

COMPOSIÇÃO MINERAL ÓSSEA DAS NADADEIRAS PEITORAIS DA *Sotalia guianensis*, NO LITORAL DO ESPÍRITO SANTO

(Bone mineral composition of the pectoral fins of *Sotalia guianensis*, from the Espírito Santo coast)

Isis de Oliveira Carvalho DEMARQUE*¹; Letícia Versiani Gomes da SILVA¹; Juliana Ywasaki LIMA¹; Lupércio Araújo BARBOSA²; Leonardo Serafim da SILVEIRA³

¹Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UNEF). Av. Alberto Lamego, 2000. Campos dos Goytacazes/RJ. CEP: 28.013-600;

²Organização Consciência Ambiental (Instituto ORCA); ³Laboratório de Morfologia e Patologia Animal (UNEF). *E-mail: isisocd@gmail.com

RESUMO

Sotalia guianensis é um cetáceo odontoceto amplamente distribuído ao longo da costa da América Central e do Sul, desde Honduras até o Brasil, e está atualmente categorizada como “quase ameaçada” pela IUCN. Estudos anteriores demonstraram que o teor mineral aumenta com a maturação óssea e decresce após atingir a maturidade. Desta forma, este trabalho avaliou a composição mineral de 33 espécimes de *S. guianensis* e verificou se este fator influencia o desenvolvimento ósseo. As idades dos animais foram estimadas, a partir da contagem das camadas anuais de crescimento nos dentes. A análise do conteúdo mineral ósseo (CMO) dos úmeros foi realizada por espectrômetro de emissão atomizado. De modo a avaliar a correlação entre o CMO e as variáveis idade e comprimento total, foi realizado o teste de correlação de Spearman. O Ca médio foi de $360,2\mu\text{g g}^{-1}$, P de $171\mu\text{g g}^{-1}$ e Mg de $3,34\mu\text{g g}^{-1}$. A análise da composição mineral óssea da espécie *S. guianensis* apresentou baixa correlação com a idade e comprimento total; entretanto, foi observada uma maior concentração de P em indivíduos imaturos, em comparação aos maduros.

Palavras-chave: Conteúdo mineral ósseo, nadadeira peitoral, Boto-cinza.

ABSTRACT

Sotalia guianensis is an odontoceti cetacean that is broadly distributed on Central and South American coasts, from Honduras to Brazil, and is currently categorized as “Near threatened” by the IUCN. Previous studies proved that the mineral content increases with bone maturation and decreases after reaching maturity. Therefore, this study evaluated the mineral composition of 33 specimens of *S. guianensis* and verified if this factor influences bone development. The ages of the animals were estimated by counting the annual growth layers on the teeth. Bone mineral content (BMC) analysis was performed by atomic emission spectrometer. To evaluate the correlation between BMC and the variables age and total length, the Spearman correlation test was carried out. The average Ca was $360.2\mu\text{g g}^{-1}$, the average P was $171\mu\text{g g}^{-1}$, and the average magnesium was $3.34\mu\text{g g}^{-1}$. The analysis of the bone mineral composition of the *S. guianensis* species showed a low statistical correlation with age and total length; however, a higher concentration of P was observed in immature individuals compared to the mature ones.

Keywords: Bone mineral composition, pectoral fin, Guiana dolphin.

INTRODUÇÃO

A *Sotalia guianensis*, popularmente conhecida no Brasil como Boto-cinza, possui abrangente distribuição ao longo da costa do país, estando associada às áreas de baías e estuários e está classificada como “quase ameaçada” de extinção (DE FREITAS NETTO e DI BENEDITTO, 2009; IUCN, 2017). Devido à sua proximidade com áreas de atividades antrópicas, essa espécie sofre com impactos como, poluição química e sonora, destruição de

habitat, colisão com embarcações e captura acidental em rede de pesca; por isso pode ser utilizada como sentinela da qualidade do ambiente costeiro (DOMICIANO *et al.*, 2016; FLORES *et al.*, 2018). A espécie apresenta a idade máxima estimada de 35 anos, com a maturidade física da população ocorrente no litoral do Espírito Santo atingida aproximadamente aos 6 anos e com 189cm de comprimento total, considerando o incremento de densidade mineral nos ossos das nadadeiras peitorais (AZEVEDO *et al.*, 2015).

