentes nos dentes de muitas espécies (KLEVEZAL, 1996). Esses padrões repetitivos de crescimento foram definidos por Perrin e Myrich (1980) como grupos de camadas de crescimento (Growth Layer Group – GLG's) (Figura 4).

Os grupos de camada de crescimento são compostos por dois pares alternativos e adjacentes, de uma camada corada e de outra não corada (KLEVEZAL, 1980) e são formados por muitas outras finas camadas, que podem ser chamadas de linhas ou camadas acessórias. As camadas acessórias variam em contraste com as camadas anuais e quando lidas, podem levar a incorreta interpretação (HOHN, 1990). Em odontocetos, incluindo *S. guianensis*, as camadas acessórias não permanecem até o final da raiz do dente, em contraste com as camadas anuais, que estão presentes a partir da ponta da coroa até a base da raiz (ROSAS *et al.*, 2003).





**Figura 4:** Secção de dente do *Sotalia guianensis* evidenciando camadas de crescimento; indica linha acessória (AL), linha neonatal (NL) e duas GLG's (1 e 2) (ROSAS *et al.*, 2003).

Após o nascimento, ocorre a deposição de uma primeira camada que se distingue das outras e é denominada camada neonatal (DI BENEDITTO *et al.*, 2010). O boto-cinza possui camadas acessórias não anuais na camada neonatal (ROSAS *et al.*, 2003), as quais poderiam resultar na duplicação da idade de animais jovens, levando a interpretações errôneas de parâmetros de biologia populacional (HOHN, 1990). Neste sentido Rosas *et al.* (2010) sugerem atenção na interpretação dos grupos de camada de crescimento de *S. guianensis* para que a idade seja interpretada corretamente.

Portanto, a leitura dos GLG's, apesar de ser a técnica mais utilizada, exige grande experiência do leitor, tempo de preparo laboratorial e necessidade de dissecação da carcaça, o que torna difícil a aplicação da técnica em golfinhos que possuem poucos dentes como os da família *Ziphiidae*, em animais de museus que precisam manter-se íntegros e em animais vivos (GUGLIELMINI *et al.*, 2002).

## 2.6 CONSERVAÇÃO

A alta pressão antrópica junto a recente separação taxonômica da espécie sugere que *S. guianensis* merece atenção especial em relação ao seu estado de conservação (ROSAS *et al.*, 2010; BARRETO *et al.*, 2011). Segundo Lima & César (2005) a falta de dados leva a falta de informações adequadas para avaliações do estado de conservação e das ameaças sofridas pela espécie. Em 2003, o gênero *Sotalia* estava categorizado como “DD”- dados insuficientes pela IUCN (International Union for Conservation of Nature), e a espécie *S. guianensis* categorizada como espécie não avaliada (NE) (REEVES *et al.*, 2003). Recentemente a lista vermelha das espécies ameaçadas de extinção analisada pela IUCN (SECCHI, 2012) e o Plano Nacional de Ação para Pequenos Cetáceos (BARRETO *et al.*, 2011) incluíram a espécie na categoria de dados insuficientes (“DD”). Segundo REEVES *et al.* (2003) categoria “DD” representa a falta de informações da população para avaliações em relação ao risco de extinção.

Não há registros históricos de exploração comercial do boto-cinza, sendo a captura acidental em redes de pesca a principal ameaça direta à espécie (FLORES & SILVA, 2009). Segundo Di Benedetto & Ramos (2004), os animais jovens que não atingiram a maturidade sexual são os mais susceptíveis a esta interação negativa. No entanto, o golfinho está sujeito a outras atividades humanas, como tráfego de embarcações, exploração de petróleo, destruição de habitat, como os manguezais, e altos níveis de contaminantes (FLORES & SILVA, 2009; ROSAS *et al.*, 2010). Por isso, as áreas costeiras são consideradas as que apresentam maiores riscos a espécies de mamíferos marinhos, apesar de as consequências dos impactos humanos sobre a biodiversidade ainda não serem bem compreendidas (DAVIDSON *et al.*, 2012).

Segundo Lailson-Brito *et al.* (2010) cetáceos da região sudeste estão expostos a altos níveis de organoclorados, porém consequências patológicas associadas aos poluentes merecem investigação. Períodos com diferentes taxas de poluição influenciaram a quantidade de massa óssea da foca-cinzenta (*Halichoerus grypus*) (LIND *et al.*, 2003) e do urso-polar (*Ursus maritimus*) (SONNE *et al.*, 2004), e no Brasil, há registros de malformação óssea em cetáceos, incluindo

a espécie *S. guianensis* (LAETA *et al.*, 2010). Segundo Van Bressen *et al.* (2007) a malformação pode facilitar a ocorrência de fraturas e, conseqüentemente, facilitar a captura em redes de pesca.

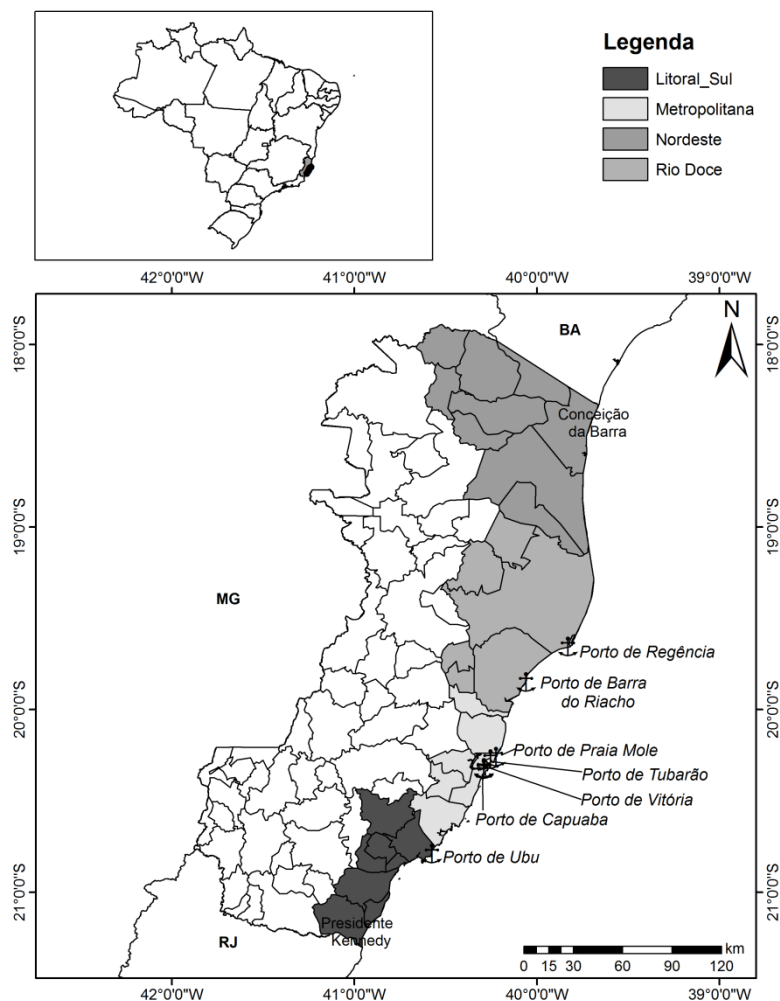
### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 ÁREA DE ESTUDO

O estado do Espírito Santo (ES) está situado na região sudeste do Brasil e encontra-se rodeado pelos estados Bahia ao Norte, Rio de Janeiro ao Sul, Minas Gerais ao Oeste e ao Leste é banhado pelo Oceano Atlântico. Nos extremos Norte e Sul do estado estão localizados, respectivamente, os municípios Conceição da Barra (18°30'S) e Presidente Kennedy (21°05'). Os municípios litorâneos estão dentro de quatro microrregiões administrativas denominadas região Nordeste, Rio Doce, Metropolitana e Litoral Sul (Figura 5). Os 78 municípios do estado estão em uma área de 46.078 Km<sup>2</sup> com 3.514.952 habitantes (IBGE, 2010; PORTAL DO GOVERNO DO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO, 2013a), sendo que 48% dos habitantes estão situados na microrregião Metropolitana (LIRA & CAVATTI, 2010).

O estado possui o clima tropical úmido com temperatura média de 23° C e a vegetação tropical. O recurso hídrico mais importante do estado é o rio Doce, porém os rios São Mateus, Itaúnas, Itapemirim, Jucu, Mucurí e Itabapoana também se destacam dentre as 12 Unidades Administrativas de Recursos Hídricos (PORTAL DO GOVERNO DO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO, 2013b).

Ambientes costeiros sensíveis, como praias arenosas, enseadas, estuários e baías são os locais de maior concentração urbana e atividades econômicas, além do grande potencial turístico. Os problemas que mais afetam a área costeira são a ocupação desordenada, o lançamento de efluentes domésticos e industriais, o desmatamento dos remanescentes de vegetação nativa, os barramentos inadequados de rios e canais, a disposição indevida de lixo domésticos e industriais, o uso agropecuário inadequado, a pesca predatória, a exploração mineral inadequada e a intensificação dos processos erosivos (IEMA, 2013).



**Figura 5:** Mapa do estado do Espírito Santo evidenciando as quatro microrregiões litorâneas, os limites do estado e as localizações dos portos (ARQUIVO PESSOAL, 2014).

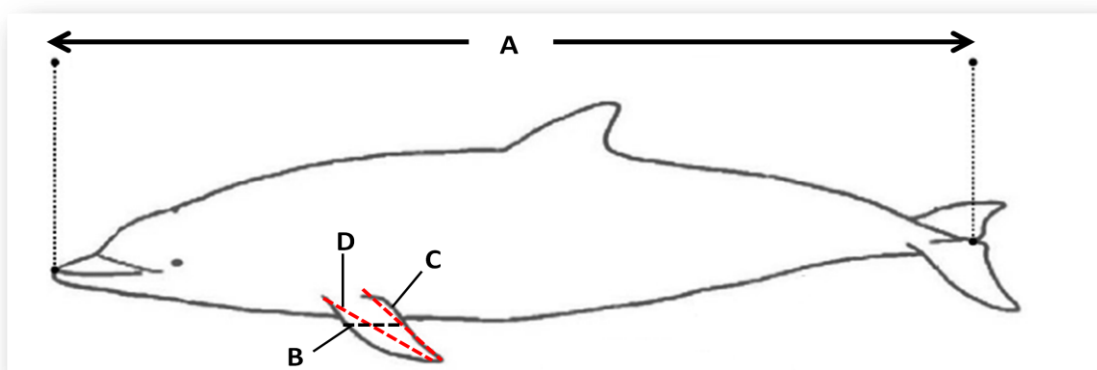
No Espírito Santo está o maior complexo portuário da América Latina que agrupa seis portos e terminais (SINDAMARES, 2013). Segundo Souza (2013), os portos são responsáveis pelo lançamento de cádmio, cromo, cobre, mercúrio, chumbo, níquel, estanho e zinco na Baía de Vitória. Concentrações de metais pesados nas regiões do porto de Vitória também foram associadas a lançamentos de esgotos domésticos (JESUS *et al.*, 2004) que atualmente é a principal ameaça à região, por receber 70% do efluente doméstico *in natura* (SOUZA, 2013).

### 3.2 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

Os animais são provenientes de encalhes ou de captura acidental em rede de pesca do litoral do Espírito Santo e foram recolhidos, desde o município de Conceição da Barra até o município de Presidente Kennedy, pelo Instituto ORCA (Organização Consciência Ambiental-Guarapari/ES) no período de março de 2009 a fevereiro de 2013.

Todos os 43 indivíduos recolhidos passaram por exames *post-mortem*, e quando possível, devido ao grau de decomposição, foi realizada distinção sexual e morfometria.

Mensurações externas (com tecido mole) foram feitas incluindo o comprimento total (medida da ponta do rostro até a comissura da nadadeira caudal) e largura, comprimento anterior e comprimento posterior das nadadeiras peitorais (L.N.P; C.A.N.P; C.P.N.P) (Figura 6).



**Figura 6:** Esquema demonstrativo das mensurações externas do *Sotalia guianensis*; **A:** comprimento total; **B:** largura da nadadeira peitoral; **C:** comprimento posterior da nadadeira peitoral; **D:** comprimento anterior da nadadeira peitoral (MOURA, 2009-modificado).

