



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ

Instituto de Ciências Biológicas

Programa de Pós- Graduação em Neurociências e Biologia Celular

Área Neurociências

Análise Morfométrica do Sistema Auditivo Periférico da Preguiça
(*Bradypus variegatus*)

Pêssi Socorro Lima de Sousa

Belém- Pará

2010

Pêssi Socorro Lima de Sousa

Análise Morfométrica do Sistema Auditivo Periférico da Preguiça
(*Bradypus variegatus*)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neurociências e Biologia Celular da Universidade Federal do Pará como requisito para a qualificação ao título de Mestre em Neurociências.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Pereira Junior

Co – Orientadora: Prof^a. Dr^a. Edna Cristina Santos Franco

Belém- Pará

Dados Internacionais da Catalogação-na-Publicação (CIP)
Biblioteca de Pós-Graduação do ICB-UFPA – Belém (PA)

Sousa, Pêssi Socorro Lima de

Análise morfométrica do sistema auditivo periférico da preguiça (*Bradypus variegatus*) / Pêssi Socorro Lima de Sousa; orientador, Antonio Pereira Júnior; co-orientadora, Edna Cristina Santos Franco. – 2010.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Neurociências e Biologia Celular, Belém, 2010.

1. Preguiça (zoologia) - Morfologia. 2. Ouvidos – Morfologia. I. Título.

CDD – 20. ed. 599.3104

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Aluna: Pêssi Socorro Lima de Sousa

Título: Análise Morfométrica do Sistema Auditivo Periférico da Preguiça
(*Bradypus variegatus*)

Data: ____/____/____.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Neurociências e Biologia Celular da Universidade Federal do Pará como requisito para a qualificação ao título de Mestre em Neurociências.

Banca Examinadora

Prof. Dr. Antonio Pereira Junior – Orientador

Professor da Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. Edílson Rodrigues Matos

Professor da Universidade Federal Rural da Amazônia

Prof. Dr. Wallace Gomes Leal

Professor da Universidade Federal do Pará

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que permitiu este destino, criou as oportunidades e me guiou até elas; e a todos os seus intercessores:

Aos meus pais e meu irmão, que me deram apoio total;

Ao meu marido, pela compreensão e amor;

Às minhas avós, pela compreensão e por permitirem que eu morasse consigo;

Aos meus avôs (*in memoriam*), que estariam mais felizes do que eu;

Aos meus sogros, pela compreensão e por todos os auxílios;

Ao Sr. Benedito Nelson dos Santos, pelo apoio cognitivo;

À Ana Ely Melo, pela sólida amizade, pela passagem para o congresso e pela logística;

Ao meu orientador, que ao me aceitar permitiu que tudo isto se tornasse possível, pela orientação, pelo exemplo e pela inegável paciência que demonstrou;

À minha co-orientadora, por toda a atenção, pela orientação, confiança e paciência ao ensinar;

Ao prof. Cláudio Salgado, pela compreensão e paciência;

À Socorro Andrade e ao Marivaldo, que me auxiliaram em tudo o que podiam na secretaria;

À CAPES, pela bolsa concedida;

Ao Dr. Messias Costa, por permitir meu trabalho com as preguiças do parque zoobotânico do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG), e à Aline Imbeloni, pela disponibilidade em sempre avisar quando havia uma preguiça;

A todos do campo de Pesquisa do MPEG, pelo apoio e suporte técnico, em especial Dr. Orlando Silveira, à Dra. Suely Aguiar, Luís Carlos e Vítor Fonseca;

À professora Nádia Moraes Barros e Sofia Silva, da USP, pelas valiosas informações;

A todos os membros do Laboratório de Neuroproteção e Neurodegeneração Experimental da UFPA, em especial o professor Wallace Leal, Rafael Lima, Luana Santana, Nelson Penha e Marcelo Cardoso;

A todos os membros do Laboratório Professor Carlos Azevedo da UFRA, em especial o professor Edílson Matos, Diego Tuloza e Patrícia Santos;

Ao todos os membros do Laboratório de Neurodegeneração e Infecção da UFPA, em especial o professor Cristóvam Diniz e Roberta Melo;

Ao professores do programa de pós- graduação em neurociências e biologia celular: Todos plantaram boas sementes.