Os membros torácicos dos cetáceos são compostos por úmero, rádio, ulna, metacarpos, ossos do carpo e falanges (SIMÕES-LOPES e MENEZES, 2008). Os ossos apresentam rápido crescimento inicial, durante a fase fetal e, durante o período pós-natal, a nadadeira cresce na mesma proporção que o corpo, em algumas espécies de cetáceos, com crescimento estabilizado, por volta dos dois anos de idade em *S. guianensis*; entretanto, não foi observado dimorfismo entre machos e fêmeas (CALZADA e AGUILAR, 1996; AZEVEDO *et al.*, 2015).

Por se manter conservado, mesmo em avançados estágios de decomposição, o esqueleto ósseo é utilizado em estudos morfológicos e para avaliações de desenvolvimento corporal (PIMPER *et al.*, 2009; CÁCERES-SAEZ *et al.*, 2016). O tecido ósseo é dinâmico, apresenta influências fisiológicas, hormonais, nutricionais e, nele a matriz inorgânica corresponde a aproximadamente 70%, enquanto as demais porções são correspondentes à matriz orgânica e, em menor quantidade, à água (RATH *et al.*, 2000; FLORENCIO-SILVA *et al.*, 2015). A matriz inorgânica é constituída, predominantemente, por cálcio (Ca) e fósforo (P), encontrando-se em sua maior parte na forma de hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$). O magnésio (Mg) é outro mineral associado a tecidos calcificados (WEATHERELL *et al.*, 1974) e também pode ser encontrado na matriz orgânica, na forma de fosfato de Magnésio ($\text{Mg}(\text{PO}_4)_2$) (FIELD, 2000).

A composição mineral é uma representação quantitativa dos minerais do osso, tratando-se do resultado do balanceamento da formação e da reabsorção óssea e é influenciada por fatores como idade, peso, dieta e estado fisiológico (KATZMAN *et al.*, 1991; KEENE *et al.*, 2004; DA SILVA *et al.*, 2010). No Boto-cinza a deposição de massa óssea do úmero é intensa nos primeiros estágios de vida e se estabiliza, quando o animal atinge, aproximadamente, 13 anos de idade (AZEVEDO *et al.*, 2015).

O conhecimento da fisiologia e do conteúdo mineral ósseo é essencial para oferecer subsídios para o aperfeiçoamento de estudos sobre patologias ósseas que acometem os cetáceos. O presente estudo teve como objetivo analisar o conteúdo mineral ósseo de nadadeiras peitorais de *S. guianensis* e avaliar as mudanças que ocorrem nas variáveis estudadas, segundo o crescimento, sendo este o primeiro estudo do conteúdo mineral ósseo da espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta das amostras

Trinta e três espécimes de *S. guianensis*, provenientes de encalhes ou capturas acidentais em redes de pesca, encontrados na costa do estado do Espírito Santo, foram recolhidos pela Organização Consciência Ambiental (Instituto ORCA), entre março de 2009 e fevereiro de 2013. O trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA,

da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, sob número de protocolo 413/2019.

Foram realizadas as mensurações do comprimento total (CT), que consiste desde o extremo da maxila até a parte mais profunda da comissura da nadadeira caudal (NORRIS, 1961). Animais com mais de 189 cm de comprimento total foram categorizados como fisicamente maduros (AZEVEDO *et al.*, 2015). Posteriormente, realizou-se a necropsia dos indivíduos e desarticulação escapuloumeral das nadadeiras peitorais, submetidas à técnica de maceração, para obtenção do úmero. O sexo foi determinado, através da análise do órgão genital, quando possível, devido ao estado de decomposição da carcaça.

