



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA DE SANTO ANTÃO

PAULO BRAGA MASCARENHAS JÚNIOR

INFERÊNCIAS MORFOFISIOLÓGICAS DE *Caiman latirostris*
(ARCHOSAURIA:CROCODYLIA) BASEADAS NA HISTOLOGIA ÓSSEA

Vitória de Santo Antão

2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA DE SANTO ANTÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE HUMANA E MEIO AMBIENTE

PAULO BRAGA MASCARENHAS JÚNIOR

INFERÊNCIAS MORFOFISIOLÓGICAS DE *Caiman latirostris*
(ARCHOSAURIA:CROCODYLIA) BASEADAS NA HISTOLOGIA ÓSSEA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Saúde Humana e Meio Ambiente da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Saúde Humana e Meio Ambiente.

Área de concentração: Saúde Humana e Meio Ambiente

Orientador: Juliana Manso Sayão
Coorientador: Luis Antônio Bochetti Basset

Vitória de Santo Antão

2019

Biblioteca Setorial do CAV.
Bibliotecária Jaciane Freire Santana, CRB4-2018

M3985i Mascarenhas Júnior, Paulo Braga.

Inferências morfofisiológicas de caiman latirostris (archosauria: crocodylia) baseadas na histologia óssea/ Paulo Braga Mascarenhas Júnior. - Vitória de Santo Antão, 2019.

93 folhas; il.: color.

Orientadora: Juliana Manso Sayão.

Coorientador: Luis Antônio Bochetti Basset

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco, CAV, Programa de Pós-Graduação em Saúde Humana e Meio Ambiente, 2019.

Inclui referências e anexos.

1. Histologia animal. 2. Osteohistologia. 3. Paleohistologia. I. Sayão, Juliana Manso (Orientadora). II. Basset, Luis Antônio Bochetti (Coorientador). III. Título.

571.5 CDD (23.ed.)

BIBCAV/UFPE-22/2019

PAULO BRAGA MASCARENHAS JÚNIOR

**INFERÊNCIAS MORFOFISIOLÓGICAS DE CAIMAN
LATIROSTRIS (ARCHOSSAURIA: CROCODYLIA) BASEADAS
NA HISTOLOGIA ÓSSEA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Saúde Humana e Meio Ambiente da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Aprovada em: 27/02/2019

BANCA EXAMINADORA:

Prof.^a Dr.^a Juliana Manso Sayão (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Bruno Cavalcanti Vila Nova de
Albuquerque (Examinador externo)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Cristiano Aparecido Chagas (Examinador interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Ao meu pai (**in memorian**). Sem seu incentivo, eu não estaria aqui.

À minha família, que tanto me apoia e dá forças,

Dedico

AGRADECIMENTOS

À inteligência suprema, causa primária de todas as coisas, meu primeiro e maior agradecimento.

Minha orientadora, Juliana Manso Sayão e meu coorientador, Luis Antônio Bochetti Basset, que toparam entrar nessa “aventura” diferente comigo nesta etapa tão importante. Muito obrigado, Ju, por me aceitar e sempre abrir portas para mim, mesmo não sendo da mesma área de atuação e muito obrigado mais uma vez, Luis, por me ajudar e estar comigo em mais uma etapa da minha vida. Sei que, mesmo distantes, os dois deram tudo que podiam para me auxiliar neste trabalho.

A banca examinadora que já vem acompanhando meu trabalho há um tempo, dando sugestões para melhorias nesta dissertação. Professor Cristiano, Bruno e Renan, meus sinceros agradecimentos por toda contribuição nessa pesquisa.

Agradeço a CAPES pela bolsa e incentivo à pesquisa. Sem este apoio eu não teria condições de realizar o trabalho.

Aos colegas e amigos do CAV, obrigado pelo suporte no laboratório. Esaú, Larissa, Allyson, Rafa e Mari foram os grandes alicerces e que mais me deram força nos momentos que precisei de ajuda em Vitória de Santo Antão. Aos demais, obrigado por toda receptividade e acolhimento,

Agradeço muito ao Laboratório Interdisciplinar de Anfíbios e Répteis da UFRPE, em especial a equipe do Projeto Jacaré, do qual faço parte há seis anos. Meu grande amigo Haggy, que me acompanha tanto nas atividades profissionais como na vida pessoal, Carlos, Karina, Rafa, Thais, Ana, Mayara, Rafa... obrigado por todos os bons momentos e muitos jacarés capturados.

Professora Jozelia e Professora Ednilza, meus agradecimentos talvez sejam poucos para contemplar o que já fizeram por mim. Aquelas que abriram as portas das pesquisas para mim e que, juntos, consolidamos um grande grupo de pesquisas com crocodilianos no nordeste. Entre vivências profissionais e pessoais, muitas histórias foram contadas e um grande casamento foi formado.

Aos meus amigos pessoais, minha gratidão é enorme. Por todo o suporte que me deram nos momentos mais difíceis que passei durante o mestrado. A turma do Mim acher (John, Cazé,

Well, Hagggy, Júlio, Luan, Rapha), meus amigos enrolados (João Mário, Aguinaldo, Elias, Matheus, Breuel, Gadelha, Thiago, Guilhermes), o pessoal do “Malandramente”, da Euro-NE, Felipe, Juliane, Cláudia e vários outros que sabem de sua importância, mesmo sem serem citados aqui.

Aos meus parentes, primos, primas, tios e tias, obrigado por ajudarem em todos os momentos. Este ano que passou precisávamos de todo amor verdadeiro que pudesse ser emanado e às vezes apenas um *stand by* dizendo “se precisar, me chame!” já era uma grande demonstração de carinho.

Minha família. Mainha, Vovó Quequéia, Eduarda, Manu, Chico e Babi. Não consigo muito agradecer à vocês, e sim por ter vocês. Tudo o que passamos, todo o estresse, dor e sofrimento só conseguimos passar porque estávamos (e estamos!) juntos. Apesar de tudo, a prova de que o amor supera qualquer problema foi vista mais do que nunca.

E, por fim, agradeço à ele. Meu maior companheiro, amigo, minha alma gêmea. Meu porto seguro, minha luz e meu caminho. Papai, tudo o que conquistei até hoje foi por causa de você e por você. Meu ídolo, minha inspiração, que sempre me orientou para o melhor caminho, sempre me deu forças e me fez seguir em frente nos momentos que eu achava serem difíceis. Tolice. Difícil mesmo é viver sem você. Mas o conforto vem quando penso que o reencontro será breve. A vida é efêmera e rápida. E farei por onde ser grato por todos os ensinamentos e te orgulhar cada dia mais. Eu te amo!

Few animals are as charismatic as crocodylians, and poorly understood by the general public. Everybody knows what crocodiles looks like, that they grow to awe-inspiring dimensions, and that they sometimes sometimes eat people. But once the conversation around the table goes beyond the danger of become a croc's dinner, all you are likely to hear is a succession of myths. Crocodiles, you're told, are just a special tipe of a giant lizard; they are living fossils, unchanged since the Age of Dinosaurs. Cold-blooded, dim-witted, lazy, lyng in wait for unway African explorers. Simple and primitive (GRIGG e KIRSHNER, 2015, p. 6).

RESUMO

A descrição da histologia óssea vem sendo utilizada como importante ferramenta para interpretação de padrões de vida em animais tanto da fauna pretérita como da fauna recente. Os crocodilianos, por fazerem parte de um grupo que mantêm suas principais características osteohistológicas há milhões de anos, vêm sendo usados como modelos inferenciais. Diante disto, este trabalho tem como objetivo caracterizar a histologia óssea de elementos apicais e axiais de *C. latirostris*, identificando impressões microanatômicas que respondam questões relacionadas a taxas de crescimento, ontogenia, estilo de vida e ao meio ambiente em que estavam inseridos. Neste trabalho, foram utilizados 10 animais, com cinco duplas de idades diferentes, selecionando para cada um elemento apical (úmero) e um elemento axial (costela). O material foi seccionado, incluído em resina e polido até atingir espessura de 30-60 micrômetros, que permite a visualização das estruturas em microscópio óptico de transmissão. As costelas apresentaram, de maneira geral, tecidos do tipo paralelo-fibroso e lamelar, com muitas cavidades de reabsorção óssea e pouca vascularização, com pouco indicativo de tecido entrelaçado-fibroso. Linhas de Pausa de Crescimento (LAGs) foram observadas em três indivíduos. Os úmeros apresentaram um claro gradiente tecidual, tendo nos indivíduos mais jovens presença mais significativa de tecido entrelaçado-fibroso e complexo fibrolamelar e, com o envelhecimento do animal, gradativamente a conformação do córtex ósseo vai diminuindo a vascularização e o tecido começa se moldar para paralelo-fibroso e lamelar-zonal. Cavidades de reabsorção e LAGs foram observadas em indivíduos mais velhos. Há uma clara histovariabilidade entre os elementos apendiculares e axiais. As costelas apresentaram um crescimento mais acelerado do que os úmeros, com muitas cavidades de reabsorção e remodelamento ósseo. Os úmeros indicaram um padrão mais claro de crescimento, sendo possível identificar a ontogenia e as taxas de crescimento nos indivíduos de diferentes idades. Os tipos de tecidos de crescimento rápido observados não são comuns em crocodilianos, mas em animais de metabolismo basal (jovens) e em condições ótimas de crescimento (temperaturas elevadas e alimentação constante) essas características são melhor observadas. A histologia óssea de *C. latirostris* fornece claras marcas que podem ser utilizadas como inferências, refinando e agregando informações osteohistológicas do grupo Crocodylia.

Palavras-chave: Crocodilianos. Ontogenia. Osteohistologia. Paleohistologia. Taxa de Crescimento.

ABSTRACT

The description of bone histology has been used as an important tool for the interpretation of animal life patterns of both the past and recent fauna. Crocodylians, because they are part of a group that maintains their main osteohistological characteristics millions of years ago, have been used as inferential models in osteohistology. The objective of this work is to characterize the bone histology of apical and axial elements of *C. latirostris*, identifying microanatomical impressions that answer questions related to growth rates, ontogeny, lifestyle and the environment in which they were inserted. In this research, 10 animals were used, with five pairs of different ages, selecting for each an apical element (humerus) and an axial element (rib). The material was sectioned, included in resin and polished until reaching a thickness of 30-60 micrometers, which allows the visualization of the structures in transmission optical microscope. The ribs presented, in general, parallel-fibrous and lamellar type tissues, with many bone resorption cavities and little vascularization, with little indicative of woven-fibered tissue. Lines of Arrested Growth (LAGs) were observed in three individuals. The humerus presented a clear tissue gradient, with in younger individuals a more significant presence of woven-fibered tissue and fibrolamellar complex. With the aging of the animal, gradually the conformation of the bone cortex decreases vascularization and the tissue begins to form parallel -fibrous and lamellar zonal. Resorption cavities and LAGs were observed in older individuals. There is a clear histovariability between the appendicular and axial elements. The ribs presented a faster growth than the humerus, with many cavities of bone resorption and remodeling. Humerus indicated a clearer pattern of growth, and it is possible to identify ontogeny and growth rates in individuals of different ages. The types of fast-growing tissues observed are not common in crocodylians, but in animals with basal (young) metabolism and under optimum growth conditions (high temperatures and constant feeding) these characteristics are best observed. The bone histology of *C. latirostris* provides clear marks that can be used as inferences, refining and aggregating osteohistological information from the Crocodylia group.

Key-words: Crocodylians. Growth rates. Ontogeny. Osteohistology. Paleohistology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - Cladograma das Superordens Pseudosuchia e Crocodylomorpha, evidenciando a Ordem Crocodylia.....20
- Figura 2 - . Indivíduo da espécie *Caiman latirostris* (Jacaré-de-papo-amarelo).....22
- Figura 3 - Distribuição global de *Caiman latirostris*.....23
- Figura 4 - Hierarquia organizacional do osso baseado nos diferentes tamanhos das estruturas biológicas observáveis.....26
- Figura 5 - Esquema celular presente no tecido ósseo. A: Osteoclastos; B: Osteoblastos; C: Osteócitos.....28
- Figura 6 - Tipos de matrizes ósseas e complexos nos tecidos. A: Matriz lamelar; B: Matriz entrelaçada-fibrosa; C: Matriz paralelo-fibrosa; D: Osso fibrolamelar; E: Sistema harversiano.....31
- Figura 7 - Marcas de crescimento evidenciadas em linhas de pausa de crescimento (*Lines of Arrested Growth*, LAGs) indicadas por setas brancas.....32
- Figura 8 - *Annuli* presente no córtex ósseo indicados pela letra A, alternando com linhas de pausa de crescimento (*Lines of Arrested Growth*, LAGs), indicadas por linhas vermelhas.....33
- Figura 9 - Evidência de sistema fundamental externo (*External Fundamental System*, EFS) na região mais externa do córtex ósseo, indicada pela região entre as duas setas verdes.....34
- Figura 10 - Baía de criação de *Caiman latirostris* designados para abate comercial pelo Abatedouro Aruman Ltda na cidade de Porto Feliz, São Paulo.....44
- Figura 11 - Elementos ósseos selecionados para a descrição osteohistológica. Local da secção destacado entre as linhas tracejadas. A: Elemento apical- Úmero; B: Elemento axial- Costela.....48
- Figura 12 - Preparação do material osteohistológico. A: Secção da amostra óssea com utilização de retífica Dremel 400; B: Resina transparente PLT 208 IBX e catalisador B-M-50 IBX; C: Inclusão da amostra seccionada na solução de resina e catalisador; D: Cola

e endurecedor Epóxi Araldite; E: Material incluído na resina colado em lâmina de microscopia; F: Desgaste da amostra em máquina petalográfica Aropol VV, com utilização de papel abrasivo Arotec.....	49
Figura 13 - Microscópio Axio Imager M2 com câmera digital AxioCam acoplada.....	50
Figura 14 - Histologia do úmero do indivíduo 8VD2E345, que apresentava um ano de idade no momento do abate. A: Região periosteal; B: Região endosteal.....	52
Figura 15 - Histologia do úmero do indivíduo 8VD7D9, que apresentava um ano de idade no momento do abate. A: Região periosteal; B: Região endosteal.....	53
Figura 16 - Histologia do úmero do indivíduo 7VD5D479, que apresentava dois anos de idade no momento do abate. A linha vermelha indica a área de transição entre o tecido paralelo-fibroso e o tecido entrelaçado-fibroso. A: Região periosteal; B: Região endosteal.....	54
Figura 17 - Histologia do úmero do indivíduo 7VD5E248, que apresentava dois anos de idade no momento do abate. A: Região periosteal; B: Região endosteal.....	55
Figura 18 - Histologia do úmero do indivíduo 6VD3D237, que apresentava três anos de idade no momento do abate. A linha vermelha indica a área de transição entre o tecido paralelo-fibroso e o tecido entrelaçado-fibroso. A: Região periosteal; B: Região endosteal.....	56
Figura 19 - Figura 19. Histologia do úmero do indivíduo 6VD3D568, que apresentava três anos de idade no momento do abate. A linha vermelha indica a área de transição entre o tecido paralelo-fibroso e o tecido entrelaçado-fibroso. A: Região periosteal; B: Região endosteal.....	57
Figura 20 - Histologia do úmero do indivíduo 5VD6D467, que apresentava quatro anos de idade no momento do abate. A: Região periosteal; B: Região endosteal.....	58
Figura 21 - Histologia do úmero do indivíduo 5VD2D348, que apresentava quatro anos de idade no momento do abate.. A: Região periosteal; B: Região medial; C: Região endosteal.....	59
Figura 22 - Úmero do indivíduo 3VD4E239, que apresentava seis anos de idade no momento do abate. A: Região periosteal; B: Região endosteal.....	60

Figura 23 - Histologia do úmero do indivíduo 3VD4E259, que apresentava seis anos de idade no momento do abate. A: Região periosteal; B: Região endosteal.....	61
Figura 24 - Histologia da costela do indivíduo 8VD2E345, que apresentava um ano de idade no momento do abate.....	62
Figura 25 - Histologia da costela do indivíduo 8VD7D9, que apresentava um ano de idade no momento do abate.....	62
Figura 26 - Histologia da costela do indivíduo 7VD5D479, que apresentava um ano de idade no momento do abate.....	63
Figura 27 - Histologia da costela do indivíduo 7VD5E248, que apresentava um ano de idade no momento do abate.....	64
Figura 28 - Histologia da costela do indivíduo 6VD3D237, que apresentava um ano de idade no momento do abate.....	64
Figura 29 - Histologia da costela do indivíduo 6VD3D568, que apresentava um ano de idade no momento do abate. A: Porção endosteal à esquerda e porção periosteal à direita; B: Porção endosteal à direita e porção periosteal à esquerda.....	65
Figura 30 - Histologia da costela do indivíduo 5VD6D467, que apresentava um ano de idade no momento do abate.....	66
Figura 31 - Histologia da costela do indivíduo 5VD2D348, que apresentava um ano de idade no momento do abate.....	66
Figura 32 - Histologia da costela do indivíduo 3VD4E239, que apresentava um ano de idade no momento do abate.....	67
Figura 33 - Histologia da costela do indivíduo 3VD4E259, que apresentava um ano de idade no momento do abate.....	68

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Identificação (ID) dos indivíduos de *Caiman latirostris* provenientes do Abatedouro Aruman Ltda utilizados para a análise osteohistológica quanto à idade e peso. N: Número do indivíduo.....43
- Tabela 2 - Estimativa das temperaturas em que os animais estavam submetidos em graus Célsius pelos indivíduos de cativeiro durante o período que estavam no criatório. AS: Área seca; ST: Superfície do tanque; FT: Fundo do tanque. N: Número do indivíduo.....46
- Tabela 3 - Morfometria dos úmeros e costelas seccionadas, mensurados por comprimento (C), Diâmetro (D) e Comprimento da amostra seccionada (A), sendo milímetro (mm) a unidade de metragem. N: Número do indivíduo.....47

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 OBJETIVOS	18
2.1 Objetivo geral	18
2.2 Objetivos específicos	18
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
3.1 Biologia de Crocodylia	19
3.2 Aspectos gerais de <i>Caiman latirostris</i>	21
3.3 Osteohistologia: estruturas gerais e respostas morfofisiológicas	25
3.4 Osteohistologia geral em crocodilianos: adaptações ao estilo de vida e fatores ambientais	34
3.5 Histologia óssea em Pseudosuchia e Crocodylomorpha extintos	36
3.6 Histologia óssea em crocodilianos atuais	39
4 MATERIAL E MÉTODOS	43
4.1 Espécimes	43
4.2 Criação dos animais em cativeiro	43
4.3 Dados abióticos	44
4.4 Elementos ósseos	46
4.5 Preparação das amostras	47
4.6 Análise do material histológico	49
4.7 Análise de dados	50
5. RESULTADOS	51
5.1 Relações Idades X Pesos/Comprimentos dos úmeros/Comprimentos das costelas	51
5.2 Úmero	51
5.2.1 INDIVÍDUO 10 (1 ANO).....	51
5.2.2 INDIVÍDUO 9 (1 ANO).....	52
5.2.3 INDIVÍDUO 8 (2 ANOS).....	53
5.2.4 INDIVÍDUO 7 (2 ANOS).....	54
5.2.5 INDIVÍDUO 6 (3 ANOS).....	55
5.2.6 INDIVÍDUO 5 (3 ANOS).....	56
5.2.7 INDIVÍDUO 4 (4 ANOS).....	57
5.2.8 INDIVÍDUO 3 (4 ANOS).....	58
5.2.9 INDIVÍDUO 2 (6 ANOS).....	59

5.2.10 INDIVÍDUO 1 (6 ANOS).....	60
5.3 Costela.....	61
5.3.1 INDIVÍDUO 10 (1 ANO).....	61
5.3.2 INDIVÍDUO 9 (1 ANO).....	62
5.3.3 INDIVÍDUO 8 (2 ANOS).....	63
5.3.4 INDIVÍDUO 7 (ANOS).....	63
5.3.5 INDIVÍDUO 6 (3 ANOS).....	64
5.3.6 INDIVÍDUO 5 (3 ANOS).....	64
5.3.7 INDIVÍDUO 4 (4 ANOS).....	65
5.3.8 INDIVÍDUO 3 (4 ANOS).....	66
5.3.9 INDIVÍDUO 2 (6 ANOS).....	67
5.3.10 INDIVÍDUO 1 (6 ANOS).....	67
6 DISCUSSÃO.....	69
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	74
REFERÊNCIAS.....	77
ANEXO A - NOTA FISCAL DE DOAÇÃO DO MATERIAL ÓSSEO.....	89
ANEXO B - AUTORIZAÇÃO PARA A UTILIZAÇÃO DE INDIVÍDUOS DE CATIVEIRO COM FINALIDADE CIENTÍFICA.....	90

1 INTRODUÇÃO

A ordem Crocodylia é um grupo monofilético de animais amplamente distribuídos por regiões tropicais, dividida em três famílias: Alligatoridae, Crocodylidae e Gavialidae (ZUG et al., 2001). Apresentam grande importância ecológica dentro dos ecossistemas que estão inseridos, como no controle de cadeiras tróficas (FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ et al., 2015) e no aporte de nutrientes do ambiente aquático (FITTKAU, 1973), além de relevância econômica por meio do comércio de carne, couro e outros subprodutos (DA SILVA-SOUZA, 2014).

Os Crocodyliformes são indivíduos que compreendem todos os representantes viventes de Crocodylia e alguns grupos pretéritos. O clado surgiu há aproximadamente 200 milhões de anos, no Mesozóico, com maior diversidade durante o período Cretáceo, sendo representados por Protosuchia, Mesosuchia que são os grupos extintos e os Eusuchia, grupo que engloba as espécies atuais (FORTIER, 2011). Estes animais surgiram em uma Era de grande explosão de diversidade de vertebrados, principalmente Reptilia (WEBB et al., 1988). Um dos grandes fatores que permitiu os primeiros grupos nas linhagens pré-crocodilianas (Crurotarsi ou Pseudosuchia) sobreviverem em áreas de terra firme foi o surgimento do ovo amniótico, com presença de material nutritivo, casca resistente e permeabilidade para trocas gasosas, sendo independente da água para o desenvolvimento do embrião (WEBB e MANOLIS, 1989). Posteriormente, 20 milhões de anos após surgimento do grupo, estes animais começaram a habitar ambientes aquáticos (RICHARDSON et al., 2002).

Na América do Sul, o *Caiman latirostris* Daudin, 1801, é um dos mais abundantes da família Alligatoridae, principalmente em território brasileiro (COUTINHO et al., 2013). É considerado um crocodyliano de médio porte, com registros de até três metros e meio, mas dificilmente alcançando dois metros e meio em vida livre (VERDADE et al., 2010). São comumente encontrados em ambientes lênticos, estando preferencialmente em águas calmas, como açudes e lagoas (FILOGONIO et al., 2010) e com grande adaptação à ambientes antropizados (FREITAS-FILHO, 2007). Possuem comportamento alimentar oportunista e generalista, predando desde invertebrados até peixes, testudines e pequenos mamíferos (DIEFENBACH 1988; MELO, 2002). Também apresentam carne e couro de grande interesse econômico, sendo permitida sua criação para fins comerciais, principalmente nos sistemas fechados do Brasil (*farming*) e na criação aberta nos programas de *ranching*, na Argentina (COUTINHO et al., 2013).

O conhecimento a nível microscópico das estruturas funcionais ósseas de Crocodylia é uma importante ferramenta para a realização de inferências biológicas, comportamentais,

evolutivas e ecológicas das espécies de crocodilianos através dos estágios ontogênicos (CHINSAMY et al., 2009). Para a interpretação das informações microestruturais de um osso fossilizado, por exemplo, são necessárias uma série de análises de estruturas comparativas em organismos existentes, através da histologia óssea (WOODWARD et al., 2014). A osteohistologia é uma das ferramentas mais exploradas para a realização de comparativos entre fósseis e grupos recentes. Os crocodilianos, sendo filogeneticamente próximos à outros Archosaurias extintos, são utilizados como modelos inferenciais devido à similaridade dos padrões histológicos com grupos pretéritos (STORRS, 1993, ANDRADE; SAYÃO, 2014, WOODWARD et al., 2014; SAYÃO, 2016, COMPANY; PEREDA-SUBERBIOLA, 2017).

Os métodos histológicos de inferências vêm como complementos aos modelos tradicionais de descrições morfológicas (SAYÃO et al., 2016). Isso se deve pela estrutura do osso ser composta por tecido biomineralizado, formado pela deposição de hidroxapatita, fosfato de cálcio cristalino e, na região interna, formado por células ósseas conhecidas por osteócitos e vários canais sanguíneos e linfáticos (CHINSAMY et al., 1995; ANDRADE e SAYÃO, 2014). Após a morte, todos os compostos orgânicos são decompostos, fossilizando a parte inorgânica e preservando o formato das microestruturas anteriormente presentes (RICQULÈS et al., 1998), permitindo sua interpretação mesmo em organismos extintos.

Apesar da possibilidade de inferências sobre a história evolutiva de grupos extintos com análises em crocodilianos atuais, as variações esqueléticas individuais podem afetar generalizações e fatores como o desconhecimento quantitativo da influência ambiental sobre o indivíduo, reabsorção óssea durante o crescimento, remodelamento do osso e o crescimento desproporcional ósseo podem interferir na definição de padrões (HUTTON, 2013). *C. latirostris* é uma espécie da subfamília Caimaninae, originária do período Cenozóico (Brochu, 2010). As informações osteohistológicas que sirvam de ferramenta inferencial para morfologia, fisiologia e estresses ambientais em organismos da fauna atual pertencentes à esta subfamília ainda são insipientes, restringindo-se a dados em *C. yacare* (ANDRADE et al., 2018). Diante do exposto, este trabalho tem como objetivo agregar e refinar informações sobre as tendências ósseas microanatômicas em Crocodylia, utilizando elementos ósseos de indivíduos da espécie *C. latirostris* como modelo para dedução de respostas estruturais para questões morfológicas, fisiológicas, ontogênicas e ambientais.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Descrever a histovariabilidade óssea de *C. latirostris*, definindo padrões histológicos relacionados à fisiologia, comportamento e condições ambientais submetidas para a espécie, refinando informações sobre as tendências microanatômicas de Crocodylia.

2.2 Objetivos específicos

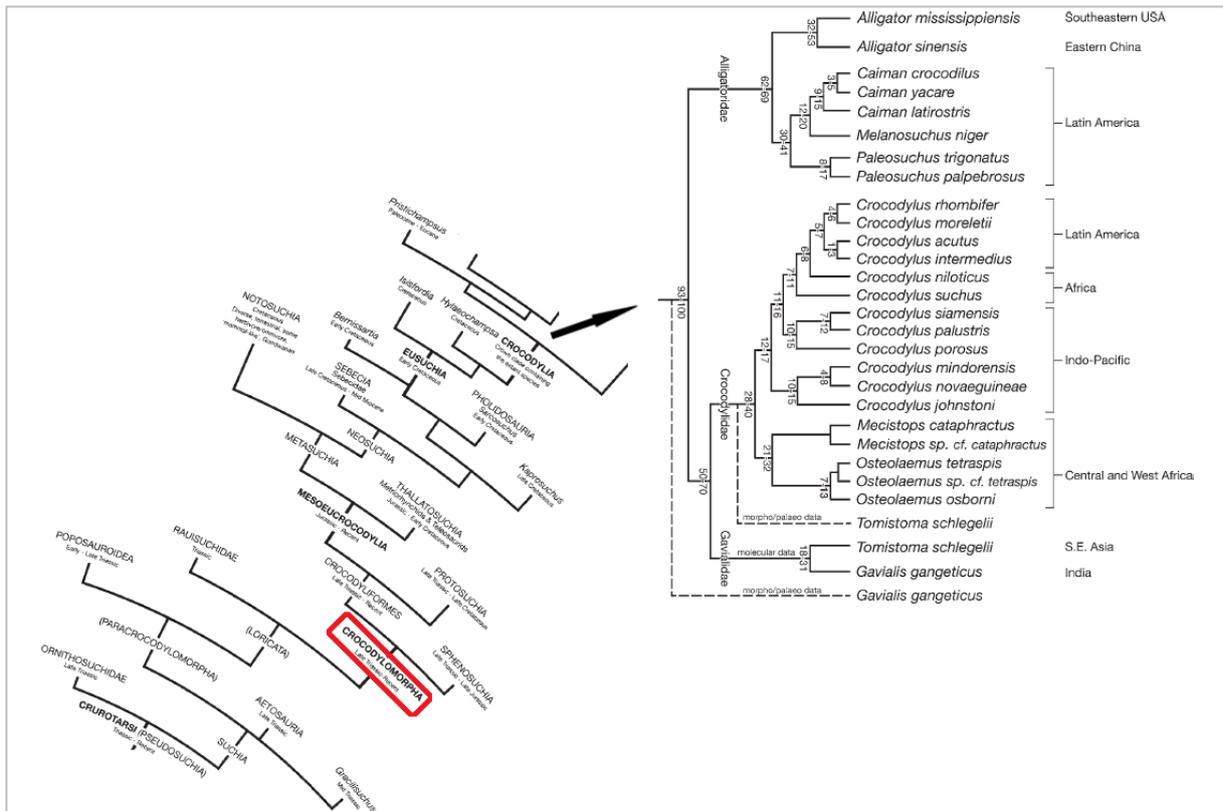
- 1) Descrever a composição osteohistológica dos elementos apendiculares e axiais do esqueleto dos indivíduos de *C. latrorostris*;
- 2) Determinar se há histovariabilidade óssea entre os elementos apicais e apendiculares entre indivíduos de idades diferentes e de mesma idade;
- 3) Estimar taxas de crescimento;
- 4) Determinar as adaptações osteohistológicas para o estilo de vida da espécie e para as condições ambientais submetidas.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Biologia de Crocodylia

A ordem Crocodylia é considerada como um clado monofilético que compreende 27 espécies viventes (GRIGG e KIRSHNER, 2015), sendo originada no período Mesozoico, com primeiros indivíduos registrados do Campaniano na América do Norte e Europa (FORTIER, 2011). Este grupo é derivado dos Crocodylomorpha e, a princípio, Crocodylia era caracterizado apenas por crocodilianos não-extintos, mas posteriormente com a descoberta de alguns fósseis (e.g., Cuvier, 1807; Saint-Hilare, 1831) passou a incluir as subordens Protosuchia, Mesouchia (derivadas de Crocodyliformes) e Eusuchia (FORTIER, 2011), sendo esta última a subordem que inclui todas as espécies atuais. Anteriormente aos Crocodylomorpha, existiam grupos derivados dos Crurotarsi (Pseudosuchia), considerados “répteis semelhantes à crocodilianos”, mas com hábitos e características que poderiam divergir dos indivíduos atuais. As espécies que compreendem os organismos viventes são divididas em três famílias: Alligatoridae (jacarés, caimans e aligatores), encontrados nas regiões Neotropicais e China; Crocodylidae (crocodilos), encontrados em regiões Neotropicais, Africana, Oriental e Australiana; Gavialidae (gaviais), encontrado na região Oriental (HÖFLING, 1995; ZUG et al., 2001) (Figura 1). De acordo com a Sociedade Brasileira de Herpetologia (2015), no Brasil são encontradas seis espécies, sendo elas: *Melanosuchus niger* Spix, 1825, *Paleosuchus trigonatus* Schneider, 1801, *Paleosuchus palpebrosus* Cuvier, 1807, *Caiman yacare* Daudin, 1802, *Caiman crocodilus* Linnaeus, 1758 e *Caiman latirostris* Daudin 1801, todas da família Aligatoridae.

