



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - ICB**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DIVERSIDADE BIOLÓGICA -**  
**PPGDB**

**Variações morfológicas e geográficas no sincrânio do peixe-boi-da-  
Amazônia *Trichechus inunguis* (Natterer, 1883)**

**Manaus**  
**2016**

**GISELE DE CASTRO MACIEL VALDEVINO**

**Variações morfológicas e geográficas no sincrânio do peixe-boi da  
Amazônia *Trichechus inunguis* (Natterer, 1883)**

**Orientador: Ronis Da Silveira - UFAM**

**Co-orientador: Vera Maria Ferreira da Silva - INPA**

**Erika Hingst-Zaher - BUTANTÃ**

Dissertação de mestrado apresentada a  
Universidade Federal do Amazonas como  
parte dos requisitos para a obtenção do  
Título de Mestre no Programa de Pós-  
Graduação em Diversidade Biológica.

Manaus  
2016

### Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

V145v Valdevino, Gisele de Castro Maciel  
Variações morfológicas e geográficas no sincrânio do peixe-boi da Amazônia *Trichechus inunguis* (Natterer, 1883) / Gisele de Castro Maciel Valdevino. 2016  
82 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Ronis Da Silveira  
Orientador: Vera Maria Ferreira da Silva  
Coorientador: Erika Hingst-Zaher  
Dissertação (Mestrado em Diversidade Biológica) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Peixe-boi. 2. Morfologia. 3. Ontogenia. 4. Morfometria geométrica. 5. Amazônia. I. Silveira, Ronis Da II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

*"É pela educação, mais do que pela instrução,  
que se transformará a humanidade".*

Allan Kardec

## **Agradecimentos**

Agradeço aos professores do PPG Diversidade Biológica - UFAM, em nome da professora Maria Gracimar Pacheco de Araújo, por todo o empenho em assegurar nossos direitos e por sua garra quando precisa apoiar seus alunos.

A UFAM e Capes, por possibilitarem a realização deste projeto e pela concessão da bolsa.

A minha orientadora Dra. Vera Maria Ferreira da Silva, meu agradecimento especial, por sempre me encorajar a seguir a vida acadêmica e por demonstrar o conhecimento e a fibra que me incentivam a seguir seus passos! Muito obrigada pelos anos de amizade e confiança em mim depositados!

A meu orientador Dr. Ronis Da Silveira, por aceitar participar conosco deste projeto. Muito obrigada por suas críticas, sugestões e pela educação e gentileza com que sempre me tratou.

A Dra. Erika Hingst-Zaher, minha co-orientadora, por sempre me encoraja a continuar estudando a osteologia e morfometria geométrica. Muito obrigada pelas oportunidades concedidas, pela amizade e pelo jeito prático de ser!

Ao Dr. Fernando Cesar Weber Rosas, por todo o apoio, ajuda e amizade ao longo destes anos.

Aos meus amigos de mestrado: Marlus, Maria Augusta, Sérgio, Rafaela, Pedro, Neto e Jhennyffer pelos ótimos momentos, pelas conversas e pela amizade. Seremos os eternos finalistas da DivBio.

Aos amigos do Laboratório de Mamíferos Aquáticos (LMA/INPA) e da Associação Amigos do Peixe-Boi (AMPA), obrigada pela amizade, por todo o apoio e incentivo em todos esses anos.

Agradeço à Stella Maris (CPPMA) por permitir o uso de alguns crânios de peixe-boi e ao Christian Lourinho, pelo apoio na limpeza dos crânios e por me incentivar a continuar quando eu já não suportava o odor.

Ao Bruno, pela paciência, ajuda, suporte e carinho ao longo destes anos! Aos meus pais, por todo o suporte emocional e financeiro e por sempre torcerem pelo meu crescimento! Aos meus familiares e amigos, que entenderam a necessidade de eu estar ausente em alguns momentos.

E claro, aos peixes-bois, pelo encantamento e respeito que me inspiram e por me fazerem querer aprender sempre mais a linguagem dos ossos.

Agradeço!

## Resumo Geral

### **Variações morfológicas e geográficas no sincrânio do peixe-boi da Amazônia *Trichechus inunguis* (Natterer, 1883)**

O peixe-boi-da-Amazônia (*Trichechus inunguis*) é endêmico da bacia Amazônica e exclusivo de água doce. Apresenta apomorfias em relação aos outros triquequídeos, derivadas de sua adaptação ao ambiente dulcícola e distribui-se desde as cabeceiras de rios no Equador, Peru e Colômbia até o estuário do Rio Amazonas, no Brasil. Apesar dos estudos sobre a morfologia desta espécie, nenhum estudo ontogenético sincraniano foi desenvolvido ao longo de sua distribuição. Estudos morfológicos em triquequídeos vêm sendo realizados através da morfometria convencional, que nem sempre consegue descrever ou representar a variabilidade de forma dos organismos. A morfometria geométrica é uma técnica de comparação da forma dos organismos e leva em consideração a geometria das formas biológicas, analisando estatisticamente sua variação. Visando compreender a ontogenia e morfologia desta espécie, o objetivo deste estudo é analisar as variações de forma e tamanho do sincrânio do peixe-boi-da-Amazônia ao longo de sua ontogenia e das variações morfológicas sincranianas a níveis sexual e geográfico. Um total de 80 crânios e 102 mandíbulas foram utilizados para a coleta de dados geométricos morfométricos em duas e três dimensões. Estes crânios e mandíbulas foram agrupados em três classes etárias: filhote, jovem e adulto e de acordo com sua proveniência e então foram analisados geometricamente, buscando alterações cranianas entre indivíduos das classes etárias e entre os exemplares provenientes de diferentes rios da bacia amazônica. Para isso os crânios e mandíbulas foram digitalizados e após um tratamento geométrico as configurações geradas foram analisadas estatisticamente, por meio de seus componentes de forma e tamanho. O sincrânio de *Trichechus inunguis* apresenta alometria positiva e não foi observado dimorfismo sexual nesta espécie. As variações morfológicas foram observadas na forma do crânio e mandíbulas, sendo esta influenciada pelo tamanho das estruturas. A observação do padrão de fechamento da sincondrose supraoccipital - exoccipital e a classificação proposta por Amaral *et al.* (dados não publicados) foram utilizadas para a determinação das três classes etárias a partir da forma dos crânios e mandíbulas. Os exemplares provenientes de rios de água branca apresentaram-se diferentes dos demais

oriundos de rios de água preta e clara. Dentro do grupo de exemplares provenientes dos diferentes rios de água branca, o grupo oriundo do rio Japurá apresenta-se diferente dos demais grupos, sendo estes: rio Amazonas, Solimões e Javari.

**Palavras-chave:** Peixe-boi, morfologia, ontogenia, morfometria geométrica, Amazônia



## Abstract

The Amazonian manatee (*Trichechus inunguis*) is endemic to the Amazon basin and the only freshwater sirenian. Apomorphies features relative to other Trichechidae derived from its adaptation to freshwater environment and it is distributed from the headwaters of rivers in Ecuador, Peru and Colombia to Amazon River estuary in Brazil. While studies of the morphology of this species, no cranial ontogenetic study was developed over its distribution. Morphological studies in Trichechidae have been conducted through the conventional morphometry, which cannot always describe or represent the variability of form from organisms. Geometric morphometrics is a toolbox that is been widely applied in studies comparing the shape of organisms taking into consideration the biological shapes and analyzing their variation statistically. To understand the ontogeny and morphology of this species, the aim of this study is to analyze the variation in size and shape of the Amazonian manatee skull throughout its ontogeny and morphological variations in sexual and geographic levels. A total of 80 skulls and 102 mandibles were used to collect morphometric geometric data in two and three dimensions. These skulls and mandibles were grouped into three age classes: calves, young and adult according to their origin and then were analyzed geometrically, seeking cranial changes between individuals of age groups and between specimens from different rivers of the Amazon basin. For this skulls and mandibles were scanned and after a geometrical treatment, configurations generated were analyzed statistically by components of shape and size. Amazonian manatee skull presents positive allometry and no sexual dimorphism was observed in this species. The morphological changes were observed in shape of the skull and mandible, which is influenced by size of the structures. The observation of the pattern of closure of supraoccipital - exoccipital synchondrosis and the classification proposed by Amaral *et al.* (unpublished data) were used to determine three age classes from shape of skulls and jaws. Specimens from white water rivers presented themselves different from other rivers from black and clear water. Within the group of specimens from different rivers of white water, the group originating from Japurá river presents different from the other groups, which are: Amazon, Solimões and Javari rivers.

**Key-words:** Manatee, morphology, ontogeny, geometric morphometrics, Amazon

**SUMÁRIO**

Agradecimentos.....	iv
Resumo Geral.....	vi
Abstract.....	viii
Lista de Figuras.....	x
Lista de Tabelas.....	xiv
Introdução Geral.....	16
Morfometria geométrica.....	19
Capítulo 1: Ontogenia Craniana em <i>Trichechus inunguis</i> .....	21
Introdução.....	21
Material e métodos.....	25
Amostra.....	25
Análises.....	34
Resultados.....	36
Discussão.....	44
Conclusão.....	47
Capítulo 2: Variação Morfológica Craniana em <i>Trichechus inunguis</i> .....	48
Introdução.....	48
Material e métodos.....	52
Amostra.....	52
Análises.....	54
Resultados.....	55
Discussão.....	69
Conclusão Geral.....	72
Cronograma.....	74
Fontes Financiadoras.....	74
Referências Bibliográficas.....	75

## Lista de Figuras

### Capítulo 1

**Figura 1:** Esquema de crânio de *Trichechus sp.* e os ossos que o compõem. Adaptado de Rommel *et al.*, (2009).

**Figura 2:** Anatomia do ramo direito da mandíbula de *Trichechus sp.* Adaptado de Rommel *et al.*, (2009).

**Figura 3:** Distribuição dos exemplares de *Trichechus inunguis* utilizados neste estudo. Pontos na cor preta representam os locais de origem dos exemplares utilizados neste estudo.

**Figura 4:** *Landmarks* (pontos pretos) definidos nesse estudo para o crânio de *Trichechus inunguis* nas vistas dorsal, lateral e ventral.

**Figura 5:** *Landmarks* (pontos pretos) projetados na mandíbula de *Trichechus inunguis*.

**Figura 6:** **A.** Braço digitalizador MicroScribe® 3D. **B.** Ponteira pela qual os *landmarks* são marcados no crânio e obtidas as coordenadas.

**Figura 7:** Variação do tamanho do centroide (tamanho do crânio) em relação as classes etárias em *T. inunguis*. Filhotes em verde, jovens em azul e adultos em vermelho.

**Figura 8:** Variação da forma do crânio (PC1) com as classes etárias para *Trichechus inunguis*. Filhotes em verde, jovens em azul e adultos em vermelho.

**Figura 9:** Representação gráfica dos primeiros componentes principais (PC1 e PC2) para a forma do crânio de *Trichechus inunguis* nas classes etárias, de cima para baixo: filhote, jovem e adulto. A forma média do crânio está representada em azul. A variação da forma está representada em vermelho.

**Figura 10:** Variação do tamanho do centroide (tamanho da mandíbula) com as classes etárias para a mandíbula de *Trichechus inunguis*. Filhotes em verde, jovens em azul e adultos em vermelho.

**Figura 11:** Representação da relação entre os dois primeiros componentes principais (PC1 e PC2) de forma e tamanho respectivamente, para a mandíbula de

*Trichechus inunguis*. Filhotes em verde, jovens em azul e adultos em vermelho.

**Figura 12:** Representação gráfica dos dois primeiros componentes principais (PC1 e PC2) para a forma da mandíbula de *Trichechus inunguis* nas classes etárias, de cima para baixo: filhote, jovem e adulto. A forma média do crânio está representada em azul e variação da forma representada em vermelho.

**Figura 13:** *Scatterplot* de regressão evidenciando a relação alométrica positiva para o crânio de *Trichechus inunguis*.