Em todos os espécimes foi realizada necropsia e a desarticulação das nadadeiras direita e esquerda foi feita na junção glenoumeral, seguida da maceração da carcaça e obtenção dos dentes para determinação da idade através

da leitura dos GLG's. Todos os esqueletos, com exceção dos das nadadeiras, encontram-se arquivados no acervo osteológico do Instituto ORCA.

As nadadeiras (direita e esquerda) foram submetidas à técnica de maceração individualmente para o amolecimento e posterior retirada do tecido mole no Laboratório de Morfologia e Patologia Animal-LMPA da Universidade Estadual do Norte Fluminense-UENF. Após a retirada do tecido mole, com o auxílio de um paquímetro digital, o esqueleto das nadadeiras foi secado ao sol e foram realizadas mensurações internas (ósseas) de largura e comprimento dos ossos: rádio (Lra; Crad), ulna (Luln; Culn) e úmero (Lum; Cum). O comprimento foi mensurado entre as epífises proximais e distais, e a largura da face medial à lateral na região média dos ossos.

### 3.3 ESTIMATIVA DE IDADE POR SECÇÃO DENTÁRIA

Os dentes para estimativa de idade, através da leitura dos GLG's, de 37 animais, foram preparados pela técnica descrita por Hohn *et al.* (1989) em colaboração com o Laboratório de Mamíferos Aquáticos e Bioindicadores (MAQUA) da Faculdade de Oceanografia da Universidade Estadual do Rio de Janeiro (UERJ).

Primeiramente foram escolhidos, armazenados e identificados os dentes mais íntegros e que possuíam a raiz mais reta, e a coroa menos gasta, independente da localização na mandíbula ou maxila.

Para obtenção da região central do dente, o mesmo teve suas laterais cortadas com uma serra metalográfica de baixa velocidade. A porção mais delgada do dente, dentro de histossete, foi fixada em formol a 10% por 12h, lavado em água corrente e desmineralizado em ácido descalcificante comercial (RDO®). O tempo de desmineralização variou de três a oito horas dependendo do dente, precisando, portanto, de mais tempo no RDO® os dentes com maior quantidade de tecido depositado na cavidade pulpar, ou seja, os dos animais mais velhos.

Após a desmineralização e obtenção da porção central completamente flexível, os dentes foram novamente lavados em água corrente para retirada do

excesso de descalcificante. Finas camadas, de 25 cm, foram cortadas em micrótomo de congelamento (Leica SM2010 R) no sentido raiz-coroa. Os cortes da porção mais central foram escolhidos e corados em Hematoxilina de Mayer por 20 minutos e lavados posteriormente para retirada do excesso do corante.

Então, foram mergulhados em amônia diluída para intensificação da cor e colocados em uma mistura de glicerina e água na proporção de 1:1 até a montagem das lâminas de vidros com glicerina 100% e selagem com selador comercial.

As camadas de crescimento foram lidas três vezes em microscópio óptico com aumento de 40x, com espaço de tempo de uma semana entre uma leitura e outra, e pelo mesmo pesquisador, sendo realizada a quarta leitura caso houvesse alguma dúvida em relação à estimativa de idade.

Cada grupo de camada, representado por uma região corada e por uma não corada, foi contada como um ano de vida do animal. Aos animais que apresentavam apenas a linha neonatal nos dentes, foi atribuído 0.5 ano de idade, e àqueles que não depositaram nem mesmo a neonatal, foram considerados recém-nascidos com zero ano.

### 3.4 DENSITOMETRIA ÓSSEA DAS NADADEIRAS PEITORAIS

As estruturas ósseas das nadadeiras, direita e esquerda, de 43 animais foram analisadas segundo a densitometria, em parceria com a Divisão de Saúde da Universidade Federal de Viçosa (UFV) no densitômetro *Lunar Prodigy Advance DXA*. As nadadeiras foram posicionadas na projeção dorso-palmar, após a fixação da peça em uma plataforma de acrílico que possui a mesma intensidade de absorção dos tecidos moles (Apêndice A).

Após todas as varreduras, foi mensurada a densidade mineral óssea (DMO-g/cm<sup>2</sup>) das regiões de interesse úmero, rádio e ulna no software Encore™ 2010 (versão 13.31), utilizando o protocolo para análises de antebraço direito humano. Todas as mensurações foram realizadas pela mesma pessoa com a finalidade de diminuir erros experimentais.



### 3.5 PESO DAS CINZAS

Para obtenção da parte inorgânica do osso através da cinza óssea, o úmero esquerdo de 20 nadadeiras foi seco em estufa a 55°C por 72 horas e triturado em moinho de bola para homogeneização. Após dois gramas de amostra, foram pesados em cadinho de porcelana para posterior incineração em mufla a 550°C por 4 horas. Com a massa de cinza obtida dos dois gramas foi possível estimar a massa do úmero inteiro. O procedimento acima foi realizado no Laboratório de Zootecnia - LZNA da Universidade Estadual Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF).

### 3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi testada a normalidade da distribuição de todas as variáveis que incluem a idade, comprimento total do corpo (CT), medidas externas da nadadeira (C.A.N.P, C.P.N.P, L.N.P), medidas internas da nadadeira (Lum, Cum, Luln, Culn, Lrad e Crad) e DMO do rádio, ulna e úmero através do teste  $W$  de Shapiro-Wilk's. Para a variável com distribuição normal foi aplicado o teste paramétrico  $t$  de Student para verificar a possível diferença entre as nadadeiras direita e esquerda e entre macho e fêmea, e para os demais, o teste não paramétrico  $U$  de Mann-Whitney com as mesmas finalidades.

Foram testados modelos de regressão não lineares de crescimento através do critério de seleção de Akaike (AKAIKE, 1974) com o objetivo de avaliar o melhor perfil de crescimento para todas as variáveis correlacionadas com a idade. O valor de Akaike (AICc) foi calculado pela soma dos quadrados do erro (SQE), número de parâmetros estimados incluindo a variância residual ( $\Theta$ ), e o tamanho da amostra ( $n$ ). As diferenças entre os valores do AICc ( $\Delta$ ), a probabilidade de verossimilhança ( $w$ ), e a razão de evidência (ER), foram também computadas usando as equações descritas por Vieira *et al.* (2012).

Sendo assim foram testados os seguintes modelos:

$$Y = Y_f - (Y_f - Y_0) \exp(-kt)$$

*Brody;*

$$Y = Y_0 \exp[k(1 - \exp(-Dt))/D]$$

*Gompertz;*

$$Y = Y_0 Y_f / [Y_0^n + (Y_f^n - Y_0^n) \exp(-kt)]^{(1/n)}$$

*Richards.*

Onde Y são as variáveis dependentes no tempo t;  $Y_0$  é a mensuração inicial ao nascer;  $Y_f$  é o crescimento assintótico (representa o tamanho adulto do animal); k é a taxa de crescimento específica; D é a taxa fracionada de declínio de k; e t é a idade do animal expressa em anos.

O tempo final de inflexão para o modelo com melhor poder de predição pôde ser calculado objetivando estimar a idade exata que o desenvolvimento é cessado pelo uso da seguinte equação:

$$t_f = \frac{-1}{k} \ln \left( \frac{y_f - 0,95y_f}{y_f - y_0} \right)$$

Para o escalonamento das variáveis de mensurações externas e internas das nadadeiras em relação ao comprimento total do corpo foi adotado o modelo alométrico de Huxley e Teissier (1936) utilizando a equação:

$$Y = \alpha \cdot X^\beta$$

*Alometria*

Onde X é o comprimento total do corpo; Y é a mensuração da variável requerida;  $\alpha$  é a constante da integração e define a intercepção com o eixo y;  $\beta$  é uma medida da proporção das taxas de crescimento relativo ou coeficiente de

alometria. Se  $\beta = 1$  estamos perante uma isometria (crescimento isométrico), se  $\beta < 1$  estamos perante a uma alometria negativa (crescimento precoce), se  $\beta > 1$  temos uma alometria positiva de crescimento (crescimento tardio).

Para verificar a ocorrência de escalonamento nas variáveis foram comparados os parâmetros relacionados às equações alométricas com os parâmetros das médias das variáveis analisadas por meio do critério de seleção de Akaike (1974).

A acurácia da técnica de absorciometria de raio-x de dupla energia foi avaliada pela correlação entre o peso em gramas das cinzas e a DMO da estrutura óssea do úmero das nadadeiras através da análise de regressão linear pela equação  $Y = a + bx$  (onde  $y$  é peso das cinzas,  $a$  e  $b$  são constantes da equação e  $x$  a DMO do úmero). Modelos lineares com intercepto e sem intercepto também foram testados através do critério de Akaike para a aplicação do modelo que melhor se ajusta aos dados. E a precisão obtida através do coeficiente de variação (%).

Foi verificado se há diferença de densidade óssea do úmero de animais de três localidades de ocorrência das quatro microrregiões litorâneas. Para isso, os dados foram organizados separadamente, utilizando o modelo de curva de crescimento que melhor se ajustou com seus respectivos intervalos de confiança, nas regiões que compreendem o Nordeste ( $n=3$ ) e Rio Doce ( $n=5$ ), a região Metropolitana ( $n=11$ ) e a Litoral Sul ( $n=18$ ). Os animais da região Nordeste e Rio Doce formaram uma só região, pois estavam em número reduzido.

Todas as análises estatísticas foram realizadas empregando-se o programa SAS (SAS Institute, Cary, NC, USA, 2002) versão 9.0.

## 4 RESULTADOS

Dentre os 43 animais analisados, 24 eram machos, 11 fêmeas e 8 não puderam ter o sexo determinado. Variaram a idade entre zero e 35 anos (n=37), e o comprimento total do corpo entre 122 e 206 centímetros (n=42). As médias da densidade mineral óssea da ulna, rádio e úmero foram de 0.49 g/cm<sup>2</sup>, 0.63 g/cm<sup>2</sup> e 1.03 g/cm<sup>2</sup>, respectivamente (tabela 1).

Com exceção da variável DMO (p>0.05), não foi encontrada distribuição normal para as variáveis analisadas (p<0.05). Não foi encontrada estatisticamente diferença entre a nadadeira direita e a esquerda e nem entre machos e fêmeas para a variável DMO, segundo o teste t student, e para as variáveis comprimento total do corpo (CT), medidas externas da nadadeira (C.A.N.P, C.P.N.P, L.N.P) e medidas internas da nadadeira (Lum, Cum, Luln, Culn, Lrad e Crad), segundo o teste U Mann Whitney (p>0.05). Não havendo necessidade de distinção de lado e de gênero para as análises seguintes.

**Tabela 1.** Demonstrativo da média, máximo, mínimo, desvio padrão e grau de liberdade (G.L) de variáveis da espécie *Sotalia guianensis* do litoral do Espírito Santo.