RESUMO

A superordem Xenarthra é composta de 31 espécies viventes de tatus, tamanduás e preguiças. As arborícolas preguiças pertencem a dois gêneros, *Choloepus* e *Bradypus*, cuja divergência se deu a aproximadamente 40 milhões de anos atrás. As similaridades entre os dois taxa, tais como a presença de algas verdes nos pêlos e habilidade locomotora suspensória, são notáveis exemplos de evolução convergente. A exata posição da linhagem Xenarthra entre os mamíferos na árvore filogenética ainda não é completamente compreendida, com alguns rearranjos na árvore da família dos mamíferos placentários, considerando os Xenarthras mais relacionados entre Afrotheria (que inclui musaranhos, porcos-da-terra, peixes-boi e elefantes) ou a Boreoeutheria (que inclui primatas, roedores, carnívoros e ungulados).

O objetivo deste trabalho é descrever pela primeira vez características morfológicas dos ouvidos médio e interno de *Bradypus variegatus* e compará-las a outros mamíferos placentários que possuam dados publicados na literatura. Nós usamos 13 espécimes adultos *post-mortem* (machos e fêmeas) e 15 crânios da coleção do Museu Paraense Emílio Goeldi. Além das medições, foram usadas técnicas de microscopia óptica, microscopia eletrônica de varredura e tomografia computadorizada. Através da árvore filogenética das preguiças, o gênero *Bradypus* é posicionado como táxon-irmão de todas as outras preguiças. Nossos resultados mostram que a morfologia do ouvido médio e interno de *Bradypus variegatus* é similar a de outros mamíferos com dados publicados na literatura e que apresentam escalonamento alométrico.

Palavras-chave: Ouvido, cóclea, *Bradypus variegatus*, morfometria, alometria, evolução

ABSTRACT

The mammalian super order Xenarthra is composed of about 31 extant species of armadillos, anteaters and sloths. The tree sloths belong to two genera, *Choloepus* and *Bradypus*, which diverged close to 40 million years ago. The similarities between the two taxa, such as the presence of green algae in the fur and the suspensory locomotor ability, are remarkable examples of convergent evolution. The exact location of the xenarthran lineage within the mammalian phylogenetic tree isn't completely understood yet, with some recent rearrangements of the placental mammal family tree considering xenarthrans to be either most closely related to Afrotheria (that includes shrews, aardvarks, seacows and elephants), or Boreoeutheria (that includes primates, rodents, carnivorans and ungulates).

The aim of present work is to describe for the first time the morphological features of both the middle and the inner ear of *Bradypus variegatus* and compare them to other placental mammals whose data is available in the literature. We used 13 mature *postmortem* specimens (males and females) and 15 skulls from the collection of the Museu Paraense Emílio Goeldi. Than measurements, techniques were used optical microscopy, scanning electron microscopy and computed tomography. Within the sloths' phylogenetic tree, the genus *Bradypus* is positioned as the sister-taxon to all other sloths. Our results show that the morphology of the middle and inner ears of *Bradypus variegatus* are similar to other mammals with data published in the literature and they present allometric scalation.