**Figura 14:** Sincondrose eseno-occipital nas três classes etárias propostas para *Trichechus inunguis*, indicada pela seta branca. Na sequência, da esquerda para a direita: filhote, jovem e adulto.

**Figura 15:** Fechamento da sincondrose supraoccipital-occipital, indicada por setas brancas, nas três classes etárias. Da esquerda para a direita: filhote, jovem e adulto de *Trichechus inunguis*.

**Figura 16:** Crânios de *Trichechus inunguis* na vista ventral, evidenciando o tamanho (setas brancas) ocupado pela bula timpânica na caixa craniana. Da direita para a esquerda: filhote, jovem e adulto.

**Figura 17:** Crânios de *Trichechus inunguis* em vista dorsal, representando as três classes etárias. Da direita para a esquerda, filhote, jovem e adulto. Setas brancas indicam o processo zigomático do osso esquamosal.

## Capítulo 2

**Figura 1:** Localização dos grandes rios de água branca (em marrom), preta (em preto) e clara (em azul) na bacia amazônica. Adaptado de Junk *et al.*, (2011).

**Figura 2:** Porcentagem de variação total de forma do crânio de *Trichechus inunguis* representada pelos componentes principais.

**Figura 3:** *Scatterplot* dos dois primeiros componentes principais (PC1 e PC2) para o sexo em *Trichechus inunguis*. Fêmeas representadas em vermelho, machos em azul e sexo indeterminado em verde.

**Figura 4:** Análise de função discriminante entre os sexos de *Trichechus inunguis*. Fêmeas representadas pela cor vermelha e machos representados pela cor azul.

**Figura 5:** Teste de validação cruzada da análise de função discriminante para os sexos de *Trichechus inunguis*. Fêmeas representadas pela cor vermelha e machos representados pela cor azul.

**Figura 6:** Porcentagem de variação total de forma da mandíbula de *Trichechus inunguis* representada pelos componentes principais.

**Figura 7:** *Scatterplot* dos primeiros componentes principais para mandíbula de *Trichechus inunguis*. Fêmeas representadas em vermelho, machos em azul e indivíduos de sexo indeterminado em verde.

**Figura 8:** Análise de função discriminante entre mandíbulas de machos e fêmeas de *Trichechus inunguis*. Fêmeas representadas em vermelho e machos em azul.

**Figura 9:** Teste de validação cruzada da análise de função discriminante entre mandíbulas de machos e fêmeas de *Trichechus inunguis*. Fêmeas representadas em vermelho e machos em azul.

**Figura 10:** Porcentagem de variação total para variação geográfica craniana representada pelos componentes principais.

**Figura 11:** *Scatterplot* dos primeiros componentes principais para análise de variação geográfica craniana em *Trichechus inunguis*. Indivíduos oriundos de água branca representados pela cor vermelha, água clara pela cor verde, água preta pela cor preta e indivíduos sem informações de origem, na cor azul.

**Figura 12:** Análise de variáveis canônicas para a configuração craniana dos grupos de indivíduos provenientes de diferentes tipos de água. Água branca representada pela cor vermelha, clara pela cor verde, preta pela cor preta e indivíduos sem dados de origem pela cor azul.

**Figura 13:** Variações na forma do crânio de *Trichechus inunguis* dos exemplares de rios de água branca e água preta. A forma média dos crânios está representada em azul e a variação na forma em vermelho.

**Figura 14:** Análise de variáveis canônicas da configuração craniana dos indivíduos provenientes dos diferentes tipos de água branca. Rio Amazonas representado em preto, rio Japurá em vermelho, rio Javari em verde e rio Solimões em azul.

**Figura 15:** Porcentagem de variação total de forma para variação geográfica na mandíbula representada pelos componentes principais.

**Figura 16:** Análise de Componentes Principais para a mandíbula de *Trichechus inunguis*. Exemplares de água branca representados em vermelho, água clara em verde, água preta em preto e indivíduos sem dados de origem na cor azul.

**Figura 17:** Análise de variáveis canônicas para a mandíbula de *Trichechus inunguis*. Exemplares de água branca representados em vermelho, água clara em verde, água preta em preto e indivíduos sem dados de origem na cor azul.

**Figura 18:** Análise de Variáveis Canônicas da mandíbula para os grupos provenientes dos diferentes rios de água branca. Rio Amazonas representado na cor preta, rio Japurá em vermelho, rio Purus em verde e rio Solimões em azul.

**Figura 19:** Representação gráfica da variação da forma do crânio de *Trichechus inunguis* dentro do grupo oriundo de rios de água branca: Amazonas, Japurá, Solimões e Javari. A forma média dos crânios está representada em azul e a variação na forma em vermelho.

## Lista de Tabelas

### Capítulo 1

**Tabela 1.** Exemplos de crânios de *Trichechus inunguis* utilizados neste estudo. As fêmeas estão representadas pela letra F, machos pela letra M e indivíduos com o sexo indeterminado pela letra I. Classes etárias: filhotes F, jovens J, adultos A.

**Tabela 2.** Exemplos de mandíbulas de *Trichechus inunguis* utilizadas neste estudo. As fêmeas estão representadas pela letra F, machos pela letra M e indivíduos com o sexo indeterminado pela letra I. Classes etárias: filhotes F, jovens J, adultos A.

**Tabela 3.** Definição dos *landmarks* digitalizados nos crânios dos exemplares de *Trichechus inunguis* analisados, adaptados de Oliveira *et al.*, (2005).

**Tabela 4.** Definição dos *landmarks* digitalizados na mandíbula dos exemplares de *Trichechus inunguis* analisados, adaptados de Oliveira *et al.*, (2005).

**Tabela 5.** Características morfológicas do crânio de *Trichechus inunguis* nas diferentes vistas para cada classe etária. Adaptada de Reynolds *et al.*, (1999).

### Capítulo 2

**Tabela 1:** Exemplos de crânios de *Trichechus inunguis* adultos utilizados neste estudo. As fêmeas estão representadas pela letra F, machos pela letra M e indivíduos com o sexo indeterminado pela letra I.

**Tabela 2:** Exemplos de mandíbulas de *Trichechus inunguis* adultos utilizados neste estudo. As fêmeas estão representadas pela letra F, machos pela letra M e indivíduos com o sexo indeterminado pela letra I.

**Tabela 3:** Valores de p das distâncias de Mahalanobis entre as configurações dos grupos provenientes dos rios de diferentes tipos de água analisados.

**Tabela 4:** Valores de p das distâncias de Mahalanobis entre as configurações dos grupos provenientes dos diferentes rios de água branca analisados.

**Tabela 5:** Valores de p para as distâncias de Mahalanobis da configuração das mandíbulas entre os grupos provenientes dos rios de diferentes tipos de água analisados.

**Tabela 6:** Valores de p para a distância de Mahalanobis da configuração das mandíbulas para os grupos de água branca.



## INTRODUÇÃO GERAL

Os peixes-bois são mamíferos da Ordem Sirenia, que possuem estreito parentesco filogenético com os elefantes atuais (Ordem Proboscidea) e o damão-das rochas (Ordem Hyracoidea), ambas com distribuição africana e asiática, e juntamente com estes dois grupos, compõem a super-ordem Paenungulata. Este parentesco é sustentado por estudos moleculares (De Jong *et al.*, 1981, Scally *et al.*, 2001) e morfológicos (Fischer & Tassy, 1993, Shoshani & McKenna, 1998; Carter *et al.*, 2008).

A ordem Sirenia é composta por mamíferos exclusivamente aquáticos, que tiveram sua origem há cerca de 50 milhões de anos atrás durante o período Terciário. Possivelmente representam um dos primeiros ramos da linha de mamíferos placentários que ocuparam o ambiente aquático, e os únicos a praticarem herbivoria (Best, 1984). Atualmente a ordem está dividida em duas famílias distintas: *Dugongidae*, de distribuição indo-pacífica, e *Trichechidae* (Domming, 1978), cuja distribuição abrange a América do Sul e Central e a África.

A família *Dugongidae* é representada pelo dugongo, *Dugong dugon* e pela vaca marinha de Steller, *Hydrodamalis gigas*, extinta no final do século XVIII. A família *Trichechidae* tem como representantes *Trichechus senegalensis* (Link, 1795) encontrado no oeste da África, *Trichechus manatus* (Linnaeus, 1758) com duas formas reconhecidas que se distribuem da Flórida (EUA) até a costa nordeste brasileira e *Trichechus inunguis*, o peixe-boi da Amazônia.

O peixe-boi da Amazônia (*Trichechus inunguis* Natterer, 1883), é o menor e único sirênio exclusivamente de água doce e é também o maior mamífero aquático herbívoro da Bacia Amazônica (Best, 1984), podendo medir até 275cm e pesar até 420 kg (Amaral *et al.*, 2010). *Trichechus inunguis* é endêmico da Bacia Amazônica e apresenta ampla distribuição, desde as cabeceiras de rios no Equador, Peru e Colômbia até o estuário do Rio Amazonas, no Brasil (Best, 1984; Timm *et al.*, 1986; Rosas, 1994).

Fatores relacionados à sua distribuição são ligados ao pulso de inundação e à disponibilidade de macrófitas aquáticas, que respondem ao ciclo hidrológico da região, ou seja, às variações de nível da água e de seus parâmetros físico-químicos, às alterações de teores de nutrientes e, principalmente, à alternância entre as fases terrestre

e aquática verificadas anualmente nas diferentes épocas do ciclo hidrológico (Junk e da Silva, 1997).

Sua pele é lisa e grossa, com pêlos esparsos por todo o corpo (Geraci & Lounsbrury, 1993; Rosas, 1994) e com coloração variando de cinza escuro a preto, geralmente apresentando uma mancha branca ou rosada na região ventral. Não possui unhas em suas nadadeiras peitorais, ao contrário do que acontece em *T. manatus* e *T. senegalensis* (Husar, 1977; Best, 1984; Rosas, 1994).

Como os outros triquequídeos, o peixe-boi da Amazônia apresenta ossos densos e sem presença de cavidade medular, evidenciando a ocorrência de osteosclerose (compactação e estruturação óssea interna) e paquiostose (hiperplasia do córtex periosteal), características típicas de tetrápodes secundariamente adaptados à vida na água (de Buffrénil & Domning, 2010).

A reprodução do peixe-boi da Amazônia está intimamente associada com o ciclo hidrológico da região. Cópulas e nascimentos ocorrem quando as águas dos rios da Amazônia começam a subir (dezembro-junho), com a maioria dos nascimentos aparentemente ocorrendo entre fevereiro e maio Best (1982).

A taxa reprodutiva é baixa, fêmeas produzem um filhote no intervalo de 2, 5 a 5 anos, após uma gestação que dura entre 11 e 12 meses. Os dados sobre a reprodução sugerem uma sincronização entre o estro da fêmea e a disponibilidade de alimentos (Best, 1983).

Os peixes-bois da Amazônia preferem águas rasas e calmas, sem presença de corredeiras e com grande quantidades de macrófitas aquáticas, fatores que limitam sua ocorrência. (Best, 1984; Rosas, 1994). *Trichechus inunguis* provavelmente se comporta como uma população panmítica, mas por causa da vastidão de sua distribuição geográfica, algum fluxo gênico restrito e/ou dispersão na Bacia Amazônica provavelmente existem (Cantanhede *et al.*, 2005).

O processo de migração de peixes-bois da Amazônia machos entre lagos na Amazônia Central, da várzea da Reserva de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá no Rio Solimões para os lagos da Reserva de Desenvolvimento Sustentável Amanã Rio Japurá foi descrito por Arraut *et al.*, (2010). Esses autores observaram que os peixes-

bois realizam migrações durante as estações de vazante e seca para lagos mais profundos da RDS Amanã e voltam para os lagos da RDS Mamirauá nos períodos de enchente e cheia para se alimentarem na várzea. Esta migração, porém, não parece ser determinada geneticamente e se restringe aos ambientes que oferecem condições favoráveis aos animais durante o período de vazante e seca dos rios.

