



Universidade de Aveiro Departamento de Biologia
Ano 2015

Ana Rita Correia Vaz **Morfometria craniana do boto (*Phocoena phocoena*)
na costa portuguesa**

DECLARAÇÃO

Declaro que este relatório é integralmente da minha autoria, estando devidamente referenciadas as fontes e obras consultadas, bem como identificadas de modo claro as citações dessas obras. Não contém, por isso, qualquer tipo de plágio quer de textos publicados, qualquer que seja o meio dessa publicação, incluindo meios eletrônicos, quer de trabalhos acadêmicos.



Ana Rita Correia Vaz **Morfometria craniana do boto (*Phocoena phocoena*)
na costa portuguesa**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Biologia Marinha, realizada sob a orientação científica da Doutora Catarina Isabel da Costa Simões Eira, equiparada a Investigadora auxiliar do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro

A amostragem necessária para o desenvolvimento do presente trabalho decorreu no âmbito do projeto LIFE+ MarPro (NAT/PT/00038) co-financiado pela União Europeia e pela Sociedade Portuguesa de Vida Selvagem, e projeto CetSenti RECI/AAGGLO/0470/2012 (FCOMP-01-0124-FEDER-027472), FCT/MCTES (PIDDAC) e FEDER - COMPETE (POFC).

O presente trabalho é dedicado à minha família e à Maria da Luz por todo o apoio e dedicação.

o júri

presidente

Prof^a. Doutora Maria Ângela Sousa Dias Alves Cunha (Presidente)
Professora Auxiliar do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro

Prof. Doutor Alfredo López Fernández (Arguente Principal)
Investigador de Pós Doutoramento do Centro de Estudos do Ambiente e do Mar (CESAM)

Prof^a. Doutora Catarina Isabel da Costa Simões Eira (Orientadora)
Equiparada a Investigadora Auxiliar, Universidade de Aveiro

agradecimentos

Agradeço a todas pessoas que cruzaram a minha vida e que na atualidade, nela permanecem. Acima de tudo, agradeço aos meus pais, irmã e Maria por todos valores transmitidos, por todo o apoio e dedicação. Por me ensinarem a conquistar sem desistir à mínima dificuldade, aprendendo sim a contorná-la.

Agradeço à Doutora Catarina Eira por me orientar, por toda a disponibilidade, por toda a dedicação e por me possibilitar a realização do presente trabalho. Para além disso, obrigada por me transmitir conhecimentos não relacionados com este trabalho e que irão ser-me uteis para o meu percurso académico e profissional. Muito obrigada, por tudo, Doutora Catarina Eira!

Quero agradecer à Doutora Sílvia Monteiro por toda a disponibilidade e por toda a ajuda durante a realização deste trabalho.

Ao Doutor José Vingada pela ajuda dispensada durante a análise dos resultados. Muito obrigada!

À Mestre Marisa Ferreira por me dar a conhecer todo o trabalho realizado no Cram-Q, permitindo-me envolver nas tarefas nele realizadas. Muito obrigada, Marisa!

A toda a equipa do Cram-Q por todos os ensinamentos e por toda a disponibilidade e por me integrarem tão bem como me integraram. Super obrigada!

À Sara Mendes pela pessoa fantástica que é. Obrigada por estares sempre presente, tanto nos bons como nos maus momentos. Obrigada por todo o apoio incondicional e por me amparares nos momentos mais difíceis.

À Andreia Pereira quero agradecer tudo o que fez por mim, por toda ajuda e disponibilidade, pela amizade e acima de tudo pela super chefe que é! Um enorme obrigada, Chefe!

À Cláudia Moreira, à Sara Sá, à Lídia Nicolau e à Fabiana Gomes por toda a paciência, por toda a disponibilidade, por toda a ajuda e acima de tudo pela vossa amizade. Muito obrigada

À Elisabete Magalhães) e à Inês Margarido por toda a paciência nestes 2 anos, por toda a ajuda, por todas as partilhas e por todos os nosso momentos a 3. Muito obrigada por tudo e pela vossa amizade.

À Lurdes Fernandes, à Raquel Pandeirada, à Bárbara Madeira, à Sara Mira, à Ana Luísa Barbosa, à Rafaela Rocha, à Ana Margarida Pestana, à Maria João Azinheira e à Emília Santos pelas pessoas espetaculares que são.

Obrigada por estarem sempre presentes, por todo o apoio e por todos os momentos passados juntas. Muito obrigada por tudo e pela vossa amizade.

palavras-chave

Phocoena phocoena, morfometria craniana, Atlântico Este, Baía de Biscaia, Portugal.

resumo

Eventos climáticos extremos poderão ter conduzido à instabilidade de habitats e em última instância à sua fragmentação, causando repercussões ainda visíveis nos predadores de topo, tais como o boto (*Phocoena phocoena*). Consequentemente, os indivíduos que não se adaptaram, tiveram de procurar novos habitats com as respetivas condições ideais, nomeadamente os indivíduos da população de botos do Atlântico Este (norte e sul da Baía de Biscaia). O presente estudo focou-se em indivíduos da costa portuguesa (representando uma amostra da população residente a sul da Baía de Biscaia) e, recorrendo a informação proveniente de estudos previamente realizados, procurou salientar diferenças entre os botos que habitam ao longo do Atlântico Este. Foi aplicado um método de limpeza e branqueamento em crânios de boto, para posterior medição. Foram medidos 65 crânios de botos (programa Image J[®]), providenciados pela rede de arrojamentos de animais marinhos e obtidos no âmbito do projeto LIFE+ MarPro. As comparações das medidas dos crânios entre géneros foram realizadas a partir de modelos alométricos (programa GraphPad Prism[®]) e as comparações entre géneros de cada estágio de desenvolvimento foram efetuadas com recurso a uma análise de PERMANOVA unifatorial (usando distâncias euclidianas), através do programa PAST[®] v. 2.12. Concluiu-se que na população em estudo, tanto as fêmeas como os machos apresentaram um modelo de alometria negativa. Reportou-se que as fêmeas apresentam comprimentos corporais superiores aos machos, assim como comprimentos e larguras cranianas. Comparativamente aos indivíduos da população a norte da Baía de Biscaia, a amostra de estudo da população do sul da Baía de Biscaia (representada pelos indivíduos da costa portuguesa) apresentou maiores comprimentos corporais e cranianos e maior largura craniana. Estes resultados corroboram observações prévias sobre a população de botos do Atlântico, que detetaram já diferenças genéticas e partilha limitada de genes, diferenças nos hábitos alimentares e habitats distintos nos botos de norte e sul da Baía de Biscaia.

keywords

Phocoena phocoena, cranial morphometry, East-Atlantic, Bay of Biscay, Portugal.

abstract

Severe climatic changes probably led to habitats' instability and possible fragmentation, thus affecting top predators such as the harbour porpoise (*Phocoena phocoena*). Hence, those individuals that could not adapt had to seek more adequate habitats, which provided the ideal conditions for their survival. These movements were also observed in the North-eastern Atlantic harbour porpoise populations (both to the north and south of the Bay of Biscay). The current study aimed to provide evidences of variations between individuals of the North-eastern Atlantic population, based on previous studies and regarding individuals from the portuguese coast waters (representing a sample from the south of the Bay of Biscay). With this intent, a cleaning and bleaching process was applied to porpoise skulls for posterior measuring (using Image J[®]). A total of 65 skulls were provided by the marine animal stranding network in collaboration with the LIFE+ MarPro project. Allometric models were applied to compare skull characters between genders (using Graphpad Prism[®]), and unifactorial PERMANOVA (using Euclidian distances) were applied to compare the same characters between individuals of different genders and development stages (PAST[®] v. 2.12). Both males and females showed a negative allometric pattern of skull characters development. It was also noticed that females had larger body lengths as well as cranial lengths and widths. When comparing individuals from both sides of the Bay of Biscay, individuals from the southern side exhibited longer body length, cranial length and cranial width. The present results corroborate previous studies on the Eastern Atlantic population, that have already detected genetic differences, limited gene flow, different feeding behaviour and different habitats, between individuals from both sides of the Bay of Biscay.

Índice

Lista de Figuras.....	ix
Lista de Tabelas.....	xi
1. Introdução	12
1.1 Caracterização da espécie <i>Phocoena phocoena</i>	15
1.1.1 Taxonomia.....	15
1.1.2 Morfologia.....	15
1.1.3 Migrações	18
1.1.4 Alimentação.....	18
1.1.5 Comportamento	19
1.1.6 Distribuição	20
1.1.7 Ameaças.....	21
1.1.8 Conservação.....	23
1.2 Craniometria	24
1.2.1 Estudos realizados com ênfase no boto	25
1.3 Objetivos.....	27
2 Metodologia.....	27
2.1 Área de Estudo.....	27
2.2 Procedimento	28
2.3 Análise de dados	37
3 Resultados.....	39
4 Discussão	50
5 Conclusões.....	56
Referências Bibliográficas.....	57

Lista de Figuras

Figura 1 - Ilustração morfológica da espécie <i>Phocoena phocoena</i> . Fonte: ICNF.....	17
Figura 2 - Distribuição global de <i>Phocoena phocoena</i>	20
Figura 3 - Distribuição de <i>Phocoena phocoena</i> , ao longo da costa continental portuguesa, entre 2007-2012, segundo observações de várias monitorizações compiladas pelo Projeto Life+ MarPro.	21
Figura 4 - Preparação do crânio para remoção manual de tecido mole.....	29
Figura 5 - Estado do crânio após fase de enterro (vista lateral)	29
Figura 6 - Estado do crânio após fase de enterro (vista ventral)	30
Figura 7 - Crânio em processo de banho maria para a remoção de tecido mole através da ação enzimática.....	30
Figura 8 - Estado do crânio após processo de banho maria e 2ª fase de remoção manual de tecido mole.	31
Figura 9 - Estado de crânio após fases intercaladas de banho maria com detergente enzimático e remoção manual de tecido mole.....	31
Figura 10 - Submersão de crânios em peróxido de hidrogénio.	32
Figura 11 - Crânios após submersão em peróxido de hidrogénio, e em fase de pré-secagem.	32
Figura 12 - Crânio após todos os processos de limpeza e branqueamento. Pronto para medições (vista lateral).	32
Figura 13 - Crânio após todos os processos de limpeza e branqueamento. Pronto para medições (vista nugal).	33
Figura 14 - Análise morfométrica com auxílio do programa <i>Image J</i> [®] 1.48.	34
Figura 15 - Representação gráfica da vista dorsal de um crânio de <i>Phocoena phocoena</i> , evidenciando as medidas morfométricas.....	36
Figura 16 - Representação gráfica da vista lateral de um crânio de <i>Phocoena phocoena</i> , evidenciando as medidas morfométricas	36
Figura 17 - Representação gráfica da vista occipital de um crânio de <i>Phocoena phocoena</i> , evidenciando as medidas morfométricas.....	37
Figura 18 - Diagrama de dispersão dos valores dos caracteres cranianos medidos em função do comprimento total do individuo. Indivíduos do sexo feminino: círculos abertos;	

sexo masculino: círculos fechados. Linhas pontilhadas e completas de cinzento claro:
linhas de regressão alométrica (\pm intervalo de confiança a 95%) do sexo feminino. Linhas
pontilhadas e completas de cinzento escuro: Linhas de regressão alométrica (\pm intervalo
de confiança a 95%) do sexo masculino (cont.)..... 45

Figura 19 - Análise de similaridade (SIMPER) referente ao grupo etário subadultos
mostrando a contribuição (%) de cada caracter craniano para diferenças globais resultantes
da PERMANOVA (apenas estão representados os caracteres cranianos que foram
responsáveis por tipificar ou distinguir $\geq 5\%$ da variação..... 48

Figura 20 - Análise de Similaridade (SIMPER) referente ao grupo etário adultos mostrando
a contribuição (%) de cada caractere craniano para diferenças globais resultantes da
PERMANOVA (apenas estão representados os caracteres cranianos que foram
responsáveis por tipificar ou distinguir $\geq 5\%$ da variação..... 49

Lista de Tabelas

Tabela I - Diversos tipos de processos de limpeza, mediante o estado do cadáver.....	33
Tabela II - Medições morfométricas e a descrição individual de cada medição.....	35
Tabela III - Número de indivíduos da amostra (n), valor médio e valor de desvio-padrão (DP) correspondente a cada caractere medido referente aos subadultos.....	40
Tabela IV - Número de indivíduos da amostra (n), valor médio e valor de desvio-padrão (DP) correspondente a cada caracter medido referente aos adultos.	40
Tabela V - Equações alométricas para os caracteres cranianos baseados no modelo alométrico proposto. Número de indivíduos da amostra (n), erro padrão de b (SE_b) e significância de desvios na isometria e tipo de alometria, correspondente aos machos.	42
Tabela VI - Equações alométricas para os caracteres cranianos baseados no modelo alométrico proposto. Número de indivíduos da amostra (n), erro padrão de b (SE_b) e significância de desvios na isometria e tipo de alometria, correspondente às fêmeas.	43
Tabela VII - Significância de diferenças intersexuais para cada caractere medido na totalidade da população amostrada.....	44
Tabela VIII- PERMANOVA unifatorial com 9999 permutações, explorando diferenças sexuais na totalidade dos caracteres cranianos em função do grupo etário. SQ – Soma dos quadrados; QM – Quadrados médios	48
Tabela IX - Médias de comprimento total (cm) de machos e fêmeas das respectivas regiões.	51
Tabela X - Intervalo de valores correspondentes ao comprimento condilobasal (CBL) e/ou a média (\bar{x}) do comprimento condilobasal em cm de machos e fêmeas das respectivas regiões.....	55

1. Introdução

A diferenciação intraespecífica pode ocorrer devido à presença de barreiras geográficas, resultando na subdivisão de populações em unidades mais pequenas (Palumbi 1994). No entanto, no ambiente marinho, apesar da inexistência destas barreiras, os organismos marinhos com distribuições muito amplas podem também sofrer isolamento genético, sendo que vários fatores poderão contribuir para a diferenciação nestes organismos (Palumbi 1994). Estudos recentes demonstraram que o clima pode ser a principal causa de isolamento genético em ambientes marinhos (Fontaine *et al.* 2007, 2010, 2014). Hooker & Gerber (2004) e Moore (2009) verificaram que as alterações climáticas apresentam consequências na distribuição das presas e ao nível do seu habitat, tendo assim um impacto indireto nos predadores de topo, tais como os cetáceos.

Eventos climáticos extremos poderão ter levado à fragmentação de habitats, causando mudanças comportamentais e problemas ao nível da viabilidade populacional e aptidão individual. Consequentemente, as populações que não se adaptaram tiveram de procurar outros habitats que apresentassem as condições ideais (Fontaine *et al.* 2010). No que toca à Pequena Idade do Gelo, evento que terminou há aproximadamente trezentos anos, houve um arrefecimento no Atlântico Norte e na Europa que causou um elevado impacto nas atividades antropogénicas e nos ecossistemas tanto terrestres como marinhos (Grove 2004).

Diversos autores, tais como Beaugrand *et al.* (2002) e Richardson & Schoeman (2004), verificaram mudanças na distribuição do plâncton. Por outro lado, Fontaine *et al.* (2010) constataram que, devido às alterações climáticas ocorridas ao nível do Atlântico Nordeste, não só houve alterações no plâncton como também na distribuição de diversas espécies de peixe, com repercussões nos grandes predadores, tais como o boto.

O boto (*Phocoena phocoena*) é uma das espécies mais abundante nas zonas costeiras frias e temperadas do hemisfério Norte (Gaskin 1984). Segundo o mesmo autor, existem pelo menos três subespécies: *P. phocoena phocoena* (Oceano Atlântico), *P. phocoena vomerina* (Oceano Pacífico) e *P. phocoena relicta* (Mar Negro). Foi sugerido que estas três subespécies surgiram em consequência do afastamento geográfico de populações, tendo sido constatado que estas exibem diferenças morfológicas, referindo como exemplo, os indivíduos da população do Atlântico que apresentam dimensões cranianas superiores e dimensões mandibulares inferiores comparativamente com a

população do Pacífico (Yurick & Gaskin 1987). Para além das diferenças morfológicas, aquelas três subespécies também manifestam diferenças genéticas, dando como exemplo, os indivíduos das populações do Atlântico e do Mar Negro (Andersen *et al.* 2001; Tolley & Rosel 2006 e Fontaine *et al.* 2007). Para estas populações Rosel *et al.* (1995) e Fontaine *et al.* (2010) verificaram trajetórias de migração distintas, tendo levado a uma divergência genética. A diferenciação genética poderá ter ocorrido devido às condições ambientais históricas serem diferentes das condições atuais o que, por sua vez, levou à fragmentação do habitat e, eventualmente, à extinção da população de botos do Mar Mediterrâneo (Fontaine *et al.* 2010, 2012).