Variáveis	Média	Máximo	Mínimo	Desvio Padrão	G.L
Idade (anos)	10.28	35	0	±9.44	37
CT (cm)	176.20	206	122	±19.40	37
DMO Úmero (g/cm <sup>2</sup> )	1.03	1.46	0.62	±0.19	37
DMO Ulna (g/cm <sup>2</sup> )	0.49	0.66	0.30	±0.09	37
DMO Rádio (g/cm <sup>2</sup> )	0.63	0.95	0.40	±0.11	37
C.A.N.P (cm)	26.74	47	18	±4.41	36
C.P.N.P (cm)	20.08	28	7.5	±3.91	36
L.N.P (cm)	11.08	13.5	7	±1.46	36
Crad (cm)	6.74	7.47	5.31	±0.47	32
Lrad (cm)	2.92	3.32	1.98	±0.29	32
Culn (cm)	5.91	6.43	4.61	±0.39	32
Luln (cm)	1.60	1.98	1.09	±0.19	32
Cum (cm)	5.53	6.31	3.82	±0.44	32
Lum (cm)	2.20	2.49	1.66	±0.16	32

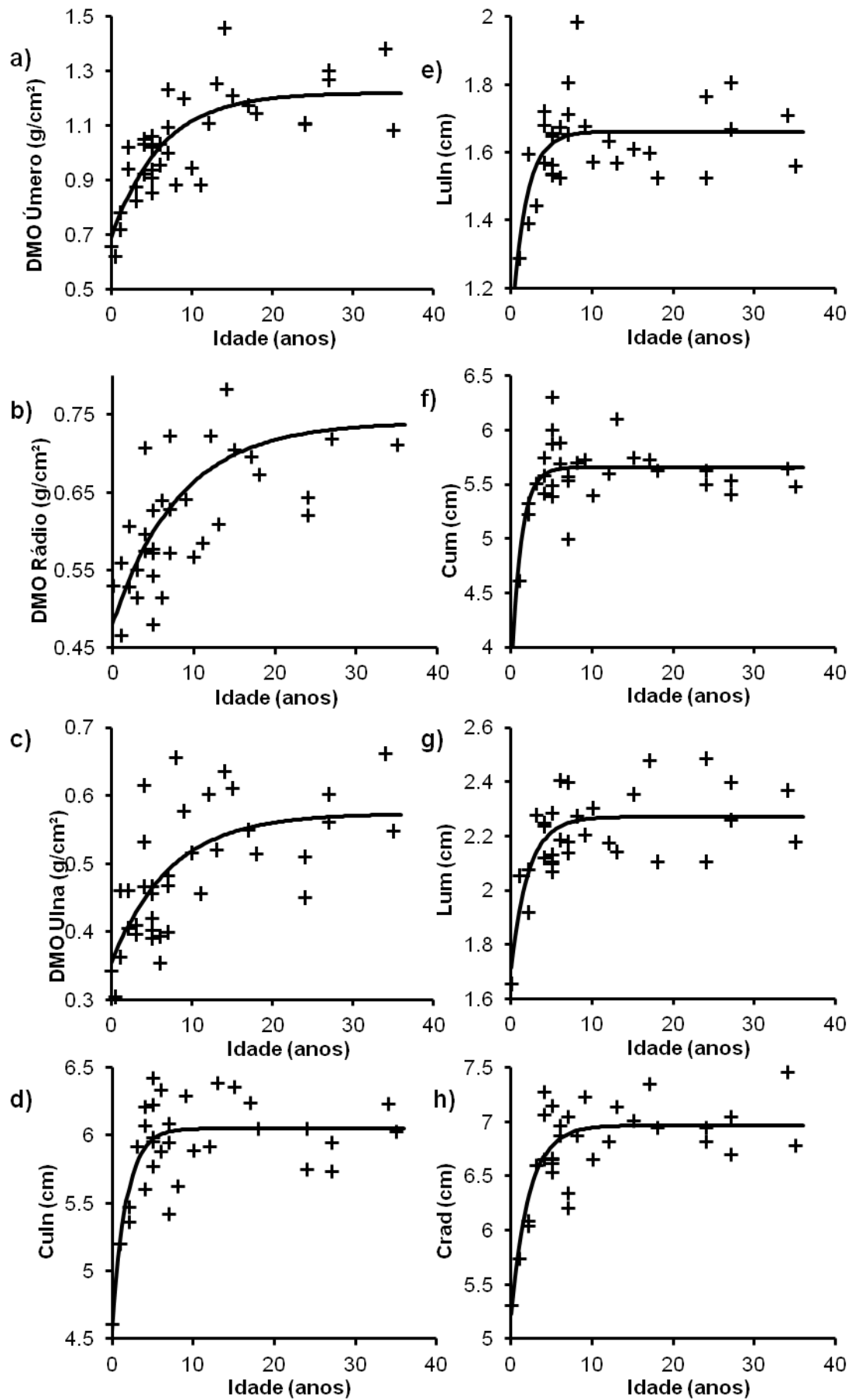
CT: comprimento total; DMO: densidade mineral óssea; C.A.N.P: comprimento anterior da nadadeira peitoral; C.P.N.P: comprimento posterior da nadadeira peitoral; L.N.P: largura da nadadeira peitoral; Crad: comprimento do rádio; Lrad: largura do rádio; Culn: comprimento da ulna; Luln: largura da ulna; Cum: comprimento do úmero e Lum: largura do úmero.

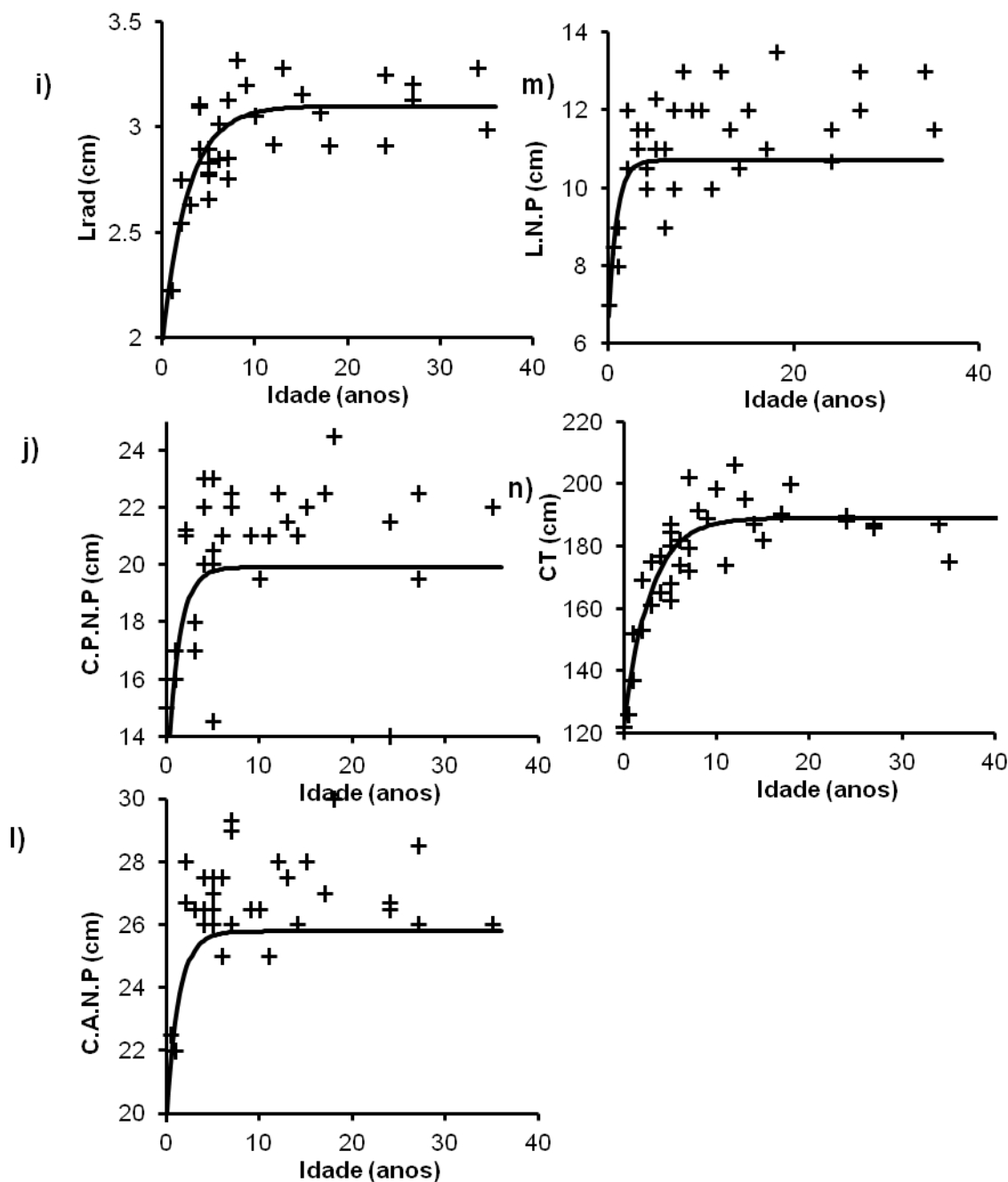
A tabela 2 apresenta as estimativas obtidas para os parâmetros dos três modelos no ajuste das curvas de crescimento de todas as variáveis do boto-cinza através do critério de Akaike. Todos os modelos não lineares estudados apresentaram ajuste satisfatório. O modelo de Gompertz e Brody foram os que apresentaram melhores resultados (ER mais próximo a 1) para todas as variáveis. Porém, como na distribuição dos dados, o início das curvas de crescimento das variáveis do boto-cinza (Figura 7) se comporta de maneira exponencial, a curva de Brody é a mais aconselhada para esse tipo de estudo.

**Tabela 2.** Valores dos parâmetros do critério de Akaike para o teste de três modelos de curva de crescimento para variáveis da espécie *Sotalia guianensis* do litoral do Espírito Santo.

Variável	Modelo	SSE	AICc	$\Delta$	w	ER	$\Theta$	n
CT (cm)	Brody	2717.1	148.98	0	0.459	1	3	37
	Gompertz	2733.3	149.17	0.19	0.417	1.09	3	37
	Richards	2717.1	151.61	2.624	0.123	3.71	4	37
DMO Úmero (g/cm <sup>2</sup> )	Brody	0.4755	-127.83	0	0.47	1	3	37
	Gompertz	0.4802	-127.52	0.314	0.402	1.17	3	37
	Richards	0.4755	-125.21	2.624	0.126	3.71	4	37
DMO Ulna (g/cm <sup>2</sup> )	Brody	0.1729	-160.2	0.018	0.423	1	3	37
	Gompertz	0.1728	-160.22	0	0.427	1	3	37
	Richards	0.17	-158.12	2.101	0.149	2.86	4	37
DMO Rádio (g/cm <sup>2</sup> )	Brody	0.254	-147.89	0	0.445	1	3	37
	Gompertz	0.2544	-147.84	0.05	0.434	1.02	3	37
	Richards	0.254	-145.27	2.624	0.119	3.71	4	37
C.A.N.P (cm)	Brody	1921.4	137.89	0.005	0.436	1	3	36
	Gompertz	1921.1	137.89	0	0.437	1	3	36
	Richards	1913.2	140.38	2.492	0.125	3.47	4	36
C.P.N.P (cm)	Brody	1116.6	120.53	0.083	0.415	1.04	3	36
	Gompertz	1113.7	120.44	0	0.432	1	3	36
	Richards	1095.4	122.54	2.094	0.151	2.85	4	36
L.N.P (cm)	Brody	276	75.8	0.035	0.428	1.02	3	36
	Gompertz	275.7	75.77	0	0.435	1	3	36
	Richards	273.1	78.09	2.321	0.136	3.19	4	36
Crad (cm)	Brody	2.4323	-75.6	0.069	0.368	1.03	3	32
	Gompertz	2.427	-75.67	0	0.381	1	3	32
	Richards	2.2955	-74.83	0.841	0.25	1.52	4	32
Lrad (cm)	Brody	0.7472	-113.37	0	0.471	1	3	32
	Gompertz	0.7548	-113.04	0.324	0.401	1.17	3	32
	Richards	0.7472	-110.74	2.624	0.127	3.71	4	32
Culn (cm)	Brody	1.8551	-84.27	0.164	0.376	1.08	3	32
	Gompertz	1.8456	-84.43	0	0.408	1	3	32
	Richards	1.7698	-83.15	1.282	0.215	1.89	4	32
Luln (cm)	Brody	0.3349	-139.05	0.115	0.424	1.06	3	32
	Gompertz	0.3337	-139.16	0	0.449	1	3	32
	Richards	0.333	-136.6	2.557	0.125	3.59	4	32
Cum (cm)	Brody	1.7772	-85.64	0.387	0.357	1.21	3	32
	Gompertz	1.7558	-86.03	0	0.434	1	3	32
	Richards	1.6937	-84.56	1.472	0.208	2.08	4	32
Lum (cm)	Brody	0.4166	-132.06	0	0.458	1	3	32
	Gompertz	0.419	-131.88	0.184	0.418	1.09	3	32
	Richards	0.4166	-129.44	2.624	0.123	3.71	4	32

**CT:** comprimento total; **DMO:** densidade mineral óssea; **C.A.N.P:** comprimento anterior da nadadeira peitoral; **C.P.N.P:** comprimento posterior da nadadeira peitoral; **L.N.P:** largura da nadadeira peitoral; **Crad:** comprimento do rádio; **Lrad:** largura do rádio; **Culn:** comprimento da ulna; **Luln:** largura da ulna; **Cum:** comprimento do úmero e **Lum:** largura do úmero.





**Figura 7:** Gráficos das curvas de crescimento de Brody para as variáveis: **a)** DMO úmero: densidade mineral óssea do úmero; **b)** DMO rádio: densidade mineral óssea do rádio; **c)** DMO Ulna: densidade mineral óssea da ulna; **d)** Culn: comprimento da ulna; **e)** Luln: largura da ulna; **f)** Cum: comprimento do úmero; **g)** Lum: largura do úmero; **h)** Crad: comprimento do rádio; **i)** Lrad: largura do rádio; **j)** C.P.N.P: comprimento posterior da nadadeira peitoral; **l)** C.A.N.P: comprimento anterior da nadadeira peitoral; **m)** L.N.P: largura da nadadeira peitoral; **n)** CT. *Sotalia guianensis* do litoral do Espírito Santo. Campos dos Goytacazes, 2014.