Figura 1. Cladograma das Superordens Pseudosuchia e Crocodylomorpha, evidenciando a Ordem Crocodylia.



Fonte: Adaptado de Grigg e Kirshner, 2015.

O grupo é encontrado em grande parte da faixa intertropical do planeta, com similaridades comportamentais básicas entre as espécies, apresentando importantes interações sociais e dominâncias hierárquicas (ROSS, 1998). Os crocodilianos têm alimentação generalista, sendo observado em jovens, de forma geral, predação de pequenos vertebrados e invertebrados. Com o aumento do tamanho corporal, aumenta também o tamanho de suas presas, refletindo em uma dieta com uma maior composição de vertebrados (WEBB; MANOLIS, 1989).

O ciclo reprodutivo dos crocodilianos é bastante complexo e sua maturidade sexual é dependente do tamanho e da idade dos indivíduos, sendo os machos aqueles que apresentam um crescimento mais rápido e alcançam portes maiores do que as fêmeas (VERDADE e LARRIERA, 1995). O período reprodutivo pode variar de espécie para espécie, com nidificação podendo ocorrer em duas épocas distintas ou em algum determinado período anual (MAGNUSSON et al, 1989). A maioria dos indivíduos inicia seu ciclo reprodutivo nos meses mais quentes, a exemplo do *Alligator mississippiensis*, considerada a espécie com a distribuição mais setentrional dentre os crocodilianos. O processo de construção dos ninhos também

apresenta diferentes características entre as espécies, podendo ser simples buracos escavados na areia (GREER, 1970), interações com cupinzeiros (MAGNUSSON et al, 1985) e uso de material que se encontra no substrato, formando montes (LARRIERA, 2002). Ao contrário das aves e mamíferos, o sexo dos filhotes não é genotipicamente definido, mas sim por uma característica fenotípica, dependentes da temperatura de incubação dos ovos (BULL 1980; WIBBELS et al, 1991).

Os crocodilianos possuem um importante papel ambiental, atuando como espécies-chaves para a manutenção da estrutura ecossistêmica e funcionamento do ambiente em que estão inseridos (CRAIGHEAD, 1968; KING, 1985), predando espécies, controlando populações (ROSS, 1998) e aportando nutrientes como cálcio e fósforo por suas excretas, que serão utilizados e reciclados por zooplâncton, integrantes da base da cadeia alimentar (FITTKAU, 1973). Além da importância ambiental, o grupo possui uma relação direta com o crescimento antrópico. De acordo com o Crocodile Specialist Group da IUCN (2018), das 27 espécies de crocodilianos, sete encontram-se criticamente ameaçadas (CR), quatro vulneráveis (V), doze com baixo risco (LR) e quatro com informações insuficientes. No passado, a superexploração e caça de animais deixaram muitas espécies em alto risco de extinção. A partir da década de 1970, após a identificação de um drástico declínio de várias populações de crocodilianos pelo mundo, iniciaram-se programas de proteção e uso sustentável, com a prerrogativa de que a sustentabilidade é o elemento chave para a sua conservação e mantimento do recurso natural (THORBJANARSON et al., 1992; JENKIS, 1993). O surgimento de sistemas de criação para abate (venda de carne e couro), a reintrodução de indivíduos na natureza e o manejo sustentável surgiram nas décadas subseqüentes, havendo um considerável aumento nas populações de vida livre nos anos que se sucederam (JELDEN et al., 2005) e se estabelecendo como uma das estratégias mais usadas na tentativa de conservação e recuperação populacional até os dias mais atuais (TENSEN, 2016, DALTRY et al., 2017, NISAGURWE, 2017).

Muitas espécies possuem amplo mercado para a venda da carne e principalmente da pele, gerando centenas de milhares de dólares por ano (ROSS, 1998). O manejo para o uso econômico se dá através da caça controlada de populações selvagens, criação de animais oriundos de ovos coletados na natureza (*ranching*) ou de reprodutores mantidos em cativeiro (*farming*) (HUTTON; WEBB, 1992).

3.2 Aspectos gerais de *Caiman latirostris*

C. latirostris é um crocodiliano de médio porte, popularmente conhecido por Jacaré-de-papo-amarelo no Brasil, com registros de indivíduos medindo três metros e meio de comprimento, mas dificilmente atingindo mais de dois metros em vida livre (VERDADE et al., 2010) (Figura 2). Ocupa rios, mangues, pântanos, lagoas e áreas alagáveis na Argentina, Bolívia, Brasil, Paraguai e Uruguai, entre os paralelos de 5°N e 34°S. No Brasil, a espécie tem distribuição do Rio Grande do Norte, Pernambuco, passando pelas bacias do São Francisco e Paraná, até alcançar a lagoa dos Patos e Mirim, no Rio Grande do Sul (MELLO-LEITÃO, 1989; MORATO, 1991; VERDADE e PIÑA, 2006) (Figura 3). Estima-se que 70% de sua distribuição global encontra-se em território brasileiro (COUTINHO et al., 2013).

Figura 2. Indivíduo da espécie *Caiman latirostris* (Jacaré-de-papo-amarelo).



Fonte: MASCARENHAS JÚNIOR, P. B. 2019.

Figura 3. Distribuição global de *Caiman latirostris*.

Fonte: Adaptado de Verdade et al., 2010.



Habitando preferencialmente ambientes lênticos, as populações de *C. latirostris* encontram-se majoritariamente em açudes e lagoas (FILOGONIO et al., 2010). Apesar da crescente pressão antrópica e da modificação na paisagem e ambiente natural, estes animais conseguem adaptar-se bem a locais bastante urbanizados, (VERDADE; LAVORENTI, 1990). São também encontrados em zoológicos brasileiros (VERDADE; SANTIAGO, 1992) e toleram ampla variação climática (WALLER; MICUCCI, 1992).

Essa espécie de aligatórídeo é estudada nas mais diversas áreas, principalmente no continente sul-americano. Trabalhos de ecologia (GRIGG et al., 1998; SARKIS-GONÇALVES et al., 2004; BORTEIRO et al., 2006; FUSCO-COSTA et al., 2008; CARVALHO-JUNIOR; VERÁS-BATISTA, 2013; COUTINHO, 2013, MARQUES et al., 2016), dieta (VERDADE e SANTIAGO, 1992; VERDADE, 2001; MELO, 2002; BORTEIRO et al., 2009), genética (ZUCOLOTO, 2003; VILLELA, 2004; AMAVET et al., 2009, VERDADE et al., 2002, BURELLA et al., 2017), reprodução (VERDADE, 1992; VERDADE; LARRIERA, 1995; MOURÃO; CAMPOS, 1995; PIÑA et al., 2003; MOURÃO; CAMPOS, 2004; CANESINI et al., 2018), contaminação por metais pesados (BRAZAITIS et al., 1996; FREITAS-FILHO, 2008; MORAIS, 2013), hematologia (VIEIRA et al., 2002; BARBOZA et al., 2008, SIROSKI et al., 2016) são exemplos de pesquisas que vêm sendo desenvolvidas com a espécie.

Assim como os demais crocodilianos, *C. latirostris* é oportunista ao quando se refere à alimentação e estratégia de predação. Quando jovens, a alimentação baseia-se em invertebrados (moluscos, artrópodes, crustáceos, entre outros) e pequenos vertebrados (peixes e anfíbios). Na fase adulta, a dieta indica a presença de peixes maiores, outros répteis, aves e pequenos mamíferos. Em todas as idades é comum a predação de moluscos (DIEFENBACH 1979, 1988; MELO 2002).

A construção dos ninhos é feita, de forma geral, com a formação de montes de materiais localizados no substrato, com a postura de 18-50 ovos por ninho, durante os períodos mais secos do ano (LARRIERA, 2002). A massa dos ovos varia de 60 a 82 gramas, com diâmetro variando de 3,4 a 4,5 cm e o comprimento entre seis e 7,5 cm (VERDADE; LARRIERA 1995, CAMPOS; MOURÃO, 1995). A ninhada gera um investimento de 8% a 12% da massa corporal da fêmea (VERDADE, 2001, LARRIERA et al., 2004).

C. latirostris foi incluído na lista das espécies ameaçadas de 1989 (MARTINS e MOLINA, 2008), sendo posteriormente reavaliada em 2002 na oficina preparatória para a lista nacional do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBIO) e, em escala global, pela IUCN anos antes, em 1996, através do Grupo de Especialistas em Crocodilianos, ambas enquadrando a espécie na categoria de Menos Preocupante (LC) (COUTINHO et al., 2013). A pressão de caça foi um dos principais fatores que acarretaram no aumento do risco de extinção da espécie, iniciada entre os anos 1940 e 1950 em escala global, para abastecer o comércio ilegal (VERDADE et al., 2010). A pele do *C. latirostris* é considerada de melhor qualidade para a confecção de materiais do que outras espécies do gênero *Caiman*, aumentando a atividade de caça sobre estes animais (KING; BRAZAITIS, 1971; BAYLISS, 1987). No Nordeste do Brasil, a caça ilegal pode abastecer mercados em pequenas cidades (VERDADE, 2001). Na Argentina, esta pressão foi reduzida com a implementação dos programas de *ranching*, com o auxílio de moradores rurais, que recebem recompensas em dinheiro por auxiliar na procura por ninhos (LARRIERA et al., 2008).

De acordo com a Convenção sobre o Comércio Internacional de Espécies da Fauna e Flora Silvestres Ameaçadas de Extinção- CITES (2018) *C. latirostris* encontra-se no Apêndice I, que enquadra espécies em que o comércio de espécimes selvagens é ilegal, excetuando-se casos especiais, exceto na Argentina, onde está inserida no Apêndice II, onde este comércio é permitido sob regulamentação estrita, não comprometendo a sobrevivência das populações de vida livre.

Para o desenvolvimento de planos de ação visando a conservação da espécie, foram definidas metas para a realização de pesquisas sobre o *status* e a sua distribuição no Brasil, Bolívia, Paraguai e Uruguai: Investimento no sistema de *ranching*, aderido na Argentina; Implementação de programas para conservação e manejo no Brasil, Bolívia, Paraguai e Uruguai; Investigação sobre a biologia das populações (VERDADE et al., 2010). No Brasil, é crescente também o sistema de *farming*, que vem apresentando bons resultados desde sua implementação (GUIX et al., 1997; FUSCO-COSTA et al., 2008, CARREIRA et al., 2015).

Informações sobre padrões osteohistológicos de *C. latirostris* ainda são insipientes. Apesar de existirem similaridades microanatômicas na histologia óssea entre indivíduos do clado Crocodylia, inclusive de famílias diferentes, (e.g.: Tucker, 1997 estudando a família Crocodylidae e Woodward et al., 2014 estudando a família Alligatoridae encontraram estruturas semelhantes), a compreensão e descrição dessas informações em diversas linhagens pode fornecer pistas para interpretações sobre a evolução de grupos mais derivados. A família Alligatoridae, por exemplo, deriva-se em duas sub-famílias, Alligatorinae e Caimaninae, sendo esta última originada no início do Cenozóico na América do Sul (BROCHU, 2010), com indivíduos mais antigos no continente registrados no Paleoceno (BROCHU, 1999). O clado envolve seis espécies da fauna atual, divididas em três gêneros: *C. latirostris*, *C. crocodilus*, *C. yacare*, *P. palpebrosus*, *P. trigonatus* e *M. niger*. Destas, a única que apresenta dados morfológicos, fisiológicos e ambientais inferenciais baseados na histologia óssea é *C. yacare* (ANDRADE et al., 2018).

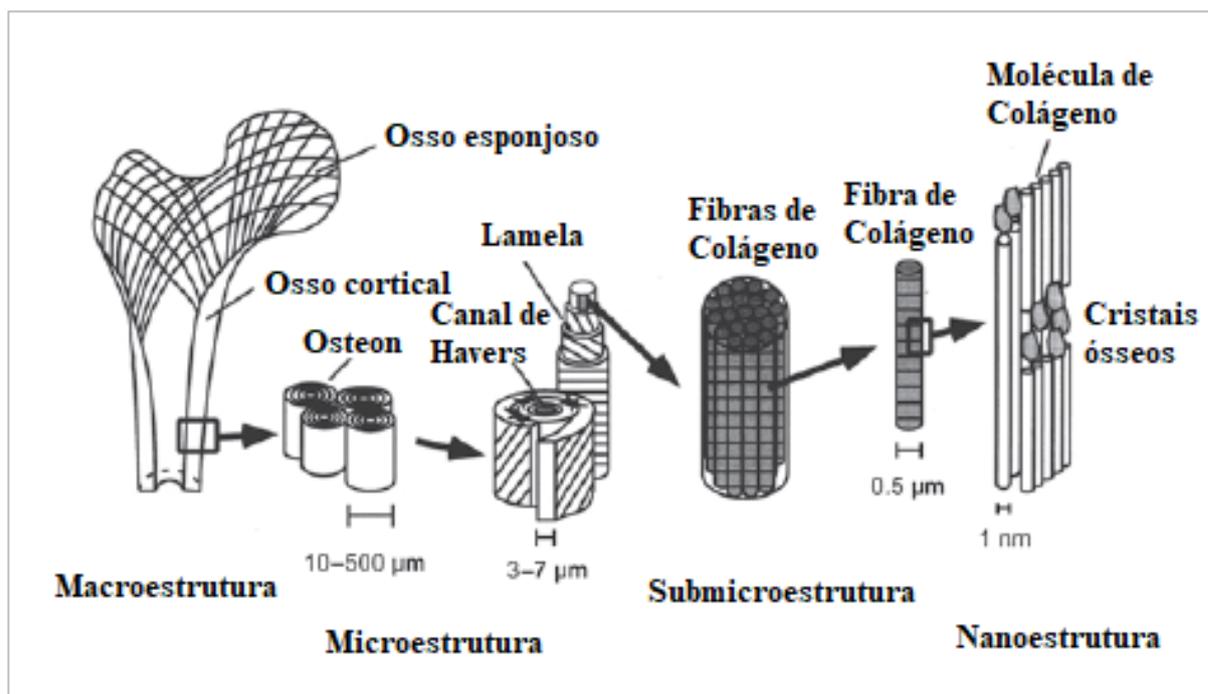
3.3 Osteohistologia: estruturas gerais e respostas morfofisiológicas

As análises histológicas ósseas são importantes mecanismos para a identificação de estruturas em resposta a condições biológicas de diversos grupos de vertebrados. Em organismos fósseis, estas microestruturas revelam, de forma geral, quatro sinais: ontogenia, filogenia, biomecânica e adaptações ao estilo de vida, relacionadas com o meio ambiente, como temperatura, hábitat e alimentação (HORNER et al., 1999; RICQLÈS et al., 2001; PADIAN et al., 2001), necessitando de informações comparativas com grupos atuais para relacionar e supor como se comportavam os animais da fauna pretérita diante desses fatores (PADIAN, 2013).

Para a realização das comparações, é necessário o conhecimento da composição do osso e suas estruturas presentes. Há uma hierarquia organizacional, que envolve nanoestruturas (1

μm a 10 nm), submicroestruturas (100 μm a 1 μm), microestruturas (1 mm a 100 μm) e macroestruturas (qualquer estrutura observável até 1 mm) (RHO et al., 1998) (Figura 4).

Figura 4. Hierarquia organizacional do osso baseado nos diferentes tamanhos das estruturas biológicas observáveis.



Adaptado de Rho et al., 1998; Padian; Lamm, 2013.

O tecido ósseo é um tecido conjuntivo, com especializações para sustentar o corpo, proteção de órgãos vitais e promover a movimentação dos organismos. Além disso, também tem importância fisiológica como na produção de células sanguíneas, estocagem de cálcio e fosfato, além da regulação metabólica da homeostase mineral (HUNTTENLOCKER et al., 2013). Os ossos apresentam uma matriz extracelular mineralizada rígida, conferindo força ao osso, mas também um certo grau de elasticidade. O principal constituinte da matriz orgânica óssea é o Colágeno tipo I, que confere 95% de sua totalidade (também chamada de osteoide), que também é integrada por cristais de hidroxiapatita, compostos por cálcio e fosfato (MARKS; ODGREN, 1996).

O tecido ósseo é formado basicamente por quatro tipos celulares: Osteoblastos, osteoclastos, osteócitos e células de revestimento (MARKS; ODGREN, 1996).

Os osteoblastos são células responsáveis pela formação da matriz óssea, localizadas principalmente na região mais externa do córtex (Figura 5 B). Sintetizam o Colágeno tipo I,

que proporciona a elasticidade do tecido, e de proteínas importantes no processo de mineralização, principalmente na ligação entre os colágenos e os cristais de hidroxiapatita (JUDAS, 2012). Este tipo de mineralização impede que haja um crescimento ósseo intersticial, tendo em vista que há uma superposição de novas camadas, sendo dependente da capacidade osteogênica do perióstio e do endóstio. Estas células apresentam capacidade receptora e transmissora de sinais para remodelação óssea e, à medida que produzem e secretam as proteínas, entram cada vez mais na matriz celular e convertem-se em osteócitos. As que não estiverem ativamente produzindo osteoide (porção orgânica da matriz não mineralizada) entram em estado de quiescência e recobrem a superfície que não estará mais formando o osso (MARKS; ODGREN, 1996).

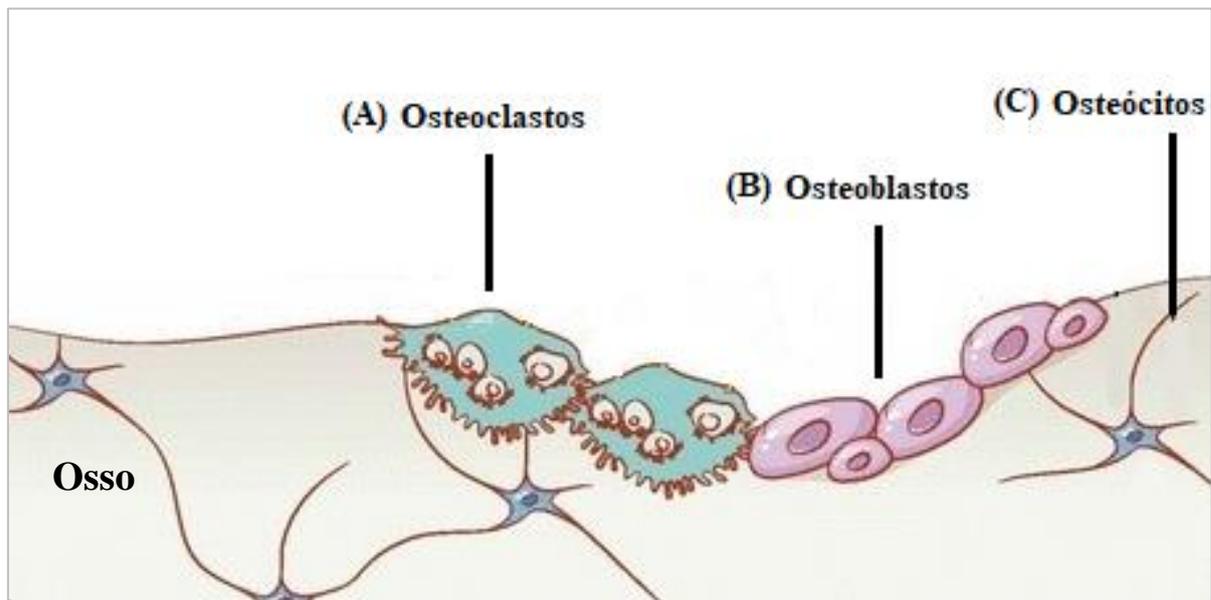
Outro tipo celular presente no tecido ósseo são os osteoclastos, cuja principal função é atuar na reabsorção óssea. São grandes células multinucleadas que atuam dissolvendo o material mineral da matriz óssea em meio ácido, encontradas principalmente no endóstio e na superfície do perióstio (VÄÄNÄNEN; ZHAO, 1996; JUDAS, 2012) (Figura 5 A). A região que está sendo reabsorvida apresenta cavidades no formato de cripta ou de lacuna, sendo designada como lacuna de Howship.

A reabsorção ocorre em duas fases consecutivas, havendo um processo de acidificação por liberação de cátions de Hidrogênio e ânions de Cloro, o que causa a dissolução dos cristais de hidroxiapatita na fase mineral da matriz óssea. Em seguida, há a liberação de enzimas proteolíticas, degradando a parte orgânica do osso.

Existe uma importante relação entre a deposição e reabsorção óssea conferidas por osteoblastos e osteoclastos, respectivamente, durante a vida do animal. O crescimento longitudinal e radial do osso ocorrem majoritariamente durante a juventude do indivíduo e está relacionado com o processo de reabsorção-deposição. O remodelamento do osso é importante para o mantimento da sua força e homeostase mineral, reabsorvendo matriz óssea antiga e sintetizando novas proteínas associadas e subsequente mineralização, promovendo a formação de um novo osso. Com isso, o osso tende a alargar ao passo do envelhecimento do organismo, com deposição de material na região mais superficial do córtex e reabsorção na parte mais profunda. A modelagem que leva a mudanças no formato ósseo também pode ocorrer em resposta a fatores biomecânicos ou fisiológicos, independente da ação dos osteoblastos e osteoclastos (CLARKE, 2008).

Osteócitos são células tridimensionais bastante intrincadas, regularmente espaçadas no interior da matriz mineralizada. Altamente ramificadas, estão localizadas nas lacunas ósseas e se comunicam com as células da superfície óssea através de uma rede de canalículos, contendo vários prolongamentos (Figura 5 C). Essas comunicações ocorrem nos processos citoplasmáticos, chamadas de junções comunicantes (*gap junctions*) (BURGUER et al., 2003). Os *gap junctions* permitem que haja troca de íons e algumas moléculas pequenas entre os osteócitos e os osteoblastos (GUSMÃO e BELANGERO, 2009). Os osteócitos são formados a partir dos osteoblastos e, incorporados na matriz celular, têm papel importante na homeostase celular, sinalizando as outras células ósseas sobre danos no tecido ou mudanças por influência do ambiente, podendo inibir ou induzir um remodelamento (TETTI e ZALLONE, 2009). A densidade das lacunas dos osteócitos presente no córtex de membros de animais pode sugerir uma relação entre a força mecânica e diferencial de carga, taxas de metabolismo basal e de crescimento (RICQLÈS et al., 2003) e regiões onde há ligamentos musculares (BYBEE et al., 2006).

Figura 5. Esquema celular presente no tecido ósseo. A: Osteoclastos; B: Osteoblastos; C: Osteócitos.



Fonte: Adaptado de: <http://brunorabello.com.br/osteoporose-tem-cura/osteoporose-reposicao-normal-da-matriz-ossea/>.

Os ossos apresentam dois tipos quanto a sua morfologia: Compacto, formado pelas fibras de colágeno altamente compactadas em lamelas, com funções mecânica e de proteção; Esponjoso, com organização das fibras de forma mais frouxa e grande porosidade na sua matriz, relacionado principalmente com funções metabólicas (HUNTENLOCKER et al., 2013). O sistema de classificação de Hunttenlocker *et al.* (2013) foi adotado neste trabalho como base.

O tecido ósseo pode ser classificado de várias maneiras, levando em consideração sua composição, porosidade, modo de formação, estágio de desenvolvimento e características anatômicas, seguindo a tipologia de Francillon-Vieillot *et al.* (1990), que se baseia na orientação vascular e padrão de organização da matriz mineralizada. Cada padrão carrega importantes implicações funcionais e fisiológicas.

Um dos tipos ósseos é o de matriz lamelar, que consiste em pequenas camadas (ou lamelas) de fibras de colágeno compactadas, bem espalhadas e organizadas no tecido. As lamelas são depositadas no padrão de madeira compensada (*plywood-like*), com alternância de direção na deposição das fibras em cada camada concêntrica, criando uma alternância escuro-claro quando observado sob luz polarizada (Figura 6A). É muito comum encontrar marcas de crescimento neste tipo de tecido, devido à sua baixa taxa de deposição. O osso lamelar também pode ser encontrado nas cavidades primárias para produzirem ósteons primários, nos espaços de reabsorção para formar ósteons secundários e podem estar presentes nas trabéculas para reconstrução da cavidade medulas esponjosa (HUNTTENLOCK *et al.*, 2013).

Outro tipo de tecido é o entrelaçado-fibroso. Este consiste em fibras de colágeno arranjadas de forma desorganizada e aleatória na matriz, com variados tamanhos. Essa falta de organização é um reflexo a uma rápida taxa de deposição. Devido à falta de organização dessas fibras de colágeno, a matriz se mostra relativamente isotrópica (mesmas propriedades físicas) sob luz polarizada, aparecendo com coloração escura (Figura 6B). O tecido entrelaçado-fibroso é mais encontrado em animais imaturos, com grandes taxas de crescimento. É muito vascularizado e mostra alta porosidade, contendo várias cavidades e sistemas haversianos primários (HUNTTENLOCK *et al.*, 2013)

O tecido paralelo-fibroso, também chamado de pseudo-lamelar, contém fibras colágenas bem compactadas, arranjadas em disposição paralela. Devido a isto, esse tecido é altamente anisotrópico sob luz polarizada (Figura 6C). Assim como a matriz lamelar, o osso paralelo-fibroso tem deposição lenta e é comumente encontrado em testudines, crocodilianos, aves e em vários mamíferos (HUNTTENLOCK *et al.*, 2013; LEE *et al.*, 2013).

O osso compacto apresenta uma série de canais vasculares, contendo vasos sanguíneos, nervosos e fluidos intersticiais, que atravessam todo o comprimento do eixo ósseo (canais de Havers) e por canais de Volkmann, que estão orientados radialmente e conectam canais adjacentes. Estes canais são considerados como estruturas ósseas independentes, por conterem

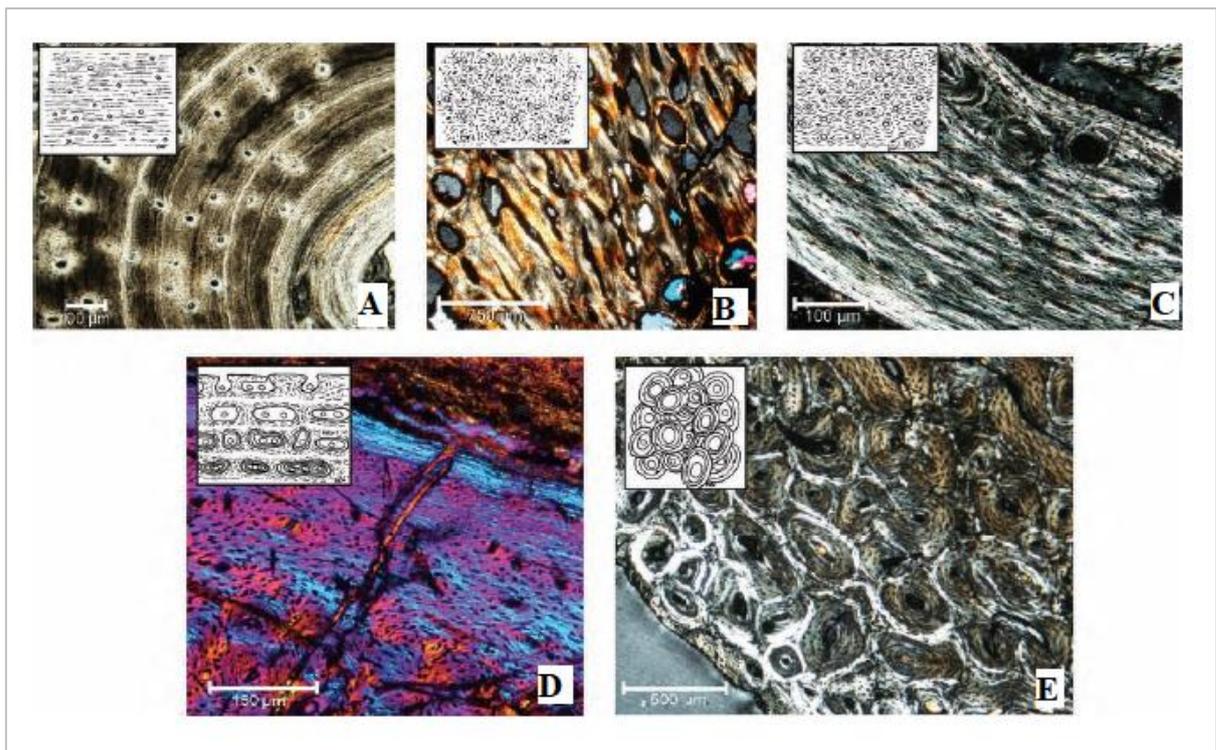
conteúdo característico (QIU et al., 2003). Os arranjos podem resultar em uma rede de comunicação que definam um perfil histológico e, a partir de sua orientação, é possível o entendimento do crescimento ósseo, levando em consideração a complexidade desta composição de vasos (HUNTENLOCK et al., 2013). A caracterização e compreensão da funcionalidade desses vasos são de suma importância para o entendimento do crescimento ósseo (ENLOW, 1969).