Keywords: Ear, cochlea, *Bradypus variegatus*, morphometry, alometry, evolution

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1. Diagrama esquemático do ouvido humano (Adaptado de BEAR, CONNORS & PARADISO, 2002).....	16
FIGURA 2. Desenho esquemático da cóclea e estruturas componentes (Adaptado de PURVES <i>et al.</i> , 2004).....	17
FIGURA 3. Alterações morfológicas dos ossos da mandíbula que levaram à formação do ouvido médio em répteis e mamíferos (Adaptado de MENG, 2003).....	22
FIGURA 4. Árvore filogenética dos mamíferos placentários (Fonte: KRIEGS <i>et al.</i> , 2006).....	24
FIGURA 5. Desenho esquemático do crânio de <i>Bradypus variegatus</i> . (A) Vista lateral do crânio e do maxilar inferior indicando o posicionamento utilizado para as medições da altura e do comprimento da bula timpânica (seta). (B) Vista inferior do crânio mostrando os locais utilizados para medição do comprimento do crânio e largura do osso mastóide (setas) (Adaptado de GAUDIN, 2002).....	28
FIGURA 6. Diagrama esquemático dos eixos longitudinal e transversal.....	29
FIGURA 7. Histograma comparando o tamanho dos crânios de machos e fêmeas de <i>Bradypus variegatus</i> ($p>0,05$).....	32
FIGURA 8. Comparação entre o tamanho da bula timpânica (A), o tamanho relativo (B) e o volume estimado da bula timpânica (C) de machos e fêmeas.....	33
FIGURA 9. Fotografia da cabeça de <i>Bradypus variegatus</i> . (A) Posição da aurícula (seta) encoberta pela pelagem. (B) Fotografia da cabeça de um animal tricotomizado permitindo a observação exata da aurícula. Escala = 3 cm.....	34
FIGURA 10. Fotografia do pavilhão auricular de <i>B. variegatus</i> . (A) Forma da inserção da orelha mostrada a partir da retirada de parte da mesma (notar a	

presença de pêlos e cerúmen). (B) A mesma orelha após procedimento de tricotomia e limpeza do cerúmen para melhor visualização da forma em espiral. *Rh: Ramo da hélice; Cc: Cimba da concha da orelha; Cco: Cavidade da concha da orelha.* (C) Região onde a orelha estava mostrando sua inserção. *Ma: Meato acústico externo.* Escala = 500 mm (A e B) e 300 mm (C).....34

FIGURA 11. (A) Fotografia da membrana timpânica da *Bradypus variegatus*. *Pf: Parte flácida; Pt: Parte tensa. M: Manúbrio.* (B) Fotografia da rede de ossículos *in situ* antes de serem removidos. *C: Cóclea; M: Martelo; B: Bigorna; E: Estribo.* Escala = 50 mm.....35

FIGURA 12. Desenho esquemático dos ossículos de *Bradypus variegatus*. Martelo (1): Vista medial (A) e vista lateral (B) onde são observadas as seguintes estruturas – *Cb: Cabeça; Fab: face articular para a bigorna; C: Colo; Pa: Processo anterior; M: Manúbrio.* Bigorna (2): Vista lateral (A) e vista medial (B), onde são observados o *Rc: Ramo curto; Cp: Corpo; Fam: Face articular para o martelo; Rl: Ramo longo.* Estribo (3). *Be: Base do estribo* (C). Escala = 1 mm. Desenhos de José Bertruedes.....36

FIGURA 13. Desenhos esquemáticos de uma visão externa da cóclea de *Bradypus variegatus*. (A) vista lateral da cóclea; (B) vista medial da cóclea. Escala = 5 mm (A e B) Desenhos de José Bertruedes.....37

FIGURA 14. Fotomicrografia eletrônica de varredura da cóclea. (A) Labirinto coclear com destaque para a subdivisão de cada espiral. *Ev: Escala vestibular; Em: Escala média; Et: Escala timpânica.* (B) Destaque para o modíolo (*M*). Escala = 200 μm (A e B).....37

FIGURA 15. Fotomicrografia eletrônica de varredura de corte vertical da cóclea (A) *Nvc: Local de inserção do nervo vestibulo-coclear; Le: Lâmina espiral.* (B) rampa

em maior aumento. *Et*: Escala timpânica; *Mb*: Membrana basilar; *Em*: Escala média; *MR*: Membrana de Reissner; *Ev*: Escala vestibular. Escala = 200 µm.....38