Apesar da grande redução populacional no passado, análises de DNA mitocondrial revelaram que *T. inunguis* vem mantendo uma variabilidade genética relativamente alta, mostrando uma expansão populacional que pode ser um indicativo de recuperação da espécie nos últimos 30-40 anos, coincidindo com a promulgação da Lei de Proteção à Fauna de 1967 (Cantanhede *et al.*, 2005).

Desde 1973, *T. inunguis* está citado no Apêndice I da CITES. A espécie é protegida no Brasil desde 1967 pela Lei de Proteção à Fauna (nº 5.197, alterada para 7.653 em 1988) e a partir de 1998 pela Lei de Crimes Ambientais (nº 9.605). Atualmente, além do Brasil, a espécie também é protegida por lei na Colômbia, no Peru e Equador e está classificada na Lista Vermelha das Espécies Ameaçadas da IUCN como Vulnerável (VU) (IUCN, 2013) e classificada como “Vulnerável” segundo a lista Nacional das Espécies da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção (ICMBio, 2014). No Brasil está listado no Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção (da Silva *et al.*, 2008) e contemplada no Plano de Ação para os Mamíferos Aquáticos do Brasil (IBAMA, 2011).

Desde a criação do Laboratório de Mamíferos Aquáticos do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia LMA/INPA, em 1974, as informações sobre os peixes-bois que chegam às dependências do LMA/INPA são incluídas no acervo do LMA. Os animais vivos são mantidos no Plantel do INPA e o material ósseo e de animais mortos mantidos no acervo da Coleção de Mamíferos Aquáticos do INPA. Estas informações incluem entre outros, dados como sexo, origem, peso e medidas (biometria) dos animais. Assim, é possível utilizar com segurança estes dados para diversos estudos sobre a biologia de *Trichechus inunguis*.

## MORFOMETRIA GEOMÉTRICA

A variação morfológica pode ser avaliada de forma qualitativa, por meio de estudo de caracteres morfológicos como por exemplo, a presença e ausência de estruturas, seu formato, tamanho relativo e posição de forames cranianos acessórios, mas também de forma quantitativa, pelo uso de medidas lineares ou de outras maneiras que se prestam ao estudo da forma e do tamanho e de sua variação no espaço.

Uma das maneiras de avaliar a variação morfológica é a utilização das técnicas de morfometria geométrica. Estas técnicas vêm sendo utilizadas desde meados do século XX, quando a Biologia começou o processo de transição de um campo descritivo para uma ciência quantitativa e a análise da morfologia viveu uma “revolução” quantitativa semelhante (Rohlf e Marcus, 1993). A descrição quantitativa da morfologia foi combinada com análises estatísticas, descrevendo padrões de variação da forma dentro e entre os grupos, dando origem a uma nova síntese dentro do campo moderno da morfometria (Bookstein, 1998).

A morfometria tradicional (*sensu* Marcus, 1990) pode ser definida como o estudo, por meio de análises multivariadas, da forma e do tamanho e de como estas variáveis se relacionam entre si. Porém, essas análises não capturam muita informação sobre a forma do organismo como um todo, já que os organismos são multidimensionais (Adams *et al.*, 2004). Já a morfometria geométrica pode ser definida como o estudo da variação da forma e de sua covariação com outras variáveis (Bookstein, 1991) e vem sendo aplicada, juntamente com análises estatísticas multivariadas para conjuntos de variáveis quantitativas, como o comprimento, a largura e a altura (Adams *et al.*, 2004).

Para o estudo da morfometria geométrica a obtenção de dados é feita a partir da coleta de marcos anatômicos ou "*landmarks*", que são definidos como regiões topologicamente homólogas que podem ser reconhecidas em todos os indivíduos que compõem a amostra, independente de seu tamanho ou classe etária (Monteiro e Reis, 1999; Zelditch *et al.*, 2004) e cujos marcos anatômicos possam ser digitalizados igualmente em cada estrutura (Rohlf e Marcus, 1993). Neste trabalho usaremos a terminologia "*landmarks*" para nos referirmos aos marcos anatômicos utilizados nas análises.

O efeito do tamanho sobre a forma dos indivíduos analisados é removido, sendo tratado separadamente como uma variável, por meio da padronização de todas as configurações para uma mesma medida de tamanho. Da mesma forma são removidos os efeitos de localização e orientação no espaço resultantes da forma como os dados são obtidos. A remoção destas informações é realizada pela superposição de Procrustes ou superposição ortogonal dos quadrados mínimos (Rohlf e Slice, 1990). Essa superposição faz a translação, reescalonamento e a rotação da configuração de landmarks, resultando na configuração de consenso, que equivale à configuração média da amostra (Monteiro e Reis, 1999; Moraes, 2004).

O ponto médio de uma configuração de pontos é conhecido como centroide; e a medida de tamanho utilizada para redimensionar as configurações é o tamanho do centroide, ou a raiz quadrada do somatório do quadrado das distâncias entre cada landmark e o centroide da configuração. Assim, quanto maior for a configuração, mais alto será o valor do tamanho do centróide (Monteiro e Reis, 1999; Moraes, 2004). Com a utilização desta técnica, é possível analisar separadamente, forma e tamanho.

Nos capítulos seguintes, trataremos das variações de forma e tamanho do crânio do peixe-boi da Amazônia (*Trichechus inunguis*) ao longo de sua ontogenia e das variações morfológicas cranianas a níveis sexual e geográfico.

## CAPÍTULO 1: Ontogenia Craniana em peixe-boi-da-Amazônia.

### INTRODUÇÃO

O termo crânio é inexato e tem sido usado para descrever o esqueleto inteiro da cabeça ou para descrever a parte que envolve o cérebro e os derivados dos três primeiros arcos viscerais, (mandíbula e o aparato hioide). O crânio atua como uma base mecânica para a gordura, músculos, pele e estruturas sensoriais e vasculares que formam a cabeça. Assim, o crânio por si só não dita os contornos da cabeça (Rommel *et al.*, 2009). Nas figuras 1 e 2 estão representados o crânio e a mandíbula de peixes-bois, adaptados de Rommel *et al.*, (2009) em trabalho sobre a anatomia craniana de mamíferos aquáticos.

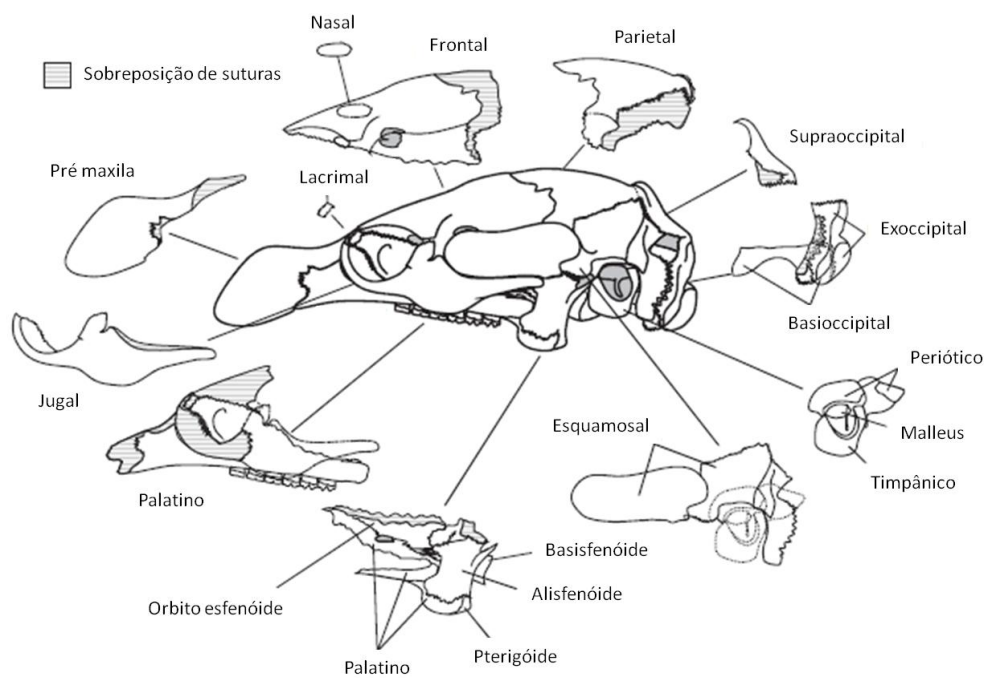


Figura 1. Esquema de crânio de *Trichechus sp.* e os ossos que o compõem. Adaptado de Rommel *et al.*, (2009).

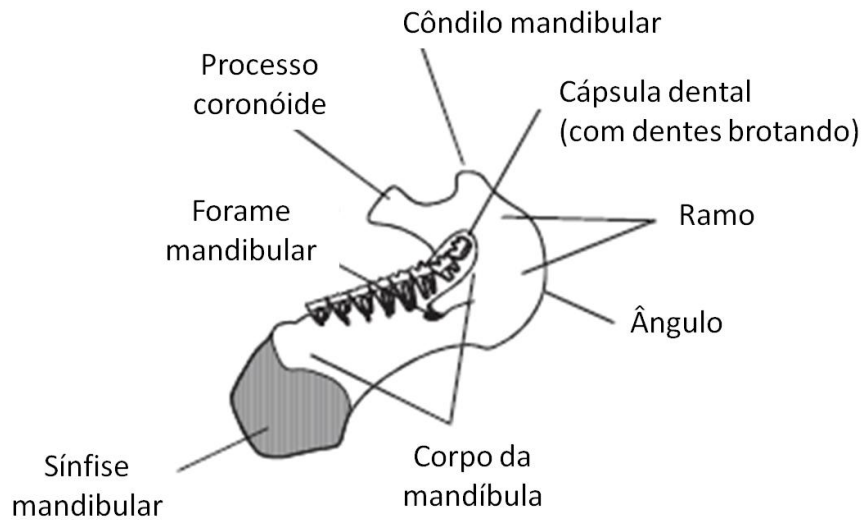


Figura 2. Anatomia do ramo direito da mandíbula de *Trichechus sp.* Adaptado de Rommel *et al.*, (2009).

Os ossos do crânio podem reunir-se em várias formas e anexar uma à outra por materiais como cartilagem ou outro tecido conjuntivo. As juntas entre os ossos cranianos adjacentes são conhecidas como suturas ou sincondroses. Suturas são articulações fibrosas entre ossos dérmicos; sincondroses são articulações cartilaginosas entre ossos endocondrais. Suturas e sincondroses são regiões de crescimento entre ossos individuais, em adultos elas também podem funcionar para aliviar as tensões que são produzidos no crânio (Gordon, 1988).

O desenvolvimento dos ossos do crânio prossegue a um ritmo diferente daquele dos tecidos moles da cabeça. O osso está constantemente sendo remodelado e esta remodelação pode ocorrer à nível individual em resposta à trauma, nutrição e condições ambientais (Rommel *et al.*, 2009).

Embora existam alguns trabalhos a respeito da morfologia craniana de *Trichechus inunguis* (Domning e Hayek, 1986; Hoson *et al.*, 2012; Barros, 2014), informações sobre alterações na forma do crânio ao longo da ontogenia são raras. E, sendo a forma um componente bastante importante para estudos morfométricos (Zelditch, 1992) propomos um estudo onde a ontogenia craniana de *Trichechus inunguis* seja avaliada também por este fator.

Relações alométricas (relação entre forma e tamanho) podem ser estudadas verificando a alteração da forma relacionada à alteração do tamanho (Zelditch, 2004), possibilitando localizar e comparar de forma clara e visual, a variabilidade ontogenética entre as regiões da estrutura em estudo (Monteiro e Reis, 1999; Hingst-Zaher *et al.*, 2000).

No estudo da ontogenia morfológica pós-natal torna-se necessário a determinação da idade ou de classes etárias dos indivíduos da amostra, para verificar as alterações morfológicas baseadas no tempo de vida dos mesmos.