Durante o processo de remodelamento ósseo, os canais de Havers são circundados por anéis ósseos concêntricos em lamelas, chamados de ósteons, que compõem o osso cortical (CLARKE, 2008). As lamelas são radialmente atravessadas por pequenos canais ósseos que contêm prolongamentos citoplasmáticos dos osteócitos. Há um entrelaçamento no tecido devido à uma desorganização da matriz quando a formação óssea se dá de forma rápida. O tecido vai englobar diversos vasos, havendo posterior deposição de osso lamelar ao redor destes vasos, formando os ósteons primários, indicando a formação de um tecido fibrolamelar (CHINSAMY, 1997) (Figura 6D). Estas estruturas não são equivalentes aos verdadeiros sistemas Haversianos, que estão associados a um remodelamento secundário (HUNTENLOCK et al., 2013). A espessura deste tecido auxilia na identificação da taxa de deposição óssea na taxa de metabolismo basal do indivíduo, indicando o mínimo de energia gasta pelo organismo para o mantimento de suas funções vitais (PADIAN et al., 2001). Este tecido é formado por um complexo de osso entrelaçado-fibroso com presença de ósteons primários. Os tipos de tecido fibrolamelar não são inteiramente separáveis ou distintos. Em um único osso, pode acontecer de existir um gradiente entre eles ou características intermediárias entre os dois tipos.

O complexo fibrolamelar é um indicativo de que há uma alta taxa de crescimento em consequência de uma alta taxa de metabolismo basal (PADIAN et al., 2001; TUMARKIN-DERATZIAN et al., 2007; SCHEYER; DESOSJO, 2011; ANDRADE et al., 2018). Por outro lado, tecidos em que haja dominância de zonas lamelares cíclicas e canais vasculares simples são reflexo de um crescimento lento e baixo metabolismo basal (RICQLÈS et al., 2003). É mais comum encontrar tecido fibrolamelar no interior do córtex de um indivíduo adulto (ou subadulto) e tecido lamelar ou paralelo-fibroso na região da superfície do córtex. Esta transição pode refletir uma mudança na taxa de crescimento de um indivíduo, saindo de um crescimento rápido, observado em indivíduos mais jovens, para um crescimento lento, como o que acontece em organismos adultos. A organização dos vasos laminares e reticulares apresentam-se justapostas às taxas de crescimento nesse tipo de tecido (HUNTENLOCK et al., 2013).

Quando há uma remodelagem óssea através do processo de reconstrução haversiana, formam-se os ósteons secundários (Figura 6E). Este mecanismo de remodelamento se dá quando ocorre reabsorção óssea ao redor do canal vascular (realizada pelos osteoclastos) e reposição subsequente na cavidade erodida, pela ação dos osteoblastos (CHINSAMY, 1997). Enlow (1969) diz que as principais funções dos ósteons secundários são de mobilização e distribuição de material mineral, realocação do tecido ósseo necrótico e a manutenção dos ligamentos do osso com a musculatura. O processo de remodelamento do sistema haversiano auxilia na prevenção de danos ou na reparação de microfraturas ósseas. A presença de ósteons maiores pode ser um indicativo de um animal com estilo de vida mais ativo, levando à um aumento de carga mecânica sobre os ossos e, conseqüentemente, um remodelamento ósseo (QIU et al., 2003).

Figura 6. Tipos de matrizes ósseas e complexos nos tecidos. **A:** Matriz lamelar; **B:** Matriz entrelaçada-fibrosa; **C:** Matriz paralelo-fibrosa; **D:** Osso fibrolamelar; **E:** Sistema haversiano.



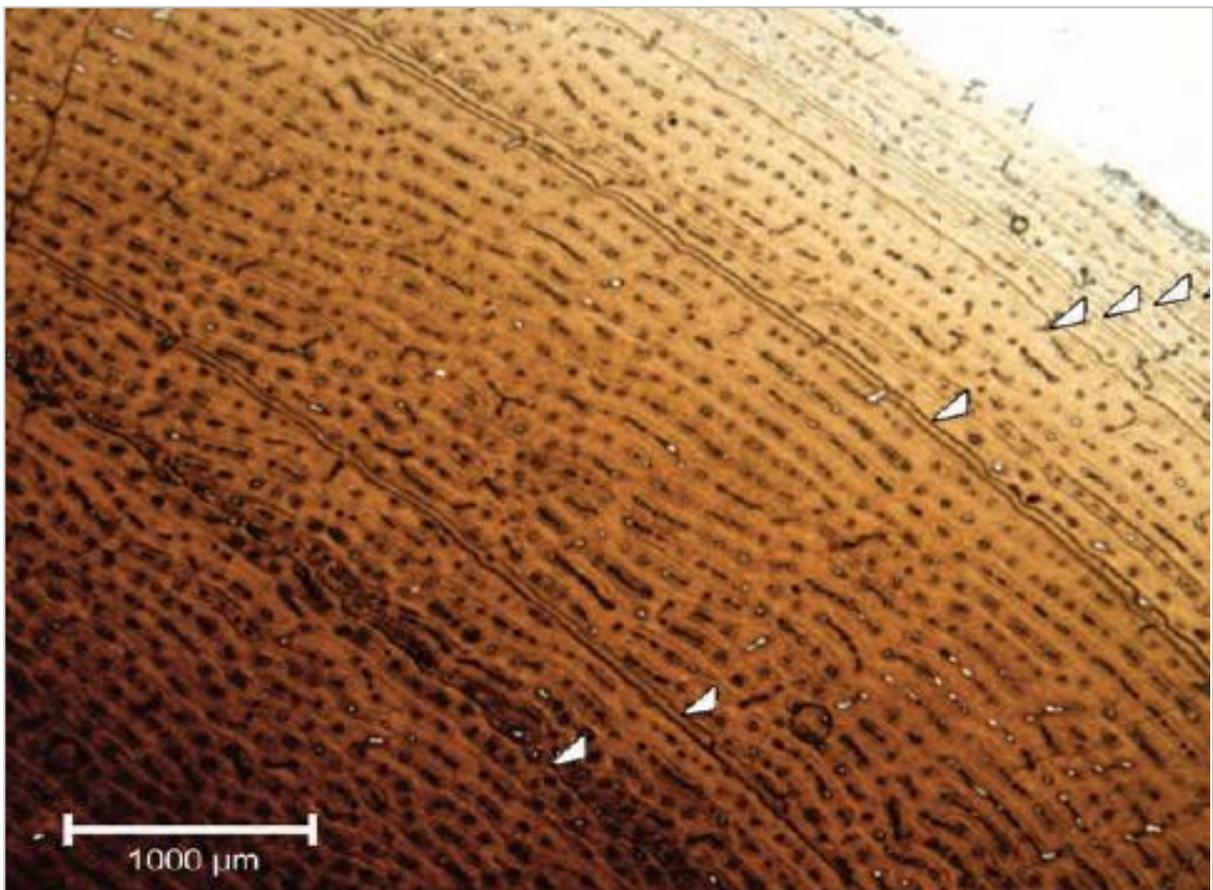
Fonte: Adaptado de Padian e Lamm, 2013

Dentro das análises microestruturais do osso, as marcas de crescimento refletem a variação ou pausa na taxa de crescimento ósseo, sendo depositada ciclicamente pela matriz lamelar ou paralelo-fibrosa. Vários tipos de marcas de crescimento cíclico (*Cyclical Growth Marks*, CGM) podem aparecer no osso compacto, sendo limitado por zonas de crescimento,

úteis para a determinação da idade ou taxa de crescimento do animal (WOODWARD et al., 2013; LEE et al., 2013).

As linhas de pausa de crescimento (*Lines of Arrested Growth*, LAGs) são marcas cíclicas de crescimento de destaque. São finas linhas que indicam uma cessação completa do crescimento através de tecido permineralizado depositado (Figura 7). Ocorrem paralelas à margem do perióstio e não danificam os ósteons (WILSON e CHIN, 2014). São utilizadas para a determinação da idade dos indivíduos, sendo encontrados na maioria dos grupos de vertebrados (STARCK; CHINSAMY, 2002), indicando ser um fator intrínseco a fisiologia dos animais.

Figura 7. Marcas de crescimento evidenciadas em linhas de pausa de crescimento (*Lines os Arrested Growth*, LAGs) indicadas por setas brancas.

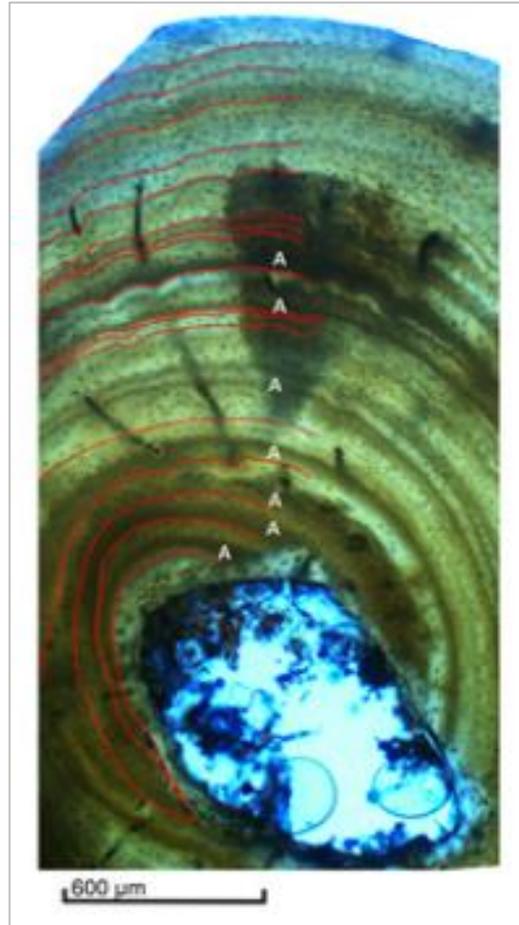


Fonte: Adaptado de Padian e Lamm, 2013.

O *annulus* representa outra CGM, formado de uma ou mais camadas de tecido paralelo-fibroso ou lamelar. Representa um período de crescimento relativamente lento e é caracterizado

pela redução de osteócitos e/ou da densidade apresentada pelos canais vasculares (WILSON; CHIN, 2014) (Figura 8).

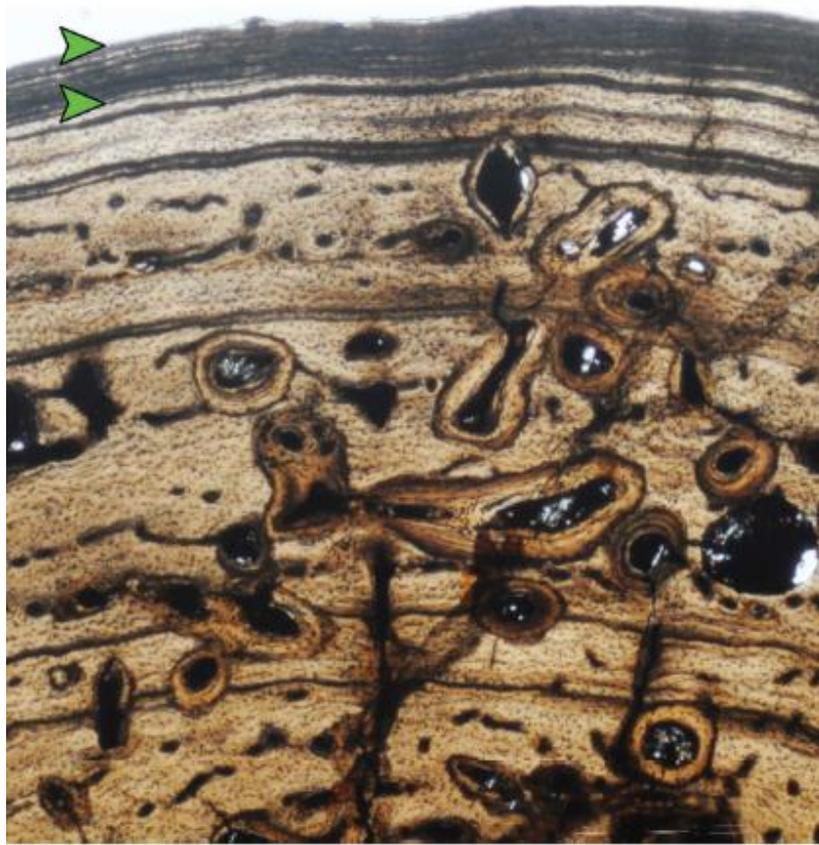
Figura 8. *Annuli* presente no córtex ósseo indicados pela letra A, alternando com linhas de pausa de crescimento (*Lines of Arrested Growth*, LAGs), indicadas por linhas vermelhas.



Fonte: Adaptado de Sayão et al., 2016.

Com o envelhecimento do animal, as zonas entre as LAGs começam a diminuir, indicando uma desaceleração no crescimento anual, até a parte mais externa do córtex ficar composta por *annuli* com pouco espaçamento entre as marcas, sendo um indicativo de maturidade somática do indivíduo. Vertebrados que apresentam crescimento assintótico apresentam esta composição de *annuli* na região mais próxima da margem óssea, chamada de sistema fundamental externo (*External Fundamental System*, EFS) (CORMARK e HAM, 1987), que são camadas bem definidas de osso lamelar subperiosteal, geralmente avasculares e acelulares, indicando a cessação virtual de crescimento ósseo centrífugo (HUNTTENLOCK et al., 2013) (Figura 9).

Figura 9. Evidência de sistema fundamental externo (*External Fundamental System*, EFS) na região mais externa do córtex ósseo, indicada pela região entre as duas setas verdes.



Fonte: Adaptado de Woodward et al., 2011.

Para uma compreensão mais a fundo dos padrões e complexidade osteohistológicas encontrados em vertebrados, recomenda-se a leitura de Bilezikian *et al.* (1996) e Padian e Lamm, (2013).

3.4 Osteohistologia geral em crocodilianos: adaptações ao estilo de vida e fatores ambientais

O osso é uma estrutura que guarda diversas informações e respostas fisiológicas relacionadas a ecologia dos vertebrados, sendo sua organização diretamente relacionada com o meio ambiente e estilo de vida do organismo. Entre os amniotas, há uma semelhança na microanatomia óssea quando relacionada com a ecologia, com algumas tendências observadas em diferentes habitats (HOUSSAYE et al., 2014).

Os reflexos dos estresses ambientais são muitas vezes evidentes na histologia óssea. Em animais ectotérmicos, por exemplo, temperaturas baixas tendem a diminuir as taxas metabólicas, concomitantemente refletindo no osso um crescimento mais lento e mostrando diferenças de como os tecidos se expressam. Em geral, pode ser observado mais LAGs e zonas de osso cortical mais finas entre as linhas de crescimento periódico, com menos vascularização e menos células ósseas (PADIAN, 2013). Mas é importante salientar que essas respostas também podem estar associadas a diversos fatores individuais de cada organismo (HUTTON, 2014), sejam fatores como deficiência de cálcio, escassez de alimentação e desidratação (PADIAN, 2013).

Os crocodilianos atuais apresentam a parte periosteal do córtex com tecido lamelar-zonal, sendo apenas as zonas sendo vascularizadas (RICQLÈS et al., 2003; KLEIN et al., 2009). Nas últimas zonas, a limitada rede de canais vasculares está orientada longitudinalmente, contornada por linhas concêntricas (HOUSSAYE et al., 2012). Os ósteons primários estão presentes na parte mais externa do córtex (RICQLÈS et al., 2003). Também é encontrado tecido fibrolamelar junto com um padrão de vascularização reticular, durante a fase de crescimento rápido observado em indivíduos mais jovens (WOODWARD et al., 2011) e indivíduos de cativeiro ou selvagens (TUMARKIN-DERATZAN, 2007), dependendo da condição ambiental em que o animal está exposto.

O grupo de animais vivos engloba organismos de hábitos semi-aquáticos, que também é refletido na caracterização óssea. Ossos mais densos são observados em animais com este tipo de estilo de vida, incluindo grupos fósseis (HOUSSAYE, 2009, 2012). Uma massa óssea elevada, principalmente nos membros, permitem uma estabilização do corpo na água, equilibrando a flutuabilidade do crocodiliano (FISH, 1984). Córtex muito espesso e com cavidade medular muito limitada são indicativos de padrões ósseos de animais com esse tipo de hábito (SAYÃO et al., 2016).

Apesar das adaptações para o ambiente aquático, os crocodilianos também têm padrões ósseos que indicam uma eficiente locomoção no ambiente terrestre, onde há maior interferência gravitacional do que no ambiente aquático. Esses animais retêm uma organização tubular nos seus ossos (HOUSSAYE et al., 2016). Em táxons onde há máxima carga gravitacional agindo sobre os indivíduos, as forças nos ossos longos são máximas perto da superfície óssea e menores no núcleo, de modo que a cavidade medular vazia reduz o peso sem alterar a força efetiva do osso (KARDONG, 2006).

3.5 Histologia óssea em *Pseudosuchia* e *Crocodylomorpha* extintos

Hua e Buffrenil (1986) utilizaram a histologia de diversos elementos ósseos como pista para as interpretações das adaptações funcionais em um indivíduo do grupo *Thalattosuchia*. Os padrões observados em *Thalattosuchia* dão indícios de que há um crescimento cíclico e características ectotérmicas. Além disso, o grupo não apresenta nenhuma estrutura peculiar nos esqueletos relacionados à vida marinha, indicando uma possível vida anfíbia. Os displays ósseos também davam a entender que a estrutura corporal aparava a água durante a natação, indicando que o *Thalattosuchia* tinha boas condições de locomoção neste ambiente.

Ricqlés *et al.* (2003) descreveram a histologia óssea de um *Pseudosuchus* (*Terrestriisuchus*) do período triássico, inferindo com outros táxons semelhantes a partir da microanatomia óssea de diversos elementos, como osteodermes, vértebras, costelas e ossos dos membros. É evidenciado um complexo fibrolamelar, apresentando tecido de rápido crescimento por metabolismo basal na região mais próxima da medula que dá lugar a ciclos de deposição de uma camada de osso menos vascularizado, predominantemente paralelo, seguido por um anel ósseo quase avascular e uma linha de crescimento no sentido do córtex. Os padrões encontrados são considerados basais para Archosauria, sugerindo taxas de crescimento maiores do que os crocodilianos típicos, mas não tão elevadas como de dinossauros e pterossauros. Isso pode ser uma evidência de uma linhagem de Archosauria que se separaram no Triássico Médio.

Foi identificada uma estrutura de apoio do tronco a partir de análises microanatômicas de osteodermes de *Chronisuchídeos*, um grupo de *crocodylomorphos* fósseis por Buchwitz *et al.* (2011). As análises microanatômicas levaram a crer que existem encaixes na região medioventral dos osteodermes para estruturas musculares epiaxiais e também existiam processos transversais as vértebras torácicas. Estas informações fortalecem a hipótese de que as séries de osteodermes faziam parte de uma armadura e ajudavam na sustentação para locomoção terrestre, apesar de algumas espécies do grupo também apresentarem estilo de vida aquática.

Em 2011, Scheyer e Desosjo descreveram a histologia óssea de um indivíduo do clado *Raiusuchia* através da análise de osteodermes pós-craniais. A presença de tecido muito vascularizado e deposição de tecido fibrolamelar indicam maiores taxas de crescimento em estágios mais juvenis, enquanto a matriz compacta com deposição no tecido paralelo-fibroso indica uma redução nestas taxas de crescimento quando o indivíduo vai se tornando mais velho.

Outras análises microanatômicas também indicam que a formação das osteodermes em *Raiusuchus* difere de linhagem de Crocodylomorpha atualmente vivente.

As análises histológicas podem trazer outras perspectivas investigativas além dos padrões fisiológicos e estilo de vida. Botfalvai *et al.* (2014) avaliaram a causa da perfuração de um crânio de um indivíduo do gênero *Hylaeochampsa* (Eusuchia) encontrado na região de Ihárkut, na Hungria. Duas hipóteses foram levantadas, uma relacionada à alguma patologia e outra devido a perfuração por mordida de outro animal, sendo esta última comprovada pela inexistência de alterações nos padrões histológicos do osso craniano e por testes realizados no molde da cavidade formada. Estas perfurações encontradas encaixam com o tipo dentário de outro crocodiliano encontrado na região, o *Allodaposuchus* (Eusuchia), indicando uma possível competição por recursos entre estes dois predadores.

O estilo de vida e a paleohistologia do fêmur e tíbia de um indivíduo da família Dyrosauridae foram descritos por Andrade e Sayão (2014). Foram encontrados ósteons nas partes mais profundas do córtex e na parte esponjosa, indicando que era um animal de crescimento lento, tendo espécime sido identificado como sub-adulto. Os padrões de distribuição dos osteoclastos também sugerem que este animal era um rápido nadador. Mesmo com estas informações inferenciais, é necessário que secções adicionais sejam realizadas para que as informações sobre sua ecologia se tornem mais precisas e robustas.

Sayão *et al.* (2016) realizaram a descrição paleohistológica do *Suchisuchus anatoiceps* (Neosuchia), inferindo estratégias de crescimento e estilo de vida através de análises na costela e ulna. Os resultados mostraram que havia um crescimento lento dos padrões microestruturais, comum nos crocodyliformes. O grande número de linhas de crescimento na secção ulnar mostrou que o indivíduo era subadulto, próximo a atingir a maturidade sexual, contradizendo outros estudos com a mesma espécie considerando-os juvenis, mas com estruturas semelhantes. Isso sugere que estes animais são indivíduos de corpo pequeno, até mesmo em comparação com crocodilianos anões existentes.

Ricart (2017) trouxe a histologia óssea de dentes e ossos longos (úmeros e fêmures) de três Notosuchia (Crocodyliformes): Baurusuchidae, Sphagesauridae e *Mariliasuchus*. Os dois últimos foram associados à uma dieta herbívora devido a um espesso esmalte encontrado no dente. O Baurusuchidae apresentou padrões ósseos de crescimento semelhante aos crocodilianos atuais, principalmente evidenciado pelas marcas cíclicas no tecido lamelar das LAGs, sendo possível inferir que o indivíduo teria entre 8 e 15 anos de idade no momento de sua morte.

Company e Pereda-Suberbiola (2017) descreveram a histologia de osso longo (úmero) de um Crocodyliformes (Eusuchia) do Cretáceo superior. As análises microanatômicas ósseas indicaram claras variações na estrutura do córtex, podendo estares relacionadas com variações na velocidade de deposição óssea, ou seja, no crescimento do indivíduo. A presença de tecido secundário na região perimedular do córtex e a presença de um EFS na região mais cortical servem de *proxy* para uma maturidade somática e cessação efetiva do crescimento, indo de encontro com características de um animal ectotérmico, como esperado em grupos de crocodilianos extintos. O espécime analisado tinha aproximadamente 16 anos e estava em um estado ontogênico avançado.

Cubo e colaboradores (2017) realizaram a descrição osteohistológica do fêmur de *Iberosuchus macrodon* (Mesosuchia) e utilizaram estes padrões para relacionar com estratégias fisiológicas e também comportamentais. O córtex apresenta um tecido paralelo-fibroso que se transforma em osso lamelar. Há uma densidade média da rede de canais vasculares longitudinais e linhas de crescimento interrompidas em assíntota. Estas informações podem elucidar inferências sobre suas estratégias alimentares por serem muito semelhantes a lagartos Teiidae e Varanidae, que predam ativamente. Há também indicativos de que este animal apresentava um crescimento lento, cíclico e com taxa metabólica de repouso elevada.

Waskow e Mateus (2017) utilizaram a costela de um Crocodylomorpha não identificado para relacionar os padrões microanatômicos com sua história de vida. Foi identificada presença de tecido lamelar-zonal e baixa vascularização, fibras com orientação longitudinal e possível identificação de 18 LAGs, além de metade do tecido original ter se remodelado em osso Haversiano. As informações encontradas podem indicar uma lenta taxa de deposição no tecido ósseo e que o indivíduo ainda não havia atingido maturidade esquelética antes da morte. Através de cálculos, considerou-se a ausência de suas linhas de pausa de crescimento e foi possível estimar que o indivíduo tinha entre 19 e 20 anos e a diminuição na taxa de crescimento (observada a partir da nona LAG) é um indicativo de que o indivíduo atingiu a maturidade sexual.

Pepesuchus deiseae (Crocodyliformes) teve seus hábitos e alguns processos ecológicos determinados pelas análises histológicas de elementos apendiculares (ulna, tíbia e metacarpo) e osteodermes (SENA et al., 2018). Os metacarpos apresentam córtex amplo, com uma cavidade medular de diâmetro curto, sete marcas de crescimento e tecido ósseo Haversiano (característica de indivíduo sexualmente maduro) na região mais endosteal, além de um aumento na massa do osso, relacionado com um hábito em regiões de águas rasas. A ulna

apresentou grande porosidade e diversas cavidades de reabsorção óssea, com redução da massa, o que proporciona uma maior amplitude de movimento entre as articulações que estão entre os carpos e a ulna. A tíbia apresentou EFS, sendo possível relacionar com a maturidade somática atingida pelo indivíduo. As osteodermes eram compostas por tecido paralelo-fibroso, com cavidades de reabsorção no núcleo, indicando uma possível mobilização de cálcio para a formação da casca do ovo, sugerindo que o indivíduo era uma fêmea.

3.6 Histologia óssea em crocodilianos atuais

Hutton (1986) determinou a idade de *Crocodylus niloticus* a partir da estratificação cortical óssea. Osteodermes foram utilizados para mensurar este crescimento, sendo observado que em períodos quentes esta taxa era acentuada, visto através da formação de anéis de deposição de cálcio nas estruturas observadas, representando cada anel um ano de vida de um indivíduo. As análises foram realizadas com indivíduos de vida livre e podem não ser precisamente iguais quando comparadas a indivíduos de cativeiro.

A esqueletocronologia foi validada como uma determinante de idade em crocodilos de água doce (*Crocodylus johnstonii*) com a utilização de osteodermes pós-occipitais (TUCKER, 1997). As marcas de crescimento calcificadas foram observadas em crocodilos com idades já conhecidas (mais de 19 anos) e as amostras foram coletadas em diferentes épocas do ano. Indivíduos jovens também foram avaliados, mas as informações não foram precisas devido à dificuldade de identificação das beiras das zonas de crescimento. A estimativa em fêmeas adultas também não foi possível ser realizada, pois muitos dos ossos são remodelados e o cálcio é relocado para a formação da camada dos ovos. O autor identificou uma precisão de mais ou menos um ano na determinação da idade, além de haver uma relação direta entre as dimensões dos osteodermes e do comprimento rostro-cloacal dos indivíduos, sendo esta a biometria mais precisa para identificar o tempo de vida do indivíduo.

As inervações e fibras de ligamento periodontal também já foram estudadas a partir da histologia óssea em *Caiman crocodilus* (TAKODORO et al., 1998). Estas estruturas apresentavam fibras horizontais, ligando o osso aveolar ao cemento da raiz e fibras longitudinais paralelas ao eixo do dente, apresentando capilares e nervos na porção média do ligamento. As terminações nervosas foram densamente distribuídas na região periodontal, tanto de forma livre como encapsuladas. Os autores concluíram que isto pode ser um indicativo de que os dentes

podem, além da função de mordida, também conferir uma capacidade de órgão sensitivo para os crocodilianos.

Lee (2004) usou o fêmur do *Alligator mississippiensis* como objeto de estudo para determinar a organização histológica e sua relação funcional, aplicando teste de correlação entre o meio de deformação e as microestruturas observadas. Através das microanálises, foi possível sugerir que a dinâmica de crescimento é o fator histológico dominante na organização de ossos primários em fêmur de *A. mississippiensis*.

Para relacionar a estrutura da superfície óssea com a maturidade esquelética relativa, Tumarkin-Deratzian *et al.* (2007) utilizou ossos longos (fêmur, tíbia e úmero) de *A. mississippiensis* como modelo inferencial. Os autores encontraram que superfícies com mais porosidade estão associadas a zonas de tecido fibrolamelar e as texturas mais suaves são sustentadas por zonas de tecido lamelar ou anular. Texturas de porosidade intermediárias podem conter mais de um tipo de característica microanatômica, com mesclagem entre os tipos de tecido. Os autores afirmam que este tipo de análise pode ser importante para a determinação do envelhecimento de crocodilianos, mas deve ser aplicado com cautela, principalmente quando se usados estes dados para inferências com Archosauria fósseis.

A identificação de padrões de para a fisiologia reprodutiva em crocodilianos é de suma importância quando se objetiva compreender esta característica em Archossauros fósseis. Schweitzer *et al.* (2007) buscaram avaliar se em fêmures de fêmeas (em fase reprodutiva e outras fora desta fase) de *A. mississippiensis* havia osso medular, tecido reprodutivo altamente mineralizado encontrado nas cavidades endosteais em algumas aves durante o período reprodutivo e em dinossauros (HORNER e PADIAN, 2004), podendo elucidar questões sobre a evolução do grupo Crocodylia. Os autores não identificaram presença do osso medular, o que corrobora com a hipótese de que essa característica evoluiu primariamente na linhagem entre Dinosauria e aves, posterior a separação do clado com os crocodilianos.

Em contrapartida, Klein *et al.* (2009) afirmam que esta técnica de inferência da idade por secções ósseas podem não ser tão precisas pelo fato dos números de marcas de crescimento algumas vezes não condizerem com o tempo de vida do indivíduo, mostrando que esta técnica de esqueletocronologia é limitada. Os autores sugerem que análises isotópicas (como de Carbono, Nitrogênio e Oxigênio) podem gerar resultados mais fidedignos, sendo estes isótopos encontrados nas formações ósseas e alimentação dos crocodilianos, variando nos elementos ósseos, podendo ser encontrados em diferentes taxas nos elementos apendiculares e axiais, como fêmur e osteoderme. Os autores dizem que a melhor técnica para o conhecimento da

história ambiental e dieta do indivíduo é através da análise de isotópica, preferencialmente de ossos longos, como o fêmur.