Um grande foco de interesse que tem surgido e que representa também o ponto de interesse do presente trabalho, diz respeito à população do Atlântico Este. Embora Gaskin (1984) e Andersen (1993) tenham aferido que no Atlântico Norte podem existir duas populações (Este e Oeste), Fontaine *et al.* (2014), num estudo recente, relativo à população de botos que habita o Atlântico Este, evidenciaram a possibilidade de existência de uma nova subespécie que se encontra distribuída do sul da Baía de Biscaia até ao norte de África. A partir desse mesmo estudo, verificou-se que os indivíduos a sul da Baía de Biscaia partilham um ancestral mais recente com a população do Mar Negro comparativamente aos indivíduos a norte da Baía de Biscaia. A divergência entre a população do Mar Negro e os indivíduos a sul da Baía de Biscaia, segundo os mesmos autores, surgiu depois da Grande Idade do Gelo e antes da reabertura do Mar Negro para o Mar Mediterrâneo. Posteriormente a esta Era glacial, as populações que partilhavam, na altura, o mesmo ancestral (atual população do Mar Negro e atual população a sul da Baía de Biscaia) começaram a divergir. No entanto, sucedeu-se uma divergência mais acentuada que coincidiu com os episódios de Sapropel, ocorridos no Mar Mediterrâneo (mais intenso a Este), com a entrada de água do Atlântico no Mar Mediterrâneo, com o aquecimento das águas do Mar Mediterrâneo e com a reabertura do Mar Negro para o Mar Mediterrâneo. Estes fenómenos levaram à existência de três ecótipos atuais no Atlântico Este (Mar Negro, sul da Baía de Biscaia e norte da Baía de Biscaia) (Fontaine *et al.* 2014). Com a descoberta desse ancestral, os mesmos autores apontaram para a existência de uma população no Mar Mediterrâneo, atualmente extinta, suportando a ideia que essa ocorrência teria surgido durante a altura em que o Mar Mediterrâneo apresentava as condições ideais para espécies de água fria. Posteriormente, com as alterações climáticas, a

população do Mar Mediterrâneo, em busca dessas condições ótimas, acabou por divergir, em que uma das partes migrou para Este do Mar Mediterrâneo (atual população do Mar Negro) e a outra migrou para Oeste do Mar Mediterrâneo (atual população a sul da Baía de Biscaia).

Fontaine *et al.* (2007) concluíram que a população de botos que se encontra a sul da Baía de Biscaia é distinta da população que habita a norte desta. Esta distinção é provavelmente fomentada pela existência de uma barreira que impede, não totalmente, o fluxo de genes. Foi proposto por este grupo de investigadores que essa barreira será o clima. Todavia, muito recentemente, Fontaine *et al.* (2014) demonstraram que apesar destas populações serem distintas, existe troca limitada de genes entre elas, tendo esta ocorrido no último milénio. Uma possível justificação para a ocorrência de troca de genes entre estas duas populações, de acordo com os mesmos autores, adveio do arrefecimento ocorrido durante a Pequena Idade do Gelo que potenciou migrações de peixes de água fria, como por exemplo o arenque e a galeota, em direção a sul, para a Baía de Biscaia (Fontaine *et al.* 2014). Sendo estas espécies presas de boto (Santos & Pearce 2003; Santos *et al.* 2004 e Spitz *et al.* 2006), o seu movimento provocou a movimentação dos seus predadores (Fontaine *et al.* 2014). Esta movimentação conduziu assim à troca limitada de genes entre os indivíduos das duas populações, impulsionando os indivíduos do sul da Baía de Biscaia para Norte devido à maior disponibilidade de recursos permanentes e vice-versa. Apesar da capacidade de dispersão dos indivíduos de ambas as populações, a troca de genes tem-se limitado à Baía de Biscaia devido às preferências pelos seus variados habitats (Fontaine *et al.* 2014). Estes autores sugerem que estas populações do Atlântico Este são distintas entre si, apresentando hábitos alimentares e tamanho do corpo diferentes e por estas razões, a população de botos que se encontra ao largo da costa da Península Ibérica (podendo estender-se até à costa da Mauritânia) poderá vir a ser descrita como *Phocoena phocoena meridionalis*. Segundo os mesmos autores, a existência desta subespécie ao longo da costa Ibérica e Mauritânia é reduzida comparativamente à população que habita a norte da Baía de Biscaia devido à baixa disponibilidade de recursos permanentes. A norte desta, as condições são supostamente as ideais para espécies que habitam águas frias (Fontaine *et al.* 2007) e na costa Ibérica o afloramento costeiro é sazonal e geograficamente limitado (Aristegui *et al.* 2009). Fontaine *et al.* (2010) evidenciaram que, devido a alterações climáticas anteriores, as condições a sul da Baía de

Biscaia têm vindo a tornar-se mais frias e mais enriquecidas, tornando-se assim num ambiente propício a organismos de águas frias.

1.1 Caracterização da espécie *Phocoena phocoena*

1.1.1 Taxonomia

O boto, *Phocoena phocoena* (Linnaeus, 1758), é uma espécie pertencente à ordem Cetacea, subordem Odontoceti e família Phocoenidae, apresentando uma das menores dimensões da referida ordem (Gaskin 1984). A subordem Odontoceti, ao contrário da Mysticeti apresenta menores dimensões, assimetria do crânio, dentição para aprisionamento de presas e um único orifício respiratório (Bannister 2009). Consta-se também que os Odontocetes, ao contrário dos Mysticetes, apresentam a capacidade de ecolocalizar em situações de captura de presas e de comunicação entre indivíduos (Ballance 2009).

1.1.2 Morfologia

Barnes (1985) e Galatius *et al.* (2011) referem que o tamanho relativamente pequeno do boto está relacionado com o pedomorfismo. Este consiste num processo evolutivo em que o desenvolvimento de um indivíduo se fixa nas características juvenis dos seus ancestrais (Gould 1977), tais como rostro curto, caixa craniana arredondada e larga, processos zigomáticos, antorbital e postorbital reduzidos, cristas occipitais e nucais reduzidas e fusão tardia de suturas cranianas (Barnes 1985). Ichishima & Kimura (2005), Galatius *et al.* (2006) e Galatius (2010) afirmaram que a pedormorfose nos botos é progénica, dado que a maturidade sexual é acelerada, enquanto o desenvolvimento do corpo se mantém constante (Gould 1977). O mesmo autor argumentou que a maioria de casos de pedormorfose progénica está relacionada com parâmetros de história de vida, sendo que nos botos, estes referem-se à baixa esperança média de vida, ao rápido crescimento, à maturidade sexual precoce relativamente a outros cetáceos e à capacidade reprodutiva anual (Read & Hohn 1995), gerando apenas uma cria de cada vez (Chivers 2009). A estratégia reprodutiva está relacionada com as necessidades nutricionais (Fordyce 2009), visto que os botos necessitam que haja uma grande disponibilidade de recursos

alimentares, de forma a alimentarem-se regularmente durante o dia (Galatius 2010). Consequentemente, estes animais têm preferências por zonas costeiras, de profundidade inferior a 200 metros, e águas mais frias, onde a concentração de presas é maior (Lockyer 2003; Johnston *et al.* 2005 e Bjørge & Tolley 2009). Caso houvesse escassez de alimento, o seu pequeno tamanho aliado à perda excessiva de calor e à baixa capacidade de armazenar energia iriam comprometer a sua sobrevivência em ambientes frios (Galatius 2010). Segundo Galatius (2005) e Galatius *et al.* (2006) os machos apresentam um elevado grau de pedomorfismo relativamente às fêmeas, mais evidente enquanto adultos, devido ao facto de completarem o seu desenvolvimento mais cedo, atingindo a maturidade sexual mais cedo comparativamente às fêmeas, retendo assim mais características de juvenis.

Os adultos desta espécie ostentam comprimentos entre 180-200 cm e pesos entre 45-70 kg. Os recém nascidos apresentam comprimentos entre 70-90 cm (Jefferson *et al.* 2011). No Reino Unido foram reportados tamanhos máximos de 163 cm correspondente a um peso de 54 Kg enquanto machos e fêmeas apresentam 189 cm e 81 Kg (Lockyer 1995). No Atlântico Norte as fêmeas apresentam comprimentos entre 153-163 cm e pesos entre 55-65 kg e os machos 141-149 cm e pesos entre 46-51kg. Nos recém-nascidos os tamanhos variam entre 65-80cm (Lockyer 2003). Segundo Donovan & Bjørge (1995) os botos encontrados na Península Ibérica apresentam-se mais largos e com comprimentos superiores a 200cm.

Stuart & Morejohn (1980) referem que nesta espécie, as fêmeas apresentam tanto o tamanho como o peso superior ao dos machos, devido a uma adaptação evolutiva, promovida pela necessidade de suporte do feto. De igual modo, Lockyer (2003) comprova que as fêmeas apresentam um peso superior ao dos machos devido à necessidade de acumulação de energia, permitindo assim a sobrevivência das fêmeas adultas após terem dado à luz.

Os botos apresentam um corpo fusiforme, com a presença de membros anteriores modificados em barbatanas peitorais; a barbatana caudal é utilizada para propulsão e orientação e a barbatana dorsal tem como função a estabilização do movimento (Rommel & Lowenstine 2001 e Reidenberg 2007). Apresentam ausência de pelos (uma vez que a presença destes em água levaria a um menor hidrodinamismo) e por isso apresentam peles lisas e uma camada adiposa (*Blubber*) bem desenvolvida, de forma a evitar grandes perdas de calor (Reidenberg 2007).

Em termos de coloração, na zona dorsal e zona das barbatanas caudal e peitorais, os botos apresentam um cinza bastante escuro, assombreado na zona dos flancos e cabeça. Na zona ventral são brancos, apresentando traços a cinzento escuro que se prolongam desde a zona caudal da boca até às barbatanas peitorais (Bjørge & Tolley 2009). A barbatana dorsal, com uma forma triangular é uma das características distintivas desta espécie (Bjørge & Tolley 2009) (Figura 1).



Figura 1 - Ilustração morfológica da espécie *Phocoena phocoena*. Fonte: ICNF. Em: <http://www.icnf.pt/portal/naturaclas/patrinatur/lvv/resource/doc/mam/pho-pho>

Reprodução

Os indivíduos desta espécie atingem a maturidade sexual entre os 3 e os 4 anos de idade, apresentando nesta fase comprimentos entre 120-150 cm (Jefferson *et al.* 2011) e segundo Ichishima & Kimura (2005) atingem a maturidade sexual mais cedo do que outros cetáceos uma vez que a sua evolução envolveu processos pedomórficos progénicos (Gould 1977).

As crias geralmente nascem entre Maio e Agosto, após um período de gestação de cerca de dez meses e meio (Bjørge & Tolley 2009). Contudo, na costa portuguesa, já foram observados recém-nascidos em Janeiro (Sequeira 1996). Apesar das fêmeas amamentarem a cria até um ano de idade, pode ocorrer novo acasalamento um mês e meio após o parto (Bjørge & Tolley 2009). Durante esse ano, as crias podem também capturar alimento sólido (ex. eufasídeos). No fim deste período as crias podem atingir 120 cm de comprimento quando machos e 125 cm quando fêmeas (Bjørge & Tolley 2009). Vivem em média 12 - 23 anos a nível do Atlântico Norte (Lockyer 2003).

1.1.3 Migrações

São animais migratórios, realizando migrações sazonais que poderão dever-se a mudanças na disponibilidade de presas locais, presença de predadores ou fatores sociais (Read & Westgate 1997). Um exemplo de rota migratória tomada pelos botos é a que se estende desde o Mar Kattegat até ao Mar do Norte, durante o inverno (Koschinski 2001). Existem relatos de que o boto segue uma das suas presas preferenciais, o arenque, até ao Golfo do Maine durante a primavera, abandonando-o nos finais de outono/inícios de inverno (Neave & Wright 1968 e Trippel *et al.* 1999). Segundo um estudo realizado no Japão por Taguchi *et al.* (2010) constatou-se que os botos tomam uma rota a partir da costa de Honshu durante o inverno, movendo-se para norte desta durante o verão. Os mesmos autores apontaram que esta rota é devida às alterações da temperatura da água. Visto apresentar as condições ideais para reprodução e acasalamento, outro exemplo de rota tomada pelos botos ocorre no Mar Báltico (Alemanha), entre a primavera e outono (Verfuß *et al.* 2007).

1.1.4 Alimentação

Tendo os indivíduos desta espécie uma capacidade limitada de energia, necessitam de se alimentar mais frequentemente ao longo do dia (Galatius 2010) e quaisquer alterações na disponibilidade das suas presas podem levar a que a sua sobrevivência possa ficar comprometida, dado que as reservas energéticas também serão afetadas (Macleod *et al.* 2007b).

Os botos exibem dentes em forma de pá (Bjørge & Tolley 2009) e segundo Santos & Pearce (2003) estes são usados para capturar a presa e para as ingerir, não para as dilacerar.

As suas presas podem variar regionalmente, alimentando-se preferencialmente de peixes, tanto demersais como pelágicos. Porém, em algumas áreas, para além de peixes, a sua dieta também é complementada por lulas e crustáceos (Fontaine *et al.* 1994; Lockyer *et al.* 2003 e Santos *et al.* 2004). Num estudo realizado por Santos *et al.* (2004) foi demonstrado que entre as presas preferenciais dos botos no Mar do Norte (Escócia) evidenciam-se a galeota e o badejo. Ainda neste estudo verificou-se que indivíduos com idade inferior a um ano apresentam uma maior preferência por peixes da família Gobiidae

e camarões. Num outro estudo realizado nos anos de 1988, 1989 e 1995, a oeste da Gronelândia verificou-se, através de análises de conteúdo estomacal, que os botos apresentam preferências por *Mallotus villosus* e *Boregadus saida*. Para além destas presas, surgiram também evidências de lulas (Lockyer *et al.* 2003). Ao nível do Golfo de São Lourenço, a norte deste, mostram preferências por *Clupea harengus*, *Sebastes marinus* e também por *Mallotus villosus*, com uma maior predileção por *Clupea harengus* e *Mallotus villosus*. Apresentam também lulas na sua dieta, ainda que com uma percentagem reduzida (Fontaine *et al.* 1994). Num estudo realizado recentemente Aguiar (2013) concluiu que a presa preferencial na costa continental portuguesa é o peixe-lira (*Callionymus lyra*), seguindo-se a faneca (*Trisopterus sp.*) e a tainha (*Liza sp.*).

Foi descrito que as fêmeas necessitam de uma maior quantidade de presas devido ao seu maior tamanho, podendo assim refletir a sua necessidade energética elevada (Santos & Pierce 2003). Estas requerem também na sua dieta uma maior composição lipídica para desta forma proporcionar às suas crias o desenvolvimento da espessa camada de gordura (McLellan *et al.* 2002).

Para a obtenção do alimento, estes animais utilizam a ecolocalização, que consiste na emissão de sons, na reflexão destes ao encontrar a presa (ou objeto) e na receção do eco resultante (Teilman *et al.* 2002 e Au 2009). Este sistema de produção e receção de ecos é também utilizado para comunicação entre indivíduos e orientação (Teilman *et al.* 2002 e Au 2009). Os sons produzidos para a ecolocalização são gerados em estruturas do complexo nasal. Os sacos aéreos têm uma função importante na propagação do som, assim como toda a estrutura craniana e o melão (estrutura constituída por tecido adiposo especializada para a condução do som) (Au 2009). Uma vez que não existe canal auditivo externo, o som é captado por porções da mandíbula e transmitido até ao osso tímpano-periótico, onde se localizam as estruturas do ouvido médio e interno (Au 2009).

1.1.5 Comportamento

O boto revela um comportamento discreto, sendo menos visível comparativamente aos golfinhos. Além disso, manifesta um comportamento apreensivo face a embarcações, pois raramente se aproxima de barcos (Jefferson *et al.* 2011). São avistados com pouca frequência devido a este tipo de comportamento solitário, e quando visíveis apresentam-se em pequenos grupos (até três indivíduos), que muitas vezes consistem em pares mãe-cria

(Bjørge & Tolley 2009). Todavia, em certas situações, como alimentação ou migração, podem agregar-se em grupos de cinquenta a cem indivíduos (Jefferson *et al.* 2011).

1.1.6 Distribuição

Relativamente à sua distribuição, tal como já evidenciado acima, estes indivíduos apresentam uma grande preferência por zonas costeiras, de profundidade inferior a duzentos metros.

As várias populações de boto encontram-se em águas frias temperadas e subárticas do Hemisfério Norte, sendo muito comuns no Pacífico Norte, Atlântico Norte e no Mar Negro (Gaskin 1984) (Figura 2), surgindo desde a zona norte do Japão até ao sul do Mar Okhotsk e zona este do Mar de Bering até ao sul da Califórnia, incluindo o Golfo do Alasca, no Pacífico Norte. No Atlântico Norte, na zona oeste, os indivíduos distribuem-se desde a Carolina do Norte até à zona oeste da Gronelândia, incluindo a zona este da Terranova e zona sul da Gronelândia (Gaskin 1984). Na zona este, os indivíduos distribuem-se desde o norte da Baía de Biscaia até à Noruega e Islândia e desde o sul da Baía de Biscaia até ao norte da costa da Mauritânia (Andersen *et al.* 2001; Fontaine *et al.* 2007 e Alfonsi *et al.* 2012).