Estudos sobre determinação de idade em peixes-bois foram realizados para o peixe-boi da Flórida (Marmontel, 1990), para o peixe-boi-da-Amazônia (Albuquerque, 2003) e para peixe-boi marinho e amazônico do Brasil (Vergara-Parente, 2010). Rosas (1994) estimou que a idade média de maturidade sexual do peixe-boi da Amazônia seja atingida entre 5 e 10 anos, baseando-se em estudos feitos para o peixe-boi da Flórida (Marmontel, Odell & Reynolds, 1992).

Rodrigues *et al.*, (2008) estudaram as características anatômicas e histológicas do aparelho reprodutor feminino de *T. inunguis*, e observaram o hímen intacto em uma fêmea de 6 anos de idade, apesar de estar na presença de machos adultos, sugerindo que a maturidade ocorra após essa idade. No ano de 2012, no Centro de Pesquisa e Proteção aos Mamíferos Aquáticos (CPPMA) da Eletrobras Amazonas Energia, foi registrado o nascimento de um filhote cuja mãe tinha 7 anos de idade, reforçando a informação de que as fêmeas de *T. inunguis* estão aptas a reproduzir a partir dos 6 anos (*comunicação pessoal*).

Estudos sobre o crescimento alométrico craniano em sirênios foram realizados inicialmente em dugongos (*Dugong dugon*) por Spain e Heinsohn (1974), Spain *et al.*, (1976). Domning e Hayek (1986), utilizando crânios do gênero *Trichechus*, observaram o padrão de fechamento da sutura basioccipital - basiesfenoide (fusão e não-fusão) e propuseram duas classes etárias: imaturo e maduro.

O padrão de fechamento de suturas cranianas é um caractere necessário para a determinação da idade óssea em alguns mamíferos (Junge e Hoffmeister, 1980; Key *et al.*, 1994). No entanto, o momento da ossificação de suturas cranianas difere substancialmente entre os vários gêneros e mesmo dentro de espécies, como por



exemplo, em *Sotalia fluviatilis* (tucuxi) o fusionamento dos pterigoides pode variar entre 8 e 28 anos no fusionamento.

Os sirênios evoluíram como os únicos mamíferos herbívoros que passam sua vida inteiras na água e possuem ossos adaptados para a vida aquática. Por exemplo, as costelas e ossos longos dos peixes-bois possuem um padrão de crescimento característico no qual a ossificação endocondral é lenta, enquanto a ossificação pericondral prossegue a um ritmo mais normal. Isso explica a sua maturação óssea retardada (Fawcett, 1942).

Mesmo após longo período de caça intensiva, o peixe-boi da Amazônia apresenta expansão populacional e grande fluxo gênico (Cantanhede *et al.*, 2005; Vianna *et al.*, 2006). O componente genético tem influência na regulação e nos padrões de crescimento durante o desenvolvimento de um indivíduo, assim como a ontogenia e consequentemente a morfologia, podem ser influenciadas por variações e pressões ambientais e exibirem respostas plásticas às condições locais (Sydney, 2010).

Condições ambientais como disponibilidade de alimento e densidade populacional podem influenciar a ontogenia de uma espécie, provocando aumento ou redução de crescimento ou inibindo o desenvolvimento de determinada estrutura (Pough, 1980; Begon, *et al.*, 2007). Segundo Domning (1982), o peixe-boi da Amazônia apresenta mais caracteres derivados que as outras espécies de peixe-boi, evidenciando as alterações fisiológicas e morfológicas ocorridas nesta espécie ao longo de sua adaptação ao ambiente de água doce.

Dessa forma, neste capítulo propomos analisar a variação ontogenética no sincrânio e verificar a possível separação de classes etárias utilizando as características morfológicas do crânio em *Trichechus inunguis*.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Amostra

Utilizamos um total de 99 crânios e 99 mandíbulas de *Trichechus inunguis*, depositados na Coleção de Mamíferos Aquáticos do INPA (Manaus, AM) e no Centro de Preservação e Pesquisas em Mamíferos Aquáticos da Eletrobras Amazonas Energia localizado na Vila de Balbina, no km 77 da rodovia AM-240, Município de Presidente Figueiredo, Amazonas. Figura 3. Tabelas 1 e 2.

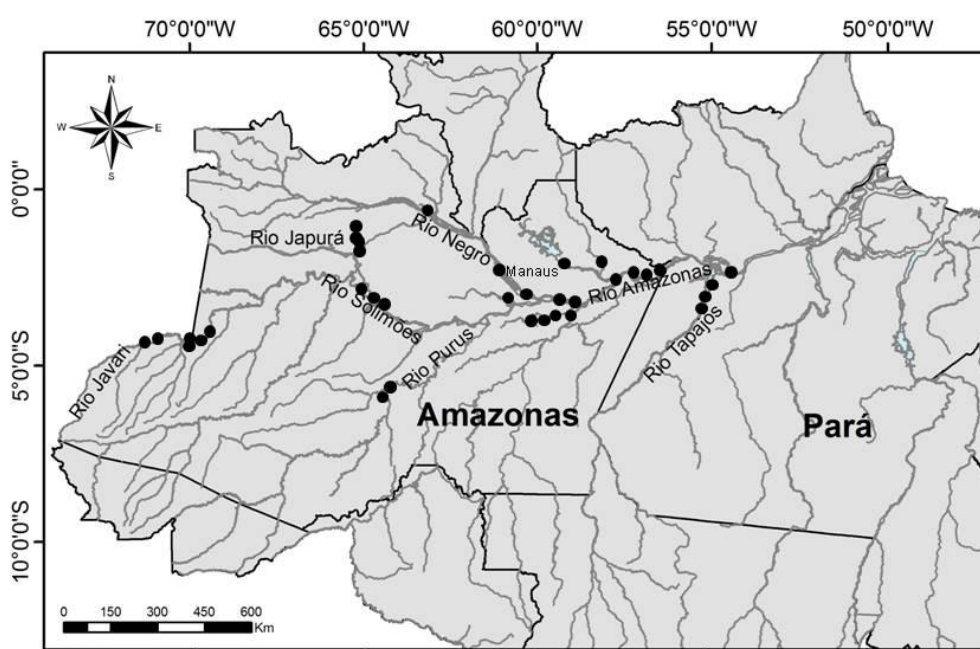


Figura 3. Distribuição dos exemplares de *Trichechus inunguis* utilizados neste estudo. Pontos na cor preta representam os locais de origem dos exemplares utilizados neste estudo.

Tabela 1. Exemplares de crânios de *Trichechus inunguis* utilizados neste estudo. As fêmeas estão representadas pela letra F, machos pela letra M e indivíduos com o sexo indeterminado pela letra I. Classes etárias: filhotes F, jovens J, adultos A.

Exemplar	Sexo	Classe etária	Exemplar	Sexo	Classe etária
CPPMA11	M	F	INPA194	I	A
CPPMA12	M	A	INPA197	F	A
CPPMA13	M	F	INPA198	M	F
CPPMA14	F	F	INPA199	M	A
CPPMA16	F	F	INPA200	M	A
LMA016	M	J	INPA201	F	A
INPA023	M	J	INPA205	M	A
INPA029	F	J	INPA206	F	A
INPA045	F	F	INPA207	F	A
INPA062	F	F	INPA2102	F	A
INPA063	F	J	INPA2103	F	A
INPA074	F	J	INPA2104	F	A
INPA101	M	A	INPA211	F	A
INPA103	M	A	INPA217	M	F
INPA105	F	A	INPA220	I	J
INPA107	F	A	INPA224	I	J
INPA108	M	A	INPA225	F	A
INPA111	F	A	INPA226	M	J
INPA186	I	A	INPA227	F	J

Tabela 1 (conclusão). Exemplos de crânios *Trichechus inunguis* utilizados neste estudo, onde fêmeas estão representadas pela letra F, machos pela letra M e indivíduos com o sexo indeterminado pela letra I. Classes etárias: filhotes F, jovens J, adultos A.

Exemplar	Sexo	Classe etária	Exemplar	Sexo	Classe etária
INPA229	M	A	INPASID4	I	A
INPA230	F	A	INPASID5	I	A
INPA231	F	A	INPASID6	I	J
INPA232	M	J	INPASID7	I	F
INPA241	M	A	INPASID8	I	F
INPA246	F	A	INPASID9	M	J
INPA250	I	F	LMA058	M	A
INPA255	M	A	LMA066	M	F
INPA256	I	A	LMA068	M	F
INPA260	F	J	LMA090	F	F
INPA264	M	A	LMA103	M	J
INPA265	F	A	LMA115	F	J
INPA266	F	F	LMA124	F	F
INPA267	F	J	LMA134	M	F
INPA268	M	A	LMA163	F	F
INPA271	M	A	LMA170	F	F
INPA273	M	J	LMA172	M	F
INPA275	F	A	LMA191	F	F
INPASID1	I	A	LMASID1	M	J
INPASID2	I	A	LMASID2	F	F
INPASID3	I	F			

Tabela 2. Exemplos de mandíbulas de *Trichechus inunguis* utilizadas neste estudo. As fêmeas estão representadas pela letra F, machos pela letra M e indivíduos com o sexo indeterminado pela letra I. Classes etárias: filhotes F, jovens J, adultos A.

Exemplar	Sexo	Classe etária	Exemplar	Sexo	Classe etária
CPPMA11	M	F	INPA124	F	F
CPPMA12	M	A	INPA134	M	F
CPPMA13	M	F	INPA166	I	J
CPPMA14	F	F	INPA170	F	F
CPPMA16	F	F	INPA172	M	F
LMA023	M	J	INPA186	I	A
LMA066	M	F	INPA195	M	J
LMA103	M	F	INPA197	F	A
LMA115	F	F	INPA198	M	F
LMA163	F	F	INPA199	M	A
LMA191	F	F	INPA200	M	A
LMASID1	F	F	INPA203	F	J
INPA016	M	J	INPA205	M	A
INPA023	M	F	INPA206	F	A
INPA029	F	J	INPA207	F	A
INPA056	F	A	INPA208	M	A
INPA058	M	A	INPA2101	F	A
INPA062	F	F	INPA2102	F	A
INPA063	F	J	INPA2103	F	A
INPA074	F	J	INPA2104	F	A
INPA101	M	A	INPA212	I	A
INPA103	M	A	INPA213	F	F
INPA104	F	A	INPA215	M	F
INPA105	F	A	INPA218	I	A
INPA108	M	A	INPA220	I	J
INPA111	F	A	INPA224	I	J
INPA112	F	F	INPA226	M	J

Tabela 2 (conclusão). Exemplos de mandíbulas de *Trichechus inunguis* utilizadas neste estudo. As fêmeas estão representadas pela letra F, machos pela letra M e indivíduos com o sexo indeterminado pela letra I. Classes etárias: filhotes F, jovens J, adultos A.

Exemplar	Sexo	Classe etária	Exemplar	Sexo	Classe etária
INPA227	F	J	INPA258	F	F
INPA228	F	F	INPA259	M	F
INPA229	M	A	INPA260	F	J
INPA230	F	A	INPA261	N	F
INPA231	F	A	INPA262	F	F
INPA232	M	J	INPA264	M	A
INPA233	F	A	INPA265	F	A
INPA234	M	F	INPA266	F	F
INPA235	N	A	INPA267	F	J
INPA236	F	A	INPA268	M	F
INPA241	M	A	INPA269	M	F
INPA243	F	F	INPA270	M	F
INPA244	M	F	INPA271	M	A
INPA245	F	F	INPA273	M	J
INPA246	F	A	INPA274	M	J
INPA247	M	F	INPA275	F	A
INPA248	N	F	LMASID2	M	J
INPA250	N	F	INPASID1	N	J
INPA252	M	F	INPASID3	N	F
INPA253	N	F	INPASID5	N	A
INPA255	M	A	INPASID6	N	J
INPA256	N	A	INPASID8	N	F
INPA257	N	A			

Estes exemplares foram separados em três classes etárias de acordo com a classificação proposta por Hoson *et al.*, (2012), em estudo do padrão de ossificação das suturas do basicrânio no gênero *Trichechus*. E, de acordo com Amaral *et al.*, (2010), não existem diferenças significativas entre peso e comprimento de peixes-bois mantidos em cativeiro e os de vida livre.