FIGURA 16. Fotomicrografia do labirinto ósseo demonstrando as escalas vestibular (*Ev*), escala média (*Em*) e escala timpânica (*Et*). Escala = 250 µm (A e B) 25 µm (C). *Mt*: Membrana tectorial; *MR*: Membrana de Reissner; *OC*: Órgão de Corti; *CI*: Célula receptora interna; *CE*: Célula receptora externa; *TC*: Túnel de Corti. A: Aumento de 5X. Coloração por Hematoxilina e Eosina; B: Aumento de 10X; Coloração por Hematoxilina e Eosina. C: Aumento de 40X. Coloração por Tricromo de Masson.....40

FIGURA 17. Reconstrução em terceira dimensão do labirinto ósseo da preguiça. Posicionamento especular da cóclea e canais semicirculares (A e B) na cabeça de *Bradypus variegatus*; Disposição dos canais semicirculares (C e D).....42

FIGURA 18. Gráfico comparativo demonstrando a relação entre as massas (em miligramas) do martelo e da bigorna (A linha de regressão foi baseada em todos os dados disponíveis para mamíferos). ($p < 0.001$).....43

FIGURA 19. Gráfico comparativo demonstrando a relação entre a massa do estribo (em miligramas) e as massas do martelo e da bigorna somadas (em miligramas).....44

FIGURA 20. Gráfico comparativo demonstrando a relação entre o comprimento do martelo em função do comprimento da bigorna em vários mamíferos. Em destaque, os valores para *Bradypus variegatus*.....45

FIGURA 21. Gráfico comparativo demonstrando a relação entre a área da membrana timpânica em função da área da janela oval.....46

FIGURA 22. Gráfico comparativo demonstrando a relação entre a área da membrana timpânica em função da área da janela oval.....47

FIGURA 23. Escalonamento alométrico da massa dos ossículos (martelo + bigorna) em função da massa do crânio. Os dados de *Bradypus variegatus* foram comparados com os dados publicados por Nummela (1995) para outros mamíferos. A massa dos ossículos de *B. variegatus* é ligeiramente maior do que esperado para a espécie deste porte.....48

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. IDENTIFICAÇÃO, SEXO, FAIXA ETÁRIA E MASSA CORPÓREA DOS ESPÉCIMES ANALISADOS.....	61
TABELA 2. MASSA DOS ENCÉFALOS.....	61
TABELA 3. DADOS DAS AMOSTRAS DE <u>BRADYPUS VARIEGATUS</u> (PROCEDÊNCIA - COLEÇÃO DE MASTOZOOLOGIA DO MPEG).....	62
TABELA 4. MEDIDAS DAS BULAS E DOS OSSOS MASTÓIDES (PROCEDÊNCIA: COLEÇÃO DE MASTOZOOLOGIA DO MPEG).....	63
TABELA 5. PARÂMETROS DOS CRÂNIOS DO MPEG.....	64
TABELA 6. MEDIDAS DO MEATO ACÚSTICO.....	65
TABELA 7. MEDIDAS DA MEMBRANA TIMPÂNICA.....	66
TABELA 8. MASSA DOS OSSÍCULOS DE <u>BRADYPUS VARIEGATUS</u>	67
TABELA 9. MEDIDAS DOS OSSÍCULOS DE <u>BRADYPUS VARIEGATUS</u>	68
QUADRO 1: MEDIDAS DO OUVIDO MÉDIO DE MAMÍFEROS.....	69