Woodward *et al.* (2011) afirmam que o EFS são microestruturas presentes na parte mais externa do córtex que indicam maturidade esquelética, havendo uma efetiva cessação do crescimento periosteal. Os autores identificaram em fêmures de *A. mississippiensis* de cativeiro a presença de um tecido paralelo-fibroso com EFS na região mais próxima do periósteo. Os resultados trouxeram importantes implicações para tetrápodes fósseis e atuais. O fato de que aves, dinossauros não avianos, pterossauros, Pseudosuchia basais e crocodilianos atuais apresentaram EFS, indicando uma característica compartilhada por Archosauria. Além disso, em indivíduos de cativeiro a presença de EFS não pode estar associada ao estágio de velhice, por apresentarem um crescimento atípico. Por fim, a ausência de EFS não necessariamente implica a um crescimento indeterminado, mas sim que o indivíduo não atingiu maturidade esquelética no momento da sua morte.

Burns *et al.* (2013) também compararam a histovariabilidade óssea em *A. mississippiensis* e *C. crocodilus*, a fim de definir implicações sistemáticas e funcionais para análises paleontológicas com o uso de osteodermes. Os autores encontraram que existia uma diferença significativa entre o tamanho e a forma dos osteodermes dos aligatrideos atuais e os fósseis, dado a restrições morfológicas dos próprios elementos, e não por uma diferença taxonômica, tendo implicações para o reconhecimento de características histológicas em Archosauria extintos com representantes atuais semelhantes.

Woodward e outros autores descreveram as microestruturas anatômicas e quantificaram a histovariabilidade óssea de elementos apendiculares e osteodermes em três juvenis de *A. mississippiensis* (jacaré americano), visando entender as organizações teciduais e marcas de crescimento entre espécimes e entre os ossos, a fim de validar informações paleontológicas (WOODWARD *et al.*, 2014). Foram encontrados resultados que corroboram com observações anteriores, havendo maior deposição óssea nos elementos apendiculares, mas sem grandes diferenciações entre as estruturas dos membros direito ou esquerdo.

Andrade *et al.* (2018) fizeram a avaliação da osteohistologia para inferências com história de vida e ecologia de dois indivíduos da linhagem dos Caimaninae, sendo um deles fóssil (espécie não identificada) e outro moderno (*Caiman. yacare*), tendo em vista a escassez de trabalhos que abordem estes tipos de trabalhos na América do Sul. Em ambos os casos, foi possível a identificação de um crescimento lento no rádio e úmero e, pelas análises de tíbia e fêmur de *C. yacare*, é possível observar um tecido fibrolamelar. Os autores concluíram que a

ambos os *Caiman* têm capacidade de ajustar suas taxas de crescimento de acordo com a sazonalidade do ambiente e, em *C. yacare*, foi possível classificar o indivíduo como juvenil.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Espécimes

A análises realizadas neste trabalhos foram feitas em *C. latirostris* de cativeiro fornecidos pelo Abatedouro Aruman Ltda, localizado na Estrada municipal, bairro da Glória, sem número, Gleba 2, no município de Porto Feliz, São Paulo. O empreendimento apresenta licença da Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB) para o efluente, número 61000099. O abatedouro tem autorização da Secretaria do Meio Ambiente para o uso e manejo de *C. latirostris* através da licença de número 000001409, com processo de número 000762, ano de 2016. Todo o material utilizado neste trabalho foi entregue com a emissão de nota fiscal número 000000097 (**ANEXO A**).

Para a realização desta pesquisa, uma licença do ICMBio também precisou ser emitida, estando amparada legalmente sob a autorização de número 59048-1 (**ANEXO B**).

Foram doados 10 animais fêmeas, sendo selecionadas duplas de um, dois, três, quatro e seis anos, totalizando cinco duplas de idades diferentes. A massa corporal variou de 6,99 Kg até 21,35 Kg (**Tabela 1**).

Tabela 1. Identificação (ID) dos indivíduos de *Caiman latirostris* provenientes do Abatedouro Aruman Ltda utilizados para a análise osteohistológica quanto à idade e peso. N: Número do indivíduo.

N	ID	IDADE	PESO (Kg)
1	3VD4E259	6 anos	15,08
2	3VD4E239	6 anos	21,36
3	5VD2D348	4 anos	19,17
4	5VD6D467	4 anos	12,62
5	6VD3D568	3 anos	10
6	6VD3D237	3 anos	10,8
7	7VD5E248	2 anos	8,49
8	7VD5D479	2 anos	7,12
9	8VD7D9	1 ano	6,99
10	8VD2E345	1 ano	7,31

Fonte: MASCARENHAS JÚNIOR, P.B. 2019

4.2 Criação dos animais em cativeiro

Nas baias de criação, os indivíduos eram alimentados diariamente até os dois anos e três vezes por semana ao iniciar o terceiro ano de vida. Os recintos eram formados por tanques com água, áreas secas e estufas a parte superior, para a retenção térmica e acelerar o crescimento

dos animais. Cada recinto apresenta uma área total de 7x5 m, sendo destes 2 metros de área seca e 3 metros de área úmida, com piscinas de 80 cm de profundidade. As paredes possuem 1,20 metros, contados a partir da superfície dos tanques e do piso seco (Figura 10). Todos os jacarés foram abatidos no mesmo período e também tiveram sua massa corporal mensurada no momento do abate. A classificação individual de cada animal segue os protocolos de controle utilizados pelo abatedouro. No momento do abate os animais tiveram suas massas corporais (peso) definidas, mas as informações biométricas de comprimento total e rostro-cloacal não puderam ser mensuradas.

Figura 10. Baía de criação de *Caiman latirostris* designados para abate comercial pelo Abatedouro Aruman Ltda na cidade de Porto Feliz, São Paulo.



Fonte: MASCARENHAS JÚNIOR, P. B. 2019

4.3 Dados abióticos

As temperaturas mínimas e máximas diárias da cidade de Porto Feliz durante os anos em que os indivíduos estavam no criatório foram obtidas a partir de dos dados do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET). Estas foram categorizadas levando em consideração cada

ano de vida do animal, sendo: Mínima absoluta; Mínima média, Média, Máxima média e Média absoluta. É importante observar que as temperaturas tendem a ser maiores nos recintos de criação, devido a utilização de coberturas que funcionam como estufas para contenção do calor e otimização do crescimento dos animais, principalmente nos períodos mais quentes do ano (SARKIS-GONÇALVES et al., 2001).

Dentro das baias de criação, a temperatura não é constante, formando microclimas em diferentes lugares, como no piso seco, na superfície e no fundo dos tanques de água. Para determinar a estimativa das temperaturas nestes três microhábitats, foi utilizado o trabalho de Fincatti e Verdade (2002) como referência por apresentar padrões de criação semelhantes aos animais de cativeiro doados pelo Abatedouro Aruman Ltda. As estimativas de temperatura para este trabalho foram estimadas a partir da diferença entre as médias mensuradas por Fincatti e Verdade (2002) na baias de criação e a temperatura local aproximada do ambiente externo, a partir de dados do INMET (2018).

A diferença dos três microclimas, sendo área seca, superfície do tanque e fundo do tanque, para o ambiente externo, considerando as condições físicas das baias de criação, variam aproximadamente em 8°C, 10°C e 10°C nos dados mínimos absolutos, 8°C, 10°C e 9°C nas médias mínimas, 9°C, 4°C e 0,1°C nas médias máximas e 14°C, 11°C e 0,4°C nas temperaturas máximas absolutas (FINCATTI e VERDADE, 2002). Cada dupla de idade foi submetida a diferentes variações de temperatura, tendo em vista que algumas estiveram mais tempo no criatório por serem mais velhas (Tabela 2).

Tabela 2. Estimativa das temperaturas em que os animais estavam submetidos em graus Célsius pelos indivíduos de cativeiro durante o período que estavam no criatório. AS: Área seca; ST: Superfície do tanque; FT: Fundo do tanque. N: Número do indivíduo

N	TEMPERATURAS SUBMETIDAS (°C)											
	Mínima absoluta			Mínima média			Máxima média			Máxima absoluta		
	AS	ST	FT	AS	ST	FT	AS	ST	FT	AS	ST	FT
1	12	14	14	16	18	18	46	41	37	52	49	37
2	12	14	14	16	18	16	46	41	37	52	49	37
3	12	14	14	15	18	16	46	41	37	52	49	37
4	12	14	14	15	18	16	46	41	37	52	49	37
5	12	14	14	15	17	16	46	41	37	52	49	37
6	12	14	14	15	17	16	46	41	37	52	49	37
7	12	14	14	15	17	16	46	41	37	52	49	37
8	12	14	14	15	17	16	46	41	37	52	49	37
9	12	14	14	14	16	15	46	41	37	51	48	36
10	12	14	14	14	16	15	46	41	37	51	48	36

Fonte: MASCARENHAS JÚNIOR, P. B. 2019

4.4 Elementos ósseos

Dos 10 animais utilizados neste trabalho, foram selecionados 20 ossos a serem analisados histologicamente. Para cada indivíduo, foi escolhido um úmero e uma costela (retirada do mesma posição anatômica), representando um elemento apical e outro axial, respectivamente (Figura 11). Cada osso foi mensurado quanto ao seu comprimento, diâmetro e o comprimento da amostra utilizada. A costela teve o seu comprimento definido pela distância entre as partes proximais e distais.

Nos elementos ósseos avaliados, o úmero apresentou comprimento e diâmetro máximo variando entre 64,12 mm e 103,34 mm e 7,27 mm e 11,36 mm, respectivamente. As costelas indicaram uma variação no comprimento entre 94,5 mm e 129,82 mm e um gradiente de diâmetro que variou entre 5,24 mm e 8,01 mm. A média do comprimento da amostra seccionada que foi utilizada na confecção da lâmina microscópica foi de 5,35 mm e 6,08 mm para úmero e costela, respectivamente (Tabela 3).

Tabela 3. Morfometria dos úmeros e costelas seccionadas, mensurados por comprimento (C), Diâmetro (D) e Comprimento da amostra seccionada (A), sendo milímetro (mm) a unidade de metragem. N: Número do indivíduo.

N	ELEMENTOS ÓSSEOS					
	ÚMERO			COSTELA		
	C	D	A	C	D	A
1	84,07	9,2	6,4	111,65	5,65	6,71
2	92,11	10,63	6,51	123,57	6,38	6,82
3	87,54	8,84	6,8	122,84	5,38	7,15
4	81,98	9,75	6,23	94,5	5,58	6,16
5	72,56	8,66	4,23	105,62	5,39	6,39
6	69,14	7,93	4,47	129,82	5,92	6,32
7	70,55	8,02	4,51	105,43	6,66	5,52
8	64,12	8,25	5,67	109,05	5,86	6,87
9	67,49	7,27	3,83	118,9	5,24	5,11
10	64,85	7,93	4,76	105,91	5,24	4,5

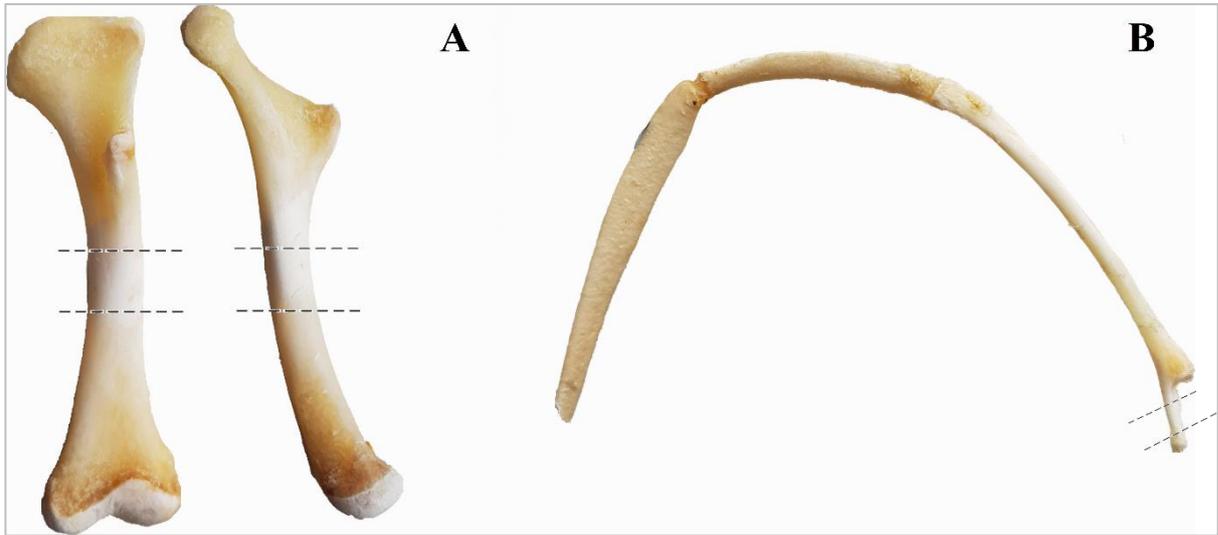
Fonte: MASCARENHAS JÚNIOR, P. B. 2019

4.5 Preparação das amostras

Todo o material foi preparado no Laboratório de Microscopia 3 do Centro Acadêmico de Vitória (CAV), campus avançado da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

Para a preparação das lâminas histológicas, foram feitas finas secções nas regiões mediais das diáfises ósseas selecionadas (Figura 11) através da técnica osteohistológica padrão (ver CHYNSAMY e RAATH, 1992; LAMM, 2013), com o processo de serragem óssea feito com a utilização de uma retífica Dremel 400 (Figura 12A). Após completa a secção, a amostra foi incorporada em resina transparente PLT 208 IBX, catalisada com B-M-50 IBX, utilizando-se a proporção de 1 ml de catalisador para cada 100 ml de resina (Figura 12B,C). A resina com o material incluído foi aderida em lâminas de microscopia com cola e endurecedor Epoxi Araldite (Figura 12D,E).

Figura 11. Elementos ósseos selecionados para a descrição osteohistológica. Local da secção destacado entre as linhas tracejadas. **A**: Elemento apical- Úmero; **B**: Elemento axial- Costela.



Fonte: MASCARENHAS JÚNIOR, P. B. 2019

Para atingir o tamanho esperado, o lado da montagem foi polido em máquina petalográfica ARAPOL VV, com uso de papel abrasivo Arotec (granulometrias de 60/P60, 120/P120, 320/P400, 1200/P2500) (Figura 12F), até a amostra ter uma espessura final de 30-60 micrômetros.

Figura 12. Preparação do material osteohistológico. A: Secção da amostra óssea com utilização de retífica Dremel 400; B: Resina transparente PLT 208 IBX e catalisador B-M-50 IBX; C: Inclusão da amostra seccionada na solução de resina e catalisador; D: Cola e endurecedor Epóxi Araldite; E: Material incluído na resina colado em lâmina de microscopia; F: Desgaste da amostra em máquina petalográfica Aropol VV, com utilização de papel abrasivo Arotec.



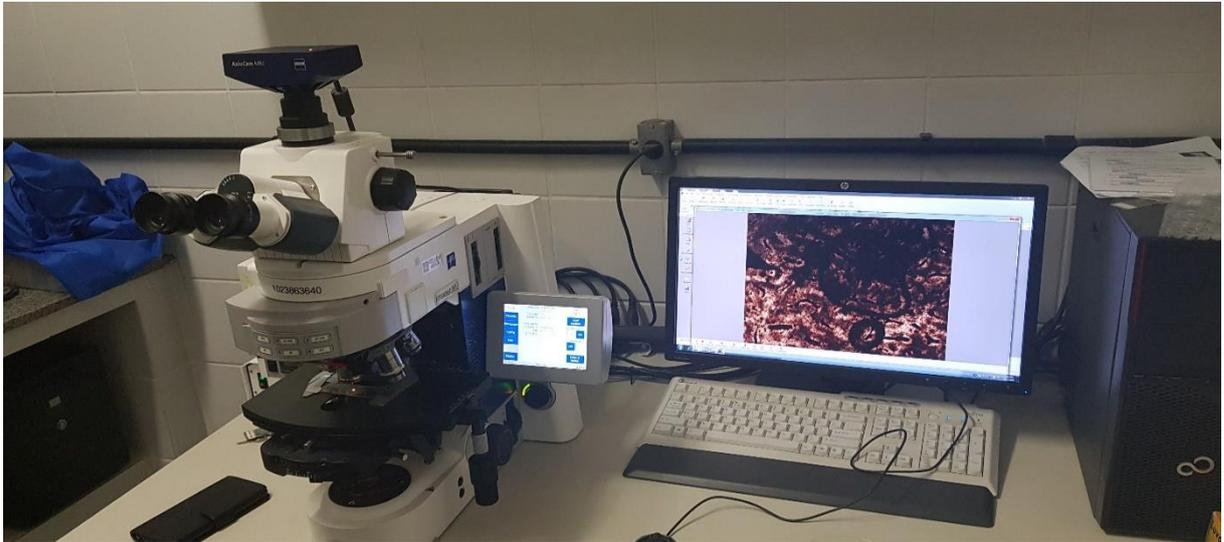
Fonte: MASCARENHAS JÚNIOR, P. B. 2019

4.6 Análise do material histológico

O material preparado foi analisado a partir de imagens capturadas em microscópio óptico de luz transmitida. O equipamento utilizado conta com uma câmera digital AxioCam acoplada em um microscópio de luz transmitida Axio Imager M2 (Figura 13). As inferências e descrições seguem o trabalho de Francillon-Vieillot *et al.* (1990). A descrição do material

histológico será apresentada em ordem cronológica das idades dos indivíduos (dos mais jovens para os mais velhos). Todas as estruturas de interesse observáveis foram selecionadas em recortes do córtex ósseo.

Figura 13. Microscópio Axio Imager M2 com câmera digital AxioCam acoplada.



Fonte: MASCARENHAS JÚNIOR P. B. 2019

4.7 Análise de dados

Devido à ausência das informações sobre o tamanho dos animais, foram testadas as relações entre os indivíduos de acordo com idades (variável independente) e os pesos, comprimentos dos úmeros e comprimentos das costelas (variáveis dependentes). Os resultados apresentados foram realizados no software BioStat 5.9.8, sendo a normalidade dos dados determinada pelo teste de *Shapiro-Wilk* e o grau de significância entre as variáveis foi testada a partir de regressões lineares. Todas as conclusões foram tomadas ao nível de significância estatística de 5% ($p=0,05$).

5. RESULTADOS

5.1 Relações Idades X Pesos/Comprimentos dos úmeros/Comprimentos das costelas

Foi possível identificar normalidade em todas as variáveis dependentes, sendo calculado o nível de significância estatística do peso, comprimento do úmero e comprimento da costela de 0,1139, 0,2214 e 0,7254, respectivamente. A medida que os indivíduos envelhecem, há um aumento correlacionado no peso dos animais ($p=0,001$) e no comprimentos dos úmeros ($p=0,0004$). Por outro lado, não há uma relação entre o envelhecimento e o comprimento das costelas ($p=0,5992$).

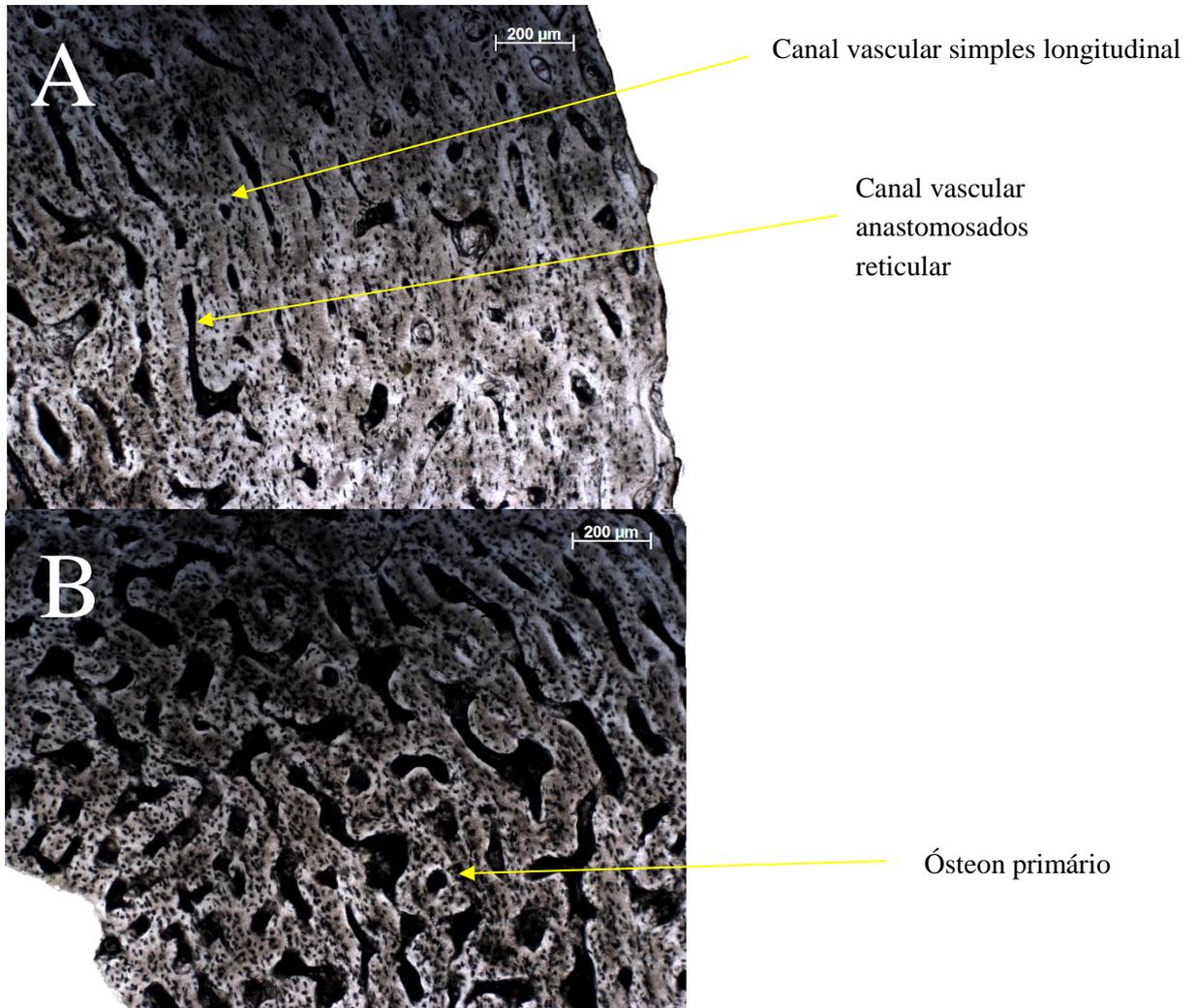
A relação do peso com os comprimentos ósseos também foi testada, sendo identificada uma relação significativa entre as massas corporais e os comprimentos dos úmeros ($p=0,00$) e sem diferença estatística significativa com os comprimentos das costelas ($p=0,2567$). Também não foi encontrada nenhuma relação estatisticamente significativa entre o comprimento dos úmeros e o comprimento das costelas ($p=0,5968$).

5.2 Úmero

5.2.1 INDIVÍDUO 10 (1 ANO)

Foi observado um córtex com presença de matriz entrelaçada-fibrosa, altamente vascularizado. Os canais vasculares anastomosados são observados em padrão reticular, com presença de canais simples longitudinais e osteons primários distribuídos pelo córtex, com maior vascularização na região endosteal, formando um complexo fibrolamelar (Figura 14).

Figura 14. Histologia do úmero do indivíduo 8VD2E345, que apresentava um ano de idade no momento do abate. A: Região periosteal; B: Região endosteal.

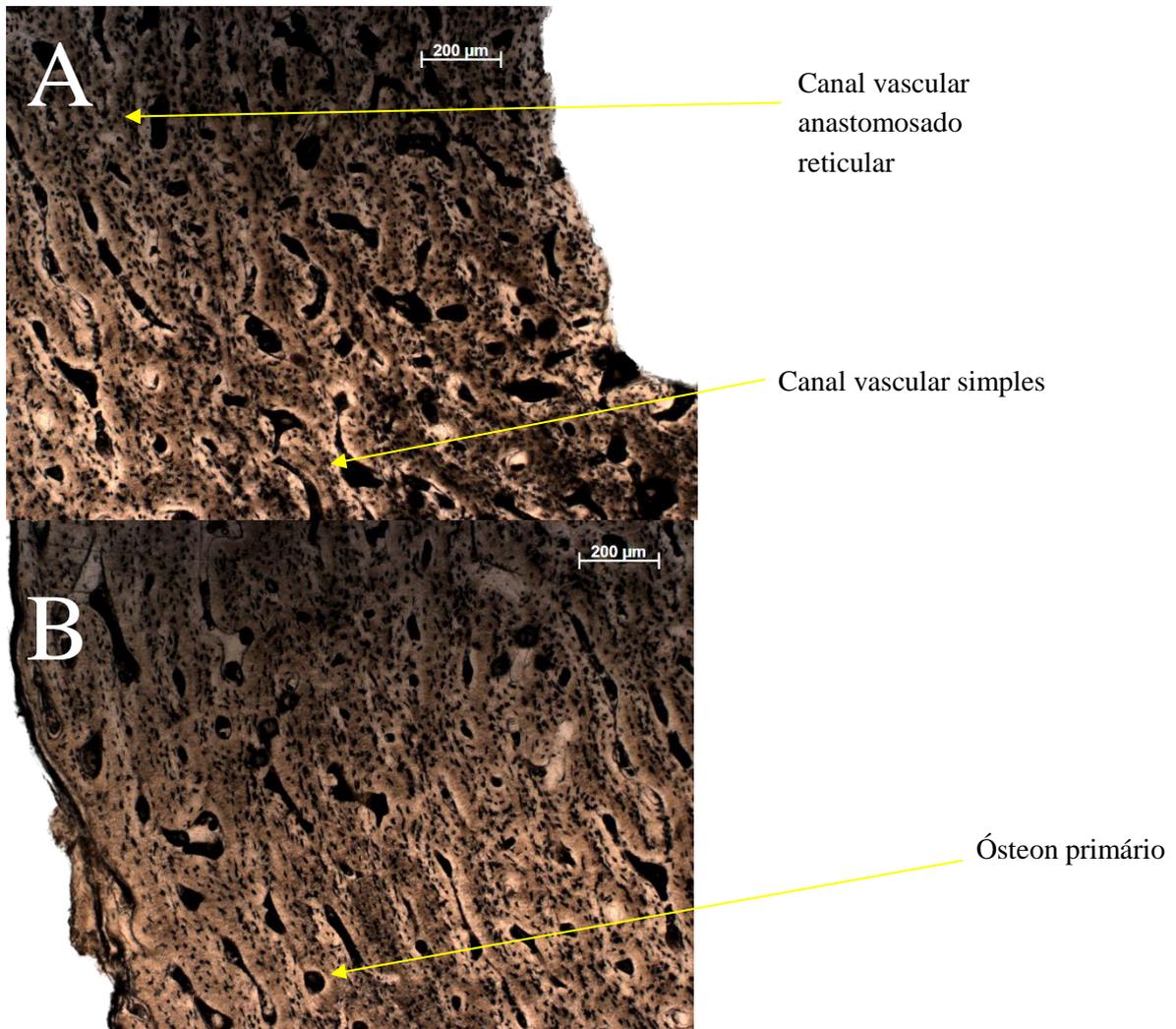


Fonte: MASCARENHAS JÚNIOR P. B. 2019

5.2.2 INDIVÍDUO 9 (1 ANO)

Na matriz óssea é possível identificar a presença de um tecido entrelaçado-fibroso, com alta vascularização, evidenciada por canais vasculares simples longitudinais e anastomosados reticulares. A cavidade medular está livre, sendo possível a observação de um complexo fibrolamelar (Figura 15).

Figura 15. Histologia do úmero do indivíduo 8VD7D9, que apresentava um ano de idade no momento do abate. A: Região periosteal; B: Região endosteal.