Processamento das amostras

Os úmeros foram secos em estufa a 55 °C por 72 horas e triturados em moinho de bola TE-350 TECNAL, para homogeneização. Dois gramas da amostra homogeneizada foram reservados em cadinho de porcelana, para incineração em mufla a 550 °C por 4 horas, para obtenção das cinzas (GEBHARDT-HENRICH *et al.*, 2017). O processo de transformação do osso em cinzas foi realizado no Laboratório de Zootecnia (LZO) do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

Para a avaliação do cálcio, fósforo e magnésio (conteúdo mineral ósseo), as cinzas do úmero foram diluídas, reservou-se uma alíquota de 0,1g de amostra e adicionou-se 1mL de solução contendo ácido nítrico (HNO₃) 0,5% e ácido clorídrico (HCl) 2,6%. Completou-se o volume com 9mL de água deionizada. As alíquotas foram centrifugadas e 0,5mL passou pela segunda diluição, em que foi adicionada 4,5mL de solução contendo ácido nítrico 0,5% e ácido clorídrico 2,6%. Para a avaliação quantitativa dos elementos presentes, utilizou-se o espectrômetro de emissão atômica por plasma, acoplado indutivamente (ICPE 9000). A análise foi realizada no Laboratório de Fitotecnia (LFIT/CCTA) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

Para a estimativa etária dos espécimes, foram utilizados os três dentes maiores, mais retos e com a coroa menos gasta. A estimativa etária foi baseada na técnica descrita por Hohn *et al.* (1989), em que, cada camada de deposição de dentina é considerada como um ano de vida do animal. Para os que apresentavam somente a linha neonatal, atribuiu-se a idade de 0,5 ano, enquanto aqueles que não possuíam nem a linha neonatal, foram considerados como recém-nascidos e atribuída a idade de 0 ano. As lâminas confeccionadas foram analisadas três vezes pelo mesmo pesquisador, no microscópio óptico em aumento de 40x. A confecção das lâminas foi realizada no Laboratório de Mamíferos Aquáticos e Bioindicadores (MAQUA) da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Análise Estatística

As análises estatísticas foram realizadas pelo *Software R Studio Version 1.0.153* e os gráficos de regressão realizados no *Excel 2016*. Foi realizada a estatística descritiva dos dados, analisando-se média, desvio padrão e valores máximos e mínimos. Para avaliar a normalidade dos dados foram empregados os testes de *Shapiro Wilk* ($p < 0,05$) e de variância para avaliação de diferenças estatísticas, através dos testes t de *Student* e *Mann-Whitney* ($p < 0,05$). As correlações de *Spearman* e *Pearson* foram realizadas, entre as variáveis analisadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram utilizados 33 espécimes de *S. guianensis*, 19 machos, 10 fêmeas e 4 não tiveram o sexo determinado, devido ao avançado estágio de decomposição da carcaça. A idade variou de 0 a 27 anos e o comprimento total de 122 a 206cm, com média de 175,8cm. Entre os animais analisados, 19 (57,58%) eram imaturos e 14 (42,42%) maduros.

O cálcio (Ca) variou de 324 a 390 $\mu\text{g g}^{-1}$ ($\pm 15,20$), com média de 360,2 $\mu\text{g g}^{-1}$, fósforo (P) de 151 a 184 $\mu\text{g g}^{-1}$ ($\pm 7,77$), apresentando média de 171 $\mu\text{g g}^{-1}$ e o magnésio (Mg) de 2,75 a 4 $\mu\text{g g}^{-1}$ ($\pm 0,33$), com média de 3,34 $\mu\text{g g}^{-1}$. Ao analisarem ossos de Chevron de *Cephalorhynchus c. commersonii* (golfinho-de-commerson), utilizando espectrofotometria de absorção atômica (AAS), concentrações de 0,11 $\mu\text{g g}^{-1}$ ($\pm 0,0013$) de Ca e 0,004 ($\pm 0,008$) de Mg (CÁCERES-SAEZ *et al.*, 2016).

Em estudos de determinação da concentração dos elementos em ossos Chevron de *C. c. commersonii* e *Pontoporia blainvillei* (toninha) foram encontradas maiores concentrações de Ca e P, enquanto Na e Mg apresentaram valores inferiores, mas similares entre si, seguidos de Fe e Zn (CÁCERES-SAEZ *et al.*, 2016). Ao analisar os elementos traços presentes em ossos de *P. blainvillei*, as concentrações foram, em ordem decrescente, Zn > Sr > Fe > Al > Mn > Cu > Pb > Cr > Ni > As > Hg > Cd > Se (GARCIA-GARIN, 2021).