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
1.1	O Sistema Auditivo Periférico.....	15
1.2.	Origem Embriológica do Sistema Auditivo Periférico.....	17
1.3.	Genes Envolvidos no Desenvolvimento do Sistema Auditivo.....	19
1.4	Considerações Sobre a Evolução do Sistema Auditivo Periférico.....	20
1.5.	Filogenia dos Xenarthra.....	23
1.5.1.	<i>A Preguiça.....</i>	23
1.6.	Justificativa do Trabalho.....	25
1.7.	OBJETIVOS.....	25
1.7.1.	<i>Objetivos Gerais.....</i>	25
1.7.2.	<i>Objetivos Específicos.....</i>	25
2.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	26
2.1.	Obtenção das Amostras.....	26
2.1.1.	<i>Obtenção dos Crânios.....</i>	26
2.1.2.	<i>Obtenção dos Animais.....</i>	26
2.2.	Procedimentos.....	26
2.2.1.	<i>Análise dos Crânios e das Bulas Timpânicas.....</i>	26
2.2.2.	<i>Fixação e Processamento do Material Para Estudo dos Ouvidos Médio e Interno.....</i>	28
2.2.3.	<i>Análise Morfométrica dos Ouvidos de <i>Bradypus variegatus</i>.....</i>	29
2.2.4.	<i>Microscopia Eletrônica por Varredura do Ouvido Interno.....</i>	30
2.2.5.	<i>Análise Histológica da Cóclea de <i>Bradypus variegatus</i>.....</i>	30
2.2.6.	<i>Geometria da Cóclea.....</i>	31

2.3. Análise Estatística.....	31
3. RESULTADOS.....	31
3.1. Massa Corporal, Massa Encefálica e Tamanho dos Crânios.....	31
3.1.1. <i>Massa corporal</i>	31
3.1.2. <i>Massa dos Encéfalos e Tamanho do Crânio</i>	31
3.2. Análise morfométrica da bula timpânica.....	32
3.3. Análise morfométrica da orelha externa: pavilhão auricular e meato acústico.....	33
3.4. Análise morfométrica do ouvido médio de <i>Bradypus variegatus</i>	34
3.5. Análise da Cóclea de <i>Bradypus variegatus</i>	36
3.5.1. <i>Análise por Microscopia de Varredura</i>	37
3.5.2. <i>Análise Histológica das Rampas Cocleares de Bradypus variegatus</i>	38
3.5.3. <i>Reconstrução tridimensional dos labirintos auditivo e vestibular de Bradypus variegatus por tomografia computadorizada</i>	41
3.6. Comparação dos Parâmetros do Ouvido Médio de <i>Bradypus variegatus</i> com outras Espécies de Mamíferos.....	43
3.6.1. <i>Análise da relação entre a massa dos ossículos da orelha média de Bradypus variegatus</i>	43
3.6.2. <i>Relação entre área da membrana timpânica e o tamanho dos ossículos</i>	45
3.6.3. <i>Relação entre áreas: membrana timpânica versus janela oval</i>	46
3.6.4. <i>Relação Alométrica entre as Massas dos Ossículos (Martelo + Bigorna) e a Massa do crânio</i>	47
4. DISCUSSÃO.....	49
4.1. Considerações sobre o comprimento do crânio e a massa encefálica	

da preguiça.....	49
4.2. O ouvido da preguiça: Relação ecofisiológica e evolutiva.....	50
4.3. Considerações sobre a cóclea.....	52
5. CONCLUSÃO.....	53
6. REFERÊNCIAS.....	54
APÊNDICE A - DADOS MORFOMÉTRICOS DE <i>BRADYPUS VARIEGATUS</i>	61
APÊNDICE B - COMPARAÇÃO DOS DADOS MORFOMÉTRICOS DE <i>BRADYPUS VARIEGATUS</i> COM OUTROS GRUPOS DE MAMÍFEROS.....	69
ANEXO A - AUTORIZAÇÃO DO IBAMA PARA A COLETA DOS ANIMAIS.....	70
ANEXO B - AUTORIZAÇÃO DO IBAMA PARA TRANSPORTE.....	72
ANEXO C - AUTORIZAÇÃO EMITIDA PELO COMITÊ DE ÉTICA.....	75
ANEXO D - APRESENTAÇÃO DE DADOS DO PRESENTE TRABALHO EM CONGRESSO.....	76