Os parâmetros da equação de curva de crescimento de Brody estão inseridos na tabela 3 junto aos valores de  $t_f$ , em que pode ser observada a idade exata que o crescimento de cada variável estabiliza. O comprimento total do corpo do boto-cinza do Espírito Santo cessou o crescimento com 189 cm aos 5.5 anos de idade. Os comprimentos anterior e posterior e a largura das nadadeiras peitorais, medidas realizadas externamente, atingiram o crescimento assintótico com 25.7 cm, 19.9 cm e 10.7 cm, respectivamente, aos dois anos de idade. O comprimento do úmero e da ulna estabilizaram o crescimento com 5.6 cm e 6 cm aos 2.7 e 2.3 anos de idade, e o comprimento do rádio um pouco mais tarde com 6.9 cm aos 3.6 anos. A largura foi atingida com 2.2 cm, 1.66 cm e 3 cm aos 3.4 anos para o úmero e ulna e aos 5.4 anos para o rádio.

Os dados demonstram que a densidade mineral óssea aumentou exponencialmente com a idade apenas no início do desenvolvimento e após um pico (figura 7), iniciou-se um processo de estabilização nas idades de 13, 14 e 16 anos para o úmero, ulna e rádio, respectivamente (tabela 3).

**Tabela 3.** Parâmetros do modelo de curva de crescimento de Brody para variáveis da espécie *Sotalia guianensis* do litoral do Espírito Santo.

Variáveis Brody	Parâmetros			
	$y_0$	$y_f$	k	$t_f$
CT (cm)	121.70	189.1	0.3584	5.48
DMO Úmero (g/cm <sup>2</sup> )	0.69	1.2208	0.1633	13.28
DMO Ulna (g/cm <sup>2</sup> )	0.35	0.5735	0.1386	14.71
DMO Rádio (g/cm <sup>2</sup> )	0.48	0.7403	0.1215	16.03
C.A.N.P (cm)	19.57	25.7828	0.7618	2.06
C.P.N.P (cm)	11.65	19.9045	0.8131	2.60
L.N.P (cm)	6.71	10.7075	1.1194	1.80
Crad (cm)	5.23	6.966	0.4434	3.63
Lrad (cm)	1.99	3.0987	0.3583	5.49
Culn (cm)	4.56	6.0501	0.5873	2.72
Luln (cm)	1.08	1.6614	0.5622	3.47
Cum (cm)	3.75	5.6572	0.8111	2.35
Lum (cm)	1.72	2.2703	0.4581	3.46

**CT:** comprimento total; **DMO:** densidade mineral óssea; **C.A.N.P:** comprimento anterior da nadadeira peitoral; **C.P.N.P:** comprimento posterior da nadadeira peitoral; **L.N.P:** largura da nadadeira peitoral; **Crad:** comprimento do rádio; **Lrad:** largura do rádio; **Culn:** comprimento da ulna; **Luln:** largura da ulna; **Cum:** comprimento do úmero e **Lum:** largura do úmero.

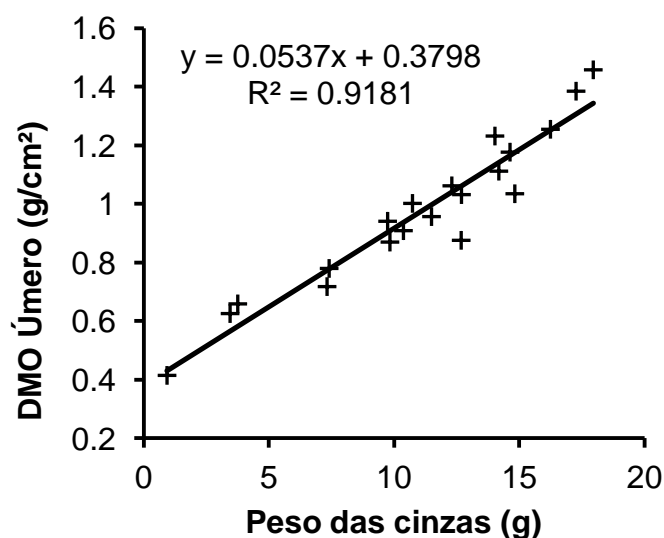


Comprovada através do critério de Akaike (probabilidade de verossimilhança ( $w=0.9999$ ) e a razão de evidência ( $ER= 1$ )) o escalonamento das variáveis no modelo alométrico, foi observado crescimento alométrico negativo ( $\beta < 1$ ) para todas as variáveis estudadas na nadadeira peitoral do boto-cinza (Tabela 4).

**Tabela 4.** Parâmetros com seus respectivos intervalos de confiança da equação alométrica de variáveis da espécie *Sotalia guianensis* do litoral do Espírito Santo.

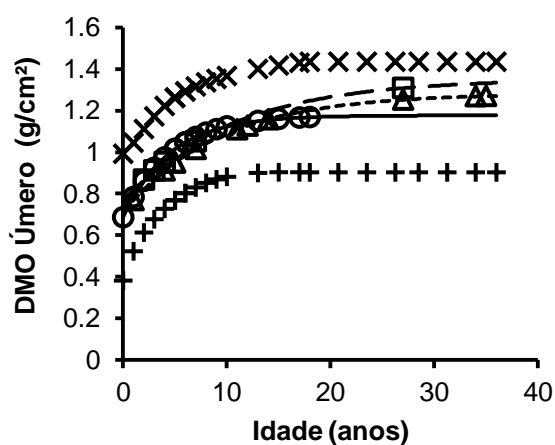
Variáveis	Parâmetros Estimados					
	$\alpha$	Int. Confiança 95%		$\beta$	Int. Confiança 95%	
		Mínimo	Máximo		Mínimo	Máximo
C.A.N.P (cm)	3.6805	13.6437	21.0047	0.372	0.538	1.282
C.P.N.P (cm)	1.1650	-4.5930	6.9230	0.542	-0.413	1.496
L.N.P (cm)	0.8228	-2.8301	4.4757	0.492	-0.366	1.349
Crad (cm)	0.4525	0.0152	0.8899	0.521	0.890	0.707
Lrad (cm)	0.0441	-0.0163	0.1044	0.808	0.545	1.072
Culn (cm)	0.5270	0.0212	1.0327	0.466	0.281	0.651
Luln (cm)	0.0551	-0.0321	0.1423	0.650	0.345	0.954
Cum (cm)	0.2864	-0.0395	0.6124	0.571	0.352	0.790
Lum (cm)	0.1496	-0.0202	0.3194	0.518	0.300	0.737

**C.A.N.P:** comprimento anterior da nadadeira peitoral; **C.P.N.P:** comprimento posterior da nadadeira peitoral; **L.N.P:** largura da nadadeira peitoral; **Crad:** comprimento do rádio; **Lrad:** largura do rádio; **Culn:** comprimento da ulna; **Luln:** largura da ulna; **Cum:** comprimento do úmero e **Lum:** largura do úmero.



**Figura 8:** Correlação entre peso das cinzas e densidade mineral óssea (DMO) do úmero da nadadeira peitoral da espécie *Sotalia guianensis* do litoral do Espírito Santo, através da regressão linear com intercepto e sua respectiva equação e coeficiente de determinação ( $R^2$ ). Campos dos Goytacazes, 2014.

A massa das cinzas correlacionou com o DMO do rádio através da análise de regressão linear com intercepto, como pode ser analisado através dos parâmetros do critério de Akaike ( $w= 0.999$  e  $ER= 1$ ) em detrimento da regressão sem intercepto ( $w= 9.68 \times 10^{-6}$  e  $ER = 1034197.36$ ) e através do alto coeficiente de determinação ( $R^2= 0.9181$ ) (Figura 8). O coeficiente de variação para análise da precisão foi de 7,8 %. As curvas das três microrregiões não diferiram entre si de acordo com a amplitude dos intervalos de confiança (Figura 9).



**Figura 9:** Curva de crescimento de Brody com os intervalos de confiança para comparação da densitometria óssea (DMO) do úmero da espécie *Sotalia guianensis* em áreas do litoral do Espírito Santo: □ (Nordeste e Rio Doce); Δ (Metropolitana); ○ e (Litoral Sul). Campos dos Goytacazes, 2014.

## 5 DISCUSSÃO

Modelos de crescimento são muito utilizados para descrever comportamento de crescimento em animais de interesse zootécnico, pois traçam uma trajetória assintótica da variável dependente peso, em função da independente tempo (ROCHA, 2013). Para Fekedulegh *et al.* (1999), as funções não lineares são justificadas e requeridas se a variável independente engloba todos os estágios de crescimento. Embora o crescimento seja variável em todos os indivíduos, ele segue um padrão bem definido em todas as populações de animais com relação à idade (BRODY, 1945; ARANGO & VLECK, 2002). Os principais modelos não lineares para descrever curvas de crescimento são: Brody, Von Bertalanffy, Gompertz, Logístico e Richards (MENDES, 2007).

As curvas de crescimento apresentam forma sigmoide em boa parte dos casos, com uma fase de aceleração da taxa de crescimento nas idades iniciais, um ponto de inflexão (máxima taxa de crescimento) e uma fase de desaceleração da taxa de crescimento até que a assíntota seja alcançada (BRODY, 1945). Seu uso é vantajoso, pois resume as informações das variáveis em poucos parâmetros (FREITAS, 2005).

O critério de seleção de Akaike foi a ferramenta de diagnóstico que permitiu a avaliação do modelo que melhor se ajustou nas variáveis estudadas. Segundo Rocha (2013), esse método pode ser utilizado para indicar com maior acurácia o melhor perfil de crescimento, em detrimento do coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e do desvio padrão residual utilizado na grande maioria dos trabalhos.

Em cetáceos, os modelos Schnute e Von Bertalanffy de crescimento foram testados pelo método Quase-Newton em que o primeiro se ajustou melhor às variáveis comprimento total e idade, mas o segundo foi escolhido pelo histórico de uso (ROSAS *et al.*, 2003). Porém, o modelo mais utilizado em estudos de morfologia de golfinho é o de Gompertz (FERNANDEZ & HOHN, 1998; RAMOS *et al.*, 2000a; RAMOS *et al.*, 2002; DI BENEDETTO & RAMOS, 2004; RAMOS *et al.*, 2010). O modelo é usado pela força do hábito e não apresentou bom ajuste no estudo de Ramos *et al.* (2010), com as variáveis comprimento total do corpo e

idade em *S. guianensis* do Espírito Santo, em que a assíntota foi alcançada aos 10 anos de idade.

Com base nos resultados, apesar de todos os modelos apresentarem ajuste satisfatório para as variáveis estudadas, o modelo de Brody é o mais adequado devido ao comportamento da curva de maneira exponencial no início do desenvolvimento. A curva de Brody é a mais aconselhada para esse tipo de estudo já que é a única que não apresenta crescimento sigmoidal e um ponto de inflexão, sendo a cavidade sempre voltada para baixo, indicando um crescimento rápido no início da vida, com posterior desaceleração até a estabilidade.

Em relação ao comprimento total que o boto-cinza cessa seu crescimento, diferenças são observadas em animais de São Paulo e Paraná em que o crescimento assintótico foi alcançado com 182,6 cm (SCHMIEGELOW, 1990) e 179,8 cm segundo Santos *et al.* (2003), e em animais do norte do Rio de Janeiro com 191 cm (DI BENEDITTO & RAMOS, 2004). Os estudos utilizaram modelos diferentes de crescimento como o Von Bertalanfy para os animais de São Paulo e Paraná e o modelo de crescimento de Gompertz para os animais do norte do Rio de Janeiro. As diferenças relatadas podem ser resultado dos diferentes modelos aplicados, estudos que não englobam todas as faixas etárias ou mesmo diferença entre as populações (RAMOS *et al.*, 2000a). Estudos mostram que animais de São Paulo são menores do que os animais do norte do Rio de Janeiro e Espírito Santo, o que implica em taxas de crescimento diferenciadas (RAMOS *et al.*, 2010).