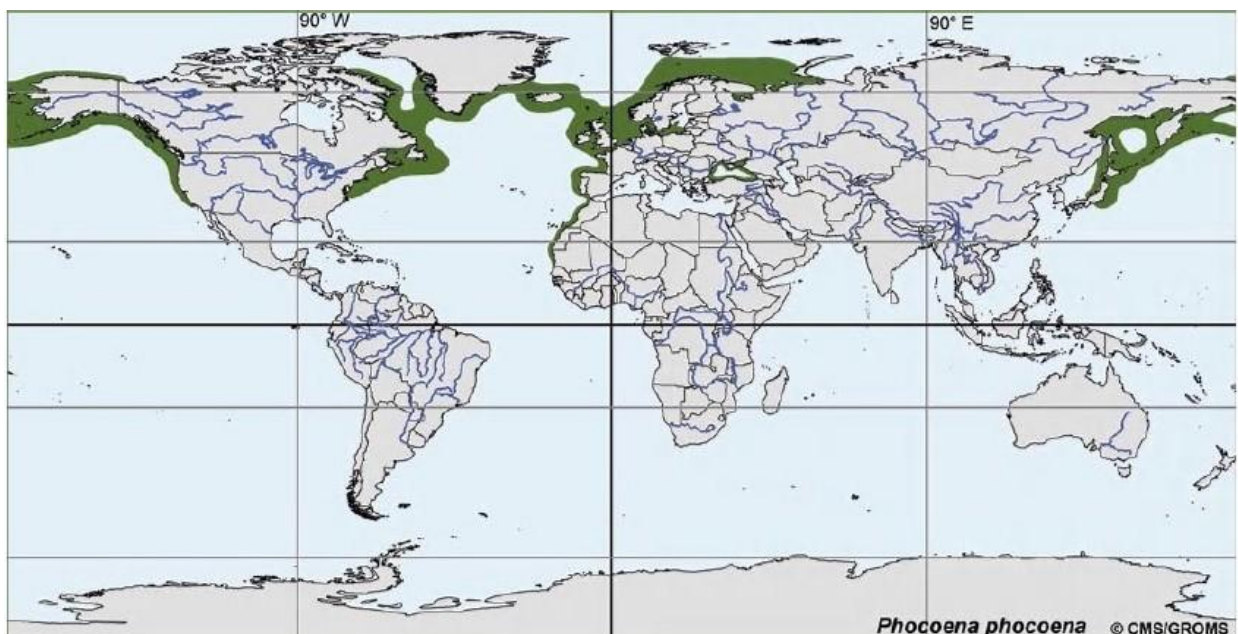


Figura 2 - Distribuição global de *Phocoena phocoena*, segundo Culik (2004)

Em Portugal, a sua distribuição estende-se de norte a sul do País, apresentando uma maior densidade populacional a norte, como é possível verificar-se na Figura 3. São avistados com maior concentração nas zonas da Nazaré até ao Porto e de Sagres até Albufeira (Santos *et al.* 2012).

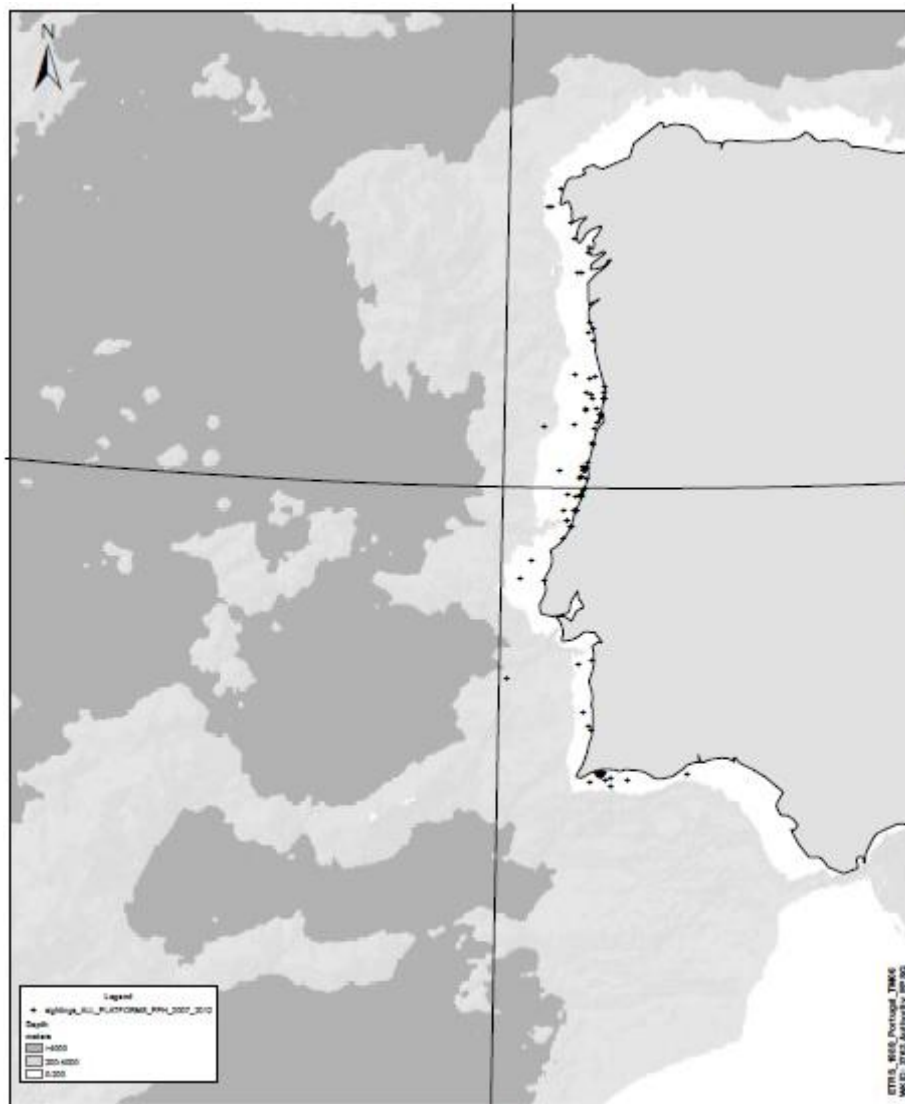


Figura 3 - Distribuição de *Phocoena phocoena*, ao longo da costa continental portuguesa, entre 2007-2012, segundo observações de várias monitorizações compiladas pelo Projeto Life+ MarPro (Santos *et al.* 2012).

1.1.7 Ameaças

A espécie *Phocoena phocoena* tem apresentado um forte declínio a nível mundial (Jefferson *et al.* 2011). Ao longo da costa portuguesa, Sequeira (1996) e Ferreira (2007) verificaram uma diminuição do número de registos. *Phocoena phocoena* é a segunda

espécie, depois do golfinho-comum (*Delphinus delphis*) com o maior número de indivíduos arrojados na costa norte de Portugal (Ferreira *et al.* 2012).

Uma das maiores ameaças para as populações de boto a nível mundial é a captura accidental em redes de pesca (tais como redes de arrasto, palangre, redes de cerco, sendo que a maioria ocorre em redes de emalhar pelágicas ou fundeadas) (Jefferson *et al.* 2011 e Read 1994). A captura accidental por arte de pesca consiste na captura de animais não-alvo, acidentalmente, e que posteriormente são rejeitadas, por vezes por não serem as espécies desejadas (Northridge 2009). As capturas excessivas ou capturas accidentais podem ter contribuído para o decréscimo das populações de botos em algumas áreas da sua distribuição, bem como para a extinção da população do Mar Mediterrâneo. O mesmo é descrito para as populações de botos no Golfo do Maine e baía de Fundy (Trippel *et al.* 1996). No Golfo de São Lourenço (Terranova) e Suécia existem relatos de que os botos são capturados acidentalmente em redes de emalhar (Stenson 2003).

Além da ocorrência de capturas accidentais ou bycatch, o declínio das populações de *Phocoena phocoena* deve-se a capturas diretas, outras atividades antropogénicas, degradação do habitat e poluição (Camphuysen & Siemensa 2011 e Culik 2004). As atividades antropogénicas em ecossistemas marinhos têm vindo a intensificar-se desde 1950, aumentando a pressão sobre os ambientes marinhos (Méndez-Fernandez *et al.* 2014). Porém, estas atividades antropogénicas levaram a alterações significativas relativamente à abundância de espécies marinhas, tendo um maior impacto nos predadores de topo (Hutchings & Baum 2005). Relativamente à presença de poluentes no meio marinho, a sobrevivência dos predadores fica em risco uma vez que estes são expostos a contaminantes, quase exclusivamente, por ingestão (ex. Pierce *et al.* 2008). Para mais, em situações de amamentação os poluentes são transferidos de mãe para cria, através do leite, podendo também ser transmitidos durante a gestação (Lockyer 2003; Pierce *et al.* 2008). As consequências da bioacumulação em mamíferos marinhos incluem depressão do sistema imunitário, aumento do risco de infeção e falha no sistema reprodutivo (Helle *et al.* 1976; Hall *et al.* 2006 e Pierce *et al.* 2008). Existem relatos de que botos haviam sido mortos na sequência de doenças infecciosas concomitantes a concentrações elevadas de policlorobifenilos (PCB's) (Jepson *et al.* 2005).

Segundo um estudo realizado por Simmonds & Isaac (2007), verificou-se que as alterações climáticas afetam a distribuição de cetáceos devido a alterações na distribuição

das suas presas. Essas alterações na distribuição de presas podem, conseqüentemente, influenciar a capacidade de obtenção de alimento, de aquisição de energia e, em última instância, ameaçar a sua sobrevivência (MacLeod *et al.* 2007b e Fontaine *et al.* 2010).

No que se refere à fragmentação do habitat, os botos são muito sensíveis a ruídos de origem antropogénica, tais como sons provenientes de navios, e à exploração de recursos marinhos que afetem o seu comportamento e distribuição (Culik 2004).

1.1.8 Conservação

Durante grande parte do século XX, a captura acidental e outras ameaças referidas anteriormente começaram a afetar as populações de cetáceos. No entanto, durante as últimas décadas, estas ameaças aumentaram drasticamente, alertando para outros problemas, além da captura excessiva (Reeves *et al.* 2003; Stenson 2003 e Schipper *et al.* 2008). Esta situação, e o seu impacto nas populações de boto levou a que a “*International Whaling Commission*” (IWC) em 1991, propusesse uma redução das mortes por capturas acidentais através da aplicação de medidas que incluíam, entre outras, o encerramento de áreas ou épocas de pesca e restrições às artes de pesca, de forma a garantir uma maior proteção destes organismos. Stenson (2003) verificou que a implementação da redução dos esforços de pesca foi eficaz na redução de incidentes por capturas acidentais em 1999 e 2000.

O boto, juntamente com o roaz (*Tursiops truncatus*) está incluído no Anexo II da Diretiva de Habitats da União Europeia como espécie de interesse especial (Diretiva 92/43/CEE), cuja proteção requer a designação de Sítios de Interesse Comunitário. Relativamente à legislação nacional, a proteção de cetáceos está abrangida pelo Decreto-lei n.º 263/81 (de 3 de Setembro), que visa proibir a captura intencional, transporte e morte destes animais, e pela transposição da Diretiva Habitats para a legislação portuguesa (Decreto Lei 140/99, de 24 de Abril com a redação dada pelo Decreto Lei 49/2005 de 24 de Fevereiro).

Numa visão geral, segundo a União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN), a espécie *Phocoena phocoena* não se encontra ameaçada, sendo considerada como uma espécie cujo estado é pouco preocupante (LC – Least Concern). No entanto no Mar Negro regista-se a subespécie *P. phocoena relicta* classificada como em Perigo (En –

Endangered) e no Mar Báltico, apresenta um estado crítico (CR – Critically endangered) (Hammond *et al.* 2008). Em Portugal, apresenta-se classificada como vulnerável (Cabral *et al.* 2005).

1.2 Craniometria

Diversos métodos têm sido utilizados, como forma de identificar e definir subpopulações de cetáceos (Gaskin 1984; Gao & Gaskin 1996; Huggenberger *et al.* 2002 e Fontaine *et al.* 2014). Um desses métodos refere-se à morfometria geométrica (Rohlf & Marcus 1993; Gao & Gaskin 1996; Marcus *et al.* 2000; Huggenberger *et al.* 2002). Esta consiste no delineamento de formas geométricas através da união de diversos pontos de referência anatómicos (Rohlf & Marcus 1993 e Marcus *et al.* 2000). Este método é útil para esclarecer dúvidas relativas à taxonomia/sistemática, principalmente em espécies filogeneticamente próximas (Dobigny *et al.* 2002; Cardini & O’Higgins, 2004 e Pizzo *et al.* 2006). Uma das grandes vantagens da utilização deste método é a representação gráfica (Rohlf & Marcus 1993). No entanto, para se poder inferir sobre a variação individual ou geográfica e mesmo sobre dimorfismo sexual com base em caracteres cranianos, é necessário decidir que conjunto de crânios podem ser incluídos na análise, nomeadamente se são crânios de indivíduos jovens ou adultos, machos ou fêmeas (Perrin & Heyning 1993).

O crânio dos cetáceos tem sido alvo de grande interesse, dado que informações importantes podem ser obtidas sobre a ecolocalização e sobre a sua inteligência e estrutura social (Racicot & Colbert 2013). Ao longo da evolução, o crânio dos cetáceos tem sofrido diversas alterações, tendo ocorrido a migração dos orifícios respiratórios para o topo da cabeça, através de um processo de telescopia (Jefferson *et al.* 2011). Devido a esta situação, o rosto tornou-se côncavo dorsalmente (Rommel *et al.* 2009).

Como adaptação ao meio aquático, as estruturas do ouvido desapareceram, sendo representadas nos indivíduos por cartilagem vestigial (Mead & Fordyce 2009). A morfologia craniana de cetáceos difere da de outros mamíferos, uma vez que estes apresentam adaptações ao meio aquático (Reidenberg 2007), tais como alterações fisiológicas, anatómicas, alterações no sistema termorregulador, respiratório, locomotor e reprodutivo, mergulho, alimentação, comunicação, sentidos e comportamentos sociais. No caso dos Odontocetes, tal como foi mencionado anteriormente, estes apresentam um crânio

assimétrico e esta assimetria pode estar relacionada com a otimização do biossonar (Yurick & Gaskin 1988 e Macleod *et al.* 2007a) ou com alterações nas vias aéreas, que permite a ingestão de presas de maior tamanho (Macleod *et al.* 2007a). As alterações evolutivas na audição e ecolocalização evidenciam-se também na anatomia craniana de botos (Racicot & Colbert, 2013).

1.2.1 Estudos realizados com ênfase no boto

Diversos autores, tais como Stuart & Morejohn (1980), Noldus & de Klerk (1984) e Galatius (2005) utilizaram métodos morfométricos para estudos de dimorfismo sexual relacionados com a idade e crescimento de *Phocoena phocoena* e Goldin & Vishnyakova (2015) também recorreram a métodos de morfometria craniana visando identificar diferenças entre as populações de botos do Mar Negro.

Segundo Yurick & Gaskin (1987), Amano & Miyazaki (1992) e Huggenberger *et al.* (2002) foram demonstradas diferenças a nível de caracteres morfológicos e cranianos entre indivíduos de boto do Pacífico Norte, Atlântico Norte e Mar Negro. As diferenças entre os indivíduos destas três áreas deve-se ao isolamento reprodutivo confirmado por estudos baseados em DNA mitocondrial (Fontaine *et al.* 2014). Gaskin & Blair (1977) e Gaskin *et al.* (1984) verificaram que nos indivíduos da população do Atlântico Norte, as fêmeas apresentam dimensões superiores às dos machos, em qualquer fase do desenvolvimento e que o mesmo acontece relativamente à dimensão do crânio. Através de comparações morfométricas cranianas Yurick & Gaskin (1987) propuseram a diferenciação das populações do Atlântico Este e Oeste, sendo a dimensão craniana superior em indivíduos encontrados a Oeste. Stuart & Morejohn (1980), Yurick & Gaskin (1987) e Gao & Gaskin (1996) referiram também que a nível do Pacífico, os botos apresentam dimensões cranianas reduzidas e que tanto no Pacífico como a Este e Oeste do Atlântico, as fêmeas apresentam dimensões corporais e cranianas superiores à dos machos. Os mesmos autores também verificaram que os indivíduos da população do Pacífico apresentam maxilas de maiores dimensões, rosto mais robusto e maior número de dentes relativamente aos indivíduos da população do Atlântico. Noldus & de Klerk (1984) observaram o mesmo paradigma, relativamente às dimensões craniométricas e corporais na população de botos do Mar do Norte. Yurick & Gaskin (1987) propuseram que a distinção entre os indivíduos da população do Atlântico e Pacífico pode ser devida a condições

climáticas. Os mesmos autores também evidenciaram diferenças corporais e cranianas relativas a fêmeas recém-nascidas das populações do Atlântico, cuja média das medidas do crânio era de 190-199 mm no Atlântico Oeste e de 161-177 mm no Atlântico Este.

Apresentando as fêmeas dimensões corporais superiores às dos machos, como mencionado anteriormente, as proporções cranianas que comprovam o dimorfismo sexual são facilmente demonstráveis (Galatius 2005). Quando comparados com outros mamíferos, estes apresentam dimorfismo sexual invertido, visto que as fêmeas apresentarem maiores dimensões corporais em comparação com os machos (Galatius 2005). Segundo o mesmo autor, as diferenças entre machos e fêmeas são demonstráveis recorrendo ao comprimento condilobasal, quando relacionado tanto com o comprimento do rostro como com a crista occipital, sendo ambos os comprimentos maiores nas fêmeas comparativamente aos machos. Gao & Gaskin (1996) também verificaram que o comprimento condilobasal é maior em fêmeas adultas do que em machos adultos e Galatius (2005) verificou também que os machos apresentavam um grau de pedomorfismo mais elevado comparativamente ao das fêmeas, devido ao desenvolvimento tardio da coluna vertebral. Em Portugal, Reiner (1985) afirmou que os indivíduos apresentam um comprimento condilobasal de 190-312 mm. Gao & Gaskin (1996) demonstraram que a relação entre o comprimento condilobasal e comprimento corporal não é linear.

Noutros estudos, tais como o realizado por Börjesson & Berggren (1997), evidencia-se através da morfometria e morfometria craniana que os indivíduos da população de botos no Mar Báltico são distintos de indivíduos das populações tanto do Mar Kattegat como do Mar de Skagerrak. Estas diferenças, segundo os mesmos autores, podem ter resultado de alterações climáticas. Huggenberger *et al.* (2002) observaram a existência de várias subpopulações no Atlântico Este com diferenciações morfométricas, nomeadamente uma no Mar do Norte e duas nas águas do Mar Báltico (área de transição e zona central do Mar Báltico) e Börjesson & Berggren (1997), Wang & Berggren (1997) e Huggenberger *et al.* (2000) propuseram que estas duas subpopulações no Mar Báltico possam ser delimitadas pela presença de cristas oceânicas que coincidem também com o limite de duas zonas com diferentes salinidades.