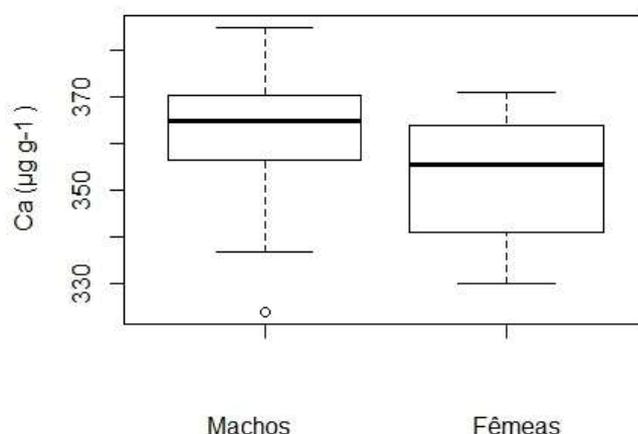
Estudos de diferentes partes do esqueleto (costela, fêmur e vértebra) e de bulas timpânicas de cetáceos, artiodáctilos semiaquáticos e terrestres, quantificaram o conteúdo mineral e observaram diferenças significativas entre estas bioapatitas; porém, os resultados foram apresentados em porcentagem mineral (65,3%), sem especificar de quais e o carbonato na porcentagem de 6.1%, empregando Análise de Difração de Raios-X (KIM *et al.*, 2014). Na bula timpânica de Baleia-bicuda-de-blainville (*Mesoplodon densirostris*) foi relatado 247,52g de CMO total, utilizando Absorciometria de raios-X de dupla energia (COZZI *et al.*, 2009).

Utilizando a técnica de microscopia eletrônica de varredura acoplada à espectroscopia de raios-X, em ossos de Chevron das espécies de *C. c. commersonii* e *P. blainvillei*, detectaram-se, respectivamente, 50,19% e 51,03% de Ca; 34,63% e 33,47% de P; 3,05% e 3,51% de Mg (CÁCERES-SAEZ *et al.*, 2016).

Em estudo no rostro hipermineralizado *M. densirostris*, utilizando a técnica de Fluorescência de raios-X, foram observados 36,83% de Ca, 16,50% de P e 0,53% de Mg (LI e PASTERIS, 2014). Ao utilizar o mesmo preparo de amostra do presente estudo, através da técnica de plasma acoplado indutivamente em metacarpo de boi (*Bos taurus*), foram expressos em proporção contidas nas cinzas ósseas, 39,8% de Ca, 17,5% de P e 5,65% de Mg (KEENE *et al.*, 2004).

O cálcio é sempre observado como o elemento predominante, seguido de fósforo e, com menor concentração, o magnésio. As diferentes medidas, obtidas pelos diversos métodos empregados na análise da composição, dificultam a correlação dos resultados, entre as espécies estudadas até o momento.

Não foi encontrada diferença estatística significativa entre machos e fêmeas e entre os membros direito e esquerdo para a composição mineral óssea (CMO) da *Sotalia guianensis*. Ao analisar o Ca, observamos que a população de machos apresenta dados com menor amplitude e, conseqüentemente, valores menos dispersos que a população de fêmeas (Fig. 01). Apesar disso, o comportamento dos dados em ambos os sexos é bem semelhante.



(Fonte: acervo pessoal, 2021)

Figura 01: *Boxplot* relacionando a concentração de cálcio ($\mu\text{g g}^{-1}$) do úmero de machos e fêmeas, da espécie *Sotalia guianensis* do litoral do Espírito Santo.