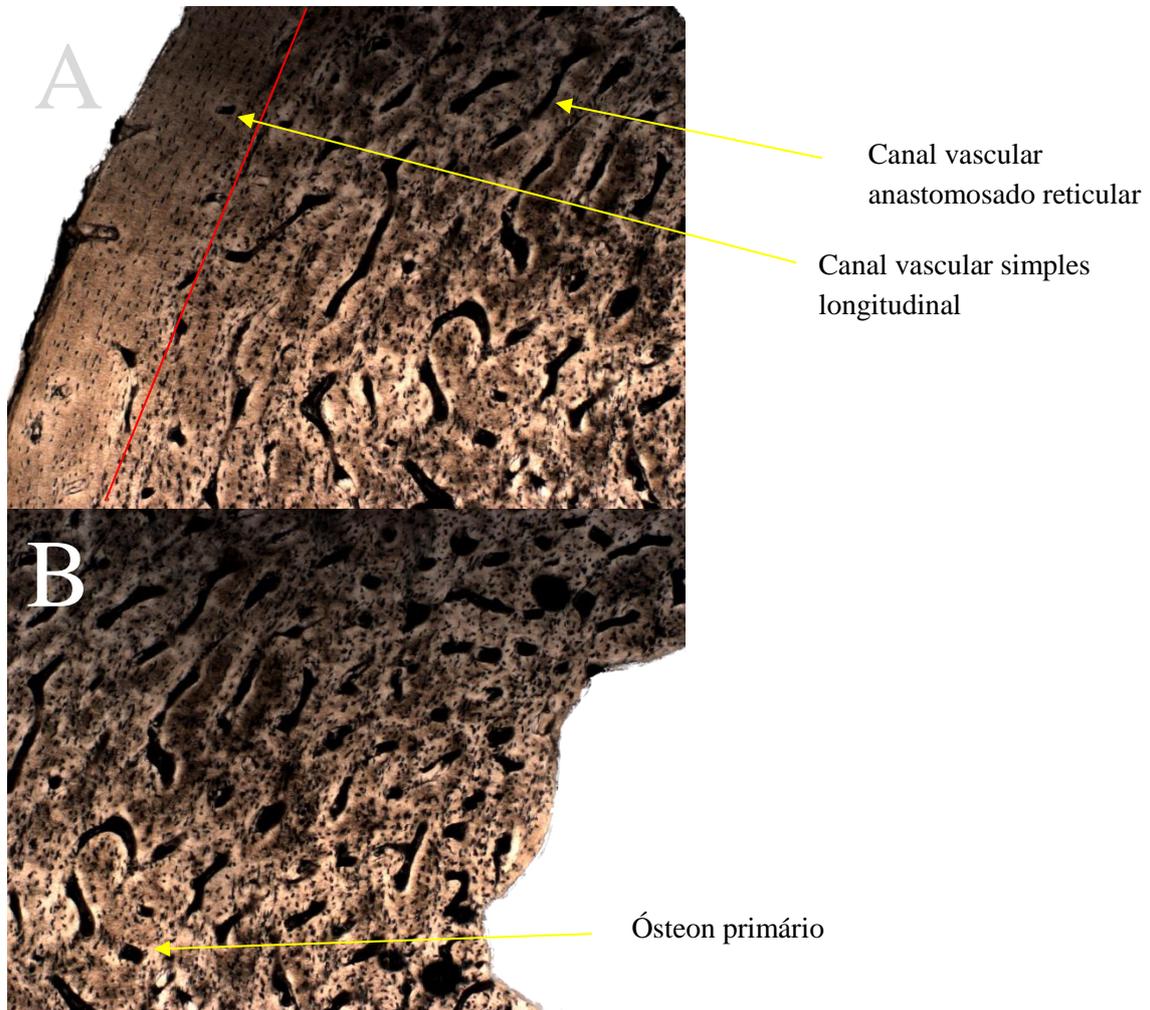


Fonte: MASCARENHAS JÚNIOR P. B. 2019

5.2.3 INDIVÍDUO 8 (2 ANOS)

O córtex ósseo indicou a presença do complexo fibrolamelar, apresentando uma zona de transição entre um tecido lamelar pouco vascularizado na região subperiosteal e um tecido entrelaçado-fibroso, no sentido endosteal. Canais simples e anastomosados são encontrados no interior do córtex, com presença de ósteons primários (Figura 16).

Figura 16. Histologia do úmero do indivíduo 7VD5D479, que apresentava dois anos de idade no momento do abate. A linha vermelha indica a área de transição entre o tecido lamelar e o tecido entrelaçado-fibroso. A: Região periosteal; B: Região endosteal.

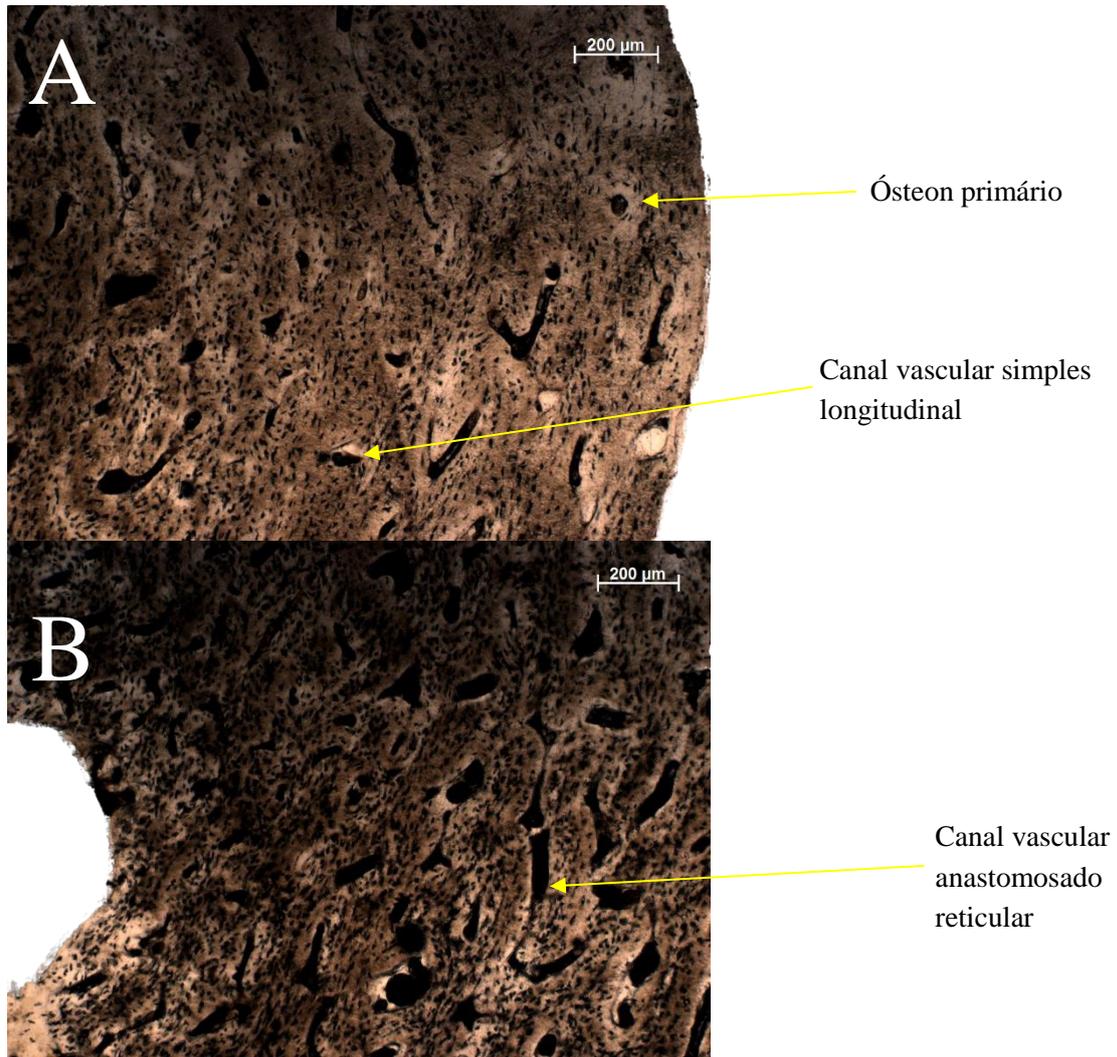


Fonte: MASCARENHAS JÚNIOR P. B. 2019

5.2.4 INDIVÍDUO 7 (2 ANOS)

A matriz celular apresenta um gradiente de vascularização, apresentando um maior número de canais vasculares (tanto simples como anastomosados longitudinais) no sentido endosteal. Há presença de ósteons primários, com tecido paralelo-fibroso na porção periosteal e entrelaçado-fibroso no endósteo, formando um complexo fibrolamelar (Figura 17).

Figura 17. Histologia do úmero do indivíduo 7VD5E248, que apresentava dois anos de idade no momento do abate. A: Região periosteal; B: Região endosteal.



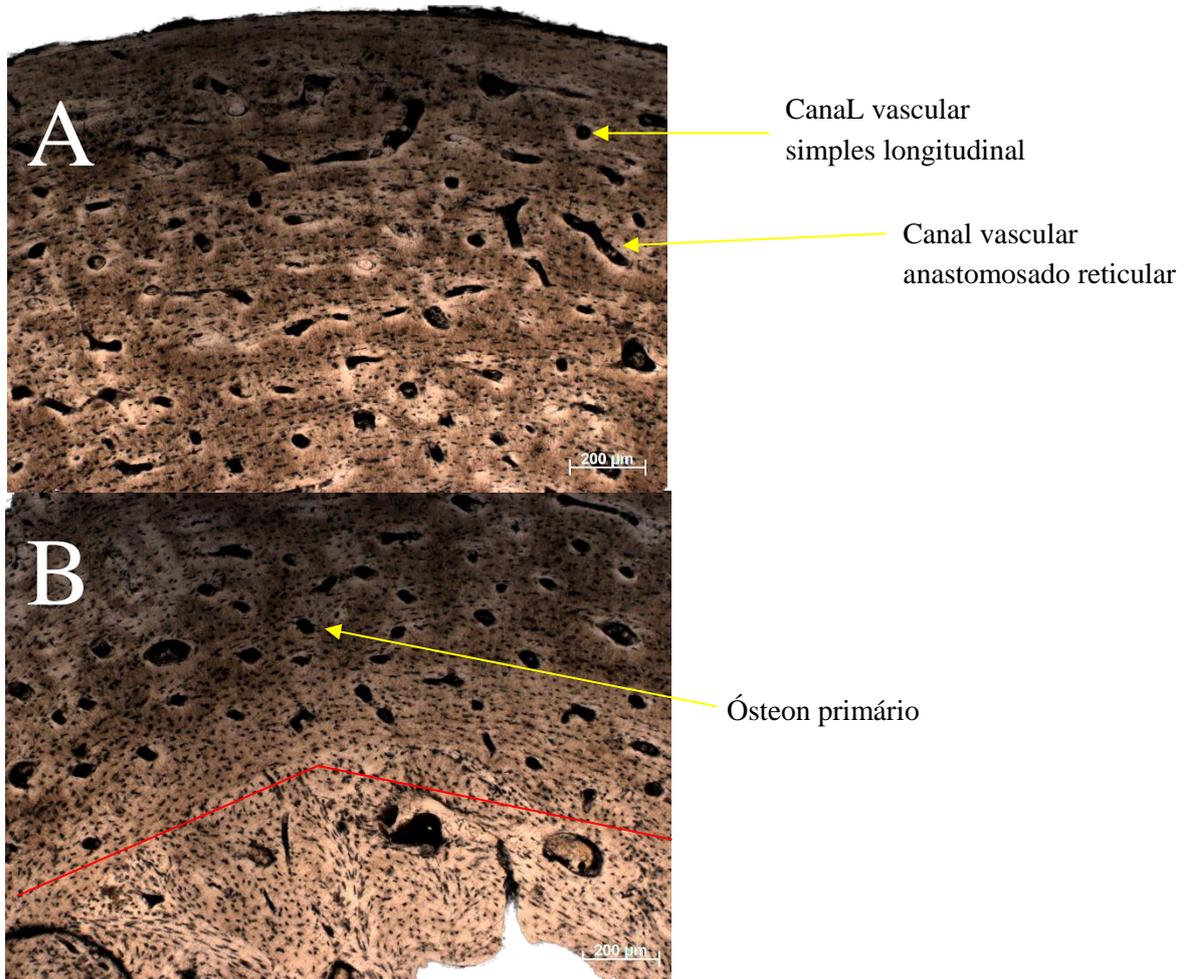
Fonte: MASCARENHAS JÚNIOR P. B. 2019

5.2.5 INDIVÍDUO 6 (3 ANOS)

Há vascularização moderada, com canais simples e poucos anastomosados, com padrões longitudinais e reticulares. O tecido paralelo-fibroso é identificado na região mais externa do córtex, com presença de ósteons primários. Na região supramedular, há um desarranjo na organização das fibras de colágeno, indicando um tecido entrelaçado-fibroso (Figura 18).

Figura 18. Histologia do úmero do indivíduo 6VD3D237, que apresentava três anos de idade no momento do abate. A linha vermelha indica a área de transição entre o tecido paralelo-fibroso e o tecido entrelaçado-fibroso. A: Região periosteal; B: Região endosteal.

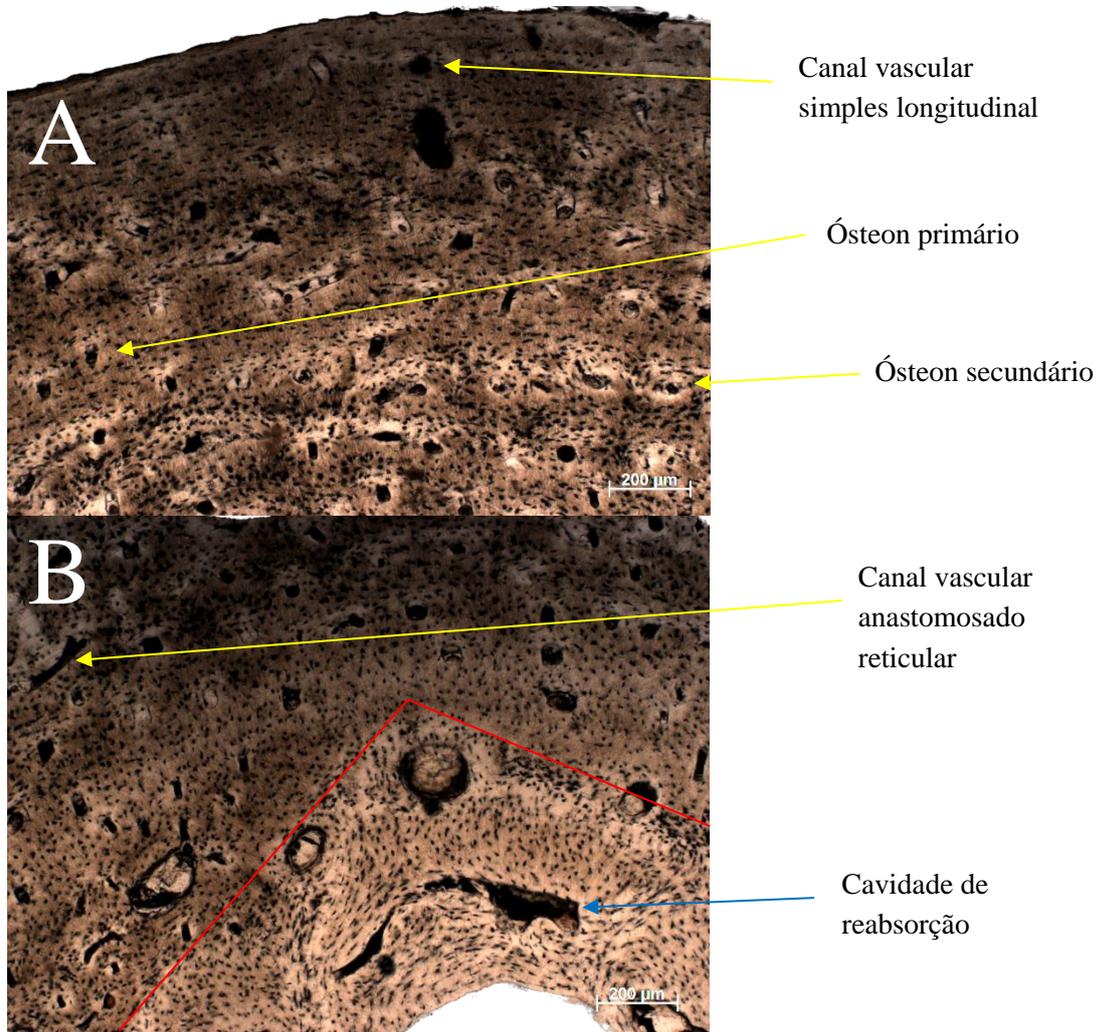
Fonte: MASCARENHAS JÚNIOR P. B. 2019



5.2.6 INDIVÍDUO 5 (3 ANOS)

A matriz apresenta redução da vascularização, apresentando poucos canais anastomosados reticulares, sendo a maioria dos canais considerados como simples. O tecido apresenta alternâncias entre organização das fibras de colágeno, indicando um tecido paralelo-fibroso na maior parte da região periosteal e tecido entrelaçado-fibroso na porção supra-medular. É possível identificar ósteons primários neste tecido, formando um complexo fibrolamelar, ósteons e secundários e cavidade de reabsorção óssea (Figura 19).

Figura 19. Histologia do úmero do indivíduo 6VD3D568, que apresentava três anos de idade no momento do abate. A linha vermelha indica a área de transição entre o tecido paralelo-fibroso e o tecido entrelaçado-fibroso. A: Região periosteal; B: Região endosteal.

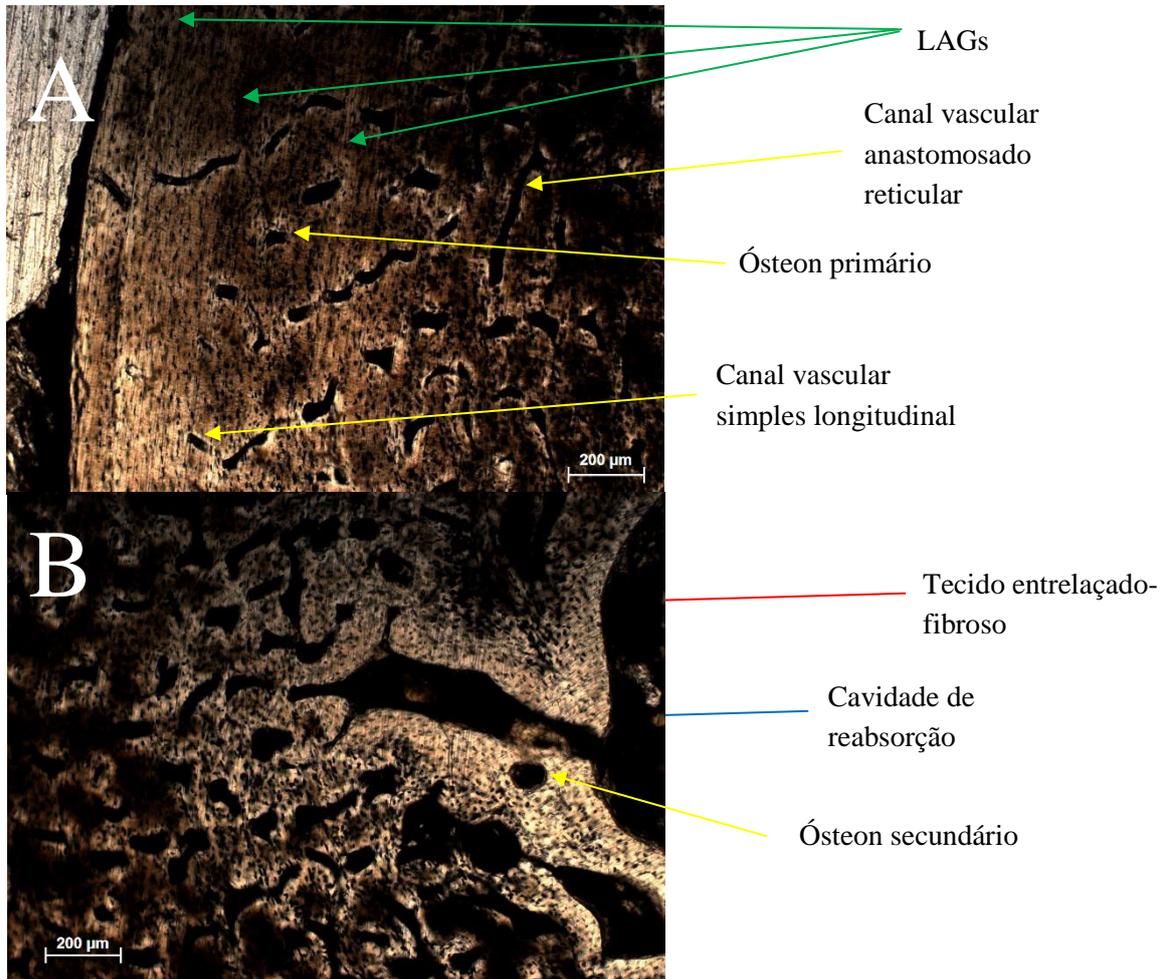


Fonte: MASCARENHAS JÚNIOR P. B. 2019

5.2.7 INDIVÍDUO 4 (4 ANOS)

Neste elemento ósseo é possível a identificação do tecidos lamelar-zonal na porção superior do córtex, com alternância de porções claras e escuras, apresentando pouca vascularização e com três linhas de crescimento observadas. Há também indicativo de tecido paralelo-fibroso a partir do centro do tecido, com ósteons primários e osteócitos espalhados pelo cortex. Na região supramedular, é possível observar um tecido entrelaçado-fibroso e ósteons secundários. A vascularização do córtex aumenta no sentido da medula, apresentando canais simples e anastomosados, com padrão reticular e também há cavidade de reabsorção (Figura 20).

Figura 20. Histologia do úmero do indivíduo 5VD6D467, que apresentava quatro anos de idade no momento do abate. A: Região periosteal; B: Região endosteal.

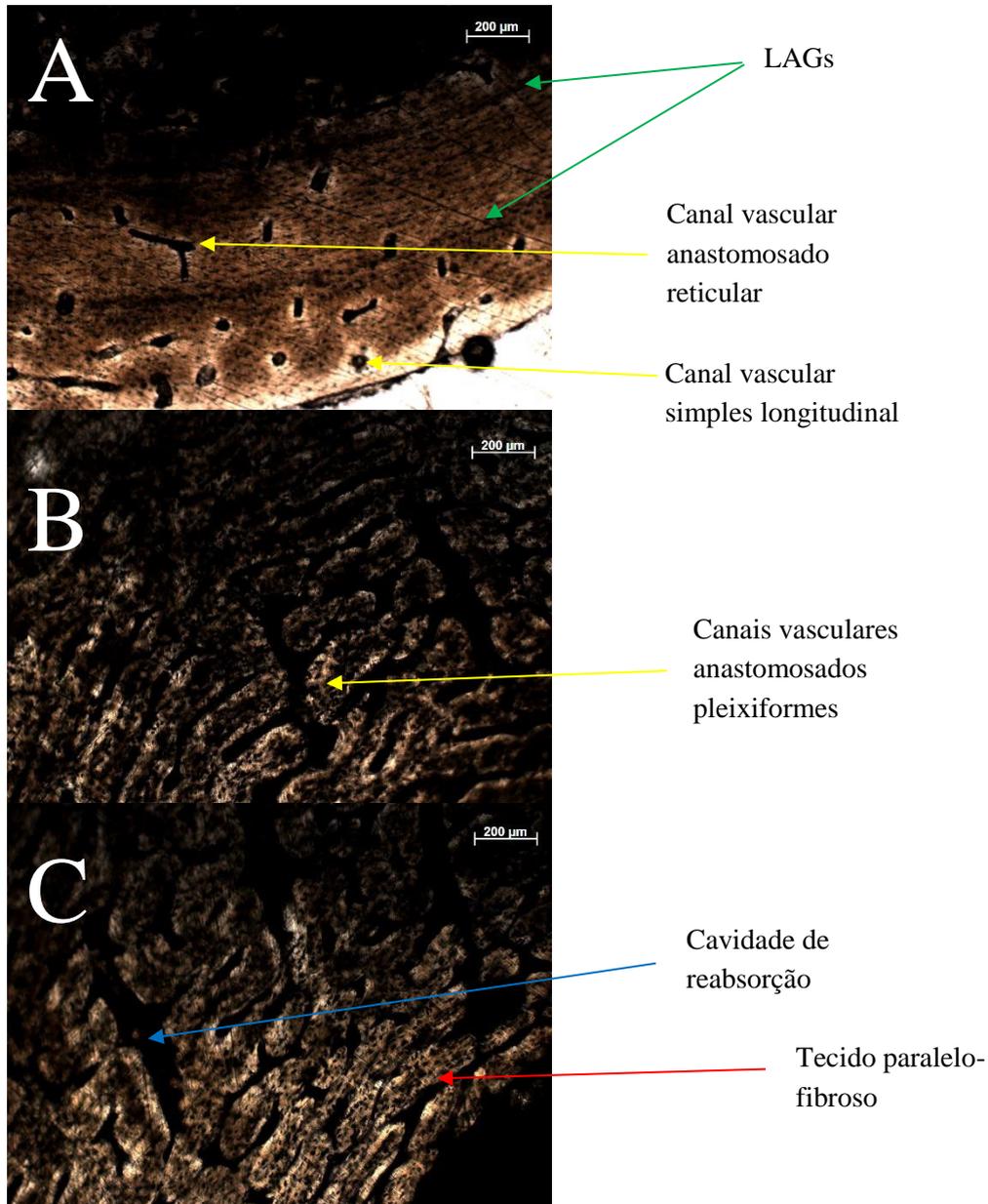


Fonte: MASCARENHAS JÚNIOR P. B. 2019

5.2.8 INDIVÍDUO 3 (4 ANOS)

O tecido encontrado é predominantemente lamelar na região mais periosteal, com pouca vascularização de canais simples longitudinais e anastomosados reticulares e indicativo de duas linhas de pausa de crescimento. Nas regiões mais interiores da matriz, no sentido medular, há presença de tecido paralelo-fibroso, com grandes quantidades de canais vasculares anastomosados plexiformes, com presença de cavidade de reabsorção óssea. (Figura 21).

Figura 21. Histologia do úmero do indivíduo 5VD2D348, que apresentava quatro anos de idade no momento do abate.. A: Região periosteal; B: Região medial; C: Região endosteal.



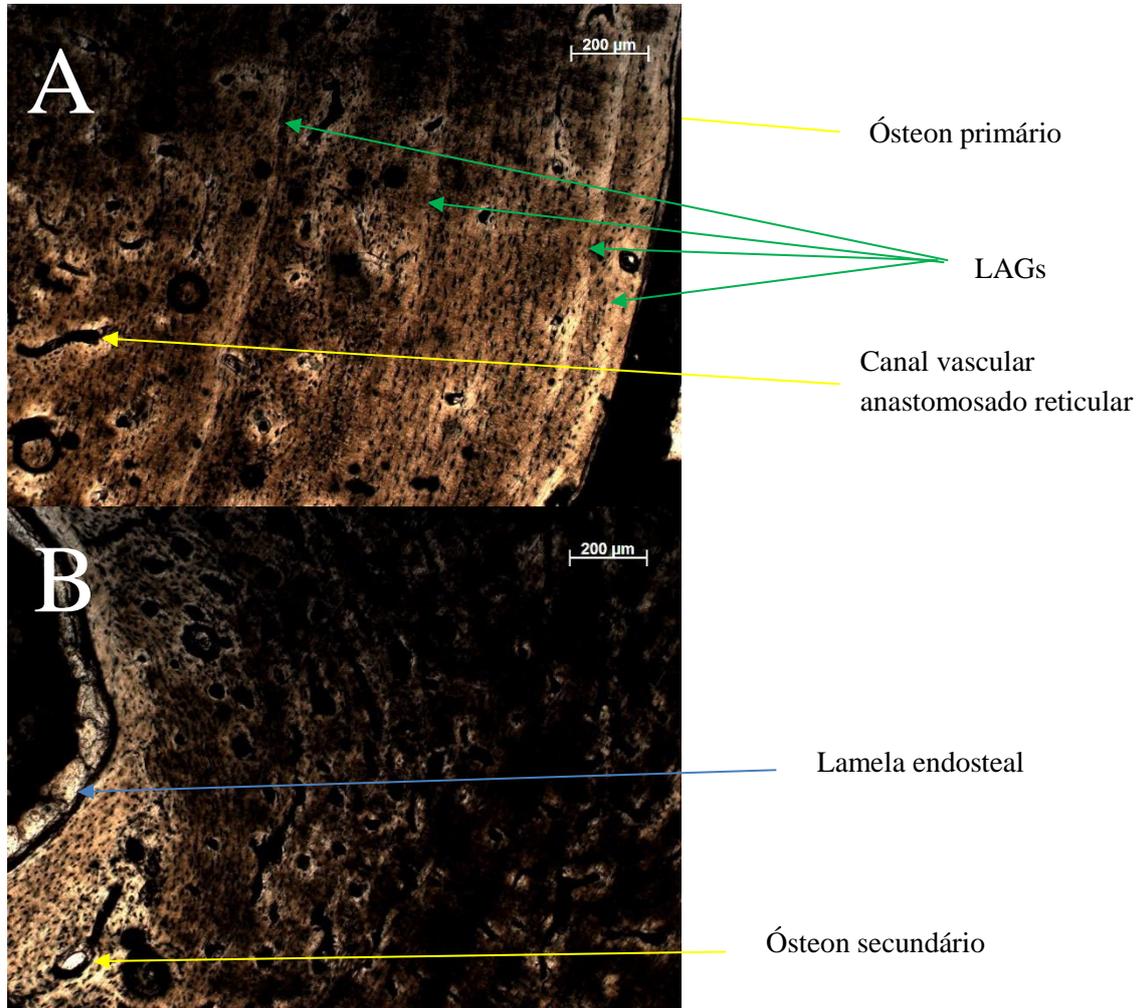
Fonte: MASCARENHAS JÚNIOR P. B. 2019

5.2.9 INDIVÍDUO 2 (6 ANOS)

Foram encontrados tecidos lamelar e paralelo-fibroso neste osso, com quatro linhas de crescimento observáveis. Ósteons primários são encontrados por todo o córtex e ósteons secundários na região mais próxima da medula. Osteócitos são encontrados espalhados pelo córtex. Acima da medula é possível identificar uma lamela endosteal. Na região periosteal, há pouca vascularização, com canais dispostos de forma longitudinal. No interior do córtex, é

possível identificar canais simples e poucos canais anastomosados, até chegar na região supramedular, onde a vascularização é pequena (Figura 22).

Figura 22. Úmero do indivíduo 3VD4E239, que apresentava seis anos de idade no momento do abate. A: Região periosteal; B: Região endosteal.