Inicialmente foram definidos os *landmarks* para o crânio e mandíbula, seguindo a premissa de que um *landmark* deve ser um ponto homólogo encontrado em todos os indivíduos, independente do tamanho e forma dos mesmos (tabelas 3 e 4 e figuras 4 e 5).

Tabela 3. Definição dos *landmarks* digitalizados nos crânios dos exemplares de *Trichechus inunguis* analisados, adaptados de Oliveira *et al.*, (2005).

<b>Landmarks</b>	<b>Localização</b>
1 - 25	Extremidade dorsal do rostro
2	Ângulo pré-maxilar
3	Início da sutura sagital
4	Final da sutura sagital
5	Crista do osso occipital
6 - 31	Extremidade superior do forame magno
7 - 34	Extremidade anterior do processo orbital direito
8 - 35	Extremidade anterior do processo orbital esquerdo
9	Extremidade da sutura entre a pré-maxila e osso lacrimal direito
10	Extremidade da sutura entre a pré-maxila e osso lacrimal esquerdo
11	Constrição interorbital direita
12	Constrição interorbital esquerda
13	Início da sutura jugal-esquamosal direita
14	Início da sutura jugal-esquamosal esquerda
15 - 28	Final da sutura jugal-esquamosal direita
16 - 29	Final da sutura jugal-esquamosal esquerda
17	Ponto na sutura entre os ossos parietal, mastoide e pterigoide direito
18	Ponto na sutura entre os ossos parietal, mastoide e pterigoide esquerdo
19	Ponto mais externo do osso mastoide direito
20	Ponto mais externo do osso mastoide esquerdo
21	Ponto mais externo da sutura entre o mastoide e occipital direito
22	Ponto mais externo da sutura entre o mastoide e occipital esquerdo
23	Extremidade superior da sutura entre o parietal e occipital direito
24	Extremidade superior da sutura entre o parietal e occipital esquerdo
26	Início da sutura da maxila
27	Final da sutura da maxila
30	Ponto mais posterior do osso basioccipital
32	Ponto mais inferior da sutura pré-maxilar - maxilar direito
33	Ponto mais inferior da sutura pré-maxilar - maxilar esquerdo
36	Início da linha dentária direita
37	Início da linha dentária esquerda
38	Final da linha dentária direita
39	Final da linha dentária esquerda



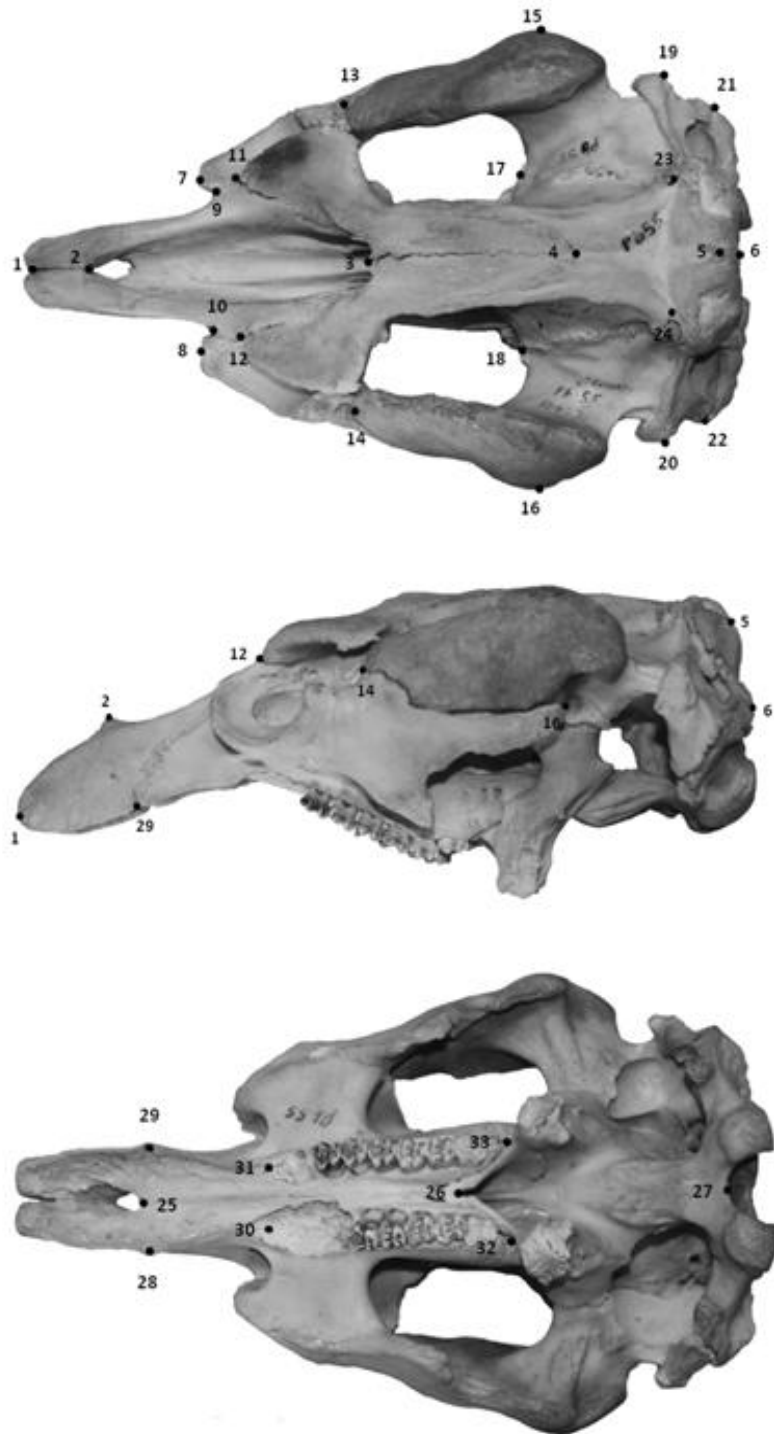


Figura 4. Landmarks (pontos pretos) definidos nesse estudo para o crânio de *Trichechus inunguis* nas vistas dorsal, lateral e ventral.

Tabela 4. Definição dos *landmarks* digitalizados na mandíbula dos exemplares de *Trichechus inunguis* analisados. Adaptados de Oliveira *et al.*, (2005).

<b>Landmarks</b>	<b>Localização</b>
1	Extremidade anterior do rostro
2	Início da série molar
3	Curvatura máxima do corpo da mandíbula
4	Extremidade anterior do corpo da mandíbula
5	Extremidade posterior do corpo da mandíbula
6	Curvatura máxima do corpo da mandíbula
7	Côndilo mandibular
8	Curvatura máxima do corpo posterior da mandíbula
9	Curvatura máxima inferior do corpo da mandíbula
10	Ponto mais inferior da sínfise mandibular

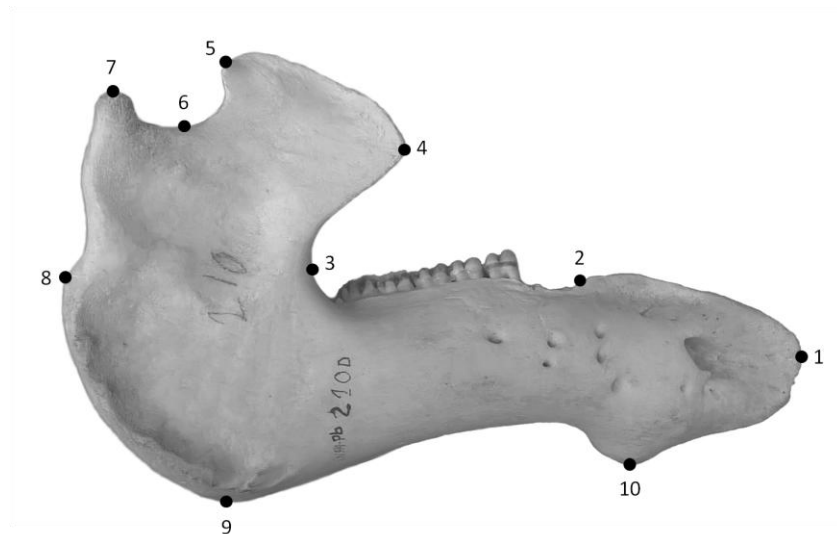


Figura 5. *Landmarks* (pontos pretos) projetados na mandíbula de *Trichechus inunguis*.

A obtenção dos *landmarks* foi realizada em duas etapas, na primeira utilizamos um digitalizador de coordenadas em três dimensões (MicroScribe 3D ®) para coletar as coordenadas dos pontos de referência de todos os crânios utilizados neste trabalho (figura 6). O arquivo gerado foi analisado no programa MorphoJ.



Figura 6. **A.** Braço digitalizador MicroScribe® 3D. **B.** Ponteira pela qual os *landmarks* são marcados no crânio e obtidas as coordenadas.

Na segunda etapa da coleta de dados utilizamos uma máquina fotográfica profissional Canon EOS T5 para a captura das imagens das mandíbulas incluídas neste estudo. Cada mandíbula foi fotografada no lado direito do ramo mandibular, como ilustrado na figura 3, acima.

Após seleção das imagens das mandíbulas, aquelas escolhidas foram compiladas e foi gerado um arquivo unificado no programa **tpsUtil**. Este arquivo foi utilizado no programa **tpsDig** para que os *landmarks* fossem plotados na imagem de cada mandíbula analisada e assim gerar um novo arquivo, contendo as coordenadas em duas dimensões de cada mandíbula. O arquivo com as coordenadas foi utilizado para a realização das análises geométricas e estatísticas no programa MorphoJ.

Os programas da série **tps** (F. James Rohlf, 2005) são softwares gratuitos e encontram-se disponíveis na internet no endereço <http://life.bio.sunysb.edu/morph/> da Stony Brook Morphometrics Home Page. O programa MorphoJ também é um software gratuito e está disponível no endereço: [http://www.flywings.org.uk/morphoj\\_page.htm](http://www.flywings.org.uk/morphoj_page.htm).

### **Análises**

Após a obtenção das coordenadas de *landmarks* das mandíbulas e crânios em duas e três dimensões, respectivamente, foram realizados os passos iniciais das análises tanto para o arquivo dos crânios quanto para o das mandíbulas.

Este tratamento geométrico é o mesmo para ambos os arquivos e realiza a superposição de Procrustes, que consiste na translação, reescalonamento e rotação da configuração de pontos, diminuindo o somatório do quadrado das distâncias entre a configuração de referência e os marcos correspondentes. Este processo elimina as diferenças entre as configurações resultantes de sua posição e orientação no espaço, bem como do tamanho dos exemplares, permitindo a análise das diferenças na forma (Rohlf e Slice, 1990; Monteiro e Reis, 1999).

Na análise de objetos em três dimensões, sete graus de liberdade são perdidos após a superposição de Procrustes (três devido a translação, um ao reescalonamento e três à rotação) e devem ser removidos (Rohlf e Slice, 1990; Monteiro e Reis, 1999).

Todas as análises foram realizadas com o auxílio do programa MorphoJ ([http://www.flywings.org.uk/morphoj\\_page.htm](http://www.flywings.org.uk/morphoj_page.htm).) e a edição dos gráficos foi realizada com o auxílio do programa Inkscape (<https://inkscape.org/pt/download/>).