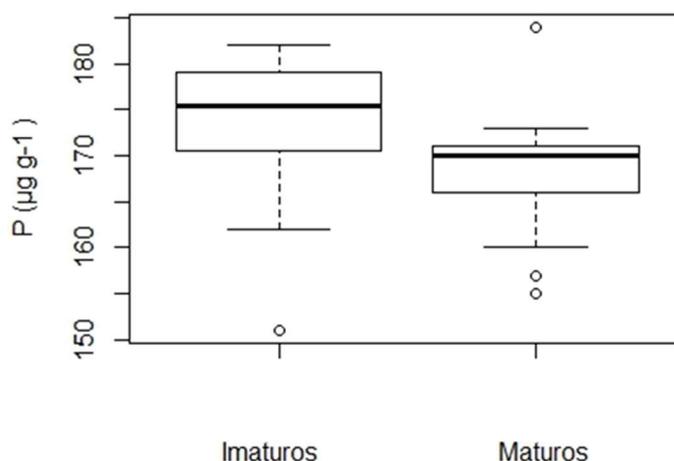
Ao correlacionar o comprimento total e idade com a CMO constatou-se que não há indícios estatísticos que apontem para uma forte correlação (Tab. 01).

Tabela 01: Dados estatísticos obtidos através de correlação e regressão da composição mineral.

Variáveis	p	r	R^2
CT X Ca	0,8053	0,04461822	-0,0302
CT X P	0,05631	-0,3354848	0,08392
CT X Mg	0,1196	0,2762997	0,04655
ID x Ca	0,9835	0,003735605	-0,03224
ID x P	0,1276	-0,2706972	0,04338
ID x Mg	0,2812	0,1932679	0,006299

Obs.: (Ca= Cálcio; P= Fósforo; Mg= Magnésio) óssea e os parâmetros (CT= Comprimento total e ID= Idade) da espécie *Sotalia guianensis*.

Os elementos Ca e Mg não apresentaram diferenças estatísticas entre indivíduos maduros e imaturos (Tab. 01). Porém, há uma diferença entre a concentração de P ($p=0,04438$) nos grupos maduros e imaturos. Tais diferenças também foram encontradas na concentração de cada espécie *Stenella coeruleoalba*, em que adultos apresentaram maiores teores. Observou-se crescimento acelerado do osso, nos estágios de feto e recém-nascido, por se tratar de um período de desenvolvimento rápido (HONDA *et al.*, 1984). Indivíduos imaturos apresentaram maior e mais dispersa concentração de P, apresentando maior variação (Fig. 02), comparados aos maduros. Tal mineral apresenta importância no desenvolvimento ósseo, além de ser constituinte de todas as células do corpo e importante nos processos metabólicos. Animais em crescimento necessitam de altas concentrações de Ca e P em seus organismos, constituintes da hidroxiapatita, responsável pela rigidez e resistência óssea (DUKES e SWENSON, 1996).



(Fonte: acervo pessoal, 2021)

Figura 02: Boxplot relacionando a concentração de fósforo ($\mu\text{g g}^{-1}$) do úmero com a maturidade, da espécie *Sotalia guianensis* do litoral do Espírito Santo.

Na análise dos elementos majoritários de vários ossos da espécie *S. coeruleoalba*, em animais maduros e imaturos, utilizando AAS, foi observado valores variando de 147 a 312mg/g de Ca e 1,81 a 3,16mg/g ($\pm 0,10$) de Mg. Não foram encontradas diferenças nas concentrações de Ca, PO_4 , Na e Mg entre indivíduos maduros e imaturos; contudo, verificou-se que fetos possuem concentrações mais altas de potássio do que adultos (HONDA *et al.*, 1984).