O desenvolvimento e a estrutura dos ossos encontram-se entre as mais interessantes características da anatomia dos membros dos cetáceos, pois revelam muito sobre a presente adaptação ao ambiente físico, bem como um pouco da evolução da nadadeira (FELTS, 1966). Estudos de maturação física estão restritos ao comprimento total do corpo e quando utilizadas outras variáveis morfométricas correlacionadas com idade, o enfoque está, por exemplo, em diferenciações de estoques populacionais, como o estudo de Ramos *et al.* (2010) e Lima (2012). Além disso, estudos que consideram estágios de ossificação das epífises das nadadeiras peitorais, incluindo da espécie *S. guianensis*, são correlacionados com idade e com o comprimento total para verificação do grau de maturação óssea (OGDEN *et al.*, 1981; CALZADA & AGUILAR, 1996; DI GIANCAMILLO *et al.*, 1998; CARVALHO, 2011). Porém, poucos são os estudos que focam nas fases de

desenvolvimento e crescimento de diferentes partes do esqueleto incluindo os ossos das nadadeiras (CALZADA & AGUILAR, 1996).

Assim como foi registrado para *S. coerulealba* (CALZADA & AGUILAR, 1996), os espécimes do presente estudo apresentam o comprimento do rádio e ulna, respectivamente, menores do que o do úmero. Porém, a maturação óssea do boto-cinza foi alcançada em idades anteriores, entre dois e três anos, das registradas para *S. coerulealba*, entre os cinco e seis anos de idade.

Também, entre os dois e três anos, o comprimento máximo das nadadeiras é alcançado, o que coincide com a idade em que o comprimento total dos dentes de *S. guianensis* completa seu desenvolvimento (AZEVEDO, 2012). Isso pode estar relacionado com a necessidade destes animais já estarem preparados, nesta idade, para a captura da presa, já que as mães amamentam seus filhotes até por volta dos nove meses (ROSAS *et al.*, 2010), e com a necessidade do completo desenvolvimento das nadadeiras para alcançar a eficácia de locomoção durante o forrageio. Para Fish (2002), as nadadeiras controlam a posição do corpo e têm grande influência na precisão de estabilidade e manobras durante a locomoção aquática, estando esses comportamentos diretamente associados ao tipo de presa e habitat. Arnould *et al.* (2003) corrobora dizendo que filhotes precisam ter mais eficiência no crescimento e no desenvolvimento das habilidades até o desmame para atender às demandas de uma vida independente.

Além da correlação com a idade, o comprimento da nadadeira possui uma correlação constante com o comprimento total do corpo (FISH & ROHR, 1999) e a melhor forma para descrição quantitativa de crescimento ósseo em que se tem a correlação de uma parte por um todo é por meio de equações de alometria (SANTOS *et al.*, 2001), pois esta descreve o fenômeno de crescimento de partes do corpo que cresce em taxas diferentes da do crescimento global (MURPHY & ROGAN, 2006). O crescimento alométrico negativo encontrado para todas as variáveis estudadas na nadadeira peitoral do boto-cinza indica que as mesmas crescem em proporções menores do que o comprimento total do corpo, ou seja, apresentam um crescimento precoce, atingindo a maturidade física antes do tamanho total do animal. O mesmo comportamento foi observado em mensurações das nadadeiras peitorais da espécie *Phocoenoides dalli* (AMANO & MIYAZAKI, 1993), em que pode ser observado um crescimento rápido dos membros anteriores

entre o nascimento e o desmame, e da espécie *Delphinus delphis* (MURPHY & ROGAN, 2006) em que foi registrado o mesmo tipo de alometria.

Os membros anteriores dos mamíferos aquáticos evoluíram dos ossos longos e tubulares dos mamíferos terrestres (FELTS, 1966). Os ossos longos surgem a partir de um molde de cartilagem que é invadido por capilares que trazem células capazes de se diferenciarem em células ósseas. Assim, a cartilagem é gradativamente substituída por tecido ósseo, com exceção da metáfise, a qual será responsável pelo crescimento longitudinal do osso até a maturação óssea. O osso possui um envoltório de tecido conjuntivo, o perióstio, que é responsável pelo seu crescimento em espessura. Enquanto algumas células produzem matriz óssea nos moldes de cartilagem, no interior do osso, células especializadas em reabsorção, promovem a formação da cavidade medular (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2008).

Em cetáceos, ao contrário da maioria dos mamíferos, não há absorção dos tabiques de cartilagem no interior do osso, não havendo, portanto, formação da medula óssea hematopoética. Além disso, o eixo ósseo aumenta em tamanho e espessura pela formação de osso trabecular na periferia e pela continua deposição do osso nas trabéculas já formadas. A consequência desse processo é um osso com característica esponjosa, sem cavidade medular, baixa taxa de crescimento longitudinal e substancial crescimento transversal. O perióstio se distribui de forma regular no úmero e está mais acentuado na face dorsal e ventral do rádio e ulna, respectivamente, o que determina as formas dos ossos. Antes do nascimento, o crescimento longitudinal e transversal ocorre de forma constante e proporcional. Após o nascimento, o crescimento transversal é mais rápido do que o longitudinal (FELTS, 1966) e, segundo esse estudo, o crescimento transversal se estende por mais tempo do que o crescimento longitudinal, que é finalizado aproximadamente um ano antes.

Considerando os ossos trabeculares melhores indicadores de influências de diversos fatores, por serem mais metabolicamente ativos (FOGELMAN & BLANKE, 2000), os ossos das nadadeiras são adequados para estudos de maturação óssea através da deposição de massa óssea em cetáceos já que possuem estrutura completamente esponjosa. Porém, a técnica de estudo deve ser testada antes mesmo do início do experimento para verificação do grau de erro para cada espécie (ROZENBERG *et al.*, 1995; BORGES *et al.*, 2008).

Protocolos para aplicação da técnica de absorciometria de raio-x de dupla energia usados em humanos já vem sendo aplicados em animais de pequeno e grande porte (GRIER *et al.*, 1996). No entanto, apesar da técnica já ser aplicada em cetáceos, sua precisão e acurácia nunca haviam sido testadas como ocorre em estudos com camundongos (HAGIWARA *et al.*, 1993; CAZES *et al.*, 1994; ROZENBERG *et al.*, 1995). Para Rosenberg *et al.* (1995) a precisão depende de vários fatores incluindo a posição do animal, a definição da região de interesse e precisão intrínseca do equipamento e pode variar de 1% a 8% dependendo do local de estudo. Sendo assim, com 7,84% de precisão, obtida através do coeficiente de variação, fica comprovada a precisão da técnica de absorciometria de raio-x de dupla energia utilizando o aparelho Lunar e o software Encore<sup>TM</sup> 2010 (versão 13.31) com protocolo de análise de antebraço direito, para região do úmero do boto-cinza. Esse estudo indica ainda que o DMO do úmero apresentou alta e linear correlação com o peso das cinzas, o que ratifica a acurácia da técnica (Figura 8).

Os resultados das mensurações demonstram que a média da DMO do úmero (1.03 g/ cm<sup>2</sup>) no boto-cinza foi maior do que as registradas nos trabalhos de Gugliemini *et al.* (2002), Butti *et al.* (2007) e Lucic *et al.* (2010) em que se pode observar a média (obtida a partir de dados brutos) da densidade mineral óssea com os valores de 0.99998 g/cm<sup>2</sup> para *S. coeruleoalba*, de 0.837435 g/cm<sup>2</sup> para *T. truncatus* e de 0.737583 g/cm<sup>2</sup> e 0.89425 g/cm<sup>2</sup> para *S. coeruleoalba* e *T. truncatus*, respectivamente.

Diversos são os fatores que podem influenciar massa óssea em mamíferos marinhos (SONNE *et al.*, 2004) como a forma de alimentação (sucção e captura), a profundidade de mergulho e o comportamento agressivo (COZZI *et al.*, 2010). A alta densidade proporciona aos animais de águas rasas o controle da flutuabilidade estática (GRAY *et al.*, 2007) além da maior densidade nas nadadeiras peitorais estar associada a manobras lentas e precisas, conferindo-as maior mobilidade (LUCIC *et al.* (2009). Sendo assim, a maior massa óssea do úmero das nadadeiras peitorais do presente estudo pode ser resultado da adaptação ao ambiente costeiro de águas rasas e protegidas em que vive o boto-cinza (BOROBIA *et al.*, 1991), quando comparado a zonas mesopelágica e pelágica (LUCIC *et al.*, 2010) em que vivem as espécies *T. truncatus* e *S. coeruleoalba*, respectivamente.

A idade é um dos fatores que tem influência na massa óssea de mamíferos, e alta correlação foi encontrada quando correlacionada à DMO do úmero de odontocetos (GUGLIELMINI *et al.*, 2002; BUTTI *et al.*, 2007; LUCIC *et al.*, 2010). Porém, os dados demonstram claramente que a densidade mineral óssea aumentou exponencialmente com a idade apenas no início do desenvolvimento e após um pico, iniciou-se um processo de estabilização nas idades de 13, 14 e 16 anos para o úmero, ulna e rádio, respectivamente. Sonne *et al.* (2004) também relataram um aumento da DMO com a idade apenas em ursos polares subadultos e em adultos observaram uma estabilidade, com exceção de fêmeas com idade entre 14 e 23 anos, em que houve um declínio significativo, possivelmente pela fase da menopausa após os 15 anos. Esse comportamento ocorre, pois ao longo da vida acontece um processo cíclico de produção e reabsorção óssea com predomínio de formação sobre reabsorção na infância e adolescência, equilíbrio entre os dois processos na fase adulta, e a partir da quarta década de vida, principalmente nas mulheres, prevalência da reabsorção sobre a produção óssea (PESSOA *et al.*, 1997).

Devido a esses comportamentos de massa óssea, a idade só poderia ser estimada no boto-cinza através da densitometria da nadadeira peitoral, até a idade de pico, diferente do observado nos estudos de Guglielmini *et al.* (2002), Butti *et al.* (2007) e Lucic *et al.* (2010) em que foi afirmado que a densidade mineral óssea das nadadeiras peitorais de odontocetos pode ser usada como novo padrão de estimativa de idade. Essa diferença ocorreu, possivelmente, pelo fato da idade dos animais amostrados dos trabalhos anteriores não abranger todas as faixas etárias, sendo utilizados principalmente animais que se encaixam na idade de ascensão de crescimento, o que fez com que os dados se ajustassem a modelos lineares de regressão.

Portanto, considerando a idade um parâmetro importante para o conhecimento da possível causa da morte e da biologia geral do indivíduo na natureza (BUTTI *et al.*, 2007), e as limitações da técnica de secção dentária, descrita por Hohn *et al.* (1989), a qual exige grande experiência do leitor, tempo de preparo laboratorial e necessidade de dissecação da carcaça (GUGLIELMINI *et al.*, 2002), deve ser de conhecimento que a mensuração da densidade mineral óssea da nadadeira peitoral poderia ser usada como técnica



complementar e/ou alternativa até a idade de aproximadamente 13 anos, no caso do boto-cinza.

O aumento da densidade mineral óssea ocorre paralelamente à maturação do esqueleto (KATZMAN *et al.*, 1991). Se considerarmos a maturação esquelética de *S. guianensis* por volta dos seis anos com 189 cm de comprimento, o incremento de massa óssea no boto-cinza se estende após a fase de maturação física. No entanto, vale citar que Fettucia (2001) estimou a maturidade física do boto-cinza com 12 anos, através da análise do grau de fusão das epífises vertebrais. Para Chivers (2002) a maturidade física é alcançada após a fusão das epífises vertebrais.

Machos e fêmeas não diferiram em relação ao comportamento de deposição óssea como em outros estudos (GUGLIELMINI *et al.*, 2002; BUTTI *et al.*, 2007; LUCIC *et al.*, 2010), porém, deve-se ressaltar que o número de fêmeas utilizadas no presente trabalho é pequeno, possivelmente pelo fato dos machos jovens, no início da maturação, serem mais susceptíveis a emaranhamento em rede de pesca (DI BENEDITTO & RAMOS, 2004). Portanto, diferenças entre gêneros não puderam ser observadas e, conseqüentemente, correlações em relação à influência de fatores como gravidez e lactação em fêmeas também não.