1 INTRODUÇÃO

1.1 O Sistema Auditivo Periférico

O sistema auditivo periférico dos mamíferos é constituído pela orelha externa, orelha média e orelha interna (GUIDA *et al.*, 2007). A orelha externa geralmente se destaca pela presença de uma estrutura externa cartilaginosa denominada pavilhão auricular, composto pela aurícula, estrutura mais externa com pregas irregulares, e pelo canal auditivo, que se estende por uma pequena distância da aurícula em direção ao interior do crânio (KOLB & WHISHAW, 2002). A orelha externa serve na coleta das ondas sonoras e na sua condução até a membrana timpânica (AIRES, 2008). A membrana timpânica pode ter forma circular ou oval e é dividida em duas partes: *Pars flaccida* e *pars tensa*, sendo a primeira uma pequena porção triangular localizada dorso-rostralmente em relação à membrana e apresentando poucas fibras colágenas, enquanto que a *pars tensa* constitui a parte remanescente da membrana (HEINE, 2004).

A membrana timpânica constitui o limite entre a orelha externa e a orelha média. A orelha média é o local onde se localizam os ossículos auditivos, o martelo, a bigorna e o estribo. A alavanca formada pela cadeia de ossículos é fundamental para a amplificação das ondas sonoras, de forma que a sua energia não seja refletida na interface entre dois elementos de impedâncias bem diferentes: o ar presente na cavidade da orelha média e os fluidos da orelha interna, onde o processamento neuronal destas vibrações tem início (ver Figura 1) (KOEPPEN e STANTON, 2009). Dois músculos são especialmente importantes na orelha média: O tensor do tímpano, que se insere medialmente na parte cartilaginosa do tubo faríngeotimpânico e lateralmente no manúbrio do martelo e o músculo estapédio, com inserção no teto da orelha média e no arco estapédio, próximo à articulação incudo-estapedial.

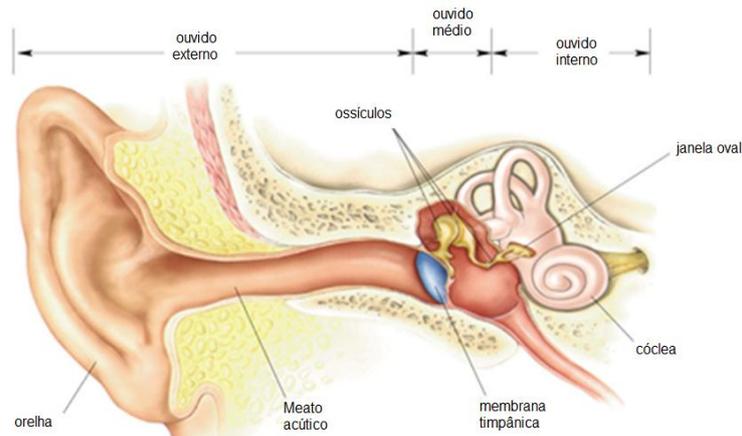


Figura 1. Diagrama esquemático do ouvido humano (Adaptado de BEAR, CONNORS & PARADISO, 2002)

A orelha interna dos mamíferos é formada por uma estrutura espiralada denominada cóclea. A cóclea humana possui aproximadamente 9 mm de diâmetro na sua porção basal e altura variando entre 5 - 7 mm (DIMOPOULOS e MUREN, 1990). Na cóclea está alojado o epitélio transdutor do sistema auditivo, cuja função é transformar a energia mecânica das ondas sonoras em atividade elétrica neural para informar o cérebro de eventos auditivos na periferia (YEHOASH e ALTSCHULER, 2003). A cóclea possui um pouco menos de três voltas em forma de uma estrutura cônica semelhante a uma concha de caracol (*cochlea* em latim). Estas espiras são estruturas tubulares localizadas em torno do modíolo, cheias de um fluido viscoso e subdividas interiormente em escala vestibular, escala média e escala timpânica (ver Figura 2) (KANDEL, SCHWARTZ & JESSEL, 2000; AIRES, 2008). O líquido presente na escala vestibular e na escala timpânica é chamado de perilinfa e possui uma composição química semelhante ao líquido cefalorraquidiano. O fluido armazenado na escala média é chamado de endolinfa, com composição semelhante ao líquido intracelular (KOEPPEN e STANTON, 2009).