1.3 Objetivos

O objetivo principal deste estudo consiste em empregar o método de morfometria craniana, como uma ferramenta que permita a deteção de potenciais diferenças entre os indivíduos da população do Atlântico Este (norte e sul da Baía de Biscaia), pretendendo averiguar-se se os indivíduos da população que habita a sul da Baía de Biscaia apresentam o comprimento craniano superior comparativamente aos indivíduos a norte da Baía de Biscaia. Neste trabalho, estudou-se os indivíduos da população residente na costa portuguesa (amostra da população a sul da Baía de Biscaia). Além disso, e aliado a outros dados disponíveis em estudos realizados anteriormente por diversos autores referentes a estas duas populações (dieta, ambiente e dimensões corporais) pretende-se contribuir para a caracterização dos indivíduos que habitam a sul da Baía de Biscaia e eventualmente contribuir para a caracterização da possível subespécie *Phocoena phocoena meridionalis*.

2 Metodologia

2.1 Área de Estudo

Este estudo abrangeu as zonas Norte e Centro de Portugal Continental.

A plataforma Continental Portuguesa apresenta na sua morfologia, três canhões submarinos: Aveiro, Nazaré e Porto. Este tipo de incisões está fortemente associado ao fenómeno de afloramento costeiro (Guerreiro *et al* 2006), garantindo o arrefecimento das águas superficiais e o transporte de nutrientes provenientes de águas mais profundas (Bakun 1990). Sob estas condições a produção primária aumenta (Cury & Roy 1989 e Arístegui *et al.* 2009) e por conseguinte leva ao aumento de diversas espécies de peixe (Arístegui *et al.* 2009). Havendo uma grande concentração de peixe, surge então uma forte exploração de recursos tanto por pescadores como por mamíferos marinhos (Sequeira & Ferreira 1994). Existem dados providenciados pelos mesmos autores citados anteriormente que na costa portuguesa uma das atividades piscatórias mais predominantes utiliza redes de emalhar, sendo que a área de estudo deste trabalho segundo Ferreira (2007) apresenta uma forte ligação com a Arte Xávega.

2.2 Procedimento

A recolha dos cetáceos arrojados decorre do trabalho da rede de arrojamentos de animais marinhos coordenada a nível nacional pelo Instituto da Conservação da Natureza e Florestas (ICNF) e regionalmente pela Sociedade Portuguesa de Vida Selvagem (SPVS), sendo o trabalho maioritariamente desenvolvido no âmbito do projeto LIFE+ MarPro (NAT/PT/00038) cofinanciado pela União Europeia. Depois da necropsia de cada boto (*Phocoena phocoena*), o crânio foi separado para a realização deste estudo.

Antes de se iniciar as medições craniométricas, procedeu-se à limpeza de crânios, cuja finalidade consistiu em facilitar o acesso aos ossos a serem medidos. A limpeza de crânios consta-se como uma metodologia prática e útil e visa facilitar a identificação da espécie a estudar. Neste caso, como mencionado anteriormente, auxiliou na exposição dos ossos a serem medidos. Mediante o estado do cadáver, prosseguiu-se com o processo de limpeza adequado, cujos passos estão demonstrados na (tabela I). Antes do processo de limpeza foi necessário retirar o máximo de tecido mole de fácil remoção e desarticular as mandíbulas com auxílio de bisturi, espátula de madeira e pinça. Ao remover-se o máximo de tecido antes do processo de limpeza, reduz-se o tempo de processamento.

Durante esta atividade prática, os processos de limpeza consistiram em enterro do crânio durante um período variável, seguidamente prosseguiu-se com banho-maria, adicionando-se, ainda durante este processo, detergente de lavanderia em pó, uma vez que este contém enzimas, que ajudam assim na quebra do tecido mole. O processo de banho-maria ocorreu a uma temperatura entre 50-60°C. O tempo deste processamento foi variável, decorrendo entre 6 horas ou até mesmo dias, mediante a quantidade de tecido mole que os diversos crânios apresentavam. Após o processo de banho-maria, procedeu-se à segunda remoção manual de tecido mole. Estes dois processos foram intercalados e repetidos tantas vezes quantas necessárias para obtenção de crânio sem tecido mole. De seguida, realizou-se o branqueamento dos crânios com Peróxido de Hidrogénio a 12% (H₂O₂), afim de branquear, sem danificar o tecido ósseo. Uma vez que foi adquirido Peróxido de Hidrogénio a 30% foi necessário realizar diluições através da fórmula $C_i \times V_i = C_f \times V_f$ de forma a obter-se o valor de V_f . Este processo foi realizado em recipientes opacos e posteriormente tapados com sacos de plástico pretos, de forma a evitar a incidência direta da luz, o que provocaria a redução do H₂O₂ (Mattos *et al.* 2003).

Posteriormente retirou-se os crânios que permaneceram mergulhados no peróxido de hidrogénio e lavou-se com água corrente. Por fim, depois dos crânios terem sido lavados, estes foram secos à temperatura ambiente durante cerca de 5 dias. Em diversos casos, mesmo depois do banho-maria e do branqueamento com o peróxido de hidrogénio, alguns crânios permaneciam com algum tecido mole, pelo que foram novamente submetidos à utilização de detergente em pó, juntamente com água quente, para retirar os resíduos de gordura e deixá-los assim em perfeitas condições para obtenção das biometrias (Sullivan & Romney 1999).



Figura 4 - Preparação do crânio para remoção manual de tecido mole



Figura 5 - Estado do crânio após fase de enterro (vista lateral)



Figura 6 - Estado do crânio após fase de enterro (vista ventral)



Figura 7 - Crânio em processo de banho-maria para a remoção de tecido mole através da ação enzimática



Figura 8 - Estado do crânio após processo de banho-maria e 2ª fase de remoção manual de tecido mole.



Figura 9 - Estado de crânio após fases intercaladas de banho-maria com detergente enzimático e remoção manual de tecido mole.



Figura 10 - Submersão de crânios em peróxido de hidrogénio.



Figura 11 - Crânios após submersão em peróxido de hidrogénio, e em fase de pré-secagem.



Figura 12 - Crânio após todos os processos de limpeza e branqueamento. Pronto para medições (Vista lateral).



Figura 13 - Crânio após todos os processos de limpeza e branqueamento. Pronto para medições (vista nugal).

Tabela I - Diversos tipos de processos de limpeza, mediante o estado do cadáver adaptado de <http://www.jakes-bones.com/p/how-to-clean-animal-bones.html>

Estado / O que fazer	Cadáver Fresco	Cadáver em decomposição	Esqueleto com tecido mole	Ossos secos sem tecido ou cheiro	Mumificado (Carne seca)
Deixar de molho em água quente com detergente enzimático	✗	✗	✓	✓	✓
Peróxido de Hidrogénio	✗	✗	✓ / ✗	✓	✗
Decompositores	✓	✗	✗	✗	✗
Enterrar	✓	✓	✓	✗	✓
Colocar acima do solo, ao ar livre	✓	✓	✓	✗	✓
Água fria	✓ / ✗	✓ / ✗	✓	✗	✓
Banho Maria	✓ / ✗	✓ / ✗	✓	✓	✗
Ferver	✗	✗	✗	✗	✗
Lixívia	✗	✗	✗	✗	✗

Após o procedimento de limpeza, foram retiradas inúmeras fotografias dos respetivos crânios, para posteriormente ser realizada uma análise morfométrica com auxílio do programa *Image J*[®] 1.48. Este consiste num programa de processamento e manipulação de imagens científicas, sendo que neste caso foi utilizado como meio de medições morfométricas.



Figura 14 - Análise morfométrica com auxílio do programa *Image J*[®] 1.48 (Fonte: Cláudia Moreira).

- **Medidas de caracteres cranianos**

A tabela seguinte (tabela II) mostra as medidas que foram realizadas neste procedimento e a sua descrição, para posteriormente ser feita a análise estatística.

Tabela II - Medições morfométricas e a descrição individual de cada medição adaptado de Huggenberger *et al.* 2002.

Tipo de Medida	Descrição da medida
APL	Comprimento do Processo alveolar (fileira de dentes superior esquerda) desde a extremidade do rostro até ao limite posterior do alvéolo.
CBL	Comprimento condilobasal: Distância paralela da linha média da margem anterior do rostro até à margem posterior do côndilo occipital esquerdo
MXL	Comprimento máximo da maxila esquerda
PML	Comprimento máximo da pré-maxila esquerda
CNL	Distância entre o côndilo occipital esquerdo e a parede posterior da cavidade nasal
RAL	Distância entre a extremidade do rostro e <i>notch</i> (Chanfradura) antorbital
CAL	Distância entre o Côndilo occipital esquerdo e <i>notch</i> (Chanfradura) antorbital
RAW	Largura do rostro entre chanfraduras antorbitais
PMW	Largura máxima das pré-maxilas
PAW	Largura máxima medida anteriormente aos processos pos-orbitais dos ossos frontais
NCW	Largura da cavidade nasal
PPW	Largura máxima entre os processos postorbitais dos ossos frontais
NBW	Largura máxima dos ossos nasais
FMW	Largura do <i>Foramen magnum</i>
COW	Largura (extensão máxima transversal) do côndilo Occipital

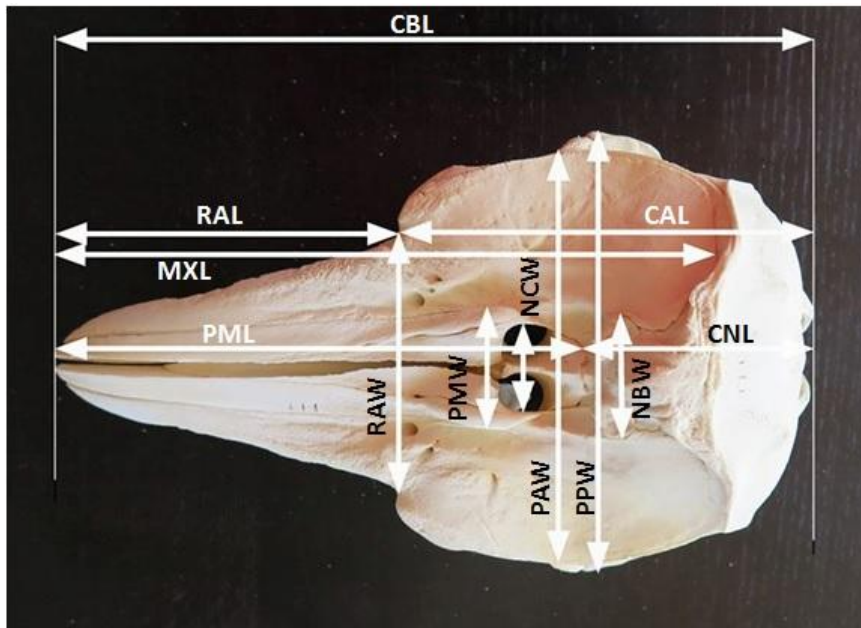


Figura 15 - Representação gráfica da vista dorsal de um crânio de *Phocoena phocoena*, evidenciando as medidas morfométricas. Adaptado de Huggenberger *et al.* 2002.



Figura 16 - Representação gráfica da vista lateral de um crânio de *Phocoena phocoena*, evidenciando as medidas morfométricas. Adaptado de Huggenberger *et al.* 2002.

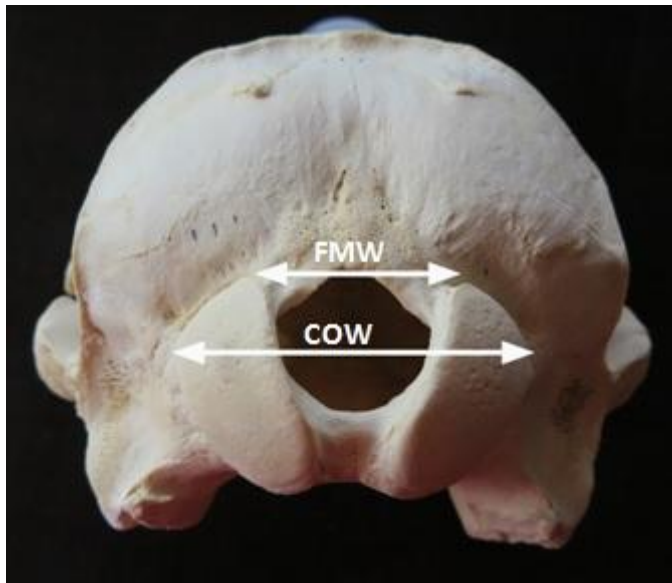


Figura 17 - Representação gráfica da vista occipital de um crânio de *Phocoena phocoena*, evidenciando as medidas morfométricas. Adaptado de Huggenberger *et al.* 2002.

2.3 Análise de dados

Durante este estudo foram medidos 65 crânios de *Phocoena phocoena*, dos quais 18 foram excluídos da análise devido à falta de informação (sexo e comprimento total). Obtendo-se assim um n=47 (20 fêmeas e 27 machos). Tanto as fêmeas como os machos, foram agrupados em indivíduos imaturos e maduros, obtendo-se assim 11 fêmeas imaturas (n=11), 9 fêmeas maduras (n=9), 9 machos imaturos (n=9) e 18 machos maduros (n=18).

- **Alometria de caracteres cranianos**

De forma a avaliar tanto o desenvolvimento dos caracteres cranianos medidos (desenvolvimento precoce ou tardio), em relação ao comprimento total do respetivo indivíduo, bem como determinar se existiam diferenças intersexuais no padrão de crescimento dos caracteres medidos, também relacionado com o comprimento total do respetivo indivíduo, utilizou-se o modelo alométrico de caracteres cranianos (através do programa GraphPad Prism[®]) com base na seguinte fórmula: $\log(Y) = \log(a) + b(\log(L))$. Numa abordagem similar à proposta por Galatius (2005), Y refere-se ao comprimento do carácter craniano (cm), L é o comprimento total (cm) do indivíduo, a é uma constante

determinada pelo valor de Y quando X é a unidade (corresponde a 1), e b é o coeficiente de crescimento (que corresponde ao declive da reta produzida).

Perante um coeficiente de crescimento significativamente menor do que 1.0 verifica-se uma alometria negativa, facto que corresponde a um desenvolvimento precoce do caractere em análise. Quando o coeficiente é significativamente maior do que 1.0 confirma-se alometria positiva e desenvolvimento tardio do caractere craniano. Finalmente um coeficiente que não seja significativamente diferente de 1.0 corresponde a isometria e indica que o crescimento do caractere em questão é diretamente proporcional ao crescimento do comprimento total do corpo do indivíduo ao longo do seu desenvolvimento.

Posteriormente prosseguiu-se com dois testes estatísticos *t-Student*, ambos relacionados com o coeficiente de crescimento. Num dos testes foi avaliada a existência de diferenças significativas em relação à isometria, através da fórmula $t = (b-1)/SE_b$ cuja $H_0: b = 1$. No outro teste permitiu a comparação dos coeficientes de crescimento entre machos e fêmeas recorrendo à análise estatística $t = (b_m - b_f) / \sqrt{SE_{b_m}^2 + SE_{b_f}^2}$, tendo como $H_0: b_{macho} = b_{fêmea}$.

- **Dimorfismo sexual com base nos caracteres cranianos**

Para se proceder a comparações de caracteres cranianos entre machos e fêmeas, previamente é necessário verificar que estas comparações são realizadas entre indivíduos que se encontram no mesmo estágio de desenvolvimento, de forma a obter-se resultados fiáveis. De uma forma preferencial essas comparações são mais corretas quando os indivíduos apresentem uma fase de crescimento completa (Indivíduos maduros). Desta forma, a amostra foi dividida entre indivíduos imaturos e indivíduos maduros. Relativamente a machos maduros, assume-se todos os indivíduos cujo comprimento seja superior a 154 cm (López 2003). Quanto às fêmeas López (2003) sugere que as fêmeas maduras ostentam comprimentos superiores a 166 cm. Contudo, considerando os dados provenientes da rede de arrojamentos de animais marinhos associado ao projeto LIFE+ MarPro, foram registadas fêmeas grávidas acima dos 163 cm, pelo que se optou por usar esta medida como diferenciadora do estado de maturidade.

Se para um determinado género, o crescimento tiver parado numa fase de pedomorfose, ou seja atinge a maturidade sexual, mas mantém caracteres juvenis, nas

medições efetuadas em indivíduos adultos será de esperar uma elevada ocorrência de caracteres em desenvolvimento precoce (alometria negativa), quase nenhuns caracteres em desenvolvimento tardio (alometria positiva) e poucos caracteres isoméricos (Galatius 2005).

Para cada estágio de desenvolvimento (imaturos e maturos) as medidas dos caracteres cranianos foram comparadas entre sexos com o recurso a uma análise de Permanova unifatorial usando distâncias euclidianas como índice de similaridade e efetuando 9999 permutações. Trata-se de um teste robusto que permite fazer uma análise multivariada aos dados usando um modelo experimental para determinar diferenças entre fatores e variáveis. Os dados não têm de seguir uma distribuição normal e recorre a permutações, podendo ser usado qualquer tipo de distância que seja apropriada aos dados. No presente caso usou-se como índice de similaridade as Distâncias Euclidianas porque esta medida assume que entre dois grupos não existe um limite superior e o seu valor pode aumentar indefinidamente com o número de descritores, pelo que uma Permanova unifatorial terá um comportamento similar aos modelos lineares. Ao mesmo tempo este índice é adequado para medições nas mesmas unidades e na mesma ordem de grandeza entre si. A análise SIMPER em relação à mesma matriz de dados usada na Permanova foi usada para identificar a contribuição para a similaridade (ou dissimilaridade) de cada um dos caracteres cranianos medidos e o seu contributo para as diferenças entre sexos. Todas as análises foram efetuadas usando o programa de livre acesso PAST[®] v. 2.12 (Hammer *et al.* 2001).