### **Ontogenia em relação a forma e ao tamanho**

Após o tratamento geométrico inicial, foram realizadas [1] uma análise multivariada de variância (MANOVA), entre as classes etárias e os dois primeiros componentes principais e [2] uma análise de variância (ANOVA) entre as classes etárias e o tamanho do centróide para verificar a existência de alterações na forma e tamanho conforme a idade, tanto para o crânio quanto para a mandíbula de *T. inunguis*.

### **Alometria**

A alometria foi avaliada por meio de uma análise univariada de variância (ANOVA) entre tamanho e forma tanto para o crânio completo quanto para a mandíbula.

## RESULTADOS

### Ontogenia em relação a forma e ao tamanho

A análise de variância (ANOVA) realizada entre o tamanho do centroide e as classes etárias do crânio evidenciou uma relação significativa entre os mesmos ( $F = 149,24$  e  $P < .0001$ ). A figura 7 mostra que o tamanho do centroide aumenta conforme aumenta o tamanho do crânio.

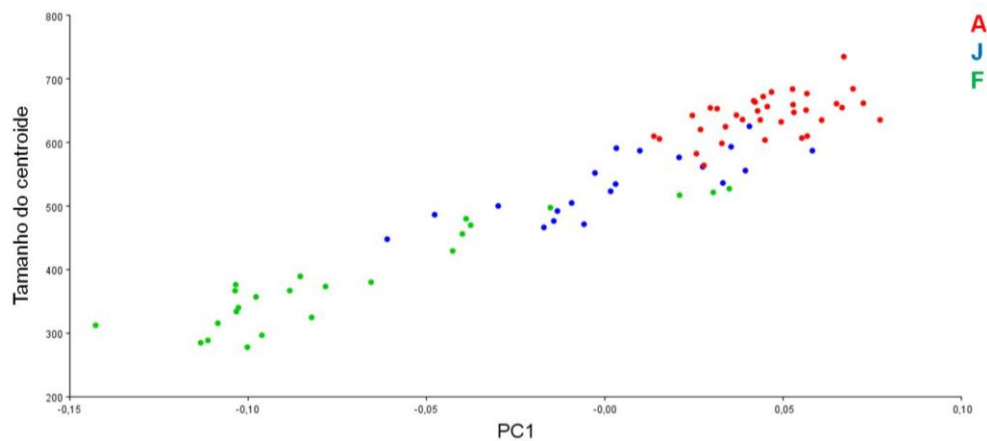


Figura 7. Variação do tamanho do centroide (tamanho do crânio) em relação as classes etárias em *T. inunguis*. Filhotes em verde, jovens em azul e adultos em vermelho.

A análise multivariada de variância (MANOVA) também mostrou relação significativa entre os primeiros componentes principais e as classes etárias do crânio (Pillai = 1,84 e  $P < .0001$ ), sendo possível observar na figura 8 a alteração da forma do crânio (PC1) ao longo das classes etárias.

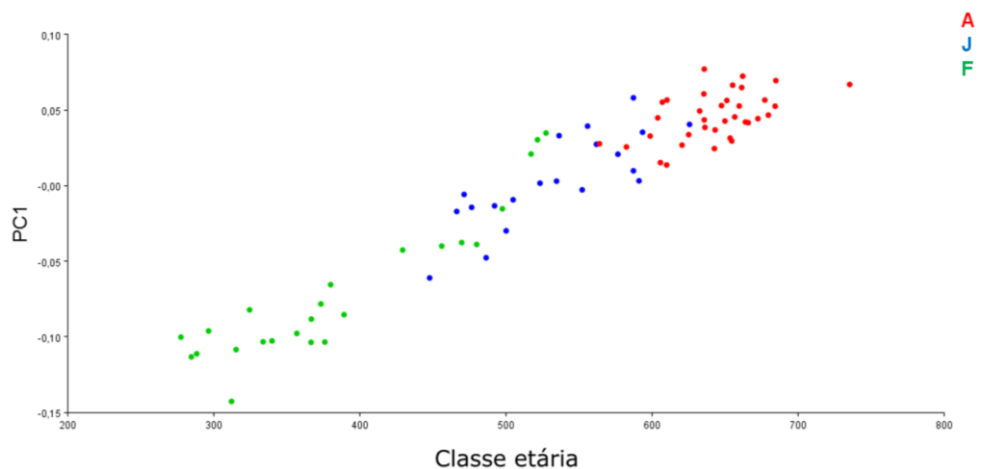


Figura 8. Variação da forma do crânio (PC1) com as classes etárias para *Trichechus inunguis*. Filhotes em verde, jovens em azul e adultos em vermelho.

As projeções das variações na forma do crânio entre os primeiros componentes principais evidenciam que as maiores variações encontram-se na forma da caixa craniana. Verifica-se que a projeção do primeiro componente principal (PC1), apresenta o crânio mais estreito e com tamanho reduzido na área dos ossos mastoideos (*landmarks* 19 - 20 e 21 - 22) e parietais (*landmarks* 17 e 18), formando uma caixa craniana mais estreita. Figura 9.

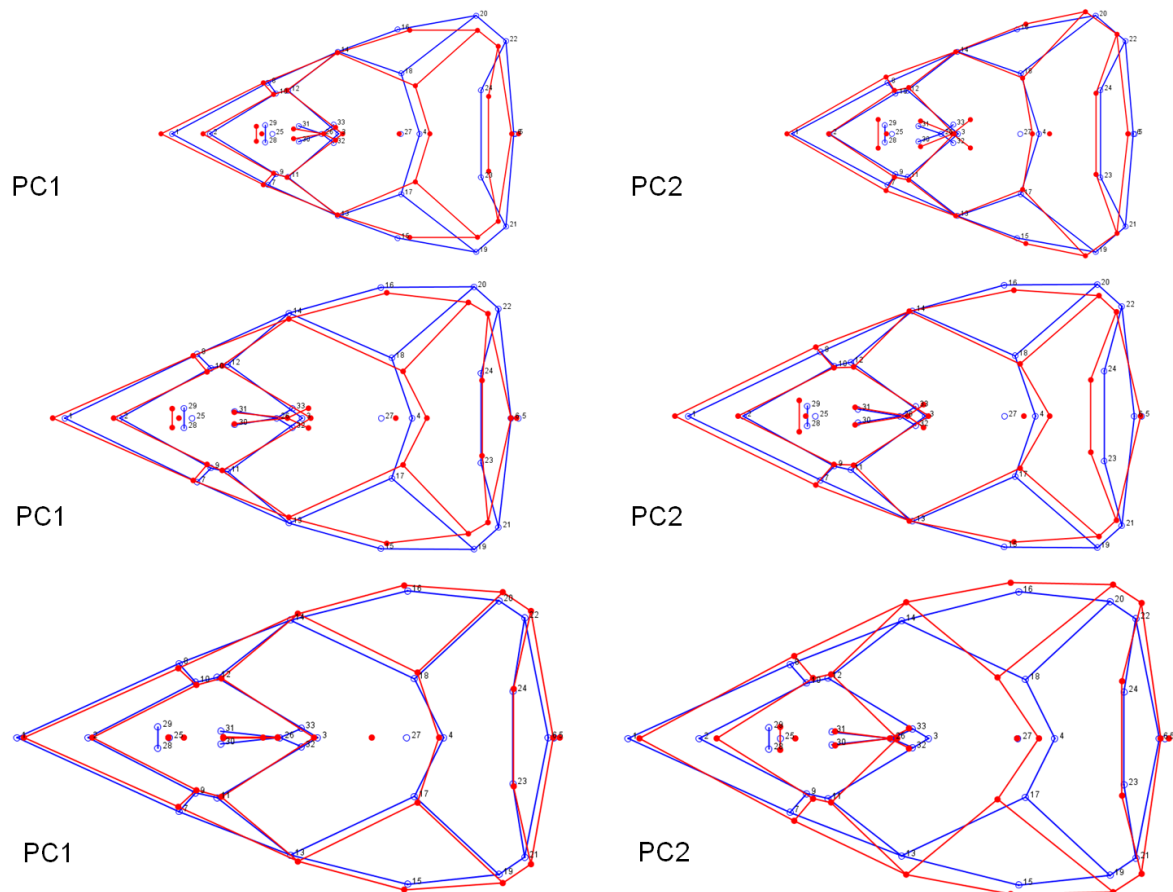


Figura 9. Representação gráfica dos primeiros componentes principais (PC1 e PC2) para a forma do crânio de *Trichechus inunguis* nas classes etárias, de cima para baixo: filhote, jovem e adulto. A forma média do crânio está representada em azul. A variação da forma está representada em vermelho.

As mesmas análises foram realizadas para a mandíbula e é possível observar que o tamanho do centroide aumenta conforme aumenta o tamanho da mandíbula. Figura 10.

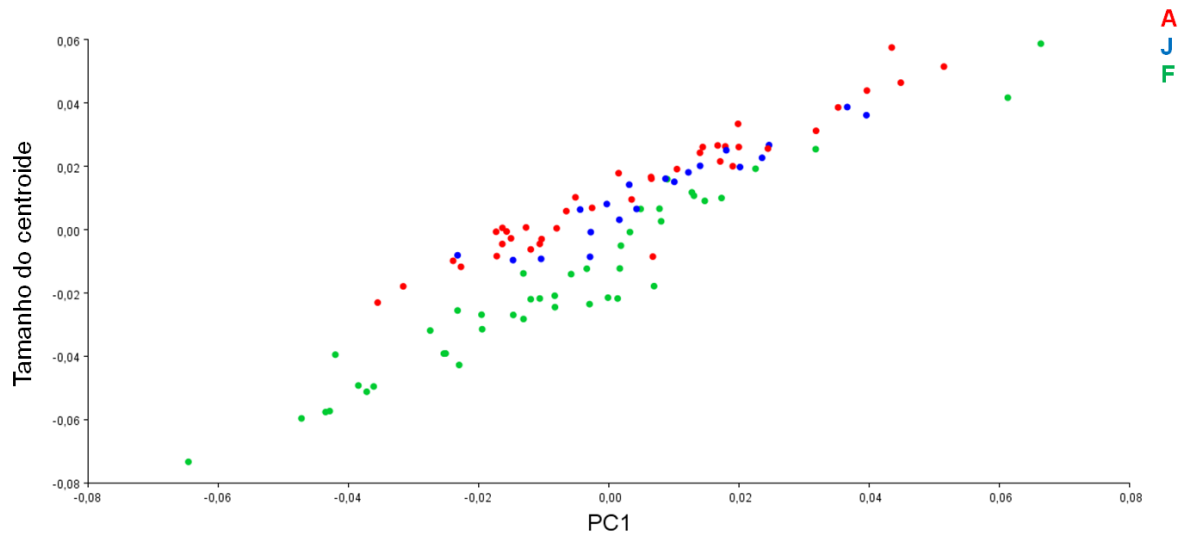


Figura 10. Variação do tamanho do centroide (tamanho da mandíbula) com as classes etárias para a mandíbula de *Trichechus inunguis*. Filhotes em verde, jovens em azul e adultos em vermelho.

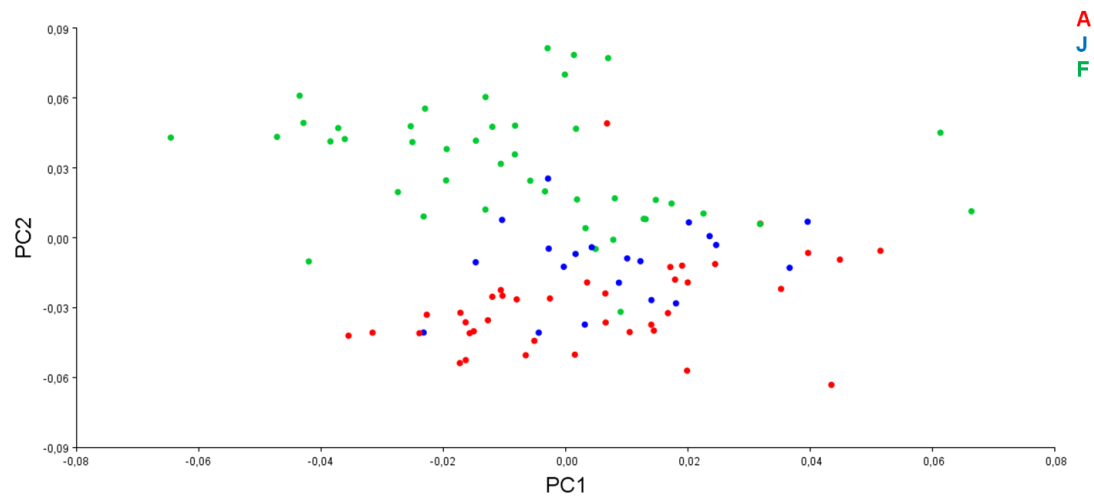


Figura 11. Representação da relação entre os dois primeiros componentes principais (PC1 e PC2) de forma e tamanho respectivamente, para a mandíbula de *Trichechus inunguis*. Filhotes em verde, jovens em azul e adultos em vermelho.