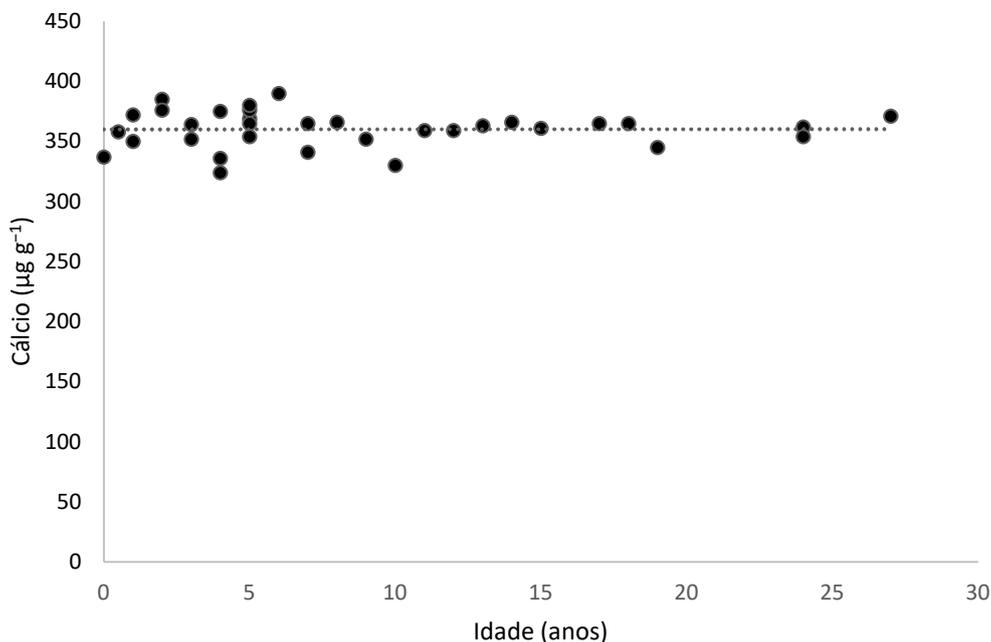
Neste estudo, o cálcio apresentou alta correlação ($r = 0,8533$, $p < 0,0001$) com o fósforo, o que pode ser explicado pela associação desses elementos na constituição da hidroxiapatita. Tal relação também foi encontrada em *C. commersonii*, com valores de $r = 0,81$ (CÁCERES-SAEZ *et al.*, 2016). Li e Pasteris (2014) ao analisarem ossos do rosto de *M. densirostris* encontraram a razão Ca/P de 1,73; Honda *et al.* (1984) relataram aproximadamente 2,00, em vários ossos de *S. coeruleoalba*, proporção similar à encontrada neste estudo (2,09), com úmero de *S. guianensis*.

A idade e a concentração de Ca não apresentaram correlação ($p = 0,9835$; Fig. 03) no presente estudo, o que também foi relatado em ratos e bovinos, com concentrações de Ca constante, mesmo com o aumento da idade (LEGROS *et al.*, 1987). McCalden *et al.* (1993) observaram uma pequena oscilação e baixa correlação ($r = -0,19$, $p < 0,05$) na concentração de Ca^{++} , mensurado pelo método colorimétrico, mas também relatou um declínio de força, tensão final e energia de fratura, ao longo da variação da idade em humanos.

Os teores de Mg não apresentaram correlação com a idade (Tab. 01), bem como relatado por Li e Pasteris (2014) em ossos da bula auditiva em *T. truncatus*.

No início da vida, a formação óssea é maior que a reabsorção, na fase adulta ambos os processos tendem a se equilibrar; já, em indivíduos senis, ocorre a perda de matriz óssea, causada pelo declínio da produção em relação à reabsorção (PESSOA *et al.*, 1997). No presente estudo, as análises realizadas não abrangeram todas as faixas etárias, pois indivíduos entre 27 (maior idade abordada neste estudo) e 35 anos (idade máxima relatada na literatura) não foram

analisados, por conseguinte poderia ocorrer um declínio da composição em animais mais velhos.



(Fonte: acervo pessoal, 2021)

Figura 03: Regressão polinomial ($R^2 = -0.03224$; $y = 0.0077x + 360.14$) correlacionando a concentração de cálcio ($\mu\text{g g}^{-1}$) e do úmero com a idade (anos), de *Sotalia guianensis* do litoral do Espírito Santo.

CONCLUSÕES

As proporções dos minerais analisados foram similares às encontradas em outras espécies de mamíferos marinhos estudadas. A proporção de cálcio e fósforo foi de 2:1 em *Sotalia guianensis*, justificada pela constituição da hidroxiapatita. A composição mineral óssea não pode ser utilizada como método de avaliação do crescimento, pois esta apresentou baixo valor de correlação com a idade e comprimento total, ao realizar a análise em espectrômetro de emissão atômica. No entanto, foi encontrada uma maior concentração de fósforo em indivíduos imaturos comparado aos maduros.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de fomento concedida. À Anna Paula Martins de Carvalho e a Carolina Azevedo pela ajuda com a elaboração do experimento e a Julia Gesualdi pelo auxílio com as análises estatísticas. À equipe do Instituto Organização Consciência Ambiental (ORCA), aos técnicos Almir Ribeiro (Laboratório de Zootecnia) e José Acácio da Silva (Laboratório de Fitotecnia) da Universidade Estadual do Norte Fluminense, pela ajuda no preparo das amostras e na realização das análises.