Poluentes influenciam negativamente níveis de estrogênio, que é um importante fator regulador da velocidade da reorganização e da renovação óssea (SWENSON, 1984). Diferença significativa da densidade mineral óssea foi observada em períodos de poluição e não poluição em foca-cinzenta (LIND *et al.*, 2003) e em urso polar (SONNE *et al.*, 2004). A região metropolitana de Vitória é a área de maior concentração de portos e terminais do complexo portuário, que junto aos esgotos domésticos, são responsáveis pelas grandes concentrações de metais pesados na região (JESUS *et al.*, 2004; SOUZA, 2013). Apesar da possível diferença de concentrações de poluição ambiental nas diferentes regiões, as curvas de crescimento das três microrregiões não diferiram entre si de acordo com a amplitude dos intervalos de confiança. Porém, estudos mais profundos e localizados merecem ser investigados, já que baixa densidade mineral óssea resulta em doenças como lesões ósseas, perda alveolar e perda de dentes (LIND *et al.*, 2003). Se, segundo Van Bressen *et al.* (2007), a malformação pode facilitar a

ocorrência de fraturas e, conseqüentemente, facilitar a captura em redes de pesca, a baixa densidade óssea poderia estar relacionada aos mesmo fatores.

## 6 CONCLUSÃO

- O melhor modelo não linear de crescimento para as variáveis da nadadeira peitoral e para o comprimento total do corpo é o modelo e Brody;
- Não houve diferença de densidade mineral óssea entre os sexos e entre os lados das nadadeiras peitorais;
- Os ossos das nadadeiras possuem um crescimento precoce em relação ao comprimento total do corpo;
- A maturidade física através do comprimento total do corpo é alcançada aos 5.5 de idade;
- A técnica de absorciometria de raio-x de dupla energia é eficaz para mensuração da densidade mineral óssea da nadadeira peitoral do boto-cinza;
- A deposição de massa óssea tem comportamento semelhante ao registrado em humanos, com ascensão nos primeiros anos de vida e posterior desaceleração, levando à estabilidade por volta dos 13 anos de idade;
- A densidade mineral óssea pode ser usada para estimativa de idade em boto-cinza apenas em animais até 13 anos de idade;
- Não há diferença de densidade mineral óssea em animais localizados em três diferentes regiões do estado do Espírito Santo.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AKAIKE, H. A new look at the statistical model identification. **IEEE Transaction on Automatic Control**, v. 19, p. 716-723, 1974.
2. AMANO, M.; YAZAKI, N. External morphology of Dall's porpoise (*Phocoenoides dalli*): growth and sexual dimorphism. **Canadian Journal of Zoology**, v. 71, p. 1124-1130, 1993.
3. ARANGO, J. L.; VLECK, D. V. Size of beef cows: early ideas, new developments. **Genetics and Molecular Research**, v. 1, n. 1, p. 51-63, 2002.
4. ARAÚJO, C. M. R. Treino, crescimento, maturação e conteúdo mineral ósseo. Estudo em praticantes de Ginástica Artística Masculina. Dissertação. Porto-POR: Universidade do Porto. Faculdade Ciências do Desporto e de Educação Física, 1995. 162 p.
5. ARNOULD, J. P. Y.; LUQUE, S. P.; GUINET, C.; COSTA, D. P.; KINGSTON, J.; SHAFFER, S. A. The comparative energetics and growth strategies of sympatric Antarctic and subantarctic fur seal pups at Îles Crozet. **The Journal of Experimental Biology**, v. 206, p. 4497-4506, 2003.
6. AZEVEDO, C. T. **Correlação entre odontometria e idade estimada do boto-cinza, *Sotalia guianensis* (Van Bénédén 1864), do litoral do Espírito Santo**. Monografia. Campos dos Goytacazes: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 2012.
7. BAILEY, D. A.; MCKAY, H. A.; MIRWALD, R. L.; CROCKER, P. R. E.; FAULKNER, R. A. A. Six-Year Longitudinal Study of the Relationship of Physical Activity to Bone Mineral Accrual in Growing Children: The University of Saskatchewan Bone Mineral Accrual Study. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 14, n. 10, 1999.
8. BARNES, L. G. Cetacea, Overview. In: PERRIN, W. F.; WÜRSIG, B.; THEWISSEN, G. M. (Ed.). **Encyclopedia of marine mammals**. San Diego: Academic Press, 2002. p. 204-209.
9. BARRETO, A. S.; ROCHA-CAMPOS, C. C.; ROSAS, F. W.; JÚNIOR, J. M. S.; ROSA, L. D.; FLORES, P. A. C.; SILVA, V. M. F. **Plano de Ação Nacional para**

**a Conservação dos Mamíferos Aquáticos - pequenos cetáceos.** Brasília: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, ICMBio, 2011.132 p.

10. BERNING, J. R.; SANBORD, C. F.; WAGNER, W. W. Osteoporosis Diet and Exercise. In: TEITZ, C.C.; DECKER, B. C. **Scientific Foundations of Sport Medicine.** (ed). v. 6, p. 135-152, 1989.
11. BERTA, A.; SUMICHI, J. L.; KOVACS, K. M. **Marine Mammals. Evolutionary Biology.** 2. ed. San Diego: Academic Press, 2006. 569 p.
12. BORGES, N. C.; VASCONCELLOS, R. S.; CABOLA, J. C.; PAULA, F. J. A.; PEREIRA, G. T. Precisão da técnica de absorciometria de raios-x de dupla energia na determinação da composição corporal em gatos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária de Zootecnia**, v. 60, p. 263-266, 2008.
13. BOROBIA, M. **Distribution and morphometrics of South American dolphins of the genus *Sotalia*.** Dissertação de mestrado. Montreal: McDonald College of McGill University, 1989.
14. BOROBIA, M.; SICILIANO, S.; LODI, L.; HOEK, W. Distribution of the South American dolphin *Sotalia fluviatilis*. **Canadian Journal of Zoology**, v. 69, p. 1025-1039, 1991.
15. BRANDÃO, C. M. A.; VIEIRA, J. G. H. Fatores envolvidos no pico de massa óssea. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 43, n. 6, p. 401-108, 1999.
16. BRODY, S. **Bioenergetics and growth.** New York: Reinhold Publication, 1945. p. 1023.
17. BUTTI, C.; CORAIN, L.; COZZI, B.; PODESTÀ, M.; PIROSE, A.; AFFONTE, M.; ZOTTI, A. Age estimation in the Mediterranean bottlenose dolphin *Tursiops truncatus* (Montagu 1821) by bone density of the thoracic limb. **Journal of Anatomy**, v. 211, p. 639-646, 2007.
18. CABALLERO, S.; TRUJILIO, F.; VIANNA, J. A.; GARRIDO-BARRIOS, H.; MONTIEL, M. G.; BELTRÁN-PEDRERO, S.; MARMONTEL, M.; SANTOS, M. C.; ROSSI-SANTOS, M.; SANTOS, F. R.; BAKER, C. S. Taxonomic status of the genus *Sotalia*: specie level ranking for “Tucuxi” (*Sotalia fluviatilis*) and “costero” (*Sotalia guianensis*) dolphins. **Marine Mammal Science**, v. 23, p. 358-386, 2007.

19. CALZADA, N.; AGUILAR, A.; LOCKYER, C.; GRAU, E. Flipper Development in the Mediterranean Striped Dolphin (*Stenella coeruleoalba*). **The Anatomical Record**, v. 245, p. 708-714, 1996.
20. CARVALHO, A. P. M. **Padrão de ossificação de elementos ósseos do boto-cinza, *Sotalia guianensis*, do litoral do Espírito Santo**. Dissertação. Campos dos Goytacazes-RJ: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 2011. 63p.
21. CARVALHO, A. P. M.; YWASAKI, J.; AZEVEDO, C. T.; CAMPOS, A. S.; QUEIROZ, F. F.; BARBOSA, L. A.; SILVEIRA, L. S. Crescimento e desenvolvimento de boto cinza (*Sotalia guianensis*) do litoral do Espírito Santo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n. 1, p. 205-208, 2012.
22. CASTRO, M. L. Por que medir densidade mineral óssea em crianças e adolescentes? **Jornal de Pediatria**, v. 80, p. 439-440, 2004.
23. CAZES, J. P.; MUEHLBAUER, R. C.; LIPPUNER, K.; KELLY, T.; FLEISCH, H.; JAEGER, Ph. Dual-energy X- ray absorptiometry for measuring total bone mineral content in the rat: Study of accuracy and precision. **Bone and Mineral**, v. 26, p. 61-68, 1994.
24. CHIVERS, S. J. Cetacean life history. In: PERRIN, W. F.; WÜRSIG, B.; THEWISSEN, G. M. (Ed.). **Encyclopedia of Marine Mammals**. San Diego: Academic Press, 2002. p. 221-225.
25. COOPER, L. N. Forelimb Anatomy. In: PERRIN, W. F.; WÜRSIG, B.; THEWISSEN, J. G. M. **Encyclopedia of marine mammals**. 2. ed. Amsterdam: Academic Press, 2009. p. 449-452.
26. COOPER, L. N.; BERTA, A.; DAWSON, S. D.; REIDENBERG, J. S. Evolution of Hyperphalangy and Digit Reduction in the Cetacean Manus. **The Anatomical Record**, v. 290, p. 654-672, 2007.
27. COZZI, B.; MAZZARIOL, S.; Podestà, M.; ZOTTI, A. Diving Adaptations of the Cetacean Skeleton. **The Open Zoology Journal**, v. 2, p. 24-32, 2009.
28. COZZI, B.; PANIN, M.; BUTTI, C.; PODESTA, M.; ZOTTI, A. Bone Density Distribution Patterns in the Rostrum of Delphinids and Beaked Whales:

Evidence of Family-Specific Evolutive Traits. **The Anatomical Record**, v. 293, p. 235-242, 2010.

29. CUNHA, H.; SILVA, V. M. F.; BRITO, J. L.; SANTOS, M. C. O.; AZEVEDO, A. F.; FLORES, P. A.; MARTINS, A.; FRAGOSO, A. B. L.; SOLE-CAVA, A. M. Riverine and marine ecotypes of *Sotalia* dolphins are different species. **Marine Biology**, v. 148, n. 2, p. 449 -457, 2005.
30. DAVIDSON, A. D.; BOYER, A. G.; KIM, H.; POMPA-MANSILLA, S.; HAMILTON, M. J.; COSTA, D. P.; CEBALLOS, G.; BROWNB, J. H. Drivers and hotspots of extinction risk in marine mammals. **PNAS**, v. 109, n. 9, p. 3395-3400, 2012.
31. DI BENEDITTO, A. P.; RAMOS, R. M. A. Biology of the marine tucuxi dolphin (*Sotalia fuviatilis*) in south-eastern Brazil. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, p. 1245- 1250, 2004.
32. DI BENEDITTO, A. P. M; SICILIANO, S; RAMOS, R. M. A; **Cetáceos: Introdução a Biologia e a Metodologia Básica para o desenvolvimento de Estudos**. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública, 2010. 100 p.
33. DI GIANCAMILLO, M.; RATTEGNI, G.; PODEST M.; CAGNOLARO, L.; COZZI, B.; LEONARDI, L.. Postnatal ossification of the thoracic limb in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) (Meyen, 1833) from the Mediterranean Sea. **Canadian Journal of Zoology**, Ottawa, v. 76, n. 7, p. 1286-1293, 1998.
34. DUTRA, G. P. **Morfologia dental de *S. guianensis* VAN BÉNÉDEN 1864 (CETACEA: DELPHINIDAE) da baía de Guanabara, Rio De Janeiro**. Monografia. Rio de Janeiro: Universidade Castelo Branco, 2010.
35. FAULKNER, R. A.; BAILEY, D. A.; DRINKWATER, D. T.; MCKAY, H. A.; ARNOLD, C.; WILKINSON, A. A. Bone Densitometry in Canadian Children 8–17 Years of Age. **Calcif Tissue Int**, v. 59, p. 344-351, 1996.
36. FEKEDULEGH, D. M.; SIURTAİN, P. M.; COLBERT, J. J. Parameter Estimation of Nonlinear Growth Models in Forestry. **Silva Fennica**, v. 33, p. 327-336, 1999.
37. FELTS, W. Some functional and structural characteristics of cetacean flippers and flukes. In: NORRIS, K. S. **Whales, dolphins, and porpoises**. (ed). Berkeley: University of California Press, 1966. p. 255-276.