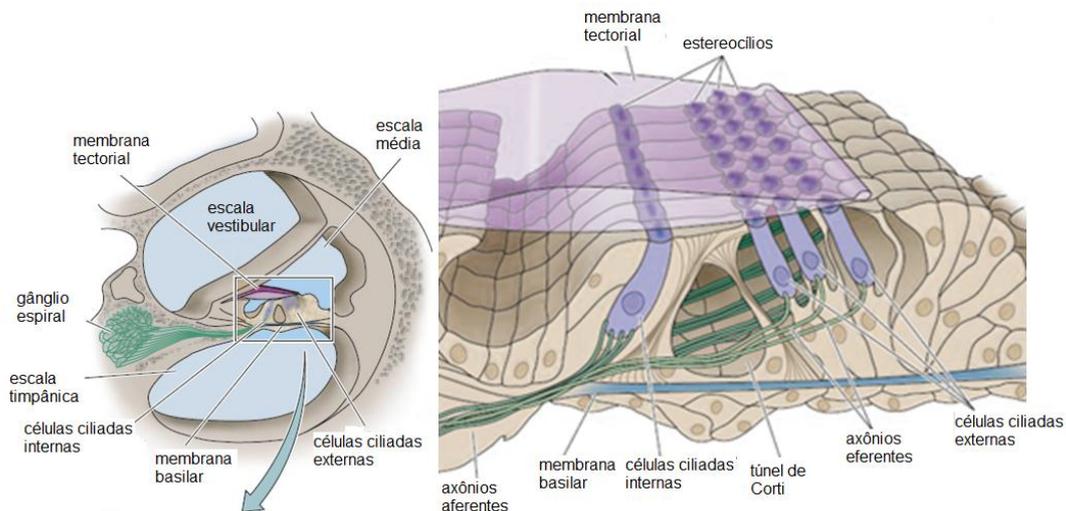


Figura 2. Desenho esquemático da cóclea e estruturas componentes (Adaptado de PURVES *et al.*, 2004).

A membrana basilar (MB), quando se move em resposta à propagação da onda mecânica pela cóclea, deflagrada pelo movimento do estribo sobre a janela oval, causa o deslocamento dos cílios localizados na parte apical das células ciliadas auditivas (ver Figura 2) (para revisão ver BEAR, CONNORS & PARADISO, 2002). As células ciliadas são classificadas em internas e externas (para revisão ver KANDEL, SCHWARTZ & JESSEL, 2000). As células ciliadas internas são os receptores auditivos propriamente ditos enquanto as células ciliadas externas funcionam como um amplificador coclear (KOLB & WHISHAW, 2002). O perfil de deformação da membrana basilar da cóclea reflete a complexidade da onda sonora incidente (HEINE, 2004). As células ciliadas, tanto internas quanto externas são inervadas por fibras do oitavo par de nervos cranianos, que constitui o nervo vestibulo-coclear, responsável por enviar as informações transduzidas pelas células ciliadas aos neurônios do sistema nervoso central (SANTEE & VALE, 2006).

1.2 Origem Embriológica do Sistema Auditivo Periférico

O meato auditivo deriva do ectoderma, da primeira fenda faríngea. O pavilhão auditivo surge da fusão de seis montículos auriculares, três anteriores

e três posteriores ao meato auditivo, que se fundem para formar o pavilhão auricular em volta do meato auditivo (MOORE e PERSAUD, 2004).

A cavidade da orelha média e o tubo de eustáquio derivam da primeira bolsa faríngea, sendo revestidos por epitélio de origem endodérmica (CARLSON, 2004).

Os componentes ósseos da orelha média derivam da crista neural (LE DOUARIN *et al.*, 1993). Células localizadas na porção dorsal do tubo neural em desenvolvimento se desprendem deste e migram para os arcos faríngeos onde irão contribuir para a formação de uma ampla variedade de tecidos, incluindo ossos e cartilagens da face (LE DOUARIN *et al.*, 1993; MALLO, 1998).