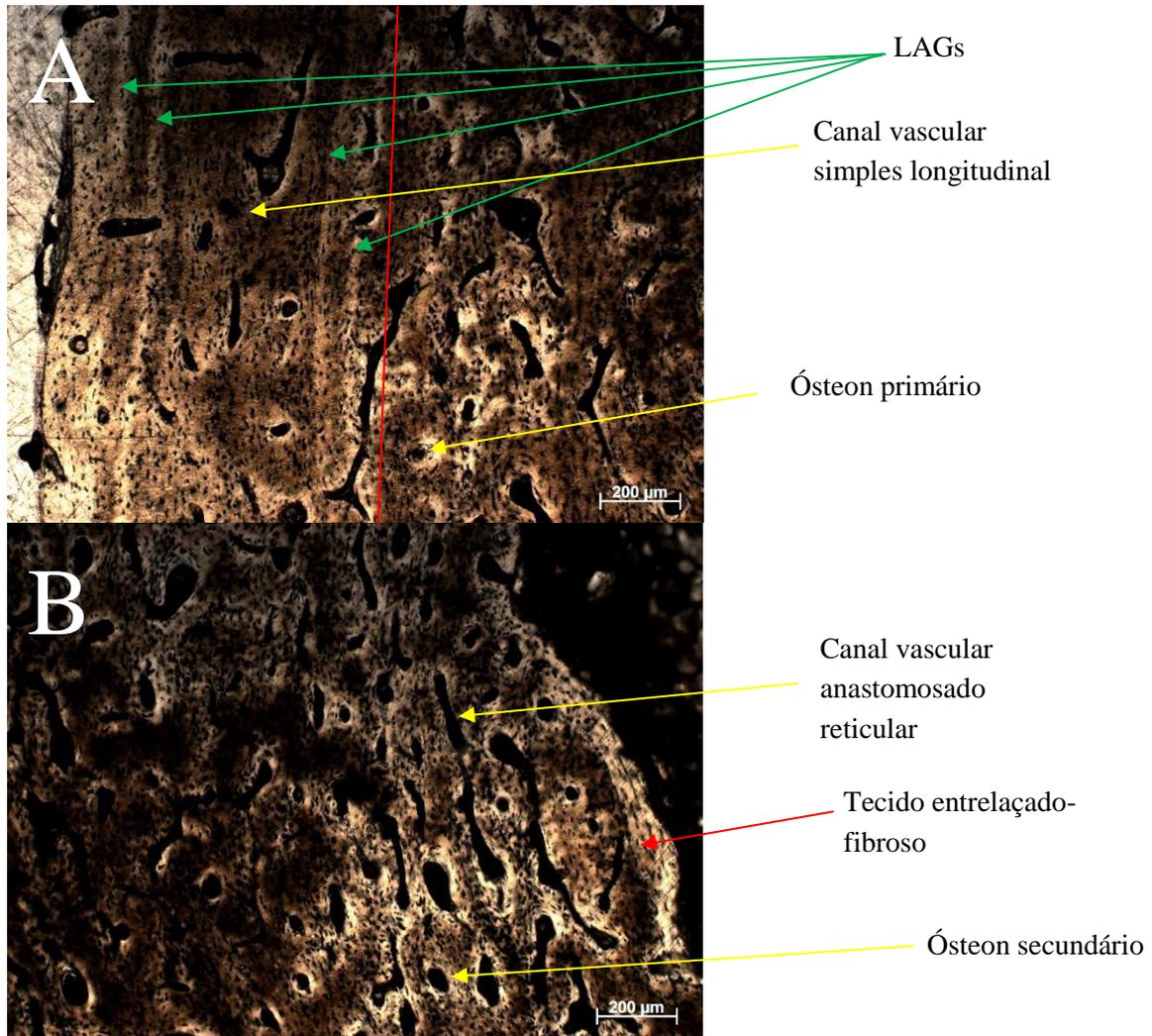


Fonte: MASCARENHAS JÚNIOR P. B. 2019

5.2.10 INDIVÍDUO 1 (6 ANOS)

É possível observar um gradiente tecidual no córtex ósseo. Na região periosteal há evidências de um tecido lamelar, com alternâncias de fases claras e escuras e com indicativo de quatro linhas de crescimento. Na região central do córtex o tecido observável é paralelo fibroso e, na parte supramedular, há um desarranjo nas fibras de colágeno, indicando a presença de um tecido entrelaçado-fibroso. O tecido é pouco vascularizado na região periosteal, aumentando gradativamente o número de canais vasculares simples e anastomosados reticulares no interior do córtex. Ósteons primários e secundários também são evidenciados (Figura 23).

Figura 23. Histologia do úmero do indivíduo 3VD4E259, que apresentava seis anos de idade no momento do abate. A: Região periosteal; B: Região endosteal.



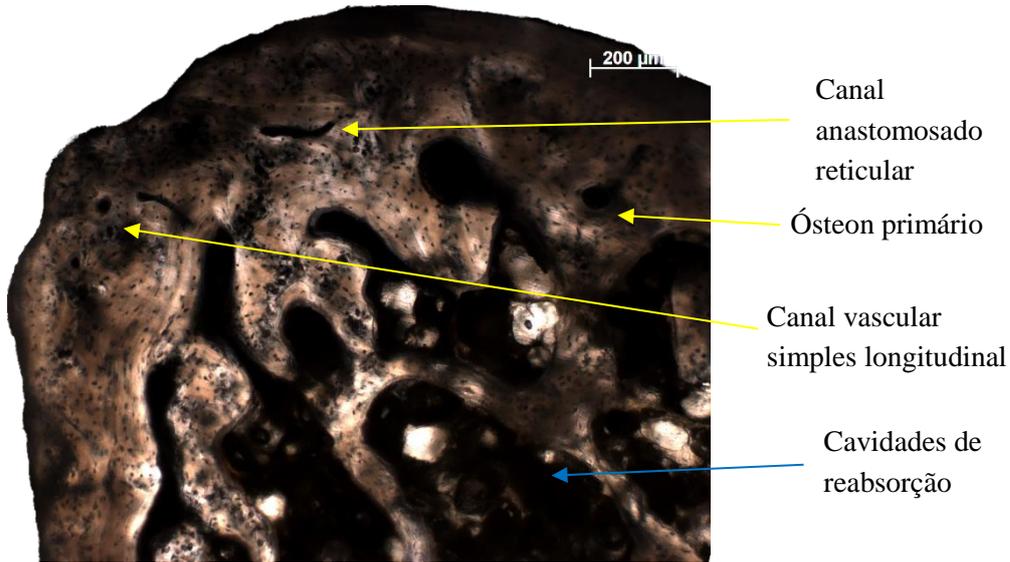
Fonte: MASCARENHAS JÚNIOR P. B. 2019

5.3 Costela

5.3.1 INDIVÍDUO 10 (1 ANO)

Há pouca vascularização evidenciada, com poucos canais vasculares simples e anastomosados. Também há indicativo de ósteons primários, com um tecido entrelaçado-fibroso. É possível observar grandes cavidades de reabsorção (Figura 24).

Figura 24. Histologia da costela do indivíduo 8VD2E345, que apresentava um ano de idade no momento do abate.

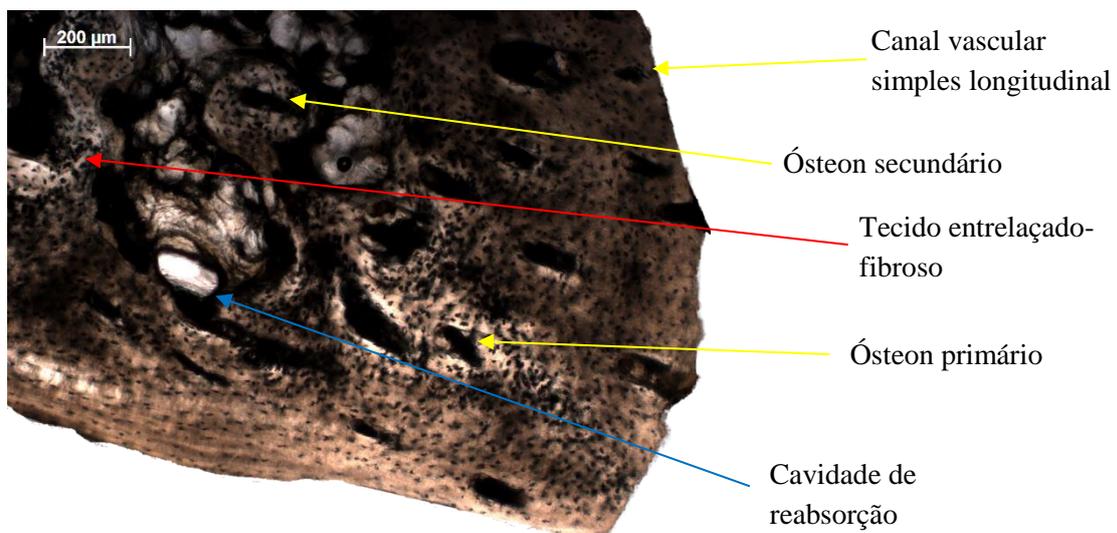


Fonte: MASCARENHAS JÚNIOR P. B. 2019

5.3.2 INDIVÍDUO 9 (1 ANO)

O tecido paralelo-fibroso é presente na região periosteal, vascularizada principalmente por canais simples e presença de ósteons primários. No interior do córtex, há uma desorganização nas fibras, que podem indicar a presença de um tecido entrelaçado-fibroso, com presença de ósteons secundários. Cavidades de reabsorção também são visíveis (Figura 25).

Figura 25. Histologia da costela do indivíduo 8VD7D9, que apresentava um ano de idade no momento do abate.

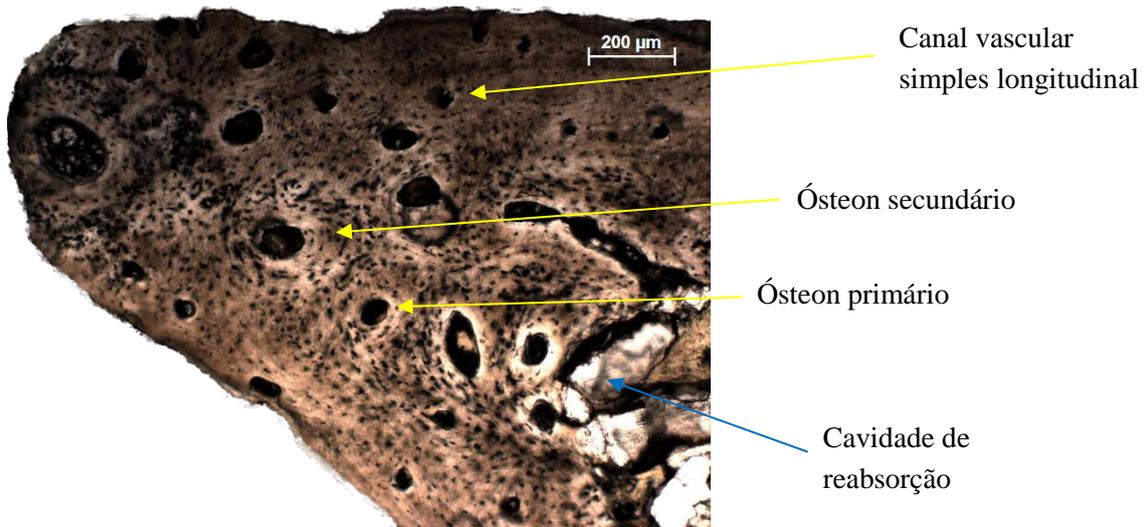


Fonte: MASCARENHAS JÚNIOR P. B. 2019

5.3.3 INDIVÍDUO 8 (2 ANOS)

Tecido paralelo-fibroso evidenciado, com canais vasculares simples longitudinais e presença de ósteons primários e secundários. Cavidade de reabsorção presente principalmente no interior do córtex (Figura 26).

Figura 26. Histologia da costela do indivíduo 7VD5D479, que apresentava um ano de idade no momento do abate.

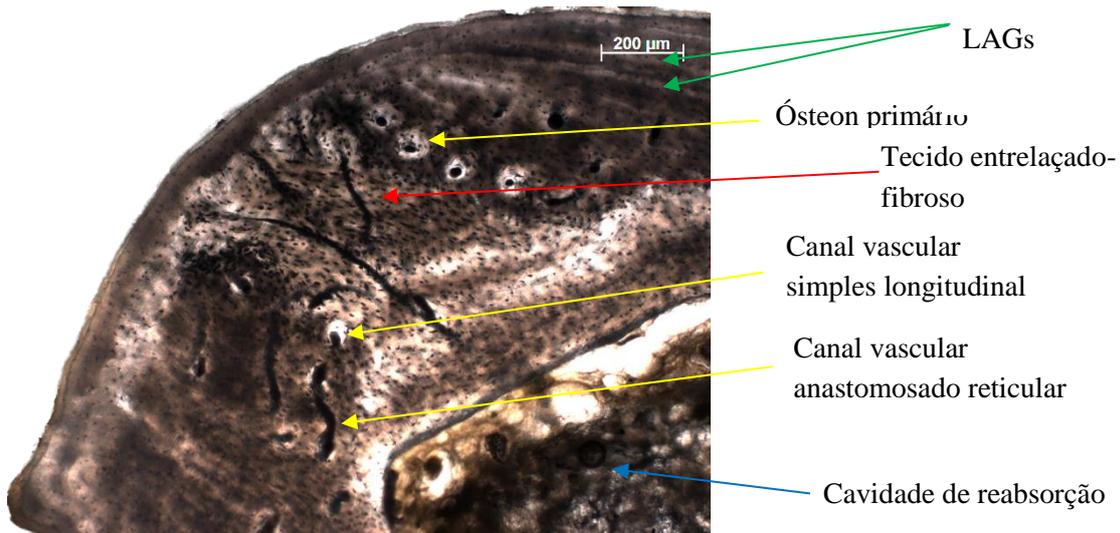


Fonte: MASCARENHAS JÚNIOR P. B. 2019

5.3.4 INDIVÍDUO 7 (ANOS)

Há pouca vascularização no córtex, com presença de canais simples longitudinais e anastomosados reticulares, com presença de ósteons primários. O tecido exibe um padrão paralelo fibroso, com locais de desorganização das fibras (entrelaçado-fibroso) e duas possíveis linhas de crescimento evidenciada no córtex. No interior da matriz óssea, há uma grande cavidade de reabsorção óssea (Figura 27).

Figura 27. Histologia da costela do indivíduo 7VD5E248, que apresentava um ano de idade no momento do abate.

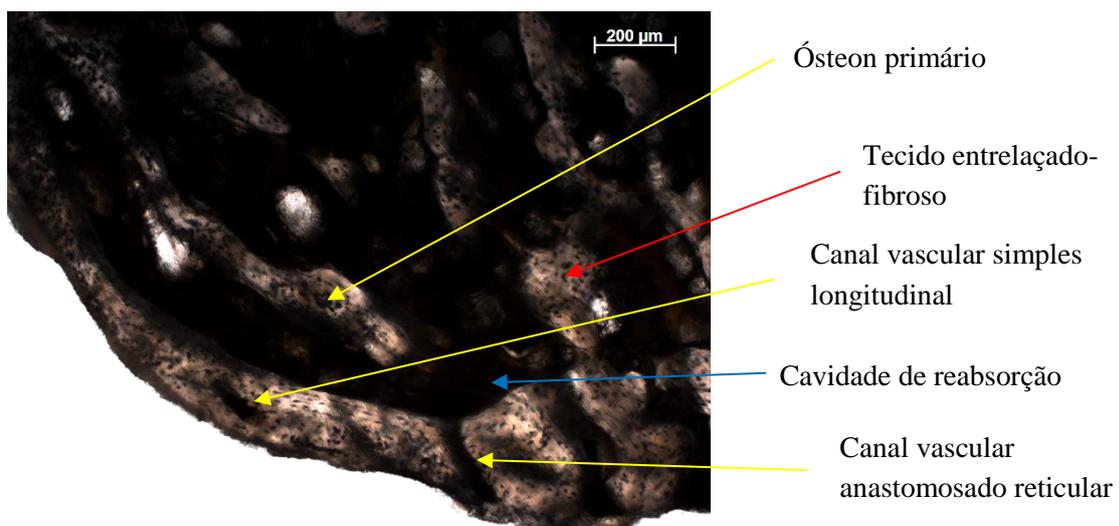


Fonte: MASCARENHAS JÚNIOR P. B. 2019

5.3.5 INDIVÍDUO 6 (3 ANOS)

Neste elemento ósseo há uma grande quantidade de cavidades de reabsorção, tomando a estrutura óssea até próximo da região periosteal. Há evidências de tecido paralelo-fibroso na região periosteal e tecido entrelaçado-fibroso nas porções entre as cavidades de reabsorção. Há pouca vascularização evidente, com canais simples longitudinais e anastomosados reticulares e ósteon primário (Figura 28).

Figura 28. Histologia da costela do indivíduo 6VD3D237, que apresentava um ano de idade no momento do abate

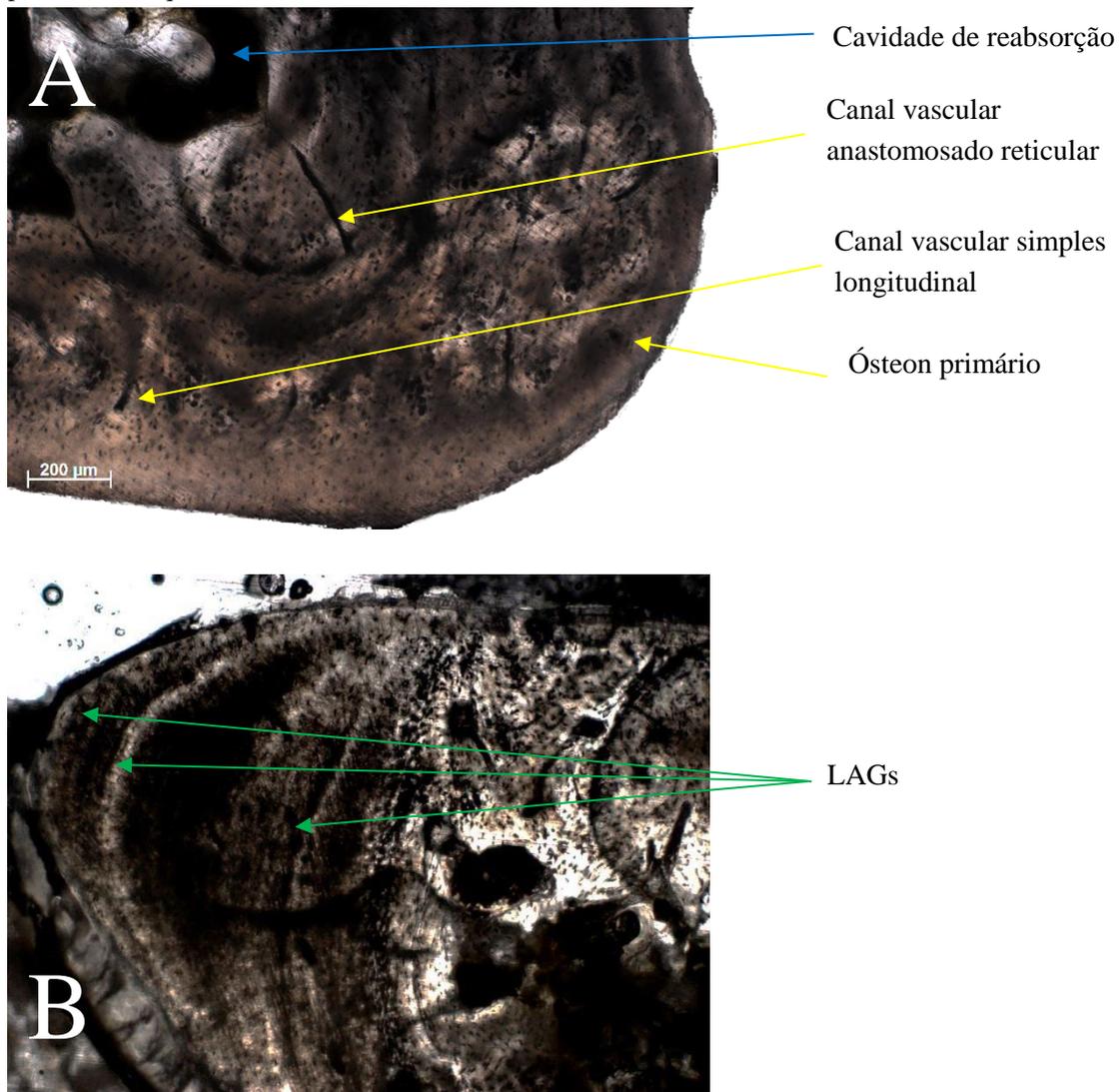


Fonte: MASCARENHAS JÚNIOR P. B. 2019

5.3.6 INDIVÍDUO 5 (3 ANOS)

O tecido encontrado é do tipo paralelo-fibroso, com vascularização moderada, apresentando canais vasculares simples longitudinais e anastomosados reticulares, bem como ósteons primários. Na região do interior do córtex, é possível identificar várias cavidades de reabsorção óssea. Em uma das porções periosteais, foram identificadas 3 linhas de crescimento (Figura 29).

Figura 29. Histologia da costela do indivíduo 6VD3D568, que apresentava um ano de idade no momento do abate. A: Porção endosteal à esquerda e porção periosteal à direita; B: Porção endosteal à direita e porção periosteal à esquerda.



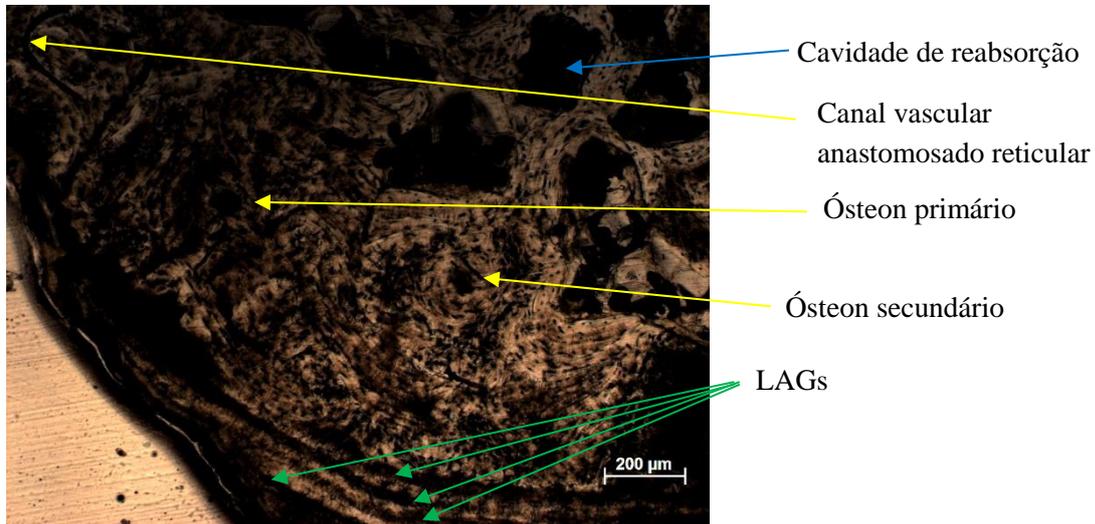
Fonte: MASCARENHAS JÚNIOR P. B. 2019

5.3.7 INDIVÍDUO 4 (4 ANOS)

O tecido paralelo-fibroso é encontrado neste osso, com vascularização moderada, apresentando canais vasculares simples longitudinais e anastomosados reticulares. Ósteons

primários e secundários podem ser observados. Além disso, quatro linhas de crescimento são observáveis na região periosteal (Figura 30).

Figura 30. Histologia da costela do indivíduo 5VD6D467, que apresentava um ano de idade no momento do abate.

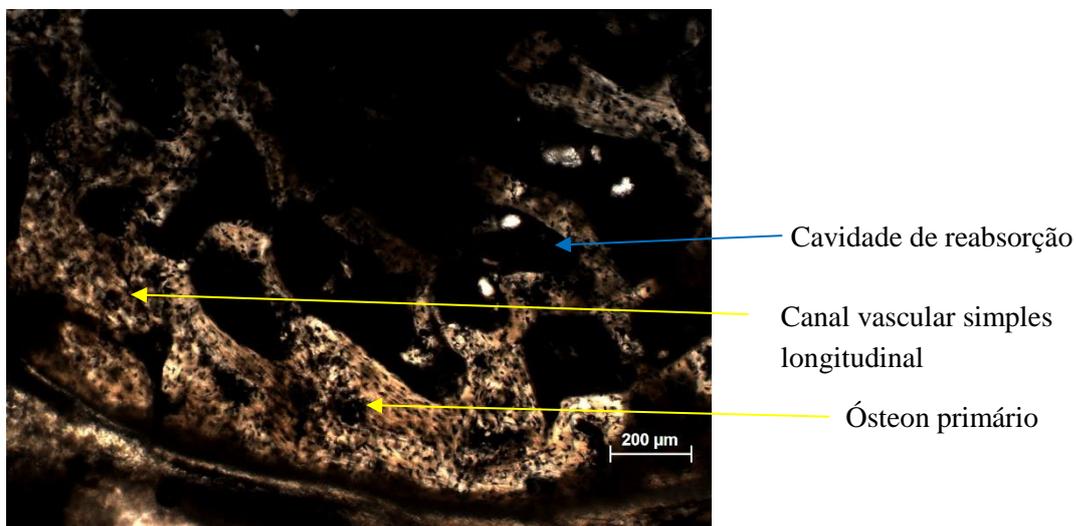


Fonte: MASCARENHAS JÚNIOR P. B. 2019

5.3.8 INDIVÍDUO 3 (4 ANOS)

Extensa expansão de cavidades de reabsorção, tomando grande parte do córtex ósseo. Pouca vascularização evidenciada, com ósteons primários e canais vasculares simples longitudinais. O tecido encontrado nesse elemento ósseo é o paralelo-fibroso (Figura 31).

Figura 31. Histologia da costela do indivíduo 5VD2D348, que apresentava um ano de idade no momento do abate.

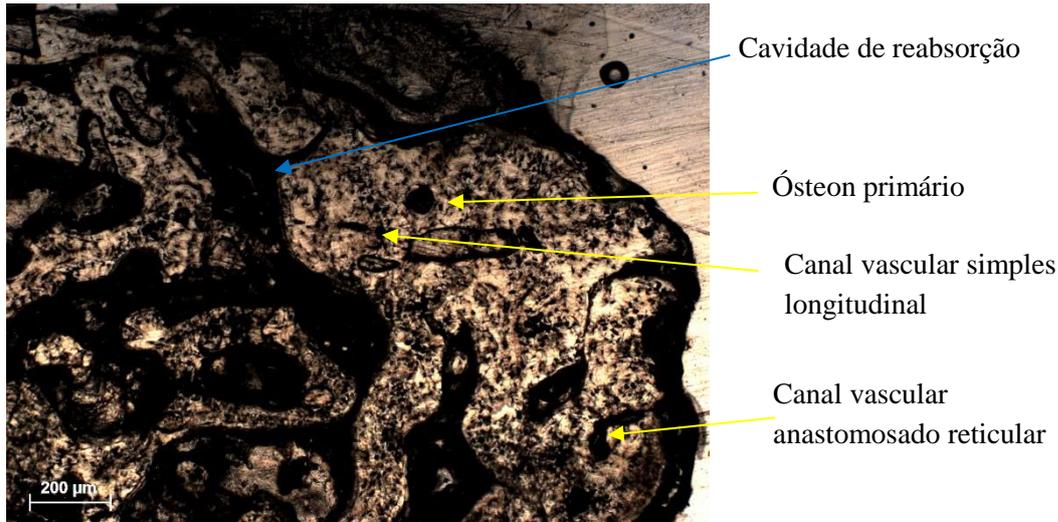


Fonte: MASCARENHAS JÚNIOR P. B. 2019

5.3.9 INDIVÍDUO 2 (6 ANOS)

Presença de várias cavidades de reabsorção óssea, com tecido entrelaçado-fibroso. O córtex é pouco vascularizado, com pequenas quantidades de canais vasculares simples longitudinais, anastomosados reticulares e ósteons primários (Figura 32).

Figura 32. Histologia da costela do indivíduo 3VD4E239, que apresentava um ano de idade no momento do abate.

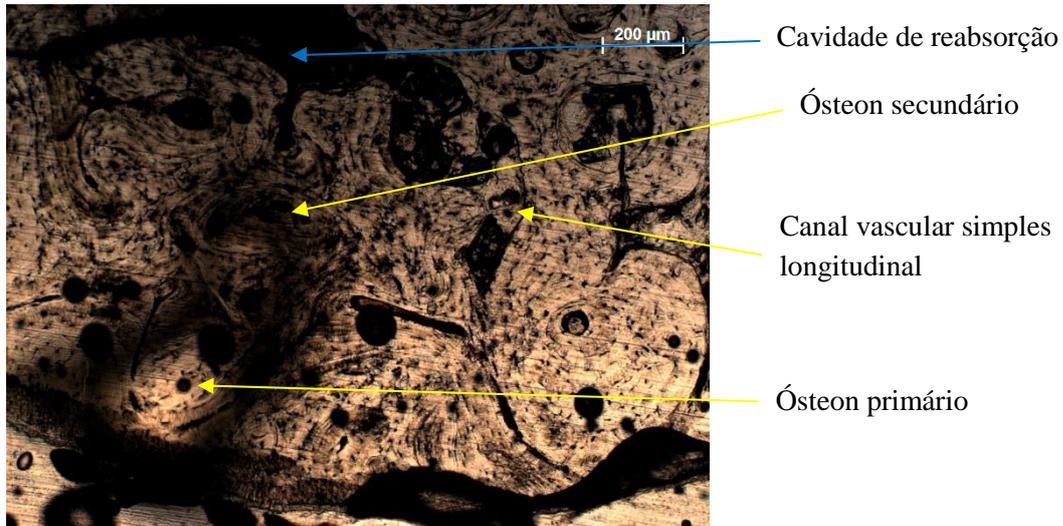


Fonte: MASCARENHAS JÚNIOR P. B. 2019

5.3.10 INDIVÍDUO 1 (6 ANOS)

Tecido paralelo-fibroso presente no córtex ósseo, com desorganização das fibras. Presença de ósteons primários e secundários, com evidências de formação de um sistema Haversiano, com baixa vascularização e canais simples longitudinais e anastomosados reticulares. Cavidades de reabsorção óssea concentradas na região mais endosteal do osso.

Figura 33. Histologia da costela do indivíduo 3VD4E259, que apresentava um ano de idade no momento do abate.