3 Resultados

- **Medidas dos caracteres cranianos**

Para cada caractere medido em ambas as categorias (Subadultos e Adultos) calculou-se a média dos diferentes grupos (machos e fêmeas) e o respetivo desvio-padrão, como é demonstrado nas tabelas III e IV. Após a observação destas tabelas, evidencia-se que as fêmeas apresentam valores médios superiores em todos os caracteres.

Tabela III - Número de indivíduos da amostra (n), valor médio e valor de desvio-padrão (DP) correspondente a cada caractere medido referente aos subadultos

Caractere	Machos			Fêmeas		
	n	Média	DP	n	Média	DP
APL	9	9.084	0.5255	11	10.18	0.8737
CBL	9	25.69	0.9719	11	27.9	1.933
MXL	9	21.07	1.222	11	23.29	1.777
PML	9	16.79	0.9094	11	18.54	1.605
CNL	9	8.895	0.5022	11	9.353	0.7041
RAL	9	10.71	0.4856	11	11.98	0.9906
CAL	9	14.98	0.5897	11	15.92	1.022
RAW	9	7.51	0.4702	11	8.27	0.7184
PMW	9	4.031	0.2965	11	4.364	0.3382
PAW	9	13.8	0.6208	11	14.86	1.099
NCW	9	3.102	0.2297	11	3.353	0.3505
PPW	9	14.65	0.6016	11	15.7	1.049
NBW	9	3.729	0.2794	11	4.178	0.4572
FMW	9	3.826	0.3995	11	3.889	0.474
COW	9	7.023	0.4938	11	7.336	0.7233

Tabela IV - Número de indivíduos da amostra (n), valor médio e valor de desvio-padrão (DP) correspondente a cada caractere medido referente aos adultos.

Caractere	Machos			Fêmeas		
	n	Média	DP	n	Média	DP
APL	18	10.2	0.7995	9	10.87	0.7194
CBL	18	28	1.584	9	29.51	1.196
MXL	18	23.07	1.409	9	24.47	1.171
PML	18	18.22	1.358	9	19.31	1.203
CNL	18	9.779	0.6367	9	10.18	0.9186
RAL	18	11.67	0.8735	9	12.42	0.7315
CAL	18	16.33	0.8625	9	17.1	0.7678
RAW	18	8.51	0.7809	9	9.337	0.2702
PMW	18	4.141	0.4507	9	4.602	0.3191
PAW	18	15.25	0.9809	9	16.36	0.7732
NCW	18	3.384	0.2859	9	3.861	0.2193
PPW	18	16.25	1.092	9	17.21	0.7229
NBW	18	4.338	0.6086	9	4.378	0.3644
FMW	18	4.066	0.3632	9	4.395	0.7031
COW	18	7.949	0.6324	9	8.981	1.583

- **Alometria dos caracteres cranianos**

As regressões alométricas definidas através da relação entre as medidas dos caracteres cranianos em função do comprimento total do animal, mostram que para os machos, todos os caracteres apresentam um modelo de alometria negativa, exceto no caso do caractere NBW que não apresenta um desvio significativo em relação à isometria (Tabela V com equações e significância dos desvios na isometria e tipo de alometria). Já no que se refere às fêmeas, é possível verificar a ocorrência de um maior número de caracteres alométricos, nomeadamente os caracteres RAW, NCW, FMW e COW que não apresentam um desvio significativo em relação à isometria ($b=1$) (tabela VI com equações e significância dos desvios na isometria e tipo de alometria). Em ambos os géneros apresenta-se um modelo alométrico negativo (tabelas V e VI).

Tabela V - Equações alométricas para os caracteres cranianos baseados no modelo alométrico proposto. Número de indivíduos da amostra (n), erro padrão de b (SE_b) e significância de desvios na isometria e tipo de alometria, correspondente aos machos.

Caractere	Machos						Significância de desvios na isometria e tipo de alometria
	n	a	b	SE _b	R ²	t=(b-1)/SE _b	
APL	27	-0.2411	0.5617	0.1319	0.4203	-3.3229719	0.0002 (alometria negativa)
CBL	27	0.4585	0.4449	0.08391	0.5293	-6.6154213	0.0000 (alometria negativa)
MXL	27	0.3109	0.4735	0.09932	0.4762	-5.3010471	0.0000 (alometria negativa)
PML	27	0.242	0.4587	0.1169	0.3811	-4.6304534	0.0000 (alometria negativa)
CNL	27	0.05783	0.4186	0.115	0.3465	-5.0556522	0.0000 (alometria negativa)
RAL	27	0.02038	0.4712	0.1126	0.4121	-4.69627	0.0000 (alometria negativa)
CAL	27	0.267	0.4255	0.08284	0.5134	-6.9350555	0.0000 (alometria negativa)
RAW	27	-0.6013	0.6895	0.1226	0.5585	-2.5326264	0.0174 (alometria negativa)
PMW	27	0.1427	0.2137	0.179	0.0539	-4.3927374	0.0002 (alometria negativa)
PAW	27	0.03865	0.515	0.09353	0.5481	-5.185502	0.0000 (alometria negativa)
NCW	27	-0.5441	0.4832	0.1399	0.3229	-3.6940672	0.0010 (alometria negativa)
PPW	27	-0.01412	0.5514	0.0919	0.5902	-4.8813928	0.0000 (alometria negativa)
NBW	27	-0.7212	0.6082	0.2229	0.2296	-1.7577389	0.0901 (Isometria)
FMW	27	-0.02417	0.284	0.1763	0.09404	-4.0612592	0.0004 (alometria negativa)
COW	27	-0.4482	0.6062	0.1358	0.4437	-2.8998527	0.0073 (alometria negativa)

Tabela VI - Equações alométricas para os caracteres cranianos baseados no modelo alométrico proposto. Número de indivíduos da amostra (n), erro padrão de b (SE_b) e significância de desvios na isometria e tipo de alometria, correspondente às fêmeas.

Caractere	Fêmeas						Significância de desvios na isometria e tipo de alometria
	n	a	b	Se _b	R ²	t=(b-1)/SE _b	
APL	20	0.06797	0.433	0.1985	0.209	-2.856423174	0.0101 (alometria negativa)
CBL	20	0.616	0.3821	0.1449	0.2786	-4.264320221	0.0004 (alometria negativa)
MXL	20	0.5617	0.3795	0.1601	0.2294	-3.875702686	0.0010 (alometria negativa)
PML	20	0.6494	0.2846	0.197	0.104	-3.631472081	0.0017 (alometria negativa)
CNL	20	-0.2567	0.5656	0.1979	0.3122	-2.195048004	0.0408 (alometria negativa)
RAL	20	0.3549	0.332	0.1809	0.1577	-3.692647872	0.0015 (alometria negativa)
CAL	20	0.2977	0.4175	0.1467	0.3104	-3.97068848	0.0008 (alometria negativa)
RAW	20	-0.8276	0.8045	0.1545	0.601	-1.265372168	0.2211 (Isometria)
PMW	20	-0.2166	0.394	0.1858	0.1999	-3.261571582	0.0041 (alometria negativa)
PAW	20	-0.09383	0.5842	0.1592	0.4279	-2.611809045	0.0171 (alometria negativa)
NCW	20	-1.361	0.8705	0.2199	0.4655	-0.588904047	0.5629 (Isometria)
PPW	20	0.03862	0.5345	0.1474	0.4221	-3.15807327	0.0052 (alometria negativa)
NBW	20	-0.1177	0.3394	0.2536	0.0905	-2.60488959	0.0174 (alometria negativa)
FMW	20	-1.169	0.8095	0.3445	0.2348	-0.552975327	0.5868 (Isometria)
COW	20	-1.505	1.095	0.3471	0.356	0.273696341	0.7873 (Isometria)

A comparação entre os modelos alométricos de machos e fêmeas, para a totalidade da população amostrada, revela que não existem diferenças intersexuais nas equações alométricas definidas em função dos caracteres cranianos e o comprimento total dos indivíduos, apesar de as fêmeas apresentarem mais caracteres alométricos do que os machos (Tabela VII).

Tabela VII - Significância de diferenças intersexuais para cada caractere medido na totalidade da população amostrada.

Fêmeas Vs Machos	
Caractere	Significância de diferenças intersexuais no b (P)
APL	0.6292
CBL	0.7753
MXL	0.6909
PML	0.5046
CNL	0.5725
RAL	0.5803
CAL	0.9713
RAW	0.6361
PMW	0.5166
PAW	0.7669
NCW	0.1691
PPW	0.9406
NBW	0.3992
FMW	0.1255
COW	0.1417

A partir dos valores dos caracteres cranianos em função do comprimento total de cada indivíduo, ambos transformados em Log, de forma a obter-se uma normalidade dos dados (Figura 18), verifica-se que há um conjunto de caracteres que apresentam uma dispersão de dados muito similares: APL, CNL, NBW e FMW. Ao mesmo tempo, os diagramas de dispersão mostram que existe um conjunto de caracteres cujas equações alométricas das fêmeas indicam valores mais elevados para esses caracteres ao longo do ciclo de vida dos animais. Estes caracteres são: CBL, MXL, PML, RAL, CAL, RAW, PWL, PAW, NCW, PPW e COW.

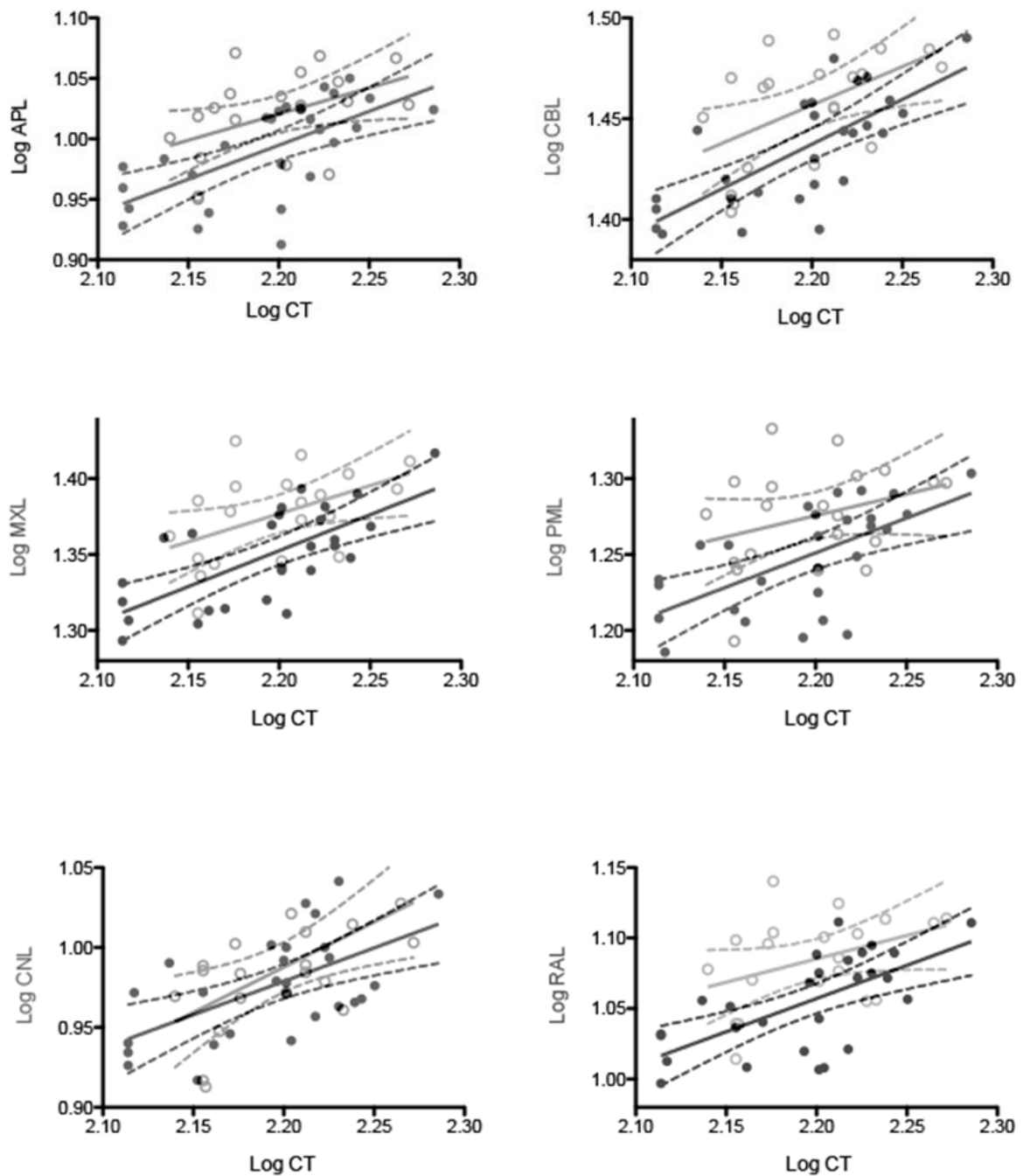


Figura 18 - Diagrama de dispersão dos valores dos caracteres cranianos medidos em função do comprimento total do indivíduo. Indivíduos do sexo feminino: círculos abertos; sexo masculino: círculos fechados. Linhas pontilhadas e completas de cinzento claro: linhas de regressão alométrica (\pm intervalo de confiança a 95%) do sexo feminino. Linhas pontilhadas e completas de cinzento-escuro: linhas de regressão alométrica (\pm intervalo de confiança a 95%) do sexo masculino (cont.).

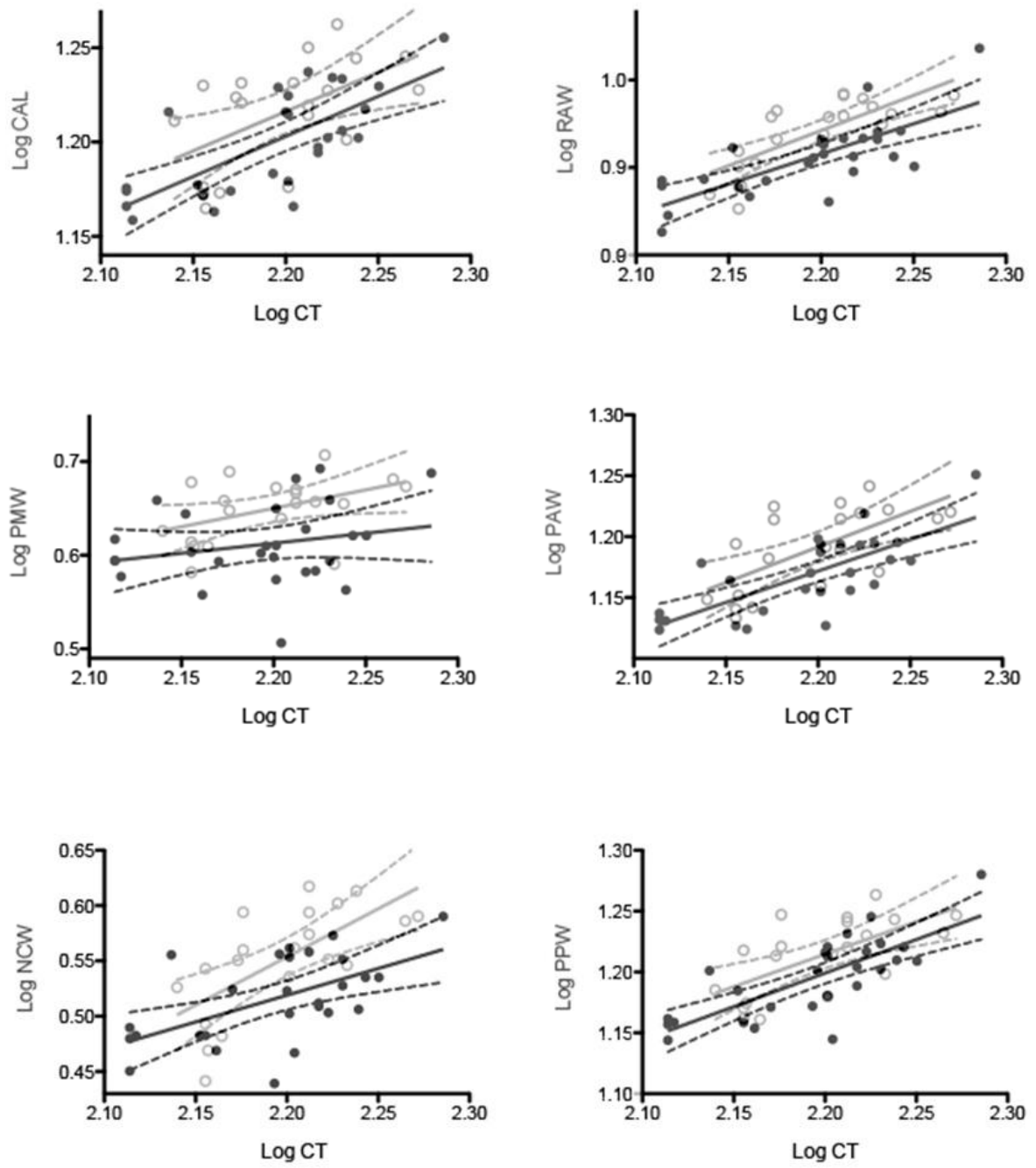


Figura 18- Continuação.