38. FERNANDEZ, S.; HOHN, A. A. Age, growth, and calving season of bottlenose dolphins, *Tursiops Truncatus*, off coastal Texas. **Fishery Bulletin**, v. 96, n. 2, p. 357-365, 1998.
39. FETTUCCIA, D. C. **Estudo da variação morfológica e numérica na coluna vertebral do boto-cinza *Sotalia fluviatilis guianensis* (Van Benéden, 1875) (Cetacea, Delphinidae)**. Tese. Santa Catarina: Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil, 2001. 63 p.
40. FISH, F. E. Balancing Requirements for Stability and Maneuverability in Cetaceans. *Integrative and Comparative Biology*, Chicago, v. 42, p. 85-93, 2002.
41. FISH, F. E.; ROHR, J. J. **Review of dolphin hydrodynamics and swimming performance**. San Diego: Technical report 1801, 1999. 193 p.
42. FLORES, P. A. C. Tucuxi *Sotalia fluviatilis*. In: PERRIN, W. F.; WÜRSIG, B.; THEWISSEN, G. M. (Ed.). **Encyclopedia of marine mammals**. San Diego: Academic Press, 2002. p. 1267-1269.
43. FLORES, P. A. C; SILVA, V. M. F. Tucuxi and Guiana Dolphin- *Sotalia fluviatilis* and *S. guianensis*. In: PERRIN, W. F.; WÜRSIG, B.; THEWISSEN, J. G. M. **Encyclopedia of marine mammals**. 2. ed. Amsterdam: Academic Press, 2009. p. 1188-1192.
44. FOGELMAN, I.; BLAKE, G. M. Different Approaches to Bone Densitometry. **Journal of Nuclear Medicine**, v. 41, p. 2015–2025, 2000.
45. FREITAS, A. R. Curvas de Crescimento na Produção Animal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 3, p. 786-795, 2005.
46. GILSANZ, V.; MORA, S. Establishment of peak bone mass. **Endocrinology Metabolism Clinics of North America**, v. 32, n.1, p. 39-63, 2003.
47. GRAY, N. M.; KAINEC, K.; MADAR, S.; LUCAS, T.; WOLFE, S. Sink or Swim? Bone Density as a Mechanism for Buoyancy Control in Early Cetaceans. **The Anatomical Record**, v. 290, p. 638–653, 2007.



48. GRIER, S. J.; TURNER, A. S. BVSc. MS; ALVIS, M. R. MS. The use of Dual-Energy X-ray Absorptionmetry in animals. **Investigative Radiology**, v. 31, p. 50-62, 1996.
49. GUGLIELMINI, C.; ZOTTI, A.; BERNARDINI, D.; PIETRA, M.; PODESTÁ, M.; COZZI, B. Bone Density of the Arm and Forearm as an Age Indicator in Specimens of Stranded Striped Dolphins (*Stenella coeruleoalba*). **The Anatomical Record**, v. 267, p. 225-230, 2002.
50. HAGIWARA, S.; LANE, N.; ENGELKE, K.; SEBASTIAN, A.; KIMMEL, D. B.; GENAT, H. K. Precision and accuracy for rat whole body and femur bone mineral determination with dual X-ray absorptionmetry. **Bone and Mineral**, v. 22, p. 57-68, 1993.
51. HOHN, A. A. Reading between the lines: analysis of age determination in dolphins. In: Leatherwood, S. & Reeves, R. R. (Eds.) **The Bottlenose Dolphin**, San Diego: Academic press, 1990. p. 575-585.
52. HOHN, A. A.; SCOTT, M. D., WELLS, R. S.; SWEENEY, J. C. Growth layers in teeth from known-age, free-ranging Bottlenose dolphins. **Marine Mammal Science**, v. 5, n.4, p. 315-342, 1989.
53. HUXLEY, J. S.; TEISSIER, G. Terminology of Relative Growth. **Nature**, v. 137, p. 780-781, 1936.
54. IBGE. **Estados**. Acesso em: 12 de março de 2013. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/estadosat/perfil.php?sigla=es#>>.
55. IEMA. Educação Ambiental. Acesso em 5 de março de 2013. Disponível em: <<http://www.meioambiente.es.gov.br/>>.
56. IUCN a. **Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas**. Versão 2012/2. 2012. Disponível em: <[www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)>. Acesso em: 19 de fevereiro de 2013.
57. IUCN b. Mapa de distribuição da espécie *Sotalia guianensis*. Disponível em: <<http://maps.iucnredlist.org/map.html?id=181359>>. Acesso em: 19 de fevereiro de 2013.

58. JEFFERSON, T. A.; WEBBER, M. A.; PITMAN, R. L. **Marine Mammals of the world**. A comprehensive guide to their identification. Canada: Academic Press, 2008. 563 p.
59. JESUS, H. C.; COSTA, E. A.; MENDONÇA, A. S. F.; ZANDONADE, E. Distribuição de metais pesados em sedimentos do sistema estuarino da ilha de Vitória-ES. **Química Nova**, v. 27, n. 3, p. 378-386, 2004.
60. JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. C. *Histologia Básica*. 11 Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 524 p.
61. KATZMAN, D.K.; BACHRACH, L. K.; CARTER, D. R.; MARCUS, R. Clinical and anthropometric correlates of bone mineral acquisition in healthy adolescent girls. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 73, p. 1332-1339, 1991.
62. KLEVEZAL, G. A. Layers in the hard tissues of mammals as a record of growth rhythms of individuals. In PERRIN, W. F. & MYRICK, A. C. (Ed 3). **Age determination of toothed whales and sirenians**. 1980. p. 89-94.
63. KLEVEZAL, G. A. **Recording structures of mammals, determination of age and reconstruction of life history**. Nauka, Moscow: Balkema, 1996. 286 p.
64. LAETA, M.; SOUZA, S. M. F. M.; SICILIANO, S. Cervical ribs and cleft arches in brazilian *Sotalia guianensis*: contribution to comparative studies of skeletal morphology in northern and southeastern specimens. **LAJAM**, v. 8, n. 1-2, p. 151-165, 2010.
65. LAILSON-BRITO, J.; DORNELES, P. R.; AZEVEDO-SILVA, C. E.; AZEVEDO, A. F.; VIDAL, L. G.; ZANELATTO, R. C.; LOZINSKIC, P. C.; AZEREDO, A.; FRAGOSO, A. B. L.; CUNHA, H. A.; TORRES, J. P. M.; MALM, O. High organochlorine accumulation in blubber of Guiana dolphin, *Sotalia guianensis*, from Brazilian coast and its use to establish geographical, among populations. **Environmental Pollution**, v. 158, 2010.
66. LEATHERWOOD, S.; REEVES, R. R. **The Sierra Club Handbook of Whales and Dolphins**. Ed. San Francisco: Sierra Club Books, 1983. 302 p.
67. LEDUC, R. Delphinids, Overview. In: PERRIN, W. F.; WÜRSIG, B.; THEWISSEN, J. G. M. **Encyclopedia of marine mammals**. 2. ed. Amsterdam: Academic Press, 2009. p. 298-302.

68. LIMA, J. Y. **Identificação de estoques populacionais de *Sotalia guianensis* no espírito santo por meio de morfologia externa**. Dissertação. Campos do Goytacazes: Universidade Estadual do Norte Fluminense, 2012. 78p.
69. LIMA, R. P.; Cesar, F. B. A importância da criação das redes de encalhes de mamíferos aquáticos no Brasil. In: IBAMA. **Protocolo de conduta para encalhes de mamíferos aquáticos**: Rede de encalhes de mamíferos aquáticos do nordeste. Recife: IBAMA, 2005. p. 11-16.
70. LIND, P. M.; BERGMAN, A.; OLSSON, M.; ÖRBERG, J. Bone Mineral Density in Male Baltic Grey Seal (*Halichoerus grypus*). **Ambio**, v. 32, n. 6, 2003.
71. LIRA, P.; CAVATTI, C. **O Estado do Espírito Santo no Censo 2010**. Espírito Santo: IJSN-Instituto Jones dos Santos Neves e Núcleo do Observatório das Metrópoles CNPq/INCT, 2010. Disponível em: <[http://observatoriodasmetrolopes.net/download/Censo\\_ES\\_e\\_RMGV.pdf](http://observatoriodasmetrolopes.net/download/Censo_ES_e_RMGV.pdf)>. Acesso em: 5 de janeiro de 2014. 33 p.
72. LUCIC, H.; VUKOVIC, S.; GOMERCIC, M. D.; GOMERCIC, T.; GALOV, A.; SKRTIC, D.; CURKOVIC, S.; GOMERCIC, H. Osteodensitometric differences of the flipper as indicators of muscles activity in bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) and striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) from the adriatic sea. In: **Anais da Reunião Científica Internacional de Anatomia e Fisiologia Fundamentos de Medicina**, 2009, Zagreb (Croácia).
73. LUCIC, H.; VUKOVIC, A.; POSAVAC, V.; GOMERCIC, M. D.; GOMERCIC, T.; GALOV, A.; SKRTIC, D.; CURKOVIC, S.; GOMERCIC, H. Application of dual energy X- ray absorptiometry method for small animals in measuring bone mineral density of the humeros of bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) from the Adriatic Sea. **Veterinarski Archiv**, v. 80, p. 299-310, 2010.
74. MASS, M. C. Bones and teeth, histology of. In: PERRIN, W.F.; WÜRSIG, B.; THEWISSEN, J. G. M. **Encyclopedia of marine mammals**. 2. ed. Amsterdam: Academic Press, 2009. p. 124-129.
75. MENDES, P. N. **Curvas de crescimento difásicas de fêmeas Hereford com erros auto-regressivos e heterogeneidade de variâncias**. Dissertação. Lavras: Universidade, 2007. 84p.
76. MENEZES, M. E.; SIMÕES-LOPES, P. C. Osteologia e Morfologia da aleta peitoral da forma marinha de *Sotalia fluviatilis* (Cetacea-Delphinidae) no litoral do sul do Brasil. **Estudos de Biologia**, Curitiba, v. 4, n. 40, p. 23-31, 1996.

77. MONTEIRO-FILHO, E. L. A. Group organization of the dolphin *Sotalia fluviatilis guianensis* in estuary of southeastern Brazil. *Ciência e Cultura. Journal of the Brazilian Association for the Advancement of Science*, v. 52, n. 2, p. 97-101, 2000.
78. MONTEIRO-FILHO, E. L. A.; MONTEIRO, L. R.; REIS, S. F. Skull shape and size divergence in dolphins of the genus *Sotalia*: a tridimensional morphometric analysis. *Journal of Mammalogy*, v. 83, n. 1, p. 125-134, 2002.
79. MOURA, J. F. **O boto-cinza (*Sotalia guianensis*) como sentinela da saúde dos ambientes costeiros: estudo das concentrações de mercúrio no estuário Amazônico e costa norte do Rio de Janeiro**. Dissertação. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz, 2009.
80. MURPHY, S.; ROGAN, E. External morphology of the short-beaked common dolphin, *Delphinus delphis*: growth, allometric relationships and sexual dimorphism. *Acta Zoologica*, Stockholm, v. 87, p. 315-329, 2006.
81. NASCIMENTO, T. B. R.; GLANER, M. F.; PACCINI, M. K. Influência da composição corporal e da idade sobre a densidade óssea em relação aos níveis de atividade física. *Arquivo Brasileiro de Endocrinologia & Metabologia*, v. 53, n. 4, p. 440-445, 2009.
82. OGDEN, J. A.; CONLOGUE, G. J.; RHODIN, A. G. Roentgenographic indicators of skeletal maturity in marine mammals (Cetacea). *Skeletal Radiology*, Cleveland, v. 7, n. 2, p. 119-123, 1981.
83. PERRIN, W. F. & MYRICK, A. C. JR. **Age determination of toothed whales and sirenians**. Reports of the International Whaling Commission. ed. 3. 1980. 229p.
84. PERRIN, W. F. **Banco de Dados Mundial de cetáceos**. 2013. Disponível em: <<http://www.marinespecies.org/cetacea>>. Acesso em: 13 de março de 2013.
85. PESSOA, J. H. L.; LEWIN, S.; LONGUI, C. A.; MENDONÇA, B. B.; BIANCO, A. C. Densidade mineral óssea: correlação com peso corporal, estatura, idade óssea e fator de crescimento símile à insulina. *Jornal de Pediatria*, Rio de Janeiro, v. 73, n. 4, p. 259-264, 1997.
86. PORTAL DO GOVERNO DO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO a. **Espírito Santo - dados**. Acesso em: 12 de março de 2013. Disponível em:

<[http://www.es.gov.br/EspiritoSanto/Code/paginas/EspiritoSanto\\_em\\_dados.aspx](http://www.es.gov.br/EspiritoSanto/Code/paginas/EspiritoSanto_em_dados.aspx)>.