Na projeção da forma das mandíbulas (PC1 e PC2) verificamos que as maiores variações ocorrem na forma do processo coronóide e côndilo mandibular, esta variação de forma foi observada nas três classes etárias. Figura 12.

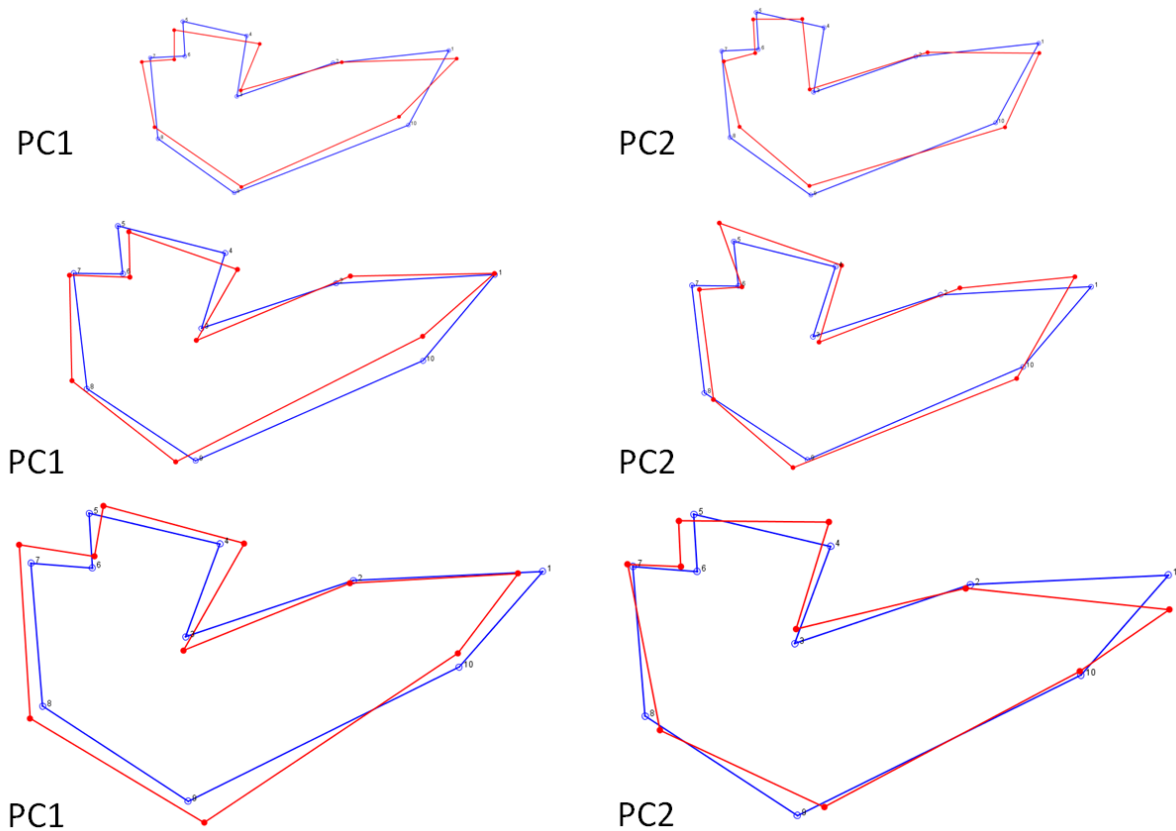


Figura 12. Representação gráfica dos dois primeiros componentes principais (PC1 e PC2) para a forma da mandíbula de *Trichechus inunguis* nas classes etárias, de cima para baixo: filhote, jovem e adulto. A forma média do crânio está representada em azul e variação da forma representada em vermelho.



## Alometria

A alometria do crânio foi avaliada por meio de uma análise univariada de variância (ANOVA) entre tamanho e forma ( $F = 9,69$  e  $P < .0001$ ). Essa análise demonstrou uma relação alométrica positiva entre forma (PC1) e tamanho do crânio (tamanho do centroide), na qual o valor do primeiro componente principal aumenta conforme aumenta o tamanho do centroide. Figura 13.

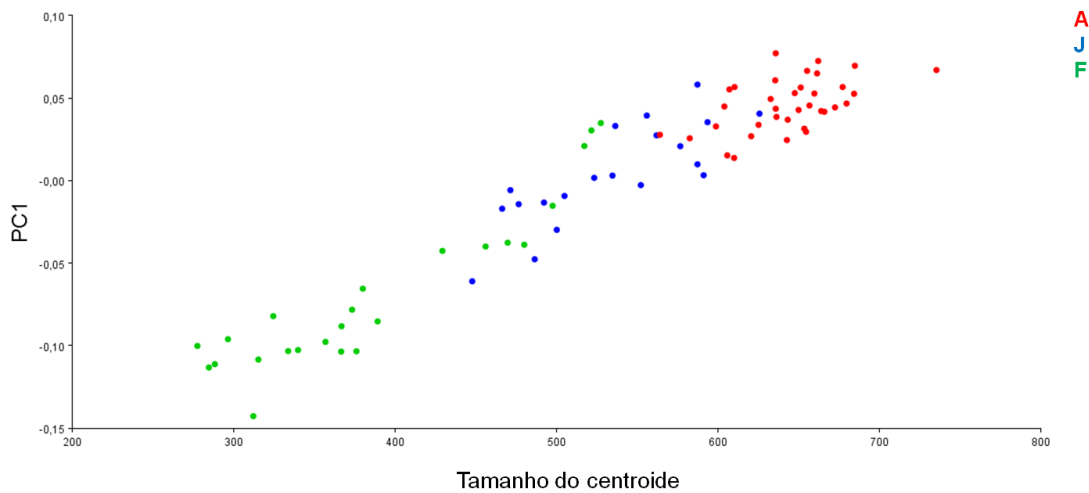


Figura 13. *Scatterplot* de regressão evidenciando a relação alométrica positiva para o crânio de *Trichechus inunguis*.

A relação alométrica para a mandíbula de *Trichechus inunguis*, não foi significativa ( $F = 0,80$  e  $P = 0,4517$ ), revelando que o aumento do tamanho do centroide não influencia significativamente os componentes da sua forma e tamanho. A mandíbula de *T. inunguis* foi analisada pela vista lateral. Essa vista apresenta mais variações de forma e tamanho. Ainda assim, estas variações não foram significativas, mostrando que para esta estrutura a forma pode não ser influenciada pelas alterações de tamanho ao longo do crescimento.

### Ontogenia e anatomia do crânio:

Observamos modificações ósseas durante o desenvolvimento e entre os indivíduos nas diferentes classes etárias. Destas modificações, destacamos o complexo occipital (supraoccipital, exoccipital e basioccipital), o complexo da bula timpânica e o processo zigomático do esquamosal.

No complexo occipital, observamos que o fechamento da sutura entre o osso esfenoide e o basioccipital ocorre logo nos filhotes, bem antes de fecharem as outras suturas do exoccipital e supraoccipital (figura 14). O mesmo padrão de fechamento de sutura foi observado por Hoson *et al.*, (2012).

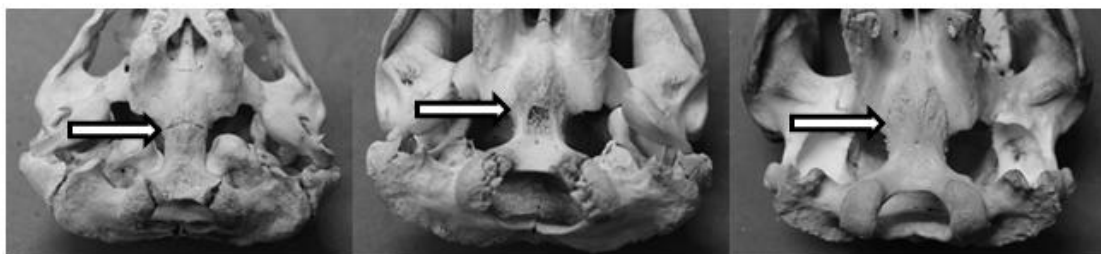


Figura 14. Sincondrose esfeno-occipital nas três classes etárias propostas para *Trichechus inunguis*, indicada pela seta branca. Na sequência, da esquerda para a direita: filhote, jovem e adulto.

De acordo com Hoson *et al.*, (2009), a última sutura craniana a fechar no crânio do gênero *Trichechus* é a sincondrose supraoccipital-occipital, quando a maturidade osteológica no crânio é alcançada pelo fechamento desta sutura. Esse mesmo padrão foi observado para o crânio de *Trichechus inunguis*, no qual apenas os adultos apresentaram a sincondrose supraoccipital-occipital completamente fechada. Figura 15.

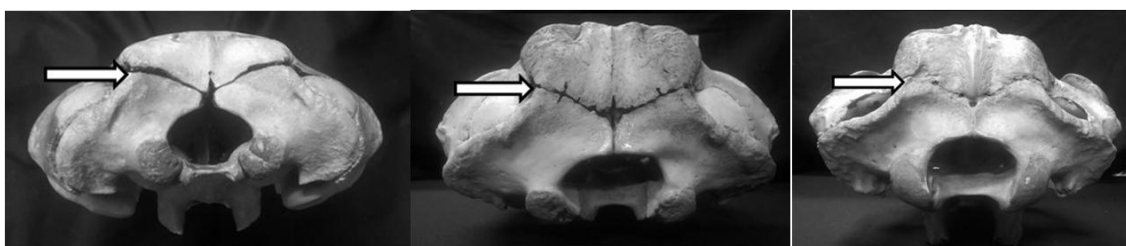


Figura 15. Fechamento da sincondrose supraoccipital-occipital, indicada por setas brancas, nas três classes etárias. Da esquerda para a direita: filhote, jovem e adulto de *Trichechus inunguis*.

O complexo periótico-timpânico do gênero *Trichechus* e, neste caso, em *Trichechus inunguis*, é bastante desenvolvido já no momento do nascimento do animal. É intracraniano mas não é ossificado ao crânio. Estas características da anatomia auditiva refletem a adaptação à vida na água (Chapla *et al.*, 2007). Figura 16.



Figura 16. Crânios de *Trichechus inunguis* na vista ventral, evidenciando o tamanho (setas brancas) ocupado pela bula timpânica na caixa craniana. Da direita para a esquerda: filhote, jovem e adulto.

O processo zigomático do osso esquamosal é reduzido e estreito na classe etária filhotes e bastante desenvolvido e com aspecto esponjoso nas classes jovem e adulto. Figura 17.



Figura 17. Crânios de *Trichechus inunguis* em vista dorsal, representando as três classes etárias. Da direita para a esquerda, filhote, jovem e adulto. Setas brancas indicam o processo zigomático do osso esquamosal.

Tabela 5. Características morfológicas do crânio de *Trichechus inunguis* nas diferentes vistas para cada classe etária. Adaptada de Reynolds *et al.*, (1999).