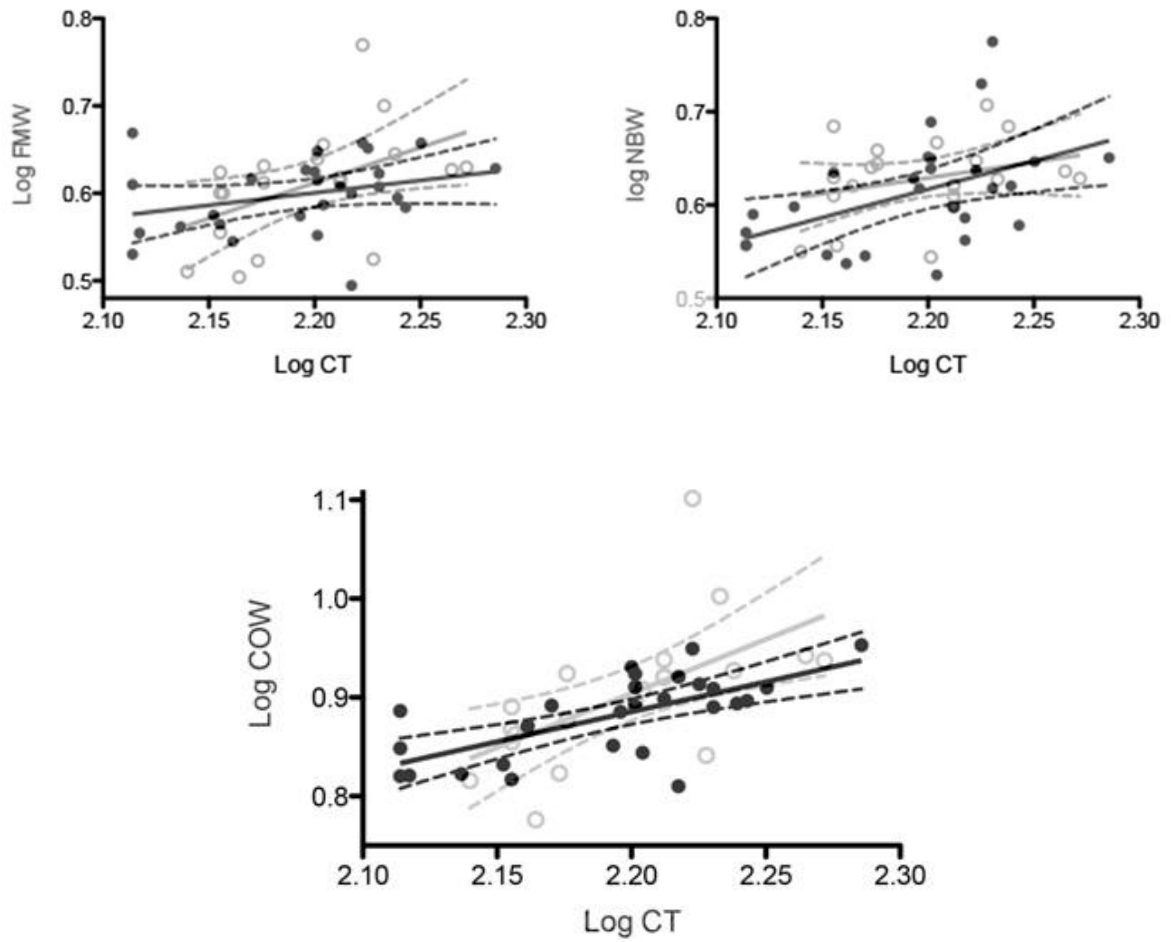


Figura 18- Continuação.

Dimorfismo sexual com base nos caracteres cranianos

Grupo etário: Subadultos

A análise global das medições dos caracteres cranianos dos subadultos, mostra que para este grupo existem diferenças entre sexos nas medidas efetuadas (Tabela VIII permanova $p < 0,01$). Com base na análise de SIMPER (Figura 19) verifica-se que essas diferenças ficam a dever-se a oito caracteres dominantes (contribuições acima de 5%) de seguida apresentados segundo a sua ordem de importância: MXL, CBL, PML, RAL, PAW, PPW, CAL e APL.

Tabela VIII- PERMANOVA unifatorial com 9999 permutações, explorando diferenças sexuais na totalidade dos caracteres cranianos em função do grupo etário. SQ – Soma dos quadrados; QM – Quadrados Médios

Variáveis	SQ	QM	PseudoF	p
Subadultos				
Macho vs Fêmeas	314,8	215,4	8,305	0,0059
Adultos				
Macho vs Fêmeas	378,0	308,0	5,657	0,0063

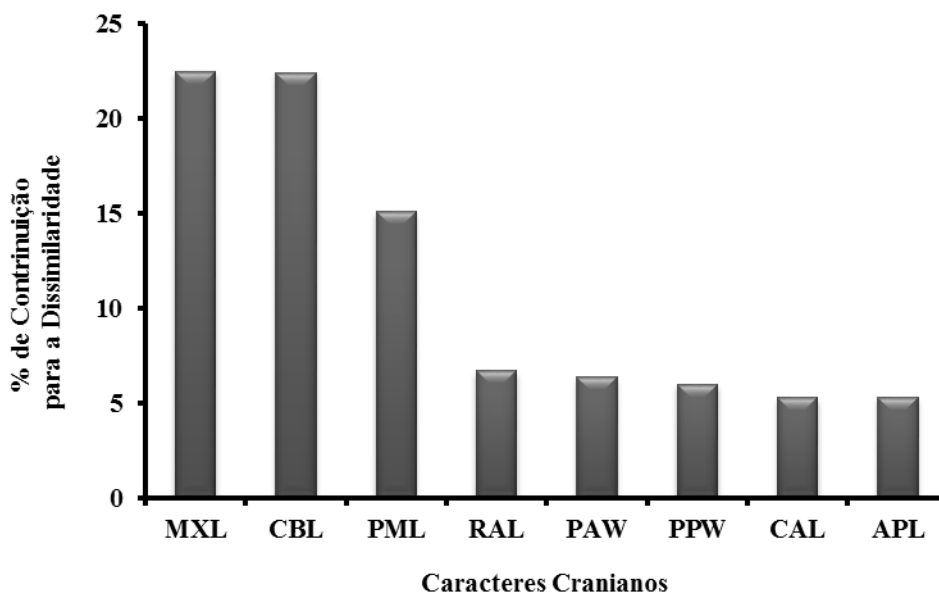


Figura 19 - Análise de similaridade (SIMPER) referente ao grupo etário subadultos mostrando a contribuição (%) de cada caractere craniano para diferenças globais resultantes da PERMANOVA (apenas estão representados os caracteres cranianos que foram responsáveis por tipificar ou distinguir $\geq 5\%$ da variação).

Grupo etário: Adultos

Em relação a este grupo, a análise global das medições dos caracteres cranianos dos adultos, mostra o mesmo paradigma referente aos subadultos, apresentando também diferenças significativas entre sexos nas medidas efetuadas (tabela VIII permanova $p < 0,01$). Com base na análise de SIMPER (Figura 20) verifica-se que essas diferenças ficam da dever-se a 8 caracteres dominantes (contribuições acima de 5%) de seguida apresentados segundo a sua ordem de importância: CBL, MXL, PML, COW, PAW, PPW, CAL e RAL.

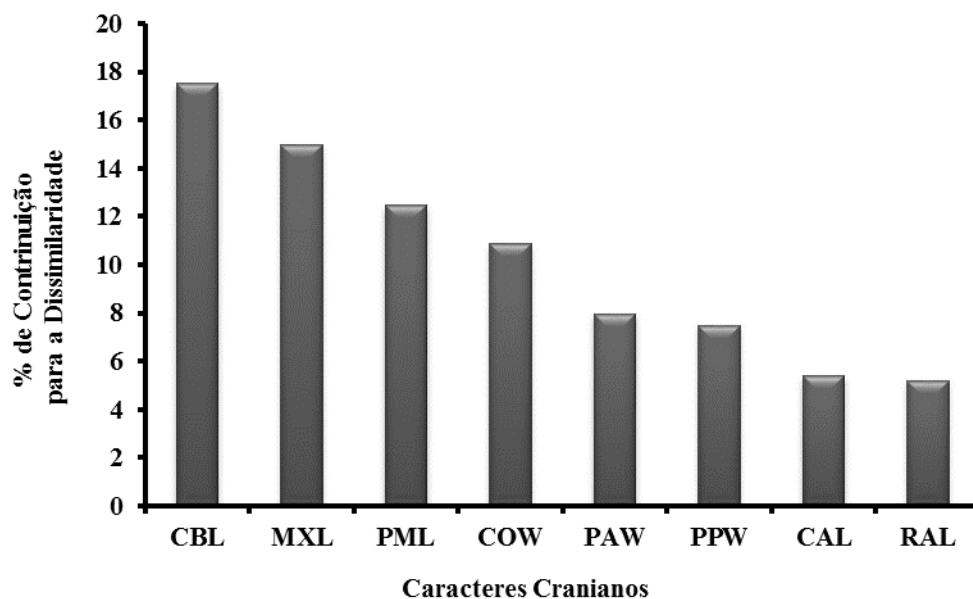


Figura 20 - Análise de similaridade (SIMPER) referente ao grupo etário adultos mostrando a contribuição (%) de cada caractere craniano para diferenças globais resultantes da PERMANOVA (apenas estão representados os caracteres cranianos que foram responsáveis por tipificar ou distinguir $\geq 5\%$ da variação).

Comparando as análises entre o grupo etário dos subadultos e dos adultos verifica-se que os caracteres MXL, CBL, PML, RAL, PAW, PPW e CAL são os que contribuem para a dissimilaridade, embora em percentagens diferentes. Nesta comparação, entre as duas análises, verifica-se que no grupo dos adultos o caractere COW substitui o caractere APL que apenas contribuiu para as diferenças no grupo etário dos subadultos.

4 Discussão

Está descrito que existe subdivisão da população de botos do Atlântico, originando duas populações, uma no Atlântico Oeste e outra no Atlântico Este, devido ao facto de os botos não fazerem migrações longínquas (Gaskin 1984). Recentemente, Fontaine *et al.* (2014) alertaram para a possibilidade da existência de uma nova subespécie no Atlântico Este, que se encontra distribuída do sul da Baía de Biscaia até ao norte de África.

O presente estudo é o primeiro a ser realizado em Portugal com recurso a medições morfométricas cranianas, tendo a finalidade de estudar uma amostra da população de botos que habita a sul da Baía de Biscaia e verificar também as diferenças entre as duas populações de botos do Atlântico Este (norte e sul da Baía de Biscaia).

De acordo com os resultados obtidos neste estudo observa-se que os indivíduos das populações do Atlântico Este apresentam diferenças morfológicas entre si, onde os indivíduos da população residente a sul da Baía de Biscaia exibem comprimentos superiores (Tabela IX). Esta observação é coincidente com informação reportada em estudos anteriores, cujos autores afirmam que aquelas duas populações manifestam morfologia distinta, onde os indivíduos residentes a sul da Baía de Biscaia apresentam comprimentos corporais superiores (~2m) aos indivíduos que habitam a norte desta (~1,5m) (Smeenk *et al.* 1992 e Donovan & Bjørge 1995). Estas diferenças são ainda mais marcada comparativamente aos indivíduos da população do Mar Negro, tal como descrito por Donovan & Bjørge (1995).

Tabela IX - Médias de Comprimento total (cm) de Machos e Fêmeas das respetivas regiões.

Região	Comprimento Total (cm)	
	Macho	Fêmea
Dinamarca (Viaud-Martinez <i>et al.</i> 2007)	144.4	159
Águas Britânicas (Lokyer 1995)	145	160
Mar Negro (Viaud-Martinez <i>et al.</i> 2007)	132.4	144.5
Mar do Norte (Viaud-Martinez <i>et al.</i> 2007)	140.7	150.9
Portugal (Presente Estudo)	166	171

Pelo facto de os indivíduos subadultos não terem atingido ainda o comprimento máximo, não será efetuada uma avaliação deste dado, por não ser considerada fiável. No que diz respeito aos adultos, a amostra do presente estudo é constituída por 27 indivíduos, em que 18 são machos e 9 são fêmeas. A média dos comprimentos totais foi de 166cm nos machos e 171cm nas fêmeas. O maior comprimento total apresenta-se inesperadamente num dos machos, com um valor discrepante de 193cm. Caso este valor fosse excluído e visto que os comprimentos totais dos machos se apresentam num intervalo compreendido entre 150 e 178cm, a média para o comprimento total, baixaria para 164cm. Nas fêmeas, o maior valor apresentou-se por 187cm.

Aliado a isto, também se verificou que as fêmeas apresentam as maiores dimensões corporais (Tabela IX). Esta interpretação foi também constatada por Gaskin & Blair (1977), Van Utrecht (1978) e Gaskin *et al.* (1984) que verificaram, a nível global do Atlântico Norte, que os machos, em média, apresentam dimensões corporais inferiores às fêmeas. Esta observação, foi também realçada por Stuart & Morejohn (1980), que justificam o facto de as fêmeas apresentarem dimensões corporais superiores aos machos, com a necessidade de suporte do feto. Por sua vez, Read & Tolley (1997) propõem que esta diferença pode ser devida ao facto de os machos fazerem mais migrações entre áreas.

Para além das diferenças morfológicas entre as duas populações do Atlântico Este, Pierce *et al.* (2010), Pinela *et al.* (2010) e Méndez-Fernandez *et al.* (2013) concluíram que estas apresentam também hábitos alimentares e utilizam habitats distintos. Fontaine *et al.* (2014) verificaram que as duas populações são distintas geneticamente, no entanto, existe

troca limitada de genes, observada no último milénio. Alegadamente esta pode dever-se ao arrefecimento ocorrido durante a Pequena Idade do Gelo que potenciou migrações de peixes de água fria para sul em direção à Baía de Biscaia. Segundo Arístegui *et al.* (2009) a sul da Baía de Biscaia (costa Ibérica) o afloramento costeiro é sazonal e geograficamente limitado. Devido ao surgimento destas condições mais favoráveis na Baía de Biscaia, houve condução dos indivíduos que habitam a norte em direção a sul e vice-versa, permitindo assim a troca limitada de genes entre as duas populações, verificada só no local referido (Fontaine *et al.* 2014).

Foi demonstrado que as fêmeas, comparativamente aos machos, apresentam não só valores superiores relativos às dimensões corporais, como apresentam também valores superiores nas medições dos caracteres cranianos. Esta afirmação é consistente com resultados alusivos às populações a nível global do Atlântico Norte (Gaskin & Blair 1977; Van Utrecht 1978 e Gaskin *et al.* 1984), Atlântico Oeste (Yurick 1977 e Gao & Gaskin 1996), Pacífico Este (Yurick 1977) e Mar do Norte (Noldus & de Klerk 1984).

Relacionando o comprimento total dos indivíduos com o comprimento craniano, neste estudo verificou-se proporcionalidade entre estas duas variáveis. Esta observação é comprovada com o estudo de Yurick & Gaskin (1987) que verificaram a mesma proporcionalidade em indivíduos das populações do Pacífico Este, Atlântico Oeste e Atlântico Este (Reino Unido e Irlanda, Mar do Norte e zona oeste do Mar Báltico).

No que toca às regressões alométricas, definidas através da relação das medidas dos caracteres cranianos em função do comprimento total, é demonstrado que para os machos, a maioria dos caracteres medidos apresenta uma alometria negativa, com exceção do caractere NBW que por sua vez apresenta isometria. Em relação às fêmeas, a maioria dos caracteres medidos também apresentou uma alometria negativa, mas verificou-se uma maior ocorrência de caracteres isométricos comparativamente aos machos, nomeadamente os caracteres RAW, NCW, FMW e COW. Este padrão de alometria em que prevalece a alometria negativa pode ser justificado pelo desenvolvimento precoce de caracteres devido ao processo de pedomorfismo. Quanto aos machos apresentarem mais caracteres com alometria negativa do que as fêmeas, este facto pode estar relacionado com o sugerido por Galatius (2005), que indica que os machos terminam o seu desenvolvimento num estágio mais precoce (elevado grau de pedomorfismo). Paradigmas similares em estudos

realizados com *Phocoena phocoena* foram reportados por Van Utrecht (1978), Read & Tolley (1997) e Galatius (2005).

Embora as fêmeas apresentem mais caracteres isométricos que os machos, não se verificaram diferenças intersexuais no desenvolvimento de cada caractere medido, estando de acordo com o estudo realizado por Galatius (2005), apesar das medições reportadas não terem sido exatamente as mesmas que as realizadas no presente estudo. Esta ausência de diferenças intersexuais aponta para que o desenvolvimento dos caracteres de ambos os sexos, sigam o mesmo padrão de desenvolvimento (Galatius 2005). Desta forma, devem referir-se os caracteres APL, CNL, NBW e FMW, em que se observa uma dispersão de dados muito similar em ambos os sexos, quando relacionados estes caracteres com o comprimento total. Realça-se que no caso dos caracteres CNL e NBW verifica-se ainda uma menor diferença entre os sexos.

Com base na análise global das medições dos caracteres cranianos a partir da PERMANOVA mostrou-se que tanto para os subadultos como para os adultos existem diferenças entre sexos nas medidas efetuadas, apresentando, como dito anteriormente, valores mais altos para as fêmeas em todas as medidas. Deve notar-se também que apesar de neste procedimento existirem mais medidas referentes à largura, a diferença entre géneros em ambos os grupos etários, foi mais marcada em medidas referentes ao comprimento.

Através da análise de SIMPER verificou-se que no grupo etário subadultos, os caracteres com maior percentagem de contribuição para as diferenças intersexuais são: MXL, CBL, PML, RAL, PAW, PPW, CAL e APL. Referente ao grupo etário adultos observou-se que os caracteres que contribuem mais para essa dissimilaridade são: CBL, MXL, PML, COW, PAW, PPW, CAL e RAL. No que toca à percentagem de contribuição de dissimilaridade do carácter APL para o grupo dos subadultos, esta pode dever-se ao facto de os indivíduos mais jovens se encontrarem em constante desenvolvimento, apresentando os machos uma estagnação do crescimento marcadamente mais precoce (Gaskin & Blair 1977; Stuart & Morejohn 1980; Gaskin *et al.* 1984 e Galatius *et al.* 2006). Assim, os machos atingem o comprimento alveolar máximo mais cedo.