Recebido: jun./2021.

Publicado: jun./2023.

REFERÊNCIAS

- AZEVEDO, C.T.; LIMA, J.Y.; DE AZEVEDO, R.M.; SANTOS NETO, E.B.; TAMY, W.P.; BARBOSA, L.D.A.; BRITO, J.L.; BOERE, V.; DA SILVEIRA, L.S. Thoracic limb bone development in *Sotalia guianensis* (Van Beneden 1864) along the coastline of Espírito Santo, Brazil. **Journal of Mammalogy**, v.96, n.3, p.541-551, 2015.
- CÁCERES-SAEZ, I.; PANEBIANCO, M.V.; PEREZ-CATÁN, S.; DELLABIANCA, N.A.; NEGRI, M.F.; AYALA, C.N.; CAPPOZZO, H.L. Mineral and essential element measurements in dolphin bones using two analytical approaches. **Chemistry and Ecology**, v.32, n.7, p.1-15, 2016.
- CALZADA, N.; AGUILAR, A. Flipper development in the Mediterranean striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*). **The Anatomical Record**, v.245, n.4, p.708-714, 1996.
- COZZI, B.; MAZZARIOL, S.; PODESTÀ, M.; ZOTTI, A. Diving adaptations of the cetacean skeleton. **The Open Zoology Journal**, v.2, n.1, p.24-32, 2009.
- DA SILVA, V.M.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 B.V. Report of the Working Group on Distribution, Habitat Characteristics and Preferences, and Group Size. **Latin American Journal of Aquatic Mammals**, v.8, n.1-2, p.31-38, 2010.
- DE FREITAS NETTO, R.; DI BENEDITTO, A.P.M. Interactions between fisheries and cetaceans in Espírito Santo State coast, southeastern Brazil. **Revista Brasileira de Zootecias**, v.10, n.1, p.55-63, 2009.
- DOMICIANO, I.G.; DOMIT, C.; BROADHURST, M.K.; KOCH, M.S.; BRACARENSE, A.P.F. Assessing Disease and Mortality among Small Cetaceans Stranded at a World Heritage Site in Southern Brazil. **PloS One**, v.11, n.2, p.1-17, 2016.
- DUKES, H.H.; SWENSON, H.J. **Fisiologia dos Animais Domésticos**. 11. ed. Rio de Janeiro: Afiliada, 1996.
- HOHN, A.A. **Reading between the lines: Analysis of Age Estimation in Dolphins**. In: LEATHERWOOD, S.; REEVES, R.R. *The Bottlenose Dolphin*. San Diego: 1. ed. Academic press, cap.3, p.575-585, 1990.
- FIELD, R.A. Ash and calcium as measures of bone in meat and bone mixtures. **Meat Science**, v.55, n.3, p.255-264, 2000.
- FLORENCIO-SILVA, R.; SASSO, G.R.D.S.; SASSO-CERRI, E.; SIMÕES, M.J.; CERRI, P.S. Biology of bone tissue: structure, function, and factors that influence bone cells. **BioMed research international**, v.2015, n.421746, p.1-17, 2015.
- FLORES, P.A.C.; DA SILVA, V.M.F.; FETTUCCIA, D.C. **Tucuxi and Guiana dolphins: *Sotalia fluviatilis* and *S. guianensis***. In: WÜRSIG, B.; THEWISSEN, J.G.M.; KOVACS, K. *Encyclopedia of marine mammals*. London: 3. ed. Academic Press, p.1024-1027, 2018.

GARCIA-GARIN, O.; BORRELL, A.; VIGHI, M.; AGUILAR, A.; VALDIVIA, M.; GONZÁLEZ, E.M.; DRAGO, M. Long-term assessment of trace elements in franciscana dolphins from the Río de la Plata estuary and adjacent Atlantic waters. **Science of The Total Environment**, v.788, n.147797, p.1-10, 2021.