Fonte: MASCARENHAS JÚNIOR P. B. 2019

6 DISCUSSÃO

De maneira geral, as costelas mostraram um padrão de crescimento mais acelerado do que os úmeros. Enquanto os indivíduos mais jovens apresentavam tecidos majoritariamente entrelaçado-fibroso (de crescimento rápido) nos úmeros, as costelas demonstravam uma prevalência de tecido paralelo-fibroso. Além disso, a vascularização das costelas é bastante reduzida se comparada aos úmeros. Estas informações podem estar relacionadas com uma ausência de relação na tendência de crescimento entre esses elementos ósseos e leva a crer que as costelas podem ter um crescimento e remodelamento mais acelerado do que os úmeros (ENLOW; BROWN, 1958), demonstrando histovariabilidade nos elementos de um mesmo indivíduo (SAYÃO et al., 2016; SENA, 2017), corroborando com o que já foi descrito em animais da fauna atual da família Alligatoridae, nos gêneros *Alligator* e *Caiman* (WOODWARD et al., 2014; ANDRADE et al., 2018).

As costelas apresentaram um grande remodelamento na região medular, que se expandiu por grande parte do córtex ósseo, como já observado em outros Crocodylomorpha (ANDRADE et al., 2015; SAYÃO et al., 2016; SENA, 2017). Estes processos de remodelamento podem influenciar diretamente nas determinações da esqueletocronologia. Os indivíduos 7, 5 e 4 (dois, três e quatro anos, respectivamente) foram os únicos que apresentaram LAGs evidentes, corroborando o número de linhas com a idade dos animais, como encontrado em Waskow e Mateus (2017). Por outro lado, as demais costelas não apresentaram evidências de LAGs, indicando que o osso possivelmente já havia sido retrabalhado e as linhas destruídas. Esta deficiência na determinação das idades a partir de elementos axiais também já foi observada na literatura, tanto em indivíduos recentes (HUTTON, 1986) como em fósseis (SAYÃO et al., 2016; SENA, 2017). Devido à essa inconsistência nos padrões microanatômicos, as costelas não são os elementos mais indicados para a esqueletocronologia (PADIAN, 2011). Waskow e Sander (2014) afirmam que nas porções proximais das costelas registram as informações de crescimento, sugerindo que outros autores tenham retirado amostras de porções mais distais, não evidenciando assim as linhas. Neste trabalho, todas as amostras foram retiradas das porções proximais das costelas e em apenas três casos foi possível a identificação de LAGs, contradizendo essa premissa.

As análises realizadas mostraram não haver uma relação estatisticamente significativa entre o aumento do comprimento das costelas com o envelhecimento dos animais. Apesar disso, é possível fazer uma associação do tamanho do elemento axial com a presença de LAGs. Os três indivíduos que tiveram as linhas de pausa de crescimento evidenciadas (indivíduos 4, 5 e

7) apresentaram as menores costelas, o que pode estar relacionado diretamente com o remodelamento do tecido ósseo, que possivelmente ainda não tenha sido retrabalhado o suficiente para a destruição das linhas.

Os úmeros apresentaram tendências na microanatomia osteohistológica relacionadas com a idade do animal. Os jacarés mais novos (10, 9 e 7) apresentaram um padrão homogêneo na composição tecidual, sendo do tipo entrelaçado-fibroso, indicada pela grande desorganização das fibras. Este tecido é muito comum em indivíduos jovens, com altas taxas metabólicas e crescimento rápido, apresentando grande vascularização e ósteons primários (HUNTENLOCK et al., 2013). A presença do tecido entrelaçado-fibroso com ósteons primários, como já reportado em crocodilianos (DE RICQLÈS, 1983, REID, 1984; REID, 1990; REID, 1997; RICQLÈS et al., 2001; CHINSAMY e HILLENUS, 2004; TUMARKIN-DERATIZAN, 2007, WOODWARD et al., 2014; ANDRADE et al., 2018) são indicativos de estratégias fisiológicas de rápido crescimento, consideradas como um complexo fibrolamelar. Estas observações teciduais indicando crescimentos acelerados dão suporte à hipótese de que os crocodilianos retêm essa característica ancestral de Archosauria (CUBO et al., 2012), evidenciada em animais jovens.

A identificação de ossos fibrolamelares não é o esperado para crocodilianos, mas é identificada em jovens e com condições de crescimento ótimas em criatórios, alimentação constante e temperatura em torno de 30 °C a 33°C (LANG, 1987; WOODWARD et al., 2014). Durante o dia, os jacarés tendem a se deslocar dentro das baías, expondo-se às faixas de temperaturas mais próximas ao ótimo de crescimento (VERDADE; LARRIERA, 1995). É provável que durante o inverno e dias de temperaturas mais baixas os animais se encontrem nas áreas secas nos períodos de sol e nas áreas úmida durante a noite, devido às diferentes taxas de acumulo de calor entre o ar e a água, sendo o ar melhor dispensor de calor do que a água. Durante o verão ou em épocas de altas temperaturas, os animais devem seguir a lógica contrária, preferindo os microambientes úmidos durante o período de sol e os secos durante a noite (VERDADE et al., 1994). Apesar de temperaturas mais reduzidas, as baías apresentam estufas que tendem a reter o calor do espaço, deixando o ambiente com temperatura mais elevada em relação à temperatura externa (FINCATTI; VERDADE, 2002). É possível que, com esses estímulos térmicos e alimentação constante, os indivíduos tendam a manter maiores taxas de metabolismo basal, aumentando consequentemente seu crescimento de forma mais rápida com estratégias mais duradouras de metabolismo basal.

O indivíduo 8, apesar de ter a mesma idade do indivíduo 7 (2 anos), apresentou um início de estratégia de crescimento diferenciada, observada na composição tecidual dos indivíduos mais velhos. No decorrer do envelhecimento do animal, a tendência é que a taxa de crescimento rápido seja reduzida, havendo uma transição entre tecidos que demonstram taxas de metabolismo basal e tecidos de crescimento lento, em animais mais maduros (DE RICQLÈS, 2003; HUTTENLOCKER et al., 2013). Com o envelhecimento, a tendência tecidual foi lamelar-zonal e paralelo-fibrosa, principalmente na região periosteal, com gradientes associados à idade e refletindo um crescimento lento, mas sem finalização de um crescimento ósseo definitivo, evidenciado pela ausência de Sistema Fundamental Externo (DE RICQLÈS et al., 2003, ANDRADE et al., 2018). A diminuição da presença de complexos fibrolamelares implicam na predominância de taxas de crescimento lento, característica basal de tetrápodes em geral (WOODWARD et al., 2014).

As LAGs observadas fornecem pistas tanto para a esqueletocronologia como para as taxas de crescimento dos indivíduos de forma anual. Estas linhas delgadas que ocorrem paralelas à margem do periósteo (WILSON; CHIN, 2014) são observadas em maiores quantidades com o aumento da idade. De acordo com Castanet *et al.* (1993), deposição das LAGs ocorre de forma anual em crocodilianos, independente de alimentação, temperatura ou fotoperíodo, sugerido em testes comparados entre animais de cativeiro e selvagens. Neste trabalho, os indivíduos que estavam nos primeiros, segundos e terceiros anos de vida não apresentaram linhas evidentes e os indivíduos que estavam nos quartos e sextos anos de vida apresentaram números subestimados de marcas de crescimento em relação à idade. Em alguns indivíduos, é possível observar cavidades de reabsorção óssea, que remodelam, fortalecem ou corrigem danos (ENLOW, 1969). A mobilização de cálcio para a formação de ovos pode ser um fator de remodelamento ósseo em fêmeas de crocodilianos (HUTTON, 1986). Schweiter *et al.* (2007) afirma que ossos longos em fêmeas de *Alligator mississippiensis* silvestres não apresentam grandes atividades de remodelamento. Já Klein *et al.* (2009) diz que fêmeas de cativeiro exibem maior reabsorção nos ossos longos para mobilização mineral. Este processo pode destruir alguma marca de crescimento cíclico, causando variações na região cortical. Outro fator que pode influenciar no remodelamento ósseo são patologias de deficiência de cálcio, que frequentemente são observadas em animais de cativeiro (KLEIN et al., 2009).

Por outro lado, é possível que, devido à escassez de trabalhos realizados com uma amostragem elevada, a premissa de que as LAGs se formam necessariamente de forma anual em crocodilianos não seja condizente com os padrões em indivíduos recentes ou até mesmo

com o gênero *Caiman* ou com a espécie *C. latirostris*. Woodward *et al.* (2014) foram os únicos autores que publicaram trabalhos com amostragens maiores que 10 indivíduos (*A. mississippiensis*), o que elucida a insipiência de dados concretos sobre um padrão de formação das marcas de crescimentos em crocodilianos.

A partir das LAGs, foi possível identificar a velocidade de crescimento dos animais que tiveram as marcas evidenciadas. Os indivíduos de quatro anos apresentaram um espaçamento relativamente similar entre as linhas de pausa, o que pode indicar uma taxa de crescimento semelhante entre o primeiro e o segundo ano. A terceira linha do indivíduo 4 encontra-se próxima ao perióstio, indicando que o animal veio a óbito antes da formação da quarta LAG. Já nos indivíduos de seis anos apresentaram disposições diferentes entre as marcas. O indivíduo 2 apresentou grande espaçamento entre a primeira e segunda LAG e entre a segunda e a terceira. Entre a terceira e a quarta a distância torna-se reduzida, levando a crer que o animal cresceu com altas taxas entre os três primeiros anos e teve um declínio na curva de crescimento no quarto ano. O indivíduo 1, diferentemente, apresentou um pequeno espaçamento entre a primeira e a segunda LAG, com um grande espaçamento entre a segunda e a terceira e, novamente, tendo uma redução entre a terceira e a quarta, indicando que o animal teve baixa taxa de crescimento até chegar no terceiro ano de vida, crescendo mais acelerado até atingir o quarto ano, em que a deposição torna-se baixa novamente. Tanto o indivíduo 1 como o indivíduo 2 foram abatidos antes da formação da possível quinta linha. Estas diferenças nos padrões de crescimento podem estar relacionadas tanto a fatores fisiológicos intrínsecos dos animais que influenciem no crescimento, como também em fatores externos, como dominância na competição por alimentação e escolha de faixas térmicas nas baias (HUTTON, 1986; VERDADE *et al.*, 1994).

C. latirostris, assim como as demais espécies de crocodilianos atuais, apresentam hábitos semi-aquáticos, refletidos na caracterização óssea. Foram identificados ossos densos, que permitem uma estabilização no corpo do animal a água, equilibrando a flutuabilidade (FISH, 1984; HOUSSAYE, 2009, 2012). A presença de um córtex muito espesso com cavidade medular limitada nos elementos apendiculares são indicativos de padrões ósseos de animais com esse tipo de hábito (SAYÃO *et al.*, 2016). Além das adaptações para o ambiente aquático, *C. latirostris*, assim como outros crocodilianos (HOUSSAYE *et al.*, 2016) apresentou organização tubular nos ossos, característica de animais adaptados à eficiente locomoção em ambientes terrestres. Em táxons onde há máxima carga gravitacional agindo sobre os indivíduos, as forças nos ossos longos são máximas perto da superfície óssea e menores no

núcleo, fazendo com que a cavidade medular reduza o peso sem que haja alteração na força efetiva do osso (KARDONG, 2006).

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A histovariabilidade entre elementos ósseos apicais (úmeros) e axiais (costelas) de um mesmo indivíduo é bem clara e sugere uma necessidade de cautela quando inferências relacionadas a osteohistologia foram realizadas. As costelas, por apresentarem uma taxa de crescimento mais acelerado do que os úmeros e por apresentar grandes remodelamentos, não são indicadas para determinações esqueletocronológicas. A presença de grandes cavidades de reabsorção, pouca vascularização e tecidos com maior organização das fibras (paralelo-fibroso ou lamelar) indicam que estes elementos crescem mais rapidamente que os ossos dos membros, provavelmente atingindo uma maturidade óssea mais precocemente.

Apesar do que é descrito na literatura, a realização do corte histológico priorizando a região proximal da costela não mostrou total eficiência na determinação da esqueletocronologia, sendo um método incerto para predição de idades. A determinação da idade a partir da contagem de linhas de pausa de crescimento só foi possível em três indivíduos, sendo os três com os elementos de menor tamanho, levando a crer que o tecido ósseo destes animais ainda não haviam sido retrabalhados ao ponto de destruírem as LAGs, sugerindo que estas determinações a partir do elemento axial podem variar de acordo com fatores intrínsecos ou externos, que influenciam na remodelagem do tecido ósseo, e não como um fator relacionado necessariamente com a idade.

Os úmeros apresentaram uma tendência na conformidade tecidual, mostrando-se bons elementos para a determinação de prováveis estágios ontogênicos e taxas de crescimento. Foi possível a identificação de um claro gradiente tecidual, com indivíduos mais jovens apresentando mais desorganização nas fibras, com tipologia de tecido prevalentemente entrelaçada-fibrosa, sendo observados complexos fibrolamelares e grande vascularização, indicando estratégias de crescimento rápido. Com o envelhecimento, os tecidos de rápido crescimento e a vascularização diminuem, surgindo uma maior organização tecidual, com presença de tecido lamelar e paralelo-fibroso. Dentro do córtex ósseo de um mesmo indivíduo foi possível identificar a presença dos reflexos às estratégias de crescimento rápido e de crescimento lento, indicando uma relação com o tempo de abandono do metabolismo basal e de uma estratégia de crescimento lento. Quanto mais tecido organizado, há mais tempo o indivíduo deixou a estratégia de crescimento rápido.

A determinação da idade dos indivíduos nos úmeros não foi eficiente de acordo com o que se foi observado nas amostras. O número de LAGs observadas não condiziam com a

verdadeira idade do animal, estando em quantidade subestimada. O surgimento de linhas de forma anual, independente de agentes externos, é descrito amplamente na literatura, inclusive no grupo Crocodylia. Este quantitativo subestimado sugere que algum fator intrínseco ou externo pode ter influenciado na não formação ou no atraso da formação das LAGs ou que *C. latirostris* não siga o padrão anual de deposição das linhas.

Uma possibilidade que tenha levado a falta de relação entre o número de linhas e a idade dos animais pode estar relacionada ao retrabalhamento ósseo. Indivíduos fêmeas tendem a redistribuir cálcio no seu organismo, retirando dos ossos e enviando para a oogênese, o que pode levar à um processo de remodelamento ósseo e destruição das LAGs, como pode ser sugerido pela presença de cavidades de reabsorção observadas em alguns animais. Outra possibilidade é de alguma patologia que leve à uma deficiência de cálcio, erodindo o tecido ósseo, levando ao remodelamento. Sugere-se que futuras análises mais detalhadas sejam realizadas para eliminar estas lacunas, como o conhecimento prévio sobre a saúde dos animais em relação a patologias de deficiência de cálcio e trabalhos comparativos entre sexos de indivíduos de mesma idade. identificar

A presença de tecidos entrelaçados-fibrosos e de complexos fibrolamelares não são muito comuns em crocodilianos, excetuando-se animais jovens com metabolismo basal e de cativeiro. As condições de temperatura elevada e alimentação constante tendem a levar os indivíduos de *C. latirostris* a acelerarem seu crescimento, refletindo em uma maior composição tecidual de rápido crescimento, se comparado à outros animais de metabolismo termodependentes submetidos a condições de estresse, como baixas temperaturas e escassez de alimentação.

A composição óssea de *C. latirostris* também reflete nos hábitos da espécie e corrobora com hábitos do grupo Crocodylia, servindo como bom modelo inferencial. As características observadas em relação à espessura do córtex ósseo, limitação da cavidade medular e organização tubular nos elementos apendiculares indicam uma adaptação ao hábito semi-aquático, com possibilidade de locomoção eficiente tanto no ambiente terrestre com nos ambientes aquáticos.

Concluimos assim que *C. latirostris* apresenta características osteohistológicas que corroboram em maioria com o que já se foi descrito no grupo Crocodylia, apresentando exceções que devem ser discutidas com a ampliação do conhecimento da microanatomia óssea a respeito destes animais e de grupos filogeneticamente próximos. As interpretações realizadas

forneem boas ferramentas para a realizaçãõ de inferências relacionadas à diferentes estágios ontogênicos, hábitos, biomecânica, taxas de crescimento e influências ambientais, como alimentação e temperaturas submetidas.

REFERÊNCIAS

- AMAVET, P. *et al.* Genetic and morphometric variability in *Caiman latirostris* (broad-snouted caiman), Reptilia, Alligatoridae. **Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology**, Hoboken, v. 311, n. 4, p. 258-269, 2009.
- ANDRADE, R. C. *et al.* New data about the presence and absence of the external fundamental system in archosaurs. **Cadernos de Cultura e Ciência**, Crato, v. 14, n. 1, p. 200-211, 2015.
- ANDRADE, R. C. L. P. *et al.* Osteohistological study on both fossil and living Caimaninae (Crocodyliformes, Crocodylia) from South America and preliminary comments on growth physiology and ecology. **Historical Biology**, Londres, p. 1-10, 2018.
- BARBOZA, N. N. *et al.* El medio interno de *Caiman latirostris* en cautiverio. Influencia del sexo, crecimiento y estación del año. **Revista Veterinaria**, Buenos Aires, v. 19, n. 1, p. 33-41, 2008.
- BAYLISS, P. Survey methods and monitoring within crocodile management programmes. **Wildlife management: Crocodiles and alligators**, p. 157-175, 1987.
- BILEZIKIAN, J. P.; RAISZ, L. G.; MARTIN, T. J. (Ed.). **Principles of bone biology**. Nova Iorque: Academic Press, 2008. 1900 p.
- BORTEIRO, C. *et al.* Food habits of the Broad-snouted Caiman (*Caiman latirostris*: Crocodylia, Alligatoridae) in northwestern Uruguay. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, Amsterdam, v. 44, n. 1, p. 31-36, 2009.
- BORTEIRO, C. *et al.* Geographic distribution and conservation status of *Caiman latirostris* (Crocodylia, Alligatoridae) in Uruguay. **Phyllomedusa: Journal of Herpetology**, Belo Horizonte v. 5, n. 2, p. 97-108, 2006.
- BOTFALVAI, G.; PRONDVAI, E.; ÓSI, A. Inferred bite marks on a Late Cretaceous (Santonian) bothremydid turtle and a hylaeochampsid crocodylian from Hungary. **Cretaceous Research**, Londres, v. 50, p. 304-317, 2014.
- BRAZAITIS, P. *et al.* Threats to Brazilian crocodylian populations. **Oryx**, Londres, v. 30, n. 04, p. 275-284, 1996.
- BROCHU, C. A. A new alligatorid from the lower Eocene Green River Formation of Wyoming and the origin of caimans. **Journal of Vertebrate Paleontology**, Norman, v. 30, n. 4, p. 1109-1126, 2010.
- BROCHU, C. A. Phylogeny, systematics, and historical biogeography of Alligatoridae. **Journal of Vertebrate Paleontology**, Norman, v. 6, p. 9-100, 1999.
- BUCHWITZ, M. *et al.* Osteoderm microstructure indicates the presence of a crocodylian-like trunk bracing system in a group of armoured basal tetrapods. **Acta Zoologica**, Kraków, v. 93, n. 3, p. 260-280, 2012.
- BULL, J. J. Sex determination in reptiles. **Quarterly Review of Biology**, Stony Brook, v. 55, n.1, p. 3-21, 1980.

- BURELLA, P. M.; SIMONIELLO, M. F.; POLETTA, G. L. Evaluation of stage-dependent genotoxic effect of Roundup®(glyphosate) on *Caiman latirostris* embryos. **Archives of environmental contamination and toxicology**, Nova Iorque, v. 72, n. 1, p. 50-57, 2017.
- BURGER, E. H.; KLEIN-NULEND, J.; SMIT, T. H. Strain-derived canalicular fluid flow regulates osteoclast activity in a remodelling osteon—a proposal. **Journal of biomechanics**, Nova Iorque, v. 36, n. 10, p. 1453-1459, 2003.
- BURNS, M E.; VICKARYOUS, M. K.; CURRIE, Philip J. Histological variability in fossil and recent alligatoroid osteoderms: systematic and functional implications. **Journal of Morphology**, Hoboken, v. 274, n. 6, p. 676-686, 2013.
- BYBEE, P. J.; LEE, A. H.; LAMM, E. T. Sizing the Jurassic theropod dinosaur *Allosaurus*: assessing growth strategy and evolution of ontogenetic scaling of limbs. **Journal of Morphology**, Hoboken, v. 267, n. 3, p. 347–359, 2006.
- CAMPOS, Z.; MOURÃO, G. *Caiman latirostris* (Broad-snouted caiman). Nesting. **Herpetological Review**, Lawrence, v. 26, n. 4, p. 203-204, 1995.
- CANESINI, G. *et al.* Temperature-vs. estrogen-induced sex determination in *Caiman latirostris* embryos: Both females, but with different expression patterns of key molecules involved in ovarian development. **General and comparative endocrinology**, Nova Iorque, v. 259, p. 176-188, 2018.
- CARREIRA, L. B. T.; SABBAG, O. J.; ABE, A. S. Viabilidade econômica da criação de matrizes e reprodutores de *Caiman latirostris* no estado de São Paulo. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 41, n. 3, p. 687-695, 2015.
- CARVALHO JR, E. AR; VERAS BATISTA, V. B.G. Distribution and abundance of *Caiman latirostris* and *Paleosuchus palpebrosus* at Grande Sertão Veredas National Park, Central Brazil. **Herpetological Conservation and Biology**, Texarkana, v. 8, n. 3, p. 771-777, 2013.
- CHINSAMY, A. Assessing the biology of fossil vertebrates through bone histology. **Palaeontologia Africana**, Joanesburgo, v. 33, p. 29–35, 1997.
- CHINSAMY, A.; CODORNIÚ, L.; CHIAPPE, L. Palaeobiological implications of the bone histology of *Pterodaustro guinazui*. **The Anatomical Record**, Hoboken, v. 292, n. 9, p. 1462-1477, 2009.
- CHINSAMY, A.; HILLENIUS, W. J. Physiology of nonavian dinosaurs. In: WEISHAMPEL, D. B.; DODSON, P.; OSMOLSKA, H. (Eds.). **The Dinosauria**. Berkeley: University of California Press, 2004. p. 643–659.
- CHINSAMY, A.; RAATH, M. A. Preparation of fossil bone for histological examination. **Paleontologia Africana**, Joanesburgo v. 29, n. 1, p. 39-44, 1992.
- CONVENTION ON INTERNATIONAL TRADE IN ENDANGERED SPECIES OF WILD FAUNA AND FLORA. **Ranching and trade in ranched specimens of species transferred from Appendix I to Appendix II**. Disponível em < <https://www.cites.org/eng/res/11/11-16R15.php>>. Acesso em 13/09/2018.
- CLARKE, Bart. Normal bone anatomy and physiology. **Clinical journal of the American Society of Nephrology**, Washington, v. 3, n. Supplement 3, p. S131-S139, 2008.

COMPANY, J.; PEREDA-SUBERBIOLA, X. Long bone histology of a eusuchian crocodyliform from the Upper Cretaceous of Spain: Implications for growth strategy in extinct crocodiles. **Cretaceous Research**, Londres, v. 72, p. 1-7, 2017.

CORMACK, D. H.; HAM, A. W.. **Ham's histology**. 9. ed. Nova Iorque: Lippincott, 1987. 732 p.

COUTINHO, M. E. *et al.* Avaliação do risco de extinção do jacaré-de-papo-amarelo *Caiman latirostris* (Daudin, 1802) no Brasil. **Biodiversidade Brasileira**, Brasília, n. 1, p. 13-20, 2013.

CRAIGHEAD SR, F. C. **The role of the alligator in shaping plant communities and maintaining wildlife in the southern Everglades**. 1 ed. Maitland: Florida Audubon Society, 1968. 94 p.

CROCODILE SPECIALIST GROUP. **Conservation status**. [S. l.]: Web365 Darwin, c2019. Disponível em <<http://www.iucnscg.org/pages/Conservation-Status.html>>. Acesso em 13 set. 2018.

CUBO, J. *et al.* Paleohistological estimation of bone growth rate in extinct archosaurs. **Paleobiology**, Lawrence, v. 38, n. 2, p. 335-349, 2012.

CUBO, J.; KÖHLER, M.; DE BUFFRÉNIL, V. Bone histology of *Iberosuchus macrodon* (Sebecosuchia, Crocodylomorpha). **Lethaia**, Oslo, v. 50, n. 4, p. 495-503, 2017.

CUVIER, G. Sur les ossemens fossiles de crocodiles et particulierement sur des environs du Havre de Honfleur, accedes remarques sur les squelettes des sauriens de la Thuringie. **Annales du Museum d'Histoire Naturelle**, Paris, p. 73-110, 1807.

DALTRY, J. C. *et al.* Successes and failures of crocodile harvesting strategies in the asia pacific region. In: AGUIRRE; A. A.; SUKUMAR; R. (Eds). **Tropical Conservation: Perspectives on Local and Global Priorities**. Oxford: OUP USA, 2016. 345 p.

DE RICQLÈS, A. J. *et al.* Palaeohistology of the bones of pterosaurs (Reptilia: Archosauria): anatomy, ontogeny, and biomechanical implications. **Zoological Journal of the Linnean Society**, Londres, v. 129, n. 3, p. 349-385, 2000.

DE RICQLÈS, A. J.; PADIAN, K.; HORNER, J. R. On the bone histology of some Triassic pseudosuchian archosaurs and related taxa. **Annales de Paléontologie**, Paris, p. 67-101, 2003.

DE RICQLÈS, A.; PADIAN, K.; HORNER, J. R. The bone histology of basal birds in phylogenetic and ontogenetic perspectives. In: GAUTHIER, J. *et al.* **New perspectives on the origin and early evolution of birds**: proceedings of the international symposium in honor of John H. Ostrom. New Haven: Academic press, 2001. p. 411-426.

DIEFENBACH, C. Ampullarid gastropod - staple food of *Caiman latirostris*? **Copeia**, Nova Iorque, p. 162-163, 1979.

DIEFENBACH, C. Thermal and feeding relations of *Caiman latirostris* (Crocodylia: Reptilia). **Comparative Biochemistry and Physiology**, Amsterdam, p 149-155, 1988

ENLOW, D. H. The bone of reptiles. In: GANS, C.; BELLAIRS, A.; PARSONS, T. (Eds.). **Biology of the reptilia**. London: Academic Press, 1969. p. 45-77.

ENLOW, D. H.; BROWN, S. O. A comparative histological study of fossil and recent bone tissues. Part III. **The Texas Journal of Science**, Denton, v. 10, n. 2, p. 187-230, 1958.

FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, L.M.; ARIAS, M.; KHAZAN, E.S. Analysis of population density and distribution of Spectacled Caiman (*Caiman crocodilus*) in Caño Palma, Northeast Costa Rica. **Herpetological Conservation and Biology**, Texarkana, v. 10, n. 3, p. 959-968, 2015.

FILOGONIO, R. *et al.* Distribution of populations of broad-snouted caiman (*Caiman latirostris*, Daudin 1802, Alligatoridae) in the São Francisco River basin, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlo, v. 70, n. 4, p. 961-968, 2010.

FINCATTI, C. R.; VERDADE, L. M. Variação Térmica Microclimática em Estufa Plástica e sua Aplicação para Crescimento de Filhotes de Jacarés. In: VERDADE, L.M.; LARRIERA, A. [Eds.]. **Conservação e Manejo de Jacarés e Crocodilos da América Latina**. Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários “Luiz de Queiroz”, 2002. p 75-83.

FISH, F. E. Kinematics of undulatory swimming in the American alligator. **Copeia**, Nova Iorque, p. 839-843, 1984.

FITTKAU, E.J. Crocodiles and the nutrient metabolism of Amazonian waters. **Amazoniana**, Manaus, v. 4, n. 1, p. 103-133, 1973.

FORTIER, D. C. **O registro fóssil de crocodilianos na América do Sul: Estudo da arte, análise crítica e registro de novos materiais para o cenozóico**. 2011. 360 p. Tese (Doutorado em Geociências) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

FREITAS-FILHO, R.F. **Dieta e avaliação da contaminação mercurial no jacaré-depapo-amarelo, Caiman latirostris, Daudin 1802, (Crocodylia, Alligatoridae) em dois parques naturais no município do Rio de Janeiro, Brasil**. 2008. 76 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2008.

FUSCO-COSTA, R. *et al.* Abundância e locais de ocorrência do jacaré-de-papo-amarelo (*Caiman latirostris*, Alligatoridae) no noroeste da Ilha de Santa Catarina, SC. **Biotemas Florianópolis**, v. 21, n. 4, p. 183-187, 2008.

GREER, Allen E. Evolutionary and systematic significance of crocodilian nesting habits. **Nature**, Londres, v. 227, n. 5257, p. 523-524, 1970.

GRIGG, G. C. *et al.* Osmoregulation by the broad-snouted caiman, *Caiman latirostris*, in estuarine habitat in southern Brazil. **Journal of Comparative Physiology B**, Berlin, v. 168, n. 6, p. 445-452, 1998.

GRIGG, G; KIRSHNER; D.. **Biology and evolution of crocodylians**. Ithaca: Academic Press, 2015. 649 p.

GUIX, J. C. *et al.* *Caiman latirostris* (Broad-snouted Caiman). New populations and undescribed habitat. **Herpetological Review**, Lawrence, v. 28, n. 1, p. 41-42, 1997.

GUSMÃO, Carlos Vinícius Buarque de; BELANGERO, William Dias. Como a célula óssea reconhece o estímulo mecânico?. **Revista brasileira de ortopedia**, Rio de Janeiro, v. 44, n. 4, p. 299-305, 2009.

HÖFLING, E. **Chordata**: manual para um curso prático. São Paulo, EDUSP, 1995. 243p.

HORNER, J. R.; DE RICQLÉS, A. J.; PADIAN, K. Variation in skeletochronological indicators of the hadrosaurid dinosaur *Hypacrosaurus*: implications for age assessment of dinosaurs. **Paleobiology**, Cambridge, v. 25, n. 3, p. 49-78, 1999.

HORNER, J. R.; PADIAN, K. Age and growth dynamics of *Tyrannosaurus rex*. **Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences**, Londres, v. 271, n. 1551, p. 1875-1880, 2004.