	Filhotes	Jovens	Adultos
<b>Dorsal</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pré-maxilas alargadas na região dos nasais e rostro curto.</li> <li>- Caixa craniana convexa na região dos ossos frontal e parietal e ocupa mais de 50 % do comprimento total crânio.</li> <li>- Osso frontal com tamanho reduzido e convexo. Sutura sagital pouco evidente.</li> <li>- Osso temporal convexo e largo na região posterior.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Caixa craniana com o osso frontal mais alongado e estreito. Sutura sagital lisa.</li> <li>- Osso parietal apresenta formato parcialmente côncavo.</li> <li>- Aparecimento de uma crista na região mediana do osso parietal e conseqüente surgimento de um sulco entre os dois lados da crista.</li> <li>- Sutura entre os ossos frontal e parietal em formato acentuado de V.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Maxilas robustas, mais estreitas e alongadas. Rostro alongado.</li> <li>- Osso frontal alongado. Sutura sagital serrilhada e claramente observada.</li> <li>- Área superior do orbital espessa.</li> <li>- Osso parietal reduzido, com a presença de cristas bem definidas na junção com o osso occipital.</li> <li>- Occipital espesso e com crista evidenciada.</li> <li>- Esquamosais bastante pronunciados e esponjosos.</li> </ul>
<b>Lateral</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Caixa craniana arredondada e corresponde a mais de 50 % do comprimento total do crânio.</li> <li>- Ossos esquamosal e jugal pequenos em relação ao tamanho do crânio.</li> <li>- Osso esquamosal e processo orbital bastante separados, unidos por musculatura.</li> <li>- Osso esquamosal fino e quase translúcido em alguns indivíduos, principalmente nos neonatos.</li> <li>- Rostro menor que a caixa craniana.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Osso esquamosal grande e pronunciado.</li> <li>- Processo orbital e osso esquamosal mais próximos mas ainda ligados por musculatura.</li> <li>- Pré-maxilar alongado, rostro mais longo e inclinado para baixo.</li> <li>- Sutura entre os ossos esquamosal e exoccipital mais pronunciada externamente.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Rostro alongado na pré-maxila.</li> <li>- Órbita grande e bem evidenciada.</li> <li>- Ossos jugal e esquamosal bastante pronunciados e muito próximos ao orbital, em alguns indivíduos, se encostam.</li> <li>- Caixa craniana com altura reduzida.</li> <li>- Crista do parietal e mastoide bem evidentes.</li> </ul>
<b>Ventral</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Crânio em formato triangular, com maiores larguras nos esquamosais e mastoídes.</li> <li>- Sincondrose esfeno-occipital com sutura aberta e/ou conectando-se.</li> <li>- Nos neonatos, primeiro dente molar um pouco afastado dos demais dentes.</li> <li>- Complexo da bula timpânica ocupa grande parte da caixa craniana.</li> <li>- Ossos da bula timpânica bastante desenvolvidos nos neonatos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Crânio em formato retangular, com os ossos esquamosais um pouco mais largos que os mastoídes.</li> <li>- Sincondrose esfeno-occipital com sutura fechada e claramente observada.</li> <li>- Molares presentes em fileira uniforme.</li> <li>- Ossos esquamosais, jugal e maxila esponjosos.</li> <li>- Ossos da bula timpânica bastante desenvolvida.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Maxila e pré-maxila alongadas.</li> <li>- Crânio mais largo na região dos esquamosais.</li> <li>- Sincondrose esfeno-occipital com sutura fechada e completamente obliterada.</li> <li>- Molares bem definidos dispostos uniformemente.</li> <li>- Caixa craniana menor em relação ao restante do crânio.</li> <li>- Basioccipital espesso.</li> <li>- Ossos da bula timpânica ocupam grandes espaços da caixa craniana.</li> </ul>
<b>Posterior</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sincondrose supraoccipital - exoccipital aberta e sem ossificação.</li> <li>- Sutura entre os ossos exoccipital e esquamosal aberta e sem ossificação, bula timpânica bastante evidente nesta vista.</li> <li>- Sutura interexoccipital aberta e sem ossificação.</li> <li>- Forame magno arredondado</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Supraoccipital denso, iniciando a crista.</li> <li>- Sincondrose supraoccipital - exoccipital parcialmente fechada e conectando-se.</li> <li>- Sutura interexoccipital parcialmente fechada e conectando-se.</li> <li>- Forame magno em formato oval.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Supraoccipital denso e com crista bastante pronunciada.</li> <li>- Sincondrose supraoccipital - exoccipital fechada e parcialmente apagada pela ossificação.</li> <li>- Sutura interexoccipital fechada e parcialmente apagada pela ossificação.</li> <li>- Forame magno em formato de elipse.</li> </ul>

## DISCUSSÃO

O padrão alométrico positivo observado para o crânio de *Trichechus inunguis*, onde os valores do primeiro componente principal aumentam com o aumento do tamanho do centroide, reflete as alterações de forma associadas às alterações de tamanho que os indivíduos apresentam e que permite a adaptação ao seu ambiente ao longo do desenvolvimento (Zelditch, 2004).

O fusionamento precoce de suturas do complexo occipital é uma condição que foi observada anteriormente nos sirênios, por Hoson *et al.*, (2009) onde a sutura entre os ossos esfenóide e occipital funde primeiro, enquanto a sincondrose supraoccipital-exoccipital funde por último. Esta sequência de fechamento de suturas é uma característica única entre os peixes-bois atuais, com exceção dos dugongos que também são classificados na ordem Sirenia (Hoson, *et al.*, 2009).

Em espécies de cetáceos também são observados fusionamento precoce de suturas do complexo occipital, como por exemplo no gênero *Sotalia*, que tem representante dulcícola; em *Sotalia guianensis*, o fechamento destas suturas ocorre a partir dos cinco meses de vida e em *Sotalia fluviatilis*, a partir do primeiro ano de vida do animal (Fettuccia, 2010). Este complexo é formado pela união de quatro ossos que circundam o forame magno, onde a participação do basioccipital neste forame está restrita aos estágios iniciais do desenvolvimento intrauterino (Simões-Lopes, 2006).

A Análise de Variância (ANOVA) entre o tamanho do centroide e as classes etárias evidenciou que o tamanho do crânio aumenta consideravelmente nas classes etárias filhote e jovem em *T. inunguis*. A Análise Multivariada de Variância (MANOVA) entre o primeiro componente principal (PC1) com as classes etárias também mostrou que alterações na forma do crânio de *T. inunguis* ocorrem também mais entre classes etárias filhote e jovem.

O desenvolvimento do neurocrânio é mais acelerado que o da face em mamíferos eutérios, estando quase totalmente desenvolvido já no momento do nascimento do animal. É possível que maiores alterações, tanto de forma quanto de tamanho, com o passar da idade, sejam verificadas na face e nas estruturas pertencentes a esta subunidade (Zelditch, 1992).

O desenvolvimento ontogenético craniano de *T. inunguis* apresenta o mesmo padrão citado por Zelditch (1992), estando o neurocrânio e suas subunidades; por

exemplo os ossos da bula timpânica, o processo zigomático do osso esquamosal e a mandíbula bastante desenvolvidos no momento do nascimento.

A forma da mandíbula é bastante semelhante nas classes etárias de *T. inunguis*, estando as maiores alterações relacionadas apenas à forma do processo coronóide, côndilo mandibular e ao tamanho total desta estrutura. Na mandíbula dos neonatos é possível observar uma diferenciação na disposição e forma dos dentes, onde o primeiro dente molar tem formato de cone e está afastado dos demais dentes molariformes. Este primeiro dente é posteriormente substituído pela taxa de substituição horizontal e os dentes seguintes são todos molariformes (Domning e Hayek, 1986).

Não foram utilizados landmarks no final das linhas dentárias da mandíbula pois a substituição horizontal de dentes acontece na cápsula dental, na parte interna do ramo da mandíbula e neste estudo utilizamos apenas a vista lateral da mandíbula, o que impossibilita usar o final da linha dentária da mandíbula para análise morfométrica em duas dimensões. Dessa forma, não foi possível estudar as alterações na linha dentária ao longo da ontogenia, como acontece por exemplo, nos estudos com cetáceos.

As características morfológicas do crânio para cada classe etária seguiram [1] a classificação proposta por Reynolds *et al.*, (1999) em estudo sobre a evolução morfológica craniana em espécies de mamíferos marinhos e [2] o padrão de fechamento de suturas proposto por Hoson *et al.*, (2009; 2012) em estudo sobre o padrão de ossificação das suturas basicranianas no gênero *Trichechus*.

O tamanho evidenciado dos ossos da bula timpânica nos peixes-bois reflete uma adaptação morfológica à sua grande capacidade auditiva (Hartman, 1979). No caso dos filhotes, que ao nascimento já apresentam bulas timpânicas com tamanho considerável, ocupando grande parte da caixa craniana, podemos relacionar o intenso investimento nesta estrutura como uma forma de otimizar a audição no cuidado parental por parte da fêmea, que cuida de seu filhote por um período de dois anos e repassa ao mesmo conhecimentos sobre seu repertório vocal, importante para o reconhecimento mãe-filhote; ou de defesa no escape a potenciais predadores ao menor ruído (Best, 1983; Souza-Lima, 2002).

Os Sirênios são conhecidos por sua "sensibilidade acústica excepcional" abaixo e acima da linha d'água. E esta sensibilidade varia ao longo de uma gama de frequências de cerca de 200 Hz a 35 - 40 kHz nos peixes-boi da Flórida e peixes-boi da Amazônia, com maior sensibilidade, na faixa inferior a 1 - 1.5 kHz no peixe-boi da Flórida e 3.0 kHz no peixe-boi amazônico (Hartman, 1979).

O contato entre os ossos periótico e esquamosal e o processo zigomático do osso esquamosal, nos jovens e adultos, que é alargado, esponjoso e cheio de óleo, sugerem que esta região do crânio pode também desempenhar um papel na recepção do som, talvez como um ressonador de baixa frequência, e que determina a direção da origem do som (Ketten *et al.*, 1992; Ames *et al.*, 2002; Mann *et al.*, 2005).

## CONCLUSÃO

O estudo da ontogenia craniana de *Trichechus inunguis* mostrou que o crânio desta espécie apresenta alometria positiva, com o tamanho do centroide aumentando de acordo com o aumento do tamanho do crânio.

Nos filhotes, o neurocrânio apresenta forma arredondada e ocupa mais de 50% da caixa craniana, a face e suas subunidades são pequenas e a região dos occipitais é bastante desenvolvida. Nos jovens, a face e suas subunidades, como o processo zigomático do osso esquamosal, são mais evidenciados e robustos e a caixa craniana apresenta formato triangular. Nos adultos, a face e suas subunidades, maxila e processo zigomático do osso esquamosal, são mais evidenciados e robustos; a caixa craniana apresenta largura reduzida quando comparada ao processo zigomático do osso esquamosal.

As maiores variações morfológicas observadas no crânio desta espécie foram em relação à forma, sendo esta influenciada diretamente pelo tamanho. Espécimes com maiores tamanhos de crânio apresentam rostro e face mais alongados, arcos zigomáticos retraídos e neurocrânio e região basicranial mais curtos. Algumas estruturas como os ossos do ouvido, importantes na recepção de sons, apresentam-se grandes desde o início da ontogenia e continuam a crescer conforme o desenvolvimento do crânio, exercendo participação significativa na forma do crânio.

A mandíbula de *Trichechus inunguis* também apresenta alometria positiva, com o tamanho do centroide aumentando conforme o aumento da mandíbula. As maiores variações são observadas no tamanho desta estrutura; a mandíbula dos filhotes apresenta maiores variações de tamanho e a forma é bastante semelhante nas três classes etárias: filhote, jovem e adulto.

A análise da forma e tamanho do crânio de *Trichechus inunguis*, bem como a observação do padrão de fechamento de sutura da sincondrose esfeno-occipital foi suficiente para diferenciarmos seguramente três classes etárias para o crânio: filhote, jovem e adulto.