GEBHARDT-HENRICH, S.G.; PFULG, A.; FRÖHLICH, E.K.; KÄPPEL, S.; GUGGISBERG, D.; LIESEGANG, A.; STOFFEL, M.H. Limited Associations between Keel Bone Damage and Bone Properties Measured with Computer Tomography, Three-Point Bending Test, and Analysis of Minerals in Swiss Laying Hens. **Frontiers in Veterinary Science**, v.4, n.128, p.1-9, 2017.

HONDA, K.; FUJISE, Y.; TATSUKAWA, R.; MIYAZAKI, N. Composition of chemical components in bone of striped dolphin, *Stenella coeruleoalba*: distribution characteristics of major inorganic and organic components in various bones, and their age related changes. **Agricultural and Food Chemistry**, v.48, n.2, p.409–418, 1984.

IUCN. União Internacional para Conservação da Natureza. **A Lista Vermelha da IUCN de espécies ameaçadas**, 2017. Disponível em: <http://www.iucnredlist.org/details/181359/0>. Acesso em: 16 jun. 2022.

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 & Metabolism**, v.73, n.6, p.1332-1339, 1991.

KEENE, B.E.; KNOWLTON, K.F.; MCGILLIARD, M.L.; LAWRENCE, L.A.; NICKOLS-RICHARDSON, S.M.; WILSON, J.H.; VAN AMBURGH, M.E. Measures of bone mineral content in mature dairy cows. **Journal of dairy science**, v.87, n.11, p.3816-3825, 2004.

KIM, S.L.; THEWISSEN, J.G.; CHURCHILL, M.M.; SUYDAM, R.S.; KETTEN, D.R.; CLEMENTZ, M.T. Unique biochemical and mineral composition of whale ear bones. **Physiological and Biochemical Zoology**, v.87, n.4, p.576-584, 2014.

LEGROS, R., BALMAIN, N.; BONEL, G. Age-related changes in mineral of rat and bovine cortical bone. **Calcified tissue international**, v.41, n.3, p.137-144, 1987.

LI, Z.; PASTERIS, J.D. Tracing the pathway of compositional changes in bone mineral with age: Preliminary study of bioapatite aging in hypermineralized dolphin's bulla. **Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects**, v.1840, n.7, p.2331-2339, 2014.

MCCALDEN, R.W.; MCGEOUGH, J.A.; BARKER, M.B.; COURT-BROWN, C.M. Age-related changes in the tensile properties of cortical bone. **The Journal of Bone & Joint Surgery**, v.75A, n.8, p.1193-1205, 1993.

SIMÕES-LOPES, P.C.; MENEZES, M.E. Morfologia Esquelética. In: MONTEIRO-FILHO, E.L.A.; MONTEIRO, K.D.K.A. **Biologia Ecologia e Conservação do Boto-Cinza**. São Paulo: 1. ed. Páginas & Letras Editora e Gráfica, cap.5, 2008. p.21-44.

NORRIS, K.S. Standardized methods for measuring and recording data on the smaller cetaceans. **Journal of Mammalogy**, v.42, n.2, p.471-476, 1961.

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. **Journal of Pediatrics**, v.73, n.4, p.259-264, 1997.

PIMPER, L.E.; REMIS, M.I.; GOODALL, R.N.P.; BAKER, C.S. Teeth and Bones as Sources of DNA for Genetic Diversity and Sex Identification of Commerson's Dolphins (*Cephalorhynchus commersonii*) from Tierra del Fuego, Argentina. **Aquatic Mammals**, v.35, n.3, p.330-333, 2009.

RATH, N.C.; HUFF, G.R.; HUFF, E.W. BALOG, J.M. Factors regulating bone maturing and streight in poultry. **Poultry Science**, v.79, n.7, p.1024-1032, 2000.

WEATHERELL, J.A.; ROBINSON, C.; HALLSWORTH, A.S. Variations in the chemical composition of human enamel. **Journal of Dental Research**, v.53, n.2, p.180-192, 1974.