Por sua vez, apenas nos adultos existe percentagem de contribuição de dissimilaridade do caractere COW, sem que haja grande diferença no carácter FMW, sugerindo que a maior diferença reside na largura dos côndilos occipitais (COW) e não no

foramen magnum (FMW). Sabendo que o crânio articula com a coluna vertebral através dos côndilos occipitais, uma maior superfície destes implica também uma maior área de articulação (Barone 1989). É possível que esta constatação esteja associada com o maior tamanho das fêmeas, necessitando de uma maior área de articulação para suporte da coluna. No entanto esta suposição não coincide com os dados de Galatius (2005) que refere que são os machos que possuem um maior comprimento da coluna se comparado com fêmeas que apresentem o mesmo tamanho. Assim seria de esperar no presente estudo, que os machos apresentassem os valores do caractere COW superiores quando relacionados com o comprimento total.

Será também de interesse referir que os caracteres comuns aos dois grupos (adultos e subadultos) com uma maior percentagem de contribuição para a dissimilaridade, dizem respeito aos ossos constituintes do rosto, com exceção do CAL e CBL que também perfazem porções da caixa craniana.

Tendo em conta o objetivo do presente estudo foi possível verificar que existem diferenças cranianas entre as duas populações do Atlântico Este. De facto, além das diferenças relatadas por outros autores, incluindo diferenças morfológicas e genéticas, diferenças nos hábitos alimentares e utilização de habitats distintos (Donovan & Bjørge 1995; Pierce *et al.* 2010; Pinela *et al.* 2010; Méndez-Fernandez *et al.* 2013 e Fontaine *et al.* 2014), o presente estudo evidencia que os indivíduos do sul da Baía de Biscaia diferem dos indivíduos da população do norte da Baía de Biscaia a nível da sua craniometria (Tabela X). Além disso, tanto os machos como as fêmeas da população do sul da Baía de Biscaia apresentam comprimentos condilobasais superiores comparativamente à população do norte da Baía de Biscaia. Este paradigma demonstra-se também quando comparados os indivíduos da população do sul da Baía de Biscaia com os indivíduos da população do Atlântico Oeste (Tabela X). Em comparação com outros estudos também se observa que os indivíduos do sul da Baía de Biscaia apresentam diferenças em relação aos indivíduos da população do Mar Negro, concluindo-se assim que para além de diferenças morfológicas reportadas por Donovan & Bjørge (1995), existem também diferenças craniométricas (Tabela X), apesar de Fontaine *et al.* (2014) ter observado que estas populações apresentam um ancestral comum mais recente.

Como seria de esperar, verificou-se que as fêmeas residentes a sul da Baía de Biscaia apresentam um comprimento condilobasal com valores superiores comparativamente aos machos (Tabela X).

Tabela X - Intervalo de valores correspondentes ao comprimento condilobasal (CBL) e/ou a média (\bar{x}) do comprimento condilobasal em cm de machos e fêmeas das respetivas regiões.

Região	CBL (cm)
Holanda (Noldus & De Klerk 1984)	Macho (18.2 – 28.0 cm) / Fêmea (20.7 – 28.3 cm)
Dinamarca (Viaud-Martinez et al. 2007)	Macho (24.7 – 28.5 cm) / Fêmea (25.3 – 29.1 cm)
Mar do Norte (Viaud-Martinez et al. 2007)	Macho (24.1 – 26.3cm) / Fêmea (24.8 – 28.1cm)
Atlântico Oeste (Costa Atlântica dos E.U.A e Canadá (Amano & Miyazaki 1992)	Macho (\bar{x} = 25.5cm) / Fêmea (\bar{x} = 28.1 cm)
Mar Negro (Viaud-Martinez et al. 2007)	Macho (22.8 – 24.9cm) / Fêmea (24.4 – 26.6 cm)
Portugal (Presente Estudo)	Subadultos Machos (24.7 – 27.82 cm) Subadultos Fêmeas (25.33 – 30.82 cm) Adultos Machos (24.84 – 30.91 cm) \bar{x} = 28 cm Adultos Fêmeas (27.28 – 31.04 cm) \bar{x} = 29.51cm

Observou-se também que as fêmeas apresentam uma maior largura do crânio comparativamente aos machos, demonstrada através dos valores do caractere PPW. Demonstra-se também que os indivíduos do sul da Baía de Biscaia apresentam não só diferenças relativas ao comprimento do crânio como também apresentam diferenças relativas à largura. A partir de estudos anteriores, como o de Yurick & Gaskin (1987) foi possível comparar valores de largura referentes à população que habita a norte da Baía de Biscaia (referenciada por estes autores como população do Atlântico Este (Reino Unido e Irlanda, Mar do Norte e zona Oeste do Mar Báltico)). No presente estudo os valores brutos relativos à largura máxima entre os processos postorbitais dos ossos frontais referem-se ao caractere PPW. No entanto, no estudo de Yurick & Gaskin (1987) os valores brutos relativos à largura máxima entre os processos zigomáticos referem-se ao caractere ZYG. Para o mesmo indivíduo, a largura ZYG é igual à largura PPW (Mead & Fordyce 2009) e como tal, tendo os valores de PPW do presente estudo sido superiores aos valores de ZYG

no estudo de Yurick & Gaskin (1987) conclui-se que os indivíduos do sul da Baía de Biscaia apresentam também crânios mais largos comparativamente aos indivíduos que habitam a norte da Baía de Biscaia. Esta diferenciação pode ter sido derivada às condições climáticas (Fontaine *et al.* 2014).

5 Conclusões

Numa visão geral, em ambos os sexos da população em estudo, os caracteres cranianos apresentaram um padrão similar de alometria negativa. Este padrão de alometria pode ser justificado pelo desenvolvimento precoce dos caracteres, devido ao processo de pedomorfismo.

As fêmeas apresentaram tanto o comprimento corporal como comprimento e largura do crânio superiores comparativamente aos machos. Tanto nos indivíduos subadultos como nos adultos.

Foi possível verificar-se diferenças nos caracteres medidos entre sexos. Os caracteres que contribuíram mais para essa diferença no grupo dos subadultos foram os caracteres MXL, CBL, PML, RAL, PAW, PPW, CAL e APL, enquanto no grupo dos adultos os caracteres CBL, MXL, PML, COW, PAW, PPW, CAL e RAL foram os que mais contribuíram para essa diferença.

No presente estudo também se verificaram diferenças cranianas e morfológicas entre as duas populações do Atlântico Este (norte e sul da Baía de Biscaia), considerando os comprimentos corporais e condilobasais superiores nos indivíduos do sul da Baía de Biscaia. Para além disso, os indivíduos da população do sul da Baía de Biscaia também apresentaram uma maior largura do crânio.

As diferenças evidenciadas no presente estudo corroboram a hipótese já formulada por Fontaine *et al.* (2014) sobre a existência de uma nova subespécie de boto (*Phocoena phocoena meridionalis*) no Atlântico.

Referências Bibliográficas

- Aguiar Z (2013) *Ecologia alimentar do bôto (Phocoena phocoena) ao longo da costa continental Portuguesa*, Universidade do Porto.
- Alfonsi E, Hassani S, Carpentier F-G, Le Clec'h J-Y, Dabin W, Van Canneyt O, Fontaine MC, Jung J-L (2012) A European melting pot of harbour porpoise in the French Atlantic coasts inferred from mitochondrial and nuclear data. *PLoS ONE*, **7**, e44425.
- Amano M, Miyazaki N (1992) Geographic-variation in Skulls of the Harbor Porpoise, *Phocoena phocoena*. *Mammalia*, **56**, 133-144.
- Andersen LW (1993) The population structure of the harbour porpoise, *Phocoena phocoena*, in Danish waters and part of the North Atlantic. *Marine Biology*, **116**, 1-7.
- Andersen LW, Ruzzante DE, Walton M, Berggren P, Bjørge A, Lockyer C (2001) Conservation genetics of harbour porpoises, *Phocoena phocoena*, in eastern and central North Atlantic. *Conservation Genetics*, **2**, 309-324.
- Arístegui J, Barton ED, Alvarez-Salgado XA, Santos AMP, Figueiras FG, Kifani S, Hernández-León S, Mason E, Machú E, Demarcq H (2009) Sub-regional ecosystem variability in the Canary Current upwelling. *Progress in Oceanography*, **83**, 33-48.
- Au WWL (2009) Echolocation. In: *Encyclopedia of Marine Mammals* (eds Perrin WF, Wursig B, Thewissen JGM), pp. 348-357. Elsevier Science, Oxford.
- Bakun A (1990) Global Climate Change and Intensification of Coastal Ocean Upwelling. *Science*, **247**, 198-201.
- Ballance LT (2009) Cetacean Ecology. In: *Encyclopedia of Marine Mammals* (eds Perrin WF, Wursig B, Thewissen JGM), pp. 196-201. Elsevier Science, Oxford.
- Bannister JL (2009) Baleen Whales (Mysticetes). In: *Encyclopedia of Marine Mammals* (eds Perrin WF, Wursig B, Thewissen JGM), pp. 80-89. Elsevier Science, Oxford.
- Barnes LG (1985) Evolution, Taxonomy and Antitropical Distributions of the Porpoises (Phocoenidae, Mammalia). *Marine Mammal Science*, **1**, 149-165.
- Barone R (1989) Articulations de la Tête. In: *Anatomie compare des mammifères domestiques: Arthrologie et myologie*, pp. 23-50. Éditions Vigot, Paris.
- Beaugrand G, Reid PC, Ibañez F, Lindley JA, Edwards M (2002) Reorganization of North Atlantic Marine Copepod Biodiversity and Climate. *Science*, **296**, 1692-1694.
- Bjørge A, Tolley KA (2009) Harbor Porpoise. In: *Encyclopedia of Marine Mammals* (eds Perrin WF, Wursig B, Thewissen JGM), pp. 530-533. Elsevier Science, Oxford.

- Börjesson P, Berggren P (1997) Morphometric comparisons of skulls of harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) from the Baltic, Kattegat, and Skagerrak seas. *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie*, **75**, 280-287.
- Cabral MJ, Almeida J, Almeida, PR, Dellinger, Ferrand de Almeida N, Oliveira ME, Palmeirim JM, Queirós AI, Rogado L, Santos-Reis M (2005). *Livro Vermelho dos Vertebrados de Portugal*. Instituto da Conservação da Natureza, Lisboa.
- Camphuysen CJ, Siemensma ML (2011) Conservation plan for the Harbour Porpoise *Phocoena phocoena* in The Netherlands: towards a favourable conservation status. *NIOZ Report 2011-07*, 22-183
- Cardini A, O'Higgins P (2004) Patterns of morphological evolution in Marmota (Rodentia, Sciuridae): geometric morphometrics of the cranium in the context of marmot phylogeny, ecology and conservation. *Biological Journal of the Linnean Society*, **82**, 385-407.
- Chivers SJ (2009) Cetacean Life History. In: *Encyclopedia of Marine Mammals* (eds Perrin WF, Wursig B, Thewissen JGM), pp. 215-220. Elsevier Science, Oxford.
- Cury P, Roy C (1989) Optimal Environmental Window and Pelagic Fish Recruitment Success in Upwelling Areas. *Canadian Journal of fisheries and aquatic sciences*, **46**, 670-680.
- Culik BM (2004) Review of Small Cetaceans. Distribution, Behaviour, Migration and Threats. *Regional Seas Reports and Studies*, **117**, 218-226.
- Dobigny G, Baylac M, Denys C (2002) Geometric morphometrics, neural networks and diagnosis of sibling Taterillus species (Rodentia, Gerbillinae). *Biological Journal of the Linnean Society*, **77**, 319-327.
- Donovan GP, Bjørge A (1995) Harbour porpoises in the North Atlantic: edited extract from the report of the IWC Scientific Committee, Dublin 1995. *Reports of the International Whaling Commission*, **16**, 3-26.
- Ferreira M (2007) *Ocorrência e captura accidental de cetáceos no Centro/Norte de Portugal*, Universidade do Minho.
- Ferreira M, Marçalo A, Nicolau L, Araújo H, Santos J, Pinheiro C, Lopes T, Mendes S, Vaqueiro J, Medina P, Cascalho A, Sequeira M, Eira C, Vingada J (2012) Estado actual das redes de arrojamentos e de reabilitação em Portugal Continental. *Relatório do Projecto LIFE MarPro PT/NAT/00038*, 3-28
- Fontaine MC, Baird SJE, Piry S, Ray N, Tolley KA, Duke S, Jr AB, Ferreira M, Jauniaux T, Llavona A, Öztürk AA, Ridoux V, Rogan E, Sequeira M, Siebert U, Vikingson GA, Bouqueneau J-M, Michaux JR (2007) Rise of oceanographic barriers in continuous populations of a cetacean: the genetic structure of harbour porpoises in Old World waters. *BMC Biology*, **5**, 30

- Fontaine MC, Tolley KA, Michaux JR, Jr AB, Ferreira M, Jauniaux T, Llavona A, Öztürk B, Öztürk AA, Ridoux V, Rogan E, Sequeira M, Bouquegneau J-M, Baird JE (2010) Genetic and historic evidence for climate-driven population fragmentation in a top cetacean predator: the harbour porpoises in European water. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, **277**, 2829-2837.
- Fontaine MC, Snirc A, Frantzis A, Koutrakis E, Öztürk B, Öztürk AA, Austerlitz F (2012) History of expansion and anthropogenic collapse in a top marine predator of the Black Sea estimated from genetic data. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **109**, E2569-E2576.
- Fontaine MC, Roland K, Calves I, Austerlitz F, Palstra FP, Tolley KA, Ryan S, Ferreira M, Jauniaux T, Llavona A, Öztürk B, Öztürk AA, Ridoux V, Rogan E, Sequeira M, Siebert U, Vikingson GA, Borrel A, Michaux JR, Aguilar A (2014) Postglacial climate changes and rise of three ecotypes of harbour porpoises, *Phocoena phocoena*, in western Palearctic waters. *Molecular Ecology*, **23**, 3306-3321.
- Fontaine P-M, Hammill MO, Barrette C, Kingsley MC (1994) Summer Diet of the Harbour Porpoise (*Phocoena phocoena*) in the Estuary and the Northern Gulf of St. Lawrence. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **51**, 172-178.
- Fordyce RE (2009) Cetacean Evolution. In: *Encyclopedia of Marine Mammals* (eds Perrin WF, Wursig B, Thewissen JGM), pp. 201-207. Elsevier Science, Oxford.
- Galatius A (2005) Sexually dimorphic proportions of the harbour porpoise (*Phocoena phocoena*) skeleton. *Journal of Anatomy*, **206**, 141-154.
- Galatius A (2010) Paedomorphosis in two small species of toothed whales (Odontoceti): how and why? *Biological Journal of the Linnean Society*, **99**, 278-295.
- Galatius A, Andersen M, Haugan B, Langhoff HE, Jespersen A (2006) Timing of epiphyseal development in the flipper skeleton of the harbour porpoise (*Phocoena phocoena*) as an indicator of paedomorphosis. *Acta Zoologica*, **87**, 77-82.
- Galatius A, Berta A, Frandsen MS, Goodall RNP (2011) Interspecific Variation of Ontogeny and Skull Shape Among Porpoises (Phocoenidae). *Journal of Morphology*, **272**, 136-148.
- Gao A, Gaskin DE (1996) Geographical variation in metric skull characters among proposed subpopulations and stocks of harbor porpoise, *Phocoena phocoena*, in the Western North Atlantic. *Marine Mammal Science*, **12**, 516-527.
- Gaskin DE (1984) The harbour porpoise *Phocoena phocoena* (L.): Regional Populations, Status, and Information on Direct and Indirect Catches. *Report of the International Whaling Commission*, **34**, 569-586

- Gaskin DE, Blair BA (1977) Age determination of harbor porpoise, *Phocoena phocoena* (L.), in western North Atlantic. *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie*, **55**, 18-30.
- Gaskin DE, Smith GJD, Watson AP, Yasui WY, Yurick DB (1984) Reproduction in the Porpoises (Phocoenidae): Implications for Management. *Report of the International Whaling Commission, Special Issue 6*, 135-148.
- Goldin PE, Vishnyakova KA (2015) Differences in skull size of Harbour Porpoises, *Phocoena phocoena* (cetacea), in the Sea of Azov and the Black Sea: Evidence for different morphotypes and populations. *Vestnik zoologii*, **49**(2), 171-180.
- Gould SJ (1977) *Ontogeny and Phylogeny*. Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge.
- Grove JM (2004) *Little Ice Ages: Ancient and Modern*, 2ª edição. Taylor & Francis, New York.
- Guerreiro C, Bizarro A, Duarte J, Taborda R (2006) Os Enigmáticos Canhões Submarinos da Plataforma Continental Portuguesa – Resultados preliminares do projecto científico DEEPCO (Deep Sedimentary Conduits of the West-Iberian Margin) *ANAIS do Instituto Hidrográfico*, **18**, 169-182.
- Hall AJ, Hugunin K, Deaville R, Law RJ, Allchin CR, Jepson PD (2006) The risk of infection from polychlorinated biphenyl exposure in the harbor porpoise (*Phocoena phocoena*): A case-control approach. *Environmental Health Perspectives*, **114**, 704-711.
- Hammer Ø, Harper DAT, Ryan PD (2001) Past: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaentologia Eletronica*, **4**, 1-9
- Hammond PS, Bearzi G, Bjørge A, Forney K, Karczmarski L, Kasuya T, Perrin WF, Scott MD, Wang JY, Wells RS, Wilson B (2008) *Phocoena phocoena*. The IUCN Red List of Threatened Species, versão 2014.2. Disponível em www.iucnredlist.org (acedido a 27/09/2014).
- Helle E, Olsson M, Jensen S (1976) PCB Levels Correlated with Pathological Changes in Seal Uteri. *Ambio*, **5**, 261-262.
- Hooker SK, Gerber LR (2004) Marine reserves has a tool for ecosystem-based management: The potential importance of megafauna. *Bioscience*, **54**, 27-29.
- Huggenberger S, Benke H, Kinze CC (2000) Geographical variations of the harbour porpoise (*Phocoena phocoena* L.) populations in the North and Baltic Sea using morphometric comparasons. *European Research on Cetaceans*, **13**, 362-366.
- Huggenberger S, Benke H, Kinze CC (2002) Geographical variation in harbour porpoise (*Phocoena phocoena*) skulls: Support for a separate non-migratory population in the Baltic proper. *Ophelia*, **56**, 1-12.

- Hutchings JA, Baum JK (2005) Measuring marine fish biodiversity: temporal changes in abundance, life history and demography. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, **360**, 315-338.
- Ichishima H, Kimura M (2005) Haborophocoena toyoshimai, a new early Pliocene porpoise (Cetacea; Phocoenidae) from Hokkaido, Japan. *Journal of Vertebrate Paleontology*, **25**, 655-664.
- [IWC] International Whaling Commission (1991) Report of the Sub-Committee on Small Cetaceans. *Report of the International Whaling Commission*, **41**, 172-190.
- Jefferson TA, Webber MA, Pitman RL (2011) *Marine Mammals of the World: A Comprehensive Guide to Their Identification: A Comprehensive Guide to Their Identification*. Elsevier Science, Oxford.
- Jepson PD, Bennett PM, Deaville R, Allchin CR, Baker JR, Law RJ (2005) Relationships between polychlorinated biphenyls and health status in harbor porpoises (*Phocoena phocoena*) stranded in the United Kingdom. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **24**, 238-248.
- Johnston DW, Westgate AJ, Read AJ (2005) Effects of fine-scale oceanographic features on the distribution and movements of harbour porpoises *Phocoena phocoena* in the Bay of Fundy. *Marine Ecology Progress Series*, **295**, 279-293.
- Koschinski S (2001) Current knowledge on harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) in the Baltic Sea. *Ophelia*, **55**, 167-197.
- Lockyer C (1995) Investigation of Aspects of the Life History of the Harbour Porpoise, *Phocoena phocoena*, in British Waters. *Report of the International Whaling Commission, Special Issue 16*, 189-198
- Lockyer C (2003) Harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) in the North Atlantic: Biological parameters. *NAMMCO Scientific Publications*, **5**, 71-90.
- Lockyer C, Heide-Jørgensen MP, Jensen J, Walton MJ (2003) Life history and ecology of harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) from West Greenland. *NAMMCO Scientific Publications 5*, 177-194.
- López A (2003). *Estatus dos pequenos cetáceos da plataforma de Galicia*, Universidad de Santiago.
- MacLeod CD, Reidenberg JS, Weller M, Santos MB, Herman J, Goold J, Pierce GJ (2007a) Breaking symmetry: The marine environment, prey size, and the evolution of asymmetry in cetacean skulls. *Anatomical Record-Advances in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology*, **290**, 539-545.

- MacLeod CD, Santos MB, Reid RJ, Scott BE, Pierce GJ (2007b) Linking sandeel consumption and the likelihood of starvation in harbour porpoises in the Scottish North Sea: could climate change mean more starving porpoises?. *Biology letters*, **3**, 185-188.
- Marcus LF, Hingst-Zaher E, Zaher H (2000) Application of landmark morphometrics to skulls representing the orders of living mammals. *Hystrix*, **11**, 27-47.
- Mattos IL, Shiraishi KA, Braz AD, Fernandes JR (2003) Peróxido de Hidrogénio: Importância e determinação. *Química Nova*, **26**, 373-380.
- McLellan WA, Koopman HN, Rommel SA, Read AJ, Potter JR, Nicolas JR, Westgate AJ, Pabst DA (2002) Ontogenetic allometry and body composition of harbour porpoises (*Phocoena phocoena*, L.) from the western North Atlantic. *Journal of Zoology*, **257**, 457-471.
- Mead JG, Fordyce RE (2009) *The therian Skull: A Lexicon with Emphasis On the Odontocetes*. Smithsonian Institution Scholarly Press, Washington D.C.
- Méndez-Fernandez P, Pierce GJ, Bustamante P, Chouvelon T, Ferreira M, González AF, López A, Read FL, Santos MB, Spitz J, Vingada JV, Caurant F (2013) Ecological niche segregation among five toothed whale species off the NW Iberian Peninsula using ecological tracers as multi-approach. *Marine Biology*, **160**, 2825–2840.
- Méndez-Fernandez P, Webster L, Chouvelon T, Bustmante P, Ferreira M, González AF, López A, Moffat CF, Pierce GJ, Read FL, Russel M, Santos MB, Spitz J, Vingada JV, Caurant F (2014) An assessment of contaminant concentrations in toothed whale species of the NW Iberian Peninsula: Part I. Persistent organic pollutants. *Science of The Total Environment*, **484**, 196-205.
- Moore SE (2009) Climate Change. In: *Encyclopedia of Marine Mammals* (eds Perrin WF, Wursig B, Thewissen JGM), pp. 238-241. Elsevier Science, Oxford.
- Neave DJ, Wright BS (1968) Seasonal Migrations of the Harbor Porpoise (*Phocoena phocoena*) and Other Cetacea in the Bay of Fundy. *Journal of Mammalogy*, **49**, 259-264.
- Noldus LPJJ, De Klerk RJJ (1984) Growth of the skull of the harbour porpoise, *Phocoena phocoena* (Linnaeus, 1758), in the North Sea, after age determination based on dentinal growth layer groups. *Zoologische Mededelingen*, **58**, 213-239.
- Northridge S (2009) Bycatch. In: *Encyclopedia of Marine Mammals* (eds Perrin WF, Wursig B, Thewissen JGM), pp. 167-169. Elsevier Science, Oxford.
- Palumbi SR (1994) Genetic Divergence, Reproductive Isolation, and Marine Speciation. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **25**, 547-572.
- Perrin WF, Heyning JE (1993) Rostral fusion as a criterion of cranial maturity in the common dolphin, *Delphinus delphis*. *Marine Mammal Science*, **9**, 195-197.

- Pierce GJ, Santos MB, Murphy S, Learmonth JA, Zuur AF, Rogan E, Bustamante P, Caurant F, Lahaye V, Ridoux V, Zegers BN, Mets A, Addink M, Smeenk C, Jauniaux T, Law RJ, López A, Alonso Farré JM, González AF, Guerra A, García-Hartmann M, Reid RJ, Moffat CF, Lockyer C, Boon JP (2008) Bioaccumulation of persistent organic pollutants in female common dolphins (*Delphinus delphis*) and harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) from western European seas: Geographical trends, causal factors and effects on reproduction and mortality. *Environmental Pollution*, **153**, 401-415.
- Pierce GJ, Caldas M, Cedeira J, Santos MB, Llavona A, Covelo P, Martinez G, Torres J, Sacau M, López A (2010) Trends in cetacean sightings along the Galician coast, north-west Spain, 2003–2007, and inferences about cetacean habitat preferences. *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, **90**, 1547–1560.
- Pinela AM, Borrell A, Cardona L, Aguilar A (2010) Stable isotope analysis reveals habitat partitioning among marine mammals off the NW African coast and unique trophic niches for two globally threatened species. *Marine Ecology Progress Series*, **416**, 295–306.
- Pizzo A, Roggero A, Palestini C, Cervella P, Del Pero M, Rolando A (2006) Genetic and morphological differentiation patterns between sister species: the case of *Onthophagus taurus* and *Onthophagus illyricus* (Coleoptera, Scarabaeidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, **89**, 197-211.
- Racicot RA, Colbert MW (2013) Morphology and Variation in Porpoise (Cetacea: Phocoenidae) Cranial Endocasts. *Anatomical Record-Advances in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology*, **296**, 979-992.
- Read AJ (1994) Interactions Between Cetaceans and Gillnet and Trap Fisheries in the Northwest Atlantic. *Report of the International Whaling Commission, Special Issue 15*, 133-147.
- Read AJ, Hohn AA (1995) Life in the fast lane - The life-history of harbor porpoises from the Gulf of Maine. *Marine Mammal Science*, **11**, 423-440.
- Read AJ, Tolley KA (1997) Postnatal growth and allometry of harbour porpoises from the Bay of Fundy. *National Research Council Canada*, **75**, 122-130.
- Read AJ, Westgate AJ (1997) Monitoring the movements of harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) with satellite telemetry. *Marine Biology*, **130**, 315-322.
- Reeves RR, Smith BD, Crespo EA, Notarbartolo di Sciara G (2003) *Dolphins, Whales and Porpoises. 2002–2010 Conservation Action Plan for the World's Cetaceans*. IUCN Publications Services Unit, Gland, Switzerland e Cambridge, UK.
- Reidenberg JS (2007) Anatomical Adaptations of Aquatic Mammals. *The Anatomical Record*, **290**, 507-513.
- Reiner F (1985) *Mammifères de l'Atlantique Portugais et le phoque moine de Madère*, L'Université d'Aix-Marseille III.

- Richardson AJ, Schoeman DS (2004) Climate Impact on Plankton Ecosystems in the Northeast Atlantic. *Science*, **305**, 1609-1612.
- Rohlf FJ, Marcus LF (1993) A Revolution in Morphometrics. *Trends in Ecology & Evolution*, **8**, 129-132.
- Rommel SA, Lowenstine LJ (2001) Gross and Microscopic Anatomy. In: *CRC Handbook of Marine Mammal Medicine* (eds Dierauf LA, Gulland MD), pp. 129-164. CRC Press, Boca Raton, London, New York e Washington D.C.
- Rommel SA, Pabst DA, McLellan WA (2009) Skull Anatomy. In: *Encyclopedia of Marine Mammals* (eds Perrin WF, Wursig B, Thewissen JGM), pp. 1033-1047. Elsevier Science, Oxford.
- Rosel PE, Dizon AE, Haygood MG (1995) Variability of the mitochondrial control region in populations of the harbor porpoise, *Phocoena phocoena*, on interoceanic and regional scales. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **52**, 1210-1219.
- Santos J, Araújo H, Ferreira M, Henriques A, Miodonski J, Monteiro S, Oliveira I, Rodrigues P, Duro G, Oliveira F, Pinto N, Sequeira M, Eira C, Vingada J (2012) Chapter I: Baseline estimates of abundance and distribution of target species. *Relatório do Projecto LIFE MarPro PT/NAT/00038*, 5-84.
- Santos MB, Pierce GJ (2003) The diet of harbour porpoise (*Phocoena phocoena*) in the northeast Atlantic. In: *Oceanography and Marine Biology* (eds Gibson RN, Atkinson RJA), pp. 355-390. Taylor & Francis Ltd, London.
- Santos MB, Pierce GJ, Learmonth JA (2004) Variability in the diet of harbor porpoises (*Phocoena phocoena*) in Scottish waters 1992-2003. *Marine Mammal Science*, **20**, 1-27.
- Schipper J, Chanson JS, Chiozza F, Cox NA, Hoffmann M, Katariya V, Lamoreux J, Rodrigues ASL, Stuart SN, Temple HJ, Baillie J, Boitani L, Lacher Jr TE, Mittermeier RA, Smith AT, Absolon D, Aguiar JM, Amori G, Bakkour N, Baldi R, Berridge RJ, Bielby J, Black PA, Julian Blanc J, Brooks TM, Burton JA, Butynski TM, Catullo G, Chapman R, Cokeliss Z, Collen B, Conroy J, Cooke JG, Da Fonseca GAB, Derocher AE, Dublin HT, Duckworth JW, Emmons L, Emslie RH, Festa-Bianchet M, Foster M, Foster S, Garshelis DL, Gates C, Gimenez-Dixon M, Gonzalez S, Gonzalez-Maya JF, Good TC, Hammerson G, Hammond PS, Happold D, Happold M, Hare J, Harris RB, Hawkins CE, Haywood M, Hearney LR, Hedges S, Helgen KM, Taylor CH, Hussain SA, Ishii N, Jefferson TA, Jenkins RKB, Johnston CH, Keith M, Kingdon J, Knox DH, Kovacs KM, Langhammer P, Leus K, Lewison R, Lichtstein G, Lowry LF, Macavoy Z, Mace GM, Mallon DP, Masi M, McKnight M W, Medellín RA, Medici P, Mills G, Moehlman PD, Molur S, Mora A, Nowell K, Oates JF, Olech W, Oliver WRL, Oprea M, Patterson BD, Perrin WF, Polidoro BA, Pollock C, Powel A, Protas Y, Racey P, Ragle J, Ramani P, Rathbun G, Reeves RR, Reilly SB, Reynolds III JE, Rondinini C, Rosell-Ambal RG, Rulli M, Rylands AB, Savini S, Schank CJ, Sechrest W, Self-Sullivan C, Shoemaker A, Sillero-Zubiri C, De Silva N, Smith DE, Srinivasulu C, Stephenson PJ, Van Strien N,

- Talukdar BK, Taylor BL, Timmins R, Tirira DG, Tognelli MF, Tsytulina K, Veiga LM, Vié J-C, Williamson EA, Wyatt SA, Xie Y, Young BE (2008) The Status of the World's Land and Marine Mammals: Diversity, Threat, and Knowledge. *Science*, **322**, 225-228
- Sequeira M (1996) Harbour Porpoises, *Phocoena phocoena*, in Portuguese Waters. *Report of the International Whaling Commission*, **46**, 583-586.
- Sequeira M, Ferreira C (1994) Coastal fisheries and cetacean mortality in Portugal. *Report of the International Whaling Commission*, **Special Issue 15**, 165-181.
- Simmonds MP, Isaac SJ (2007) The impacts of climate change on marine mammals: early signs of significant problems. *Oryx*, **41**, 19-26.
- Smeenk C, Leopold MF, Addink MJ (1992) Note on the harbour porpoise *Phocoena phocoena* in Mauritania, West Africa. *Lutra*, **35**, 98-104.
- Spitz J, Rousseau Y, Ridoux V (2006) Diet overlap between harbour porpoise and bottlenose dolphin: An argument in favour of interference competition for food? *Estuarine Coastal and Shelf Science*, **70**, 259-270.
- Stenson GB (2003) Harbour porpoise (*Phocoena phocoena*) in the North Atlantic: Abundance, removals, and sustainability of removals. *NAMMCO Scientific Publications*, **5**, 571-302.
- Stuart LJ, Morejohn GV (1980) Developmental Patterns in Osteology and External Morphology in *Phocoena phocoena*. *Report of the International Whaling Commission*, **Special Issue 3**, 569-586.
- Sullivan LM, Romney PC (1999) Cleaning and preserving animal skulls. Disponível em: <http://extension.arizona.edu/sites/extension.arizona.edu/files/pubs/az1144.pdf>, acessado em: Novembro 2014
- Taguchi M, Ishikawa H, Matsuishi T (2010) Seasonal distribution of harbour porpoise (*Phocoena phocoena*) in Japanese waters inferred from stranding and bycatch records. *Mammal Study*, **35**, 133-138.
- Teilmann J, Miller LA, Kirketerp T, Kastelein RA, Madsen PT, Nielsen BK, Au WWL (2002) Characteristics of echolocation signals used by a harbour porpoise (*Phocoena phocoena*) in a target detection experiment. *Aquatic Mammals Journal*, **28**, 275-284.
- Tolley KA, Rosel PE (2006) Population structure and historical demography of eastern North Atlantic harbour porpoises inferred through mtDNA sequences. *Marine Ecology Progress Series*, **327**, 297-308.
- Trippel EA, Wang JY, Strong MB, Carter LS, Conway JD (1996) Incidental mortality of harbour porpoise (*Phocoena phocoena*) by the gill-net fishery in the lower Bay of Fundy. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **53**, 1294-1300.

- Trippel EA, Strong MB, Terhune JM, Conway JD (1999) Mitigation of harbour porpoise (*Phocoena phocoena*) by-catch in the gillnet fishery in the lower Bay of Fundy. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **56**, 113-123.
- Van Utrecht WL (1978) Age and growth in *Phocoena phocoena* Linnaeus, 1758 (Cetacea, Odontoceti) from the North Sea. *Bijdragen tot de Dierkunde*, **48(1)**, 16-28.
- Viaud-Martínez KA, Vergara MM, Gol'din PE, Ridoux V, Öztürk B, Rosel PE, Frantzis A, Kommenou A, Bohonak (2007) Morphological and genetic differentiation of the Black Sea harbour porpoise *Phocoena phocoena*. *Marine Ecology Progress Series*, **338**, 281-294.
- Verfuß UK, Honnef CG, Meding A, Dähne M, Mundry R, Benke H (2007) Geographical and seasonal variation of harbour porpoise (*Phocoena phocoena*) presence in the German Baltic Sea revealed by passive acoustic monitoring. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, **87**, 165-176.
- Wang JY, Berggren P (1997) Mitochondrial DNA analysis of harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) in the Baltic Sea, the Kattegat-Skagerrak Seas and of the west coast of Norway. *Marine Biology*, **127**, 531-537.
- Yurick DB (1977) Populations, subpopulations and zoogeography, of the harbour porpoise, *Phocoena phocoena* (L.). University of Guelph.
- Yurick DB, Gaskin DE (1987) Morphometric and meristic comparisons of skulls of harbour porpoise *Phocoena Phocoena* (L.) from the North Atlantic and North Pacific. *Ophelia*, **27**, 53-75.
- Yurick DB, Gaskin DE (1988) Asymmetry in the skull of the harbour porpoise *Phocoena phocoena* (L.) and its relationship to sound production and echolocation. *Canadian Journal of Zoology*, **66**, 399-402.