HOUSSAYE, A. “Pachyostosis” in aquatic amniotes: a review. **Integrative Zoology**, Londres, v. 4, n. 4, p. 325-340, 2009.

HOUSSAYE, A. Bone histology of aquatic reptiles: what does it tell us about secondary adaptation to an aquatic life?. **Biological Journal of the Linnean Society**, Londres, v. 108, n. 1, p. 3-21, 2012.

HOUSSAYE, A.; TAFFOREAU, P.; HERREL, A. Amniote vertebral microanatomy—what are the major trends?. **Biological Journal of the Linnean Society**, Londres, v. 112, n. 4, p. 735-746, 2014.

HUA, S.; DE BUFFRENIL, V. Bone histology as a clue in the interpretation of functional adaptations in the *Thalattosuchia* (Reptilia, Crocodylia). **Journal of Vertebrate Paleontology**, Norman, v. 16, n. 4, p. 703-717, 1996.

HUTTENLOCKER, A. K.; WOODWARD, H. N.; HALL, B. K. The biology of bone. In: PADIAN, K.; LAMM, E. T. (Eds.). **Bone histology of fossil tetrapods**. Berkeley: University of California Press, p. 13–34. 2013.

HUTTON, J. M. Age determination of living Nile crocodiles from the cortical stratification of bone. **Copeia**, Nova Iorque, p. 332-341, 1986.

HUTTON, J. M.; WEBB, G. J. W. An introduction to the farming of crocodilians. **Directory of Crocodilian Farming Operations**, Gland, v. 2, p. 1-39, 1992.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. **Dados históricos**. In: _____. BDMEP: Banco de Dados Meteorológicos para Ensino e Pesquisa. Brasília: INMET, [2018]. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=bdmep/bdmep>>. Acesso em: 03 out. 2018.

JELDEN, D. C. *et al.* Crocodile Conservation and Management in Cambodia: a Review with Recommendations. **IUCN Crocodile Specialist Group**, Darwin, v. 1, n. 1, p. 1-44, 2005.

JENKINS, R. W. G. Sustainable use of crocodilians: conservation benefits. In: PROCEEDINGS OF THE 2ND REGIONAL MEETING OF THE CSG, DARWIN, AUSTRALIA, 2., 1993. Gland. **IUCN–The World Conservation Union**.

- JUDAS, F. *et al.* **Estrutura e dinâmica do tecido ósseo**. Disponível em https://www.researchgate.net/publication/235352308_Estrutura_e_dinamica_do_tecido_osseo/download/. Acesso em: 18 out. 2018.
- KARDONG, K. V. *et al.* Vertebrates: comparative anatomy, function, evolution. **Sistematic Biology**, Boston, v. 47, n. 4, p. 762-763, 2006.
- KING, F. W. Crocodiles: Keystone wetland species. In: EVERGLADES NAT., 1., 1985, Park Symposium, Miami. **Abstracts of the Proceedings** [...] Park Symposium, Miami: [s. n.], 1985. p. 18-19.
- KING, F.W.; BRAZAITIS, P. Species identification of commercial crocodylians skins. **Zoologica**, Viena, p. 15-75, 1971.
- KLEIN, N.; SCHEYER, T.; TÜTKEN, T. Skeletochronology and isotopic analysis of a captive individual of *Alligator mississippiensis* Daudin, 1802. **Fossil Record**, Berlim, v. 12, n. 2, p. 121-131, 2009.
- LAMN, E. T. Preparation and Sectioning of Specimens. In: PADIAN, K.; LAMM, E. T. (Eds.). **Bone histology of fossil tetrapods**. Berkeley: University of California Press, 2013. p. 5–160.
- LANG, J. W. Crocodylian thermal selection. In: WEBB, G. (Eds.). **Wildlife management: crocodiles and alligators**. Surrey Beatty & Sons, 1987. p. 317.
- LARRIERA, A. *Caiman latirostris* (Broad-snouted Caiman). Communal nesting. **Herpetological Review**, Lawrence, v. 33, n. 3, p. 202, 2002.
- LARRIERA, A. *et al.* Allometry of reproduction in wild broad-snouted caimans (*Caiman latirostris*). **Journal of Herpetology**, Athens, v. 38, n. 2, p. 301-304, 2004.
- LEE, A. W. *et al.* K. Analysis of growth rates. In: PADIAN, K.; LAMM, E. T. (Eds.). **Bone histology of fossil tetrapods**. Berkeley: University of California Press, 2013. p. 217–252.
- LEE, A.H. Histological organization and its relationship to function in the femur of *Alligator mississippiensis*. **Journal of Anatomy**, Londres, v. 204, n. 3, p. 197-207, 2004.
- MAGNUSSON, W. E.; LIMA, A. P.; SAMPAIO, R. M. Sources of heat for nests of *Paleosuchus trigonatus* and a review of crocodylian nest temperatures. **Journal of Herpetology**, Athens, v. 19, p. 199-207, 1985.
- MAGNUSSON, W.E.; VLIET, K.A.; POOLEY, A.C. e WHITAKER, R. Reproduction.. In: ROSS, C.A. (Eds.). **Crocodiles and Alligators**. Silverwater, AUS: Goldem Press, 1989. p. 118-135.
- MARKS, S. C.; ODGREN, P. R. The structure and development of bone. In: BILEZIKIAN, J. P.; RAISZ, L. G.; RODAN, G. A. (Eds.). **Principles of bone biology**. San Diego: London Academic Press, 1996. p. 3–14.
- MARQUES, T. S. *et al.* Population structure of the broad-snouted caiman (*Caiman latirostris*) in natural and man-made water bodies associated with a silvicultural landscape. **Salamandra**, Bonn, v. 52, n. 1, p. 1-10, 2016.

- MARTINS, M.; MOLINA, F. B. Panorama geral dos répteis ameaçados do Brasil. In: MACHADO, A. B. M.; DRUMMOND, G. M.; PAGLIA, A. P. (Eds.). **Livro vermelho da Fauna Brasileira ameaçada de extinção**. Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas, 2008. p. 327-334.
- MEDEM, M. *et al.* **Los crocodylia de sur América**. Bogotá: Colciencias, 1981. 270 p.
- MELLO-LEITÃO, C. **Zoogeografia do Brasil**. 4. ed. Mossoró: Fundação Guimarães Duque, 1989.
- MELO, M. T. Q. Dieta do *Caiman latirostris* no sul do Brasil. In: VERDADE, L.M.; LARRIERA, A. **La conservación y manejo de los Crocodylia de America Latina**. Santa Fé: Fundación Banco Bica, 2002. p. 119-125
- MORAIS, C. S. N. **Qualidade e teor de aminos bioativas da carne de jacaré-do-pantanal (*Caiman yacare* Daudin 1802) armazenada sob refrigeração**. 2013. 109 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos)- Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.
- MORATO, S. A. A. Localidades de registro e distribuição geográfica de *Caiman latirostris* (Daudin, 1802) (Crocodylia: Alligatoridae) no Estado do Paraná, Brasil. **Acta Biologica Leopoldensia**, Curitiba, v. 13, p. 93-104, 1991.
- MOURA, G. B. M; SANTOS, E. M. S.; BRUNKEN, H. Lista das espécies da herpetofauna em Pernambuco. In: _____. **Atlas da herpetofauna do Estado de Pernambuco**. [S.l.]: [s. n.], 2014. Disponível em: <http://www.biodiversidade-pe.com/herpetofauna/index.php?option=com_biodiversity&view=species&Itemid=53/>. Acesso em: 25/10/2018.
- MOURÃO, G. M.; CAMPOS, Z. M. S. **Biologia reprodutiva de jacaré-de-papo-amarelo no rio Paraná, Brasil**. Paraná: Embrapa, 2004. 25p.
- MOURÃO, G.; CAMPOS, Z. Survey of broad-snouted caiman *Caiman latirostris*, marsh deer *Blastocerus dichotomus* and capybara *Hydrochaeris hydrochaeris* in the area to be inundated by Porto Primavera dam, Brazil. **Biological Conservation**, Barking, v. 73, n. 1, p. 27-31, 1995.
- NISAGURWE, B. E.. **Economic analysis of Nile crocodile farming in Tanzania: A case study of Kaole crocodile farm, Bagamoyo**. 2017. 46p. Tese (Doutorado em Environmental And Natural Resource Economic)- Sokoine University of Agriculture, Morogoro, 2017.
- PADIAN, K. Vertebrate palaeohistology then and now: A retrospective in the light of the contributions of Armand de Ricqlès. **Comptes Rendus Palevol**, Paris, v. 10, n. 5-6, p. 303-309, 2011.
- PADIAN, K.. Why study the boné microstructure of fossil terapods?. In: PADIAN, K.; LAMM, E. T. (Eds.). **Bone histology of fossil tetrapods**. Berkeley: University of California Press, p. 195–216. 2013.
- PADIAN, K.; DE RICQLÈS, A. J.; HORNER, J. R. Dinosaurian growth rates and bird origins. **Nature**, Londres, v. 412, n. 6845, p. 405, 2001.

- PADIAN, K.; LAMM, E.T.. **Bone histology of fossil tetrapods: advancing methods, analysis, and interpretation.** Berkeley: Univ of California Press, 2013. 285 p.
- PIÑA, C. I.; LARRIERA, A.; CABRERA, M. R. Effect of incubation temperature on incubation period, sex ratio, hatching success, and survivorship in *Caiman latirostris* (Crocodylia, Alligatoridae). **Journal of herpetology**, Athens, v. 37, n. 1, p. 199-202, 2003.
- QIU, S. *et al.* Histomorphometric assessment of haversian canal and osteocyte lacunae in different-sized osteons in human rib. **The Anatomical Record**, Hoboken, v. 272, n. 2, p. 520–525, 2003.
- REID, R. H. How dinosaurs grew. In: FARLOW, J.O.; BRETT-SURMAN; M.K. (Eds.). **The complete dinosaur.** Bloomington: Indiana Academic Press, 1999. 757 p.
- REID, R. E. H. Primary bone and dinosaurian physiology. **Geological Magazine**, Londres, v. 121, n. 6, p. 589-598, 1984.
- REID, R.H. Zonal “growth rings” in dinosaurs. **Modern Geology**, Londres, v.15, p. 19-48. 1990.
- RHO, J. Y.; KUHN-SPEARING, L.; ZIOUPOS, P. Mechanical properties and the hierarchical structure of bone. **Medical engineering & physics**, Londres, v. 20, n. 2, p. 92-102, 1998.
- RICART, R. S. D. **Paleohistologia dos fósseis de crocódilomorfos das regiões de Jales e Fernandópolis-SP, Formação Adamantina, Grupo Bauru, Cretáceo Superior.** 2017. 66 p. Dissertação (Mestrado em Geociências), Universidade de Brasília, Brasília, 2017.
- RICHARDSON, K.C; WEBB, G.J.W; MANOLIS, S.C. **Crocodiles: Inside out: a guide To the crocodylians and their functional morph.** Surrey: Beatty and Sons, 2002.
- RICQLÈS DE, A. Cyclical growth in the long limb bones of a sauropod dinosaur. **Acta Palaeontologica Polonica**, Kraków, v. 28, n. 1-2, 1983.
- RICQLÈS, A. J. DE. *et al.* Osteohistology of *Confuciusornis sanctus* (Theropoda: Aves). **Journal of Vertebrate Paleontology**, Norman, v. 23, n. 2, p. 373–386, 2003.
- RICQLÈS, A. J. DE.; PADIAN K.; HORNER, J. R. On the bone histology of some Triassic pseudosuchian archosaurs and related taxa. **Annales de Paléontologie**, Paris, v. 89, p. 67–101, 2003.
- RICQLÈS, A. J. DE; HORNER, J. R.; PADIAN, K. Growth dynamics of the hadrosaurid dinosaur *Maiasaura peeblesorum*. **Journal of Vertebrate Paleontology**, Norman, v. 18, n. Suppl 3, p. 72A, 1998.
- ROSS, J. P. **Crocodiles: Status survey and conservation action plan.** Gland, Suíça: SSC Crocodile Specialist Group, 1998.
- SAINT-HILAIRE, E. G. **Recherches sur de grands sauriens: trouvés à l'état fossile vers les confins maritimes de la basse normandie, attribués d'abord au crocodile, puis déterminés sous les noms de téléosaurus et sténéosaurus.** Paris: Firmin Didot, 1831. 139 p.

SARKIS-GONÇALVES, F. *et al.* Manejo de jacarés-de-papo-amarelo (*Caiman latirostris*) em cativeiro. In: SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. **A produção animal na visão dos brasileiros**. Piracicaba: Fealq, 2001. p. 565-579.

SARKIS-GONÇALVES, F.; CASTRO, A. M. V.; VERDADE, L. M. The influence of weather conditions on caiman night-counts. In: WORKING MEETING OF THE CROCODILE SPECIALIST GROUP, 17., 2004, Gland, SWI. **Proceedings** [...]Gland, SWI: IUCN-The World Conservation Union, 2004. p. 387-39.

SAYÃO, J.M. *et al.* Paleohistology of *Susisuchus anatoceps* (Crocodylomorpha, Neosuchia): comments on growth strategies and lifestyle. **PloS One**, São Fransisco, v. 11, n. 5, p. e0155297, 2016.

SCHEYER, T.M.; DESOJO, J.B. Palaeohistology and external microanatomy of rausuchian osteoderms (Archosauria: Pseudosuchia). **Palaeontology**, Londres, v. 54, n. 6, p. 1289-1302, 2011.

SCHWEITZER, M. H. *et al.* Do egg-laying crocodylian (*Alligator mississippiensis*) archosaurs form medullary bone?. **Bone**, Nova Iorque v. 40, n. 4, p. 1152-1158, 2007.

SENA, M. V. A. *et al.* Bone microanatomy of *Pepesuchus deiseae* (Mesoeucrocodylia, Peirosauridae) reveals a mature individual from the Upper Cretaceous of Brazil. **Cretaceous Research**, Londres, v. 90, p. 335-348, 2018.

SENA, M. V. A. **Uso da osteohistologia como um proxy para avaliação de taxas de crescimento e ontogenia em fósseis de *Pepesuchus deiseae* e *Mariliasuchus amarali* (Mesoeucrocodylia, Notosuchia)**. 2017. 114 p. Dissertação (Mestrado em Geociências)-Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017.

SIROSKI, P. A. *et al.* Immunotoxicity of commercial-mixed glyphosate in broad snouted caiman (*Caiman latirostris*). **Chemico-biological interactions**, Amsterdam, v. 244, p. 64-70, 2016.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE HERPETOLOGIA. **Introdução à lista brasileira de répteis**. [S. l.]: SBH, [2015]. Disponível em: <http://www.sbherpetologia.org.br/images/LISTAS/2015-03-Repteis.pdf>. Acesso em: 13 set. 2017.

SOUZA, B. C. da S.; SANTOS, G. A.; CAMPOS, R. M. L de. Artigo 277: Carne de jacaré – revisão de literatura. **Revista Eletrônica nutritime**, Belo Horizonte, v. 11, n. 06, p. 3741-3754, 2014.

STARCK, J. M.; CHINSAMY, Anusuya. Bone microstructure and developmental plasticity in birds and other dinosaurs. **Journal of Morphology**, Hoboken v. 254, n. 3, p. 232-246, 2002.

STORRS, G.W. Function and phylogeny in sauropterygian (Diapsida) evolution. **American Journal of Science**, Nova Haven, v. 293, p. 63-63, 1993.

TADOKORO, O. *et al.* Innervation of the periodontal ligament in the alligatorid *Caiman crocodilius*. **European journal of oral sciences**, Copenhagen, v. 106, n. S1, p. 519-523, 1998.

TENSEN, L. Under what circumstances can wildlife farming benefit species conservation?. **Global Ecology and Conservation**, Amsterdam, v. 6, p. 286-298, 2016.

TETI, A.; ZALLONE, A. Do osteocytes contribute to bone mineral homeostasis? Osteocytic osteolysis revisited. **Bone**, Nova Iorque v. 44, n. 1, p. 11–16, 2009.

THORBJARNARSON, J. B. *et al.* **Crocodiles: An action plan for their conservation**. IUCN, 1992.

TUCKER, A.D. Validation of skeletochronology to determine age of freshwater crocodiles (*Crocodylus johnstoni*). **Marine and Freshwater Research**, East Melbourne, v. 48, n. 4, p. 343-351, 1997.

TUMARKIN-DERATZIAN, A. R.; VANN, D. R.; DODSON, P.. Growth and textural ageing in long bones of the American alligator *Alligator mississippiensis* (Crocodylia: Alligatoridae). **Zoological Journal of the Linnean Society**, Londres, v. 150, n. 1, p. 1-39, 2007.

VÄÄNÄNEN, K.; ZHAO, H. Osteoclast function: biology and mechanisms. In: BILEZIKIAN, J. P.; RAISZ, L. G.; RODAN, G. A. (Eds.). **Principles of bone biology**. San Diego: London Academic Press, 1996. p. 127–139.

VERDADE, L.; PIÑA, C. *Caiman latirostris*. In: UNIVERSITY OF TEXAS. **Catalogue of american amphibians and reptiles**. Austin:Academic Press, 2006. p. 1-21.

VERDADE, L. M. *et al.* Thermoregulatory behavior of broad-snouted caiman (*Caiman latirostris*) under different thermal regimes. In: WORKSHOP SOBRE CONSERVACIÓN Y MANEJO DEL YACARE OVERO CAIMAN LATIROSTRIS, n. 4, 1994, Santa Fé. **Anais [...]** Santa Fé: Academic Press, 1994. p. 84-94.

VERDADE, L.M. Allometry of reproduction in broad-snouted caiman (*Caiman latirostris*). **Brazilian Journal of Biology**. v. 61, n. 3, p. 431-435, 2001.

VERDADE, L.M. **Manejo reprodutivo do jacaré-de-papo-amarelo, *Caiman latirostris* (Daudin, 1802), em cativeiro**. 1992. 63 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, São Paulo, 1992.

VERDADE, L. M.; LARRIERA, A. Biología reproductiva do jacaré-de-papo-amarelo (*Caiman latirostris*) em São Paulo, Brasil. In: LARRIERA, A.; VERDADE; L.M. **Conservación y manejo de los Crocodylia de America Latina**. Santa Fé: Fundación Banco Bica, 1995. p. 57-79

VERDADE, L.M.; LARRIERA, A.; PIÑA, C.I. Broad-snouted caiman *Caiman latirostris*. In: ROSS, J. M. **Crocodiles Status Survey and Conservation Action Plan**. Gland: Academic press, 2010. p. 18-22

VERDADE, L.M.; LAVORENTI, A. Preliminary notes on the status and conservation of *Caiman latirostris* in São Paulo, Brazil. In: WORKING MEETING OF THE CROCODILE

SPECIALIST GROUP, 9, 1990. Lae. **Proceedings** [...] Lae: The Crocodile Specialist Group, 1990. p. 231-237.

VERDADE, L.M.; SANTIAGO, M.E.B. Status of captive population of broad-nosed caiman (*Caiman latirostris*) in Brazil. In: WORKING MEETING OF THE CROCODILE SPECIALIST GROUP, 11, 1992, Victoria Falls. **Proceedings** [...] Victoria Falls: The Crocodile Specialist Group, 1992. p. 218-225.

VERDADE, L.M.; ZUCOLOTO, R.B.; COUTINHO, L. L. Microgeographic variation in *Caiman latirostris*. **Journal of experimental Zoology**, v. 294, n. 4, p. 387-396, 2002.

VIEIRA, T.Q.; SILVA, F.B.; HEUBEL, M.T.C.D. Biometria, hematologia e genética de *Caiman latirostris* (Daudin, 1801) na Região de Bauru (SP). **Salusvita**, Bauru, v. 21, n. 3, p. 67-85, 2002.

VILLELA, P.M.S. **Caracterização genética de populações de jacaré-de-papo-amarelo (*Caiman latirostris*), utilizando marcadores microssatélites**. 2004. Tese (Doutorado em Ecologia aplicada)- Universidade de São Paulo, 2004.

WALLER, T.; MICUCCI, P. A. Relevamiento de la distribución, hábitat y abundancia de los Crocodilos de la República Argentina. In: REUNIÃO REGIONAL DO GRUPO DE ESPECIALISTAS EM CROCODILIANOS DA IUCN, 1, 1993. **Fase I (1990/91): provincia de Corrientes**. Santa Marta: The Crocodile Specialist Group, 1992. P. 270-277.

WASKOW, K. SANDER, P. M. Growth record and histological variation in the dorsal ribs of *Camarasaurus* sp.(Sauropoda). **Journal of Vertebrate Paleontology**, Norman, v. 34, n. 4, p. 852-869, 2014.

WASKOW, K.; MATEUS, O.. Dorsal rib histology of dinosaurs and a crocodylomorph from western Portugal: skeletochronological implications on age determination and life history traits. **Comptes Rendus Palevol**, Paris, v. 16, n. 4, p. 425-439, 2017.

WEBB, G. J. W. *et al.* Monitoring the recovery of the saltwater crocodile (*Crocodylus porosus*) population in the Northern Territory of Australia. In: WORKING MEETING OF THE CROCODILE SPECIALIST GROUP OF THE IUCN, 9., 1988, Lae. **Proceedings** [...] Lae: Crocodile Specialist Group, 1988. p. 329-380,

WEBB, G.; MANOLIS, S. C. **Crocodiles of Australia**. São Francisco: Reed Books, 1989.

WIBBELS, T.; BULL, J. J.; CREWS, D. Chronology and morphology of temperature-dependent sex determination. **Journal of Experimental Zoology**, Hoboken, v. 260, n. 3, p. 371-381, 1991.

WILSON, L. E.; CHIN, K. Comparative osteohistology of *Hesperornis* with reference to pygoscelid penguins: the effects of climate and behaviour on avian bone microstructure. **Royal Society Open Science**, Londres, v. 1, p. 1-16, 2014.

WOODWARD, H. N.; PADIAN, K.; LEE, H. Skeletochronology. In: PADIAN, K.; LAMM, E. T. (Eds.). **Bone histology of fossil tetrapods**. Berkeley: University of California Press, 2013. p. 195-216.

WOODWARD, H. N.; HORNER, J. R.; FARLOW, J. O. Osteohistological evidence for determinate growth in the American alligator. **Journal of Herpetology**, Athens, v. 45, n. 3, p. 339-342, 2011.

WOODWARD, H. N.; HORNER, J.R.; FARLOW, J.O. Quantification of intraskeletal histovariability in *Alligator mississippiensis* and implications for vertebrate osteohistology. **PeerJ**, São Francisco, v. 2, p. e422, 2014.

ZUCOLOTO, R. B. **Desenvolvimento de seqüências de DNA microsatélite para estudo de populações remanescentes de Jacaré-de-Papo-Amarelo (*Caiman latirostris*), da região central do estado de São Paulo**. 2003. 118 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

ZUG, G.R. *et al.* **Herpetology: An introductory biology of amphibians and reptiles**. 2. ed. San Diego: Academic press, 2001.

ANEXO A- NOTA FISCAL DE DOAÇÃO DO MATERIAL ÓSSEO

RAZÃO SOCIAL DO EMITENTE ABATEDOURO ARUMAN LTDA <small>ORIGEM: PRODUTOS ANIMAIS COM CONSTATANTE DA NOTA FISCAL IDENTIFICADA AO LADO</small>		NF-e Nº 000000097 SÉRIE: 1
DATA DE EMISSÃO _____	IDENTIFICAÇÃO E ASSINATURA DO RECEBEDOR _____	

ABATEDOURO ARUMAN LTDA ESTRADA MUNICIPAL DO RAIRO DA GLORIA, 0 - GLEBA 02 - DO ENGORDO - PORTO FELIZ - SP CEP: 18540-000 - Fone/Fax: 1937762200	DANFE DOCUMENTO AUXILIAR DA NOTA FISCAL ELETRÔNICA 0 - ENTRADA 1 - SAÍDA Nº 000000097 SÉRIE: 1 PÁGINA 1 DE 1	 CHAVE DE ACESSO 3518 0314 9152 1800 0180 5500 1000 0000 9711 3599 7937 CONSULTA DE AUTENTICIDADE NO PORTAL NACIONAL DA NF-e www.nfe.fazenda.gov.br/portal OU NO SITE DO SEFAZ AUTORIZADORA PROTOCOLO DE AUTORIZAÇÃO DE USO 135180206019847 - 27/03/2018 11:47
NATUREZA DA OPERAÇÃO REMESSA BONIFICACAO/DOACAO/BRINDE		
INSCRIÇÃO ESTADUAL 55403779113	INSCRIÇÃO ESTADUAL DO SUBST. TRIBUT. _____	CNPJ 14.915.218/0001-80

DESTINATÁRIO / REMETENTE NOME RAZÃO SOCIAL PAULO BRAGA MASCARENHAS JUNIOR		CNPJ / CPF 102.831.544-97	DATA/HORA EMISSÃO 27/03/2018 11:45
ENDEREÇO RUA ANTONIO NOVAIS,51-APTE 103		BAIRRO / DISTRITO GRACAS	DATA/HORA ENTRADA / SAÍDA 27/03/2018 11:50
MUNICÍPIO RECIFE	FONE / FAX _____	UF PE	INSCRIÇÃO ESTADUAL _____

FATURAS / DUPLICATAS						
BASE DE CÁLCULO DO ICMS		VALOR DO ICMS	BASE DE CÁLCULO DO ICMS ST	VALOR DO ICMS ST	VALOR TOTAL DOS PRODUTOS	
1,37		0,10	0,00	0,00	1,37	
VALOR DO FRETE	VALOR DO SEGURO	DESCONTO	OUTRAS DESPESAS ACESSÓRIAS	VALOR TOTAL DO IPT	VALOR TOTAL DA NOTA FISCAL	
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,37	

TRANSPORTADOR / VOLUMES TRANSPORTADOS						
NOME RAZÃO SOCIAL		FRETE POR CONTA		CODIGO ANT.	PLACA VEICULO	UF
		0 - EMISSANTE				
ENDEREÇO		MUNICÍPIO		UF	INSCRIÇÃO ESTADUAL	
QUANTIDADE	ESPECIE	MARCA	NÚMERO	PESO BRUTO	PESO LÍQUIDO	
1				0,000	0,000	

DADOS DO PRODUTO / SERVIÇO												
CODIGO	DESCRIÇÃO DO PRODUTO/SERVIÇO	NCM/SH	CST	CFOP	UNID	QTD	VLR. UNIT	VLR. TOTAL	BC ICMS	VLR ICMS	VLR. IPT	ALIQ ICMS
00093 0000 03	OSNOS DE JACARE	96019900	000	6910	KG	1,3700	1,00000	1,37	1,37	0,10	0,00	7,00

DADOS ADICIONAIS INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES PED INTERNO 0000113 A C/ PAULO BRAGA JUNIOR (UNIVERSIDADE DE PERNAMBUCO) - DOAÇÃO		RESERVAÇÃO DE USO _____
---	--	----------------------------

ANEXO B - AUTORIZAÇÃO PARA A UTILIZAÇÃO DE INDIVÍDUOS DE CATIVEIRO COM FINALIDADE CIENTÍFICA



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 59048-1	Data da Emissão: 07/06/2017 17:37	Data para Revalidação*: 07/07/2018
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Paulo Braga Mascarenhas Júnior	CPF: 102.831.544-97
Título do Projeto: OSTEONTOLOGIA COMO FERRAMENTA PARA OBTENÇÃO DE DADOS MORFOFISIOLÓGICOS EM Caiman latirostris (Archosauria, Crocodylia)	
Nome da Instituição : UFPE - UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO	CNPJ: 24.134.488/0001-08

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Transporte de Material ósseo para análise osteohistológica em Caiman latirostris	08/2017	05/2019

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exige o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES).
5	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen .
8	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

Outras ressalvas

1	1)O material biológico necessário à condução da pesquisa (tecido ósseo, carçaca, couro,etc) será fornecido pelo Abatedouro Aruman Ltda, localizado na Estrada municipal do bairro da Glória, município de Porto Feliz/SP; 2)O citado abatedouro possui licença CETESB nº 61000099, para o efluente; 3)O citado abatedouro possui licença da Secretaria do Meio Ambiente do Município de Porto Feliz nº 000001409, com processo de número 000762, ano 2016.
---	--

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	Juliana Manso Sayão	Coordenadora	073.131.737-84	107351942 IFF-RJ	Brasileira
2	LUIS ANTONIO BOCHETTI BASSET	Coordenador	115.285.098-97	15.232.478-1 SSP-SP	Brasileira

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 25372991





Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 59048-1	Data da Emissão: 07/06/2017 17:37	Data para Revalidação*: 07/07/2018
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Paulo Braga Mascarenhas Júnior	CPF: 102.831.544-97
Título do Projeto: OSTEONISTOLOGIA COMO FERRAMENTA PARA OBTENÇÃO DE DADOS MORFOFISIOLÓGICOS EM <i>Caiman latirostris</i> (Archosauria, Crocodylia)	
Nome da Instituição : UFPE - UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO	CNPJ: 24.134.488/0001-08

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	PORTO FELIZ	SP	Abatedouro Aruman Ltda	Fora de UC Federal

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Coleta/transporte de amostras biológicas ex situ	Caiman latirostris

Material e métodos

1	Amostras biológicas (Répteis)	Animal encontrado morto ou partes (carcaça)/osso/pele
2	Método de captura/coleta (Répteis)	Outros métodos de captura/coleta(Material doado pelo Abatedouro Aruman Ltda)
3	Método de marcação (Répteis)	Foto-identificação

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	UFPE - UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO	

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 25372991



Página 2/4



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 59048-1	Data da Emissão: 07/06/2017 17:37	Data para Revalidação*: 07/07/2018
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Paulo Braga Mascarenhas Júnior	CPF: 102.831.544-97
Título do Projeto: OSTEONISTOLOGIA COMO FERRAMENTA PARA OBTENÇÃO DE DADOS MORFOFISIOLÓGICOS EM <i>Caiman latirostris</i> (Archosauria, Crocodylia)	
Nome da Instituição : UFPE - UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO	CNPJ: 24.134.488/0001-08

* Identificar o espécime no nível taxonômico possível.

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 25372991



Página 4/4