Os elementos da orelha média têm origem mesenquimal, dos dois primeiros arcos faríngeos. De acordo com CARLSON (2004), o martelo, a bigorna e o anel timpânico se desenvolvem a partir do primeiro arco enquanto o estribo é originário do segundo arco faríngeo. Entretanto, outros autores postulam que o estribo pode apresentar uma origem embrionária mista – parte do ossículo surgiria do segundo arco enquanto a sua base surgiria da cápsula ótica (CAULDWELL e ANSON, 1942; TAKEDA *et al.*, 1996). Os elementos constituintes da orelha média são localizados na cavidade da orelha média que surge a partir da primeira bolsa faríngea (MALLO, 1997).

A orelha interna é proveniente do placóide ótico que sofre invaginação. Os neuroblastos se desprendem da porção ventro-medial desta estrutura e originam o gânglio vestibulo-coclear, enquanto a vesícula óptica se separa do ectoderma superficial e sofre uma série de eventos morfogênicos culminando na formação da orelha interna formada por uma parte vestibular - constituída por três canais semicirculares e dois órgãos otolíticos, e a parte auditiva, formada pelo ducto coclear revestido por células sensoriais (MALLO e GRIDLEY, 1996; MALLO, 1998; STREIT, 2001).

A membrana timpânica é constituída por um estrato fibroso de origem mesenquimal contendo duas camadas de tecido epitelial – uma em sua face lateral e outra em sua face medial (MALLO *et al.*, 2000). O tecido epitelial que envolve o estrato fibroso da membrana timpânica são expansões do meato acústico (na face externa) e da cavidade timpânica (na face interna). Suas origens são ectodérmica e endodérmica, respectivamente (MALLO, 1998).

Durante a vida fetal, a membrana timpânica é suportada pelo anel timpânico que, mais tarde, é incorporado ao osso temporal (NOVACEK, 1986).

Martelo, bigorna e estribo são formados principalmente por ossificação endocondral (MALLO, 1998). Apenas o processo anterior do martelo, que é acrescentado ao restante do osso em períodos mais tardios do desenvolvimento, sofre ossificação endomembranosa (NOVACEK, 1986; MALLO e GRIDLEY, 1996; MALLO, 1997). Segundo MIYAKE *et al.* (1996), o desenvolvimento do martelo e da bigorna inicia pela condensação de células concêntricas na extremidade caudal da cartilagem de Meckel. Esta condensação estende-se perpendicularmente e separa a cartilagem de Meckel em dois componentes paralelos que permanecem conectados dorsalmente, mas separados ventralmente. A porção mais caudal forma o martelo, enquanto a porção mais rostral da cartilagem forma a bigorna (MIYAKE *et al.*, 1996; MALLO, 1998).

1.3 Genes Envolvidos no Desenvolvimento do Sistema Auditivo

Estudos sobre genes envolvidos em doenças craniofaciais e trabalhos com camundongos *knockout* têm auxiliado no avanço do conhecimento a respeito dos genes envolvidos na morfogênese do sistema auditivo (HALL e MIYAKE, 1995; MALLO e GRIDLEY, 1996; MALLO, 1998; MALLO *et al.*, 2000; STREIT, 2001). De acordo com o papel exercido no desenvolvimento, esses genes podem ser agrupados em três categorias: genes envolvidos na formação do esqueleto; genes envolvidos no desenvolvimento dos arcos faríngeos; genes envolvidos no desenvolvimento de áreas específicas da orelha média.

O primeiro grupo governa uma parte importante da gênese do martelo, bigorna, estribo e anel timpânico. Nesta categoria o gene mais conhecido é o *Sox9* - um gene que regula a condrogênese através do controle da expressão do colágeno tipo II, um componente estrutural importante para a formação da ossificação endocondral (LI *et al.*, 1995; GRAVES, 