87. PORTAL DO GOVERNO DO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO b. **Espírito Santo-geografia**. Acesso em: 12 de março de 2013. Disponível em: <<http://www.es.gov.br/EspiritoSanto/paginas/geografia.aspx>>.
88. RAMOS, R. M. A. **Variação Morfológica em *Pontoporia blainvillei* e *Sotalia guianensis* (CETACEA) na Costa Sudeste do Brasil**. Tese de Doutorado. Campos dos Goytacazes-RJ: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 2001.
89. RAMOS, R. M. A.; DI BENEDITO, A. P. M.; LIMA, N. R. W.; Growth parameters of *Pontoporia blainvillei* and *Sotalia fluviatilis* (Cetacea) in northern Rio de Janeiro, Brazil. **Aquatic Mammals**, Macomb, v. 26, n. 1, p. 65-75, 2000 a.
90. RAMOS, R. M. A.; DI BENEDITTO, A. P. M.; LIMA, N. R. W. 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**. v. 60, n. 2, p. 283-290, 2000b.
91. RAMOS, R. M. A.; DI BENEDITTO, A. P. M.; SICILIANO, S.; SANTOS, M. C. O.; ZERBINI, A. N.; BERTOZZI, C.; VICENTE, A. F. C.; ZAMPIROLI, E.; ALVARENGA, F. S. LIMA, N. R. W. Morphology of the franciscana (*Pontoporia blainvillei*) off southeastern Brazil: sexual dimorphism, growth and geographic variation. **LAJAM**, v. 1, n. 1, p. 129-144, 2002.
92. RAMOS, R. M. A.; DI BENEDITTO, A. P. M.; SICILIANO, S.; SANTOS, M. C. O.; ZERBINI, A. N.; VICENTE, A. F. C.; ZAMPIROLI, E.; ALVARENGA, F. S.; FRAGOSO, A. B.; LAILSON-BRITO, J. J.; AZEVEDO A. F.; BARBOSA ,L.; LIMA, N. R. W. Morphology of the guiana dolphin (*Sotalia guianensis*) off southeastern brazil: growth and geographic variation. **LAJAM**, v. 8, n. 1-2, p. 137-149, 2010.
93. REEVES, R. R.; SMITH, B. D.; CRESPO, E. A.; DI SCIARA, G. N. Dolphins, Whales and Porpoises: 2002-2010 Conservation Action Plan for the World's Cetaceans. Cambridge: **IUCN/SSC Cetacean Specialist Group**, 2003.
94. REIDENBERG, J. S. Anatomical adaptations of Aquatic Mammals. **The Anatomical Record**, v. 290, p. 507-513, 2007.

95. RICHARDSON, M. K.; OELSCHLÄGER, H. H. A. Time, pattern, and heterochrony: a study of hyperphalangy in the dolphin embryo flipper. **Evolution & development**, v. 4, n. 6, p. 435-444, 2002.
96. ROCHA, N. S. **Avaliação do crescimento de caprinos leiteiros por meio de modelos não lineares pressupondo diferentes estruturas de variância**. Tese de doutorado. Campos dos Goytacazes – RJ: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 2013. 67p.
97. ROSAS, F. C. W.; BARRETO, A. S.; MONTEIRO-FILHO, E. L. A. Age and growth of the estuarine dolphin (*Sotalia guianensis*) (Cetacea, Delphinidae) on the Paraná coast, southern Brazil. **Fishery Bulletin**, Seattle, v. 101, p. 377-383, 2003.
98. ROSAS, F. C. W.; MARIGO, J.; LAETA, M.; ROSSI-SANTOS, M. Natural history of dolphins of the genus *Sotalia*. **LAJAM**. v. 8, n. 1-2, p. 57-68, 2010.
99. ROSAS, F. C. W.; MONTEIRO-FILHO, E. L. A. Reproduction of the estuarine dolphin (*Sotalia guianensis*) on the coast of Paraná, southern Brazil. **Journal of Mammalog**, v. 83, n. 2, p. 507–515, 2002.
100. ROZENBERG, S.; VANDROMME, J.; NEVE, A.; AGUILERA, A.; MUREGANCURO, A.; PERETZ, J. Precision and accuracy of in vivo bone mineral measurement in rats using dual-energy x-ray absorptiometry. **Osteoporosis**, v. 5, p. 47-53, 1995.
101. SANCHES, J. A.; BERTA, A. Comparative anatomy and evolution of the odontocete forelimb. **Marine Mammal Science**, v. 26, n. 1, p. 140-160, 2010.
102. SANTOS, C. L.; PEREZ, J. R. O.; MUNIZ, J. A.; SARITA, B. Crescimento Alométrico dos Tecidos Ósseo, Muscular e Adiposo na Carcaça de Cordeiros Santa Inês e Bergamácia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 2, p. 487-492, 2001.
103. SANTOS, M. C. O.; ROSSO, S.; RAMOS, R. M. A. Age estimation of marine tucuxi dolphins (*Sotalia fluviatilis*) in South-Eastern Brazil. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 83, n. 1, p. 233-236, 2003.

104. SARTORIS, D. J.; RESNICK, D. Current and innovative methods for noninvasive bone densitometry. **Radiol Clin North Am**, v. 28, p. 257-278, 1990.
105. SCHMIEGELOW, J. M. M. **Estudo sobre cetáceos odontocetos encontrados em praias da região entre Iguape (SP) e Baía de Paranaguá (PR) (24°42'S–25°28'S) com especial referência a *Sotalia fluviatilis* (Gervais, 1853) (Delphinidae)**. Tese de mestrado. São Paulo: Universidade de São Paulo, Instituto Oceanográfico, 1990.
106. SECCHI, E. *Sotalia guianensis*. In: International Union for Conservation of Nature-IUCN. **Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas**. Versão 2012/2. 2012. Disponível em: < [www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org) >. Acesso em: 19 de fevereiro de 2013.
107. SILVA, V. F.; FETTUCCIA, D.; RODRIGUES, E. S.; EDWARDS, H.; MORENO, I. B.; MOURA, J. F.; WEDEKIN, L. L.; BAZZALO, M.; EMIN-LIMA, N. R.; CARMO, N. A. S.; SICILIANO, S.; UTRERAS, V. B. Report of the working group on distribution, habitat characteristics and preferences, and group size. **LAJAM**, v. 8, n. 1-2, p. 31-38, 2010.
108. SILVA, V. M. F.; BEST, R. C. *Sotalia fluviatilis*. **American Society of Mammalogists. Mammalian Species**, n. 527, p. 1-7, 1996.
109. SINDAMARES. **Portos do Espírito Santo**. Acesso em: 5 de janeiro de 2014. Disponível em: <<http://www.sindamares.com.br/portos-do-es.html>>.
110. SONNE, C.; DIETZ, R.; BORN, E. W.; RIGET, F. F.; KIRKEGAARD, M.; HYLDSTRUP, L.; LETCHER, R. J.; MUIR, D. C. G. Is Bone Mineral Composition Disrupted by Organochlorines in East Greenland Polar Bears (*Ursus maritimus*)? **Environmental Health Perspectives**, v. 112, n. 17, 2004.
111. SOUZA, J. D. B. **Diagnóstico dos efluentes de sistema de tratamento de esgotos sanitários e gestão ambiental do porto organizado de vitória/ES**. Monografia. Vitória (ES): Universidade Federal do Espírito Santo. Departamento de Engenharia Ambiental, 2013. 101p.
112. STEIN, B. R. Bone Density and Adaptation in Semiaquatic Mammals. **Journal of Mammalogy**, v. 70, n.3, p. 467-476, 1989.

113. SWENSON, M. J. **Fisiologia dos Animais Domésticos**. 10 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1984. 799 p.
114. TOTHILL, G.; REID, D. M.; AVENELL, A.; FENNER, J. A. K. Comparisons between Hologic Nordland and lunar dual-energy X-ray bone absorptiometers in human. In: ELLIS, k. J.; EASTMAN, J. D. ed. **Body Composition**. New York: Plenum Press, 1993. p. 385-388.
115. TURNER, A. S. Animal Models of Osteoporosis-Necessity and Limitations. **European Cells and Materials**, v. 1, p. 66-81, 2001.
116. VAN BRESSEM, M. F.; VAN WAEREBEEK, K.; REYES, J.; FÉLIX, F.; ECHEGARAY, M.; SICILIANO, S.; DI BENEDITTO, A. P. M.; FLACH, L.; VIDDI, F.; ÁVILA, I. C.; HERRERA, J. C.; TOBÓN, I. C.; BOLAÑOSJIMÉNEZ, J.; MORENO, I. B.; OTT, P. H.; SANINO, G. P.; CASTINEIRA, E.; MONTES, D.; CRESPO, E.; FLORES, P. A. C.; HAASE, B.; SOUZA, S. M. F .M.; LAETA, M.; FRAGOSO, A. B. L. A preliminary of skin and skeletal diseases and traumata in small cetaceans from South American waters. **Latin American Journal of Aquatic Mammals**, v. 6, n. 1, p. 7-42, 2007.
117. VIEIRA, R. A. M.; CAMPOS, P. R. S. S.; SILVA, J. F. C.; TEDESCHI, L. O.; TAMY, W. P.; Heterogeneity of the digestible insoluble fiber of selected forages in situ. **Animal Feed Science and Technology**, v. 171, p. 154-166, 2012.
118. WALL, P. W. The correlation between hight limb-bone density and aquatic habits in recent mammals. **Journal of Paleontology**, v. 57, n. 2, p. 197-207, 1983.
119. ZANELATTO, R. C. **Dieta do boto-cinza, *Sotalia fluviatilis* (Cetacea, Delphinidae), no complexo estuarino da baía de Paranaguá e sua relação coma ictiofauna estuarina**. Dissertação de mestrado. Curitiba: Universidade Federal Paraná, 2001.
120. ZERBINI, A.; SICILIANO, S.; PIZZORNO, J. L. A. Avaliação e ações prioritárias para a conservação da biodiversidade da zona costeira marinha: diagnóstico sobre mamíferos marinhos: anexo 2 – revisão das espécies. 1999. Disponível em: <<http://www.revistas.usp.br/bjvras/article/viewFile/26791/28574>>. acesso em:03/06/2014.



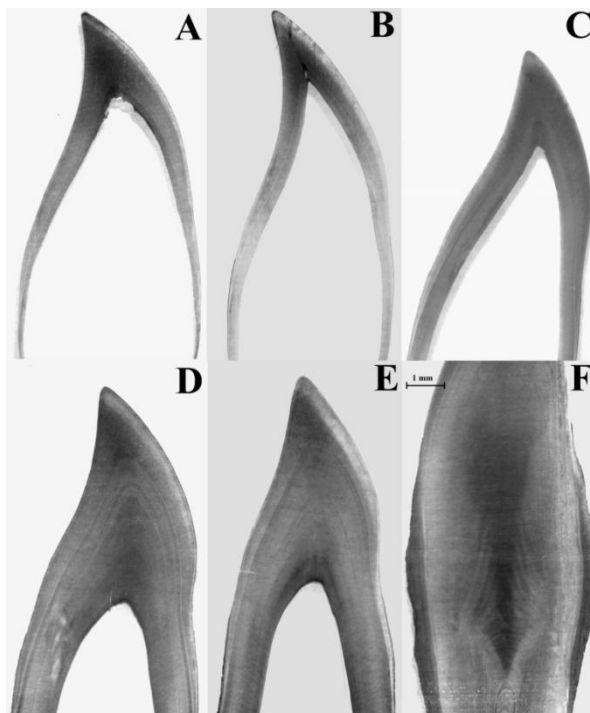
## **APÊNDICES**

A) Imagem do DEXA

B) Imagem dos cortes dentários

**APÊNDICE A - Imagem do momento da varredura da nadadeira peitoral de *Sotalia guianensis* no suporte de acrílico no aparelho DEXA.**



**APÊNDICE B- Imagem das secções dentárias de *Sotalia guianensis***

**A:** recém-nascido; **B:** 0.5 ano; **C:** 1 ano; **D e E:** 5 anos; **F:** 35 anos. Imagem do dente visualizada em Microscópio óptico com aumento de 40X onde é possível a observação das camadas de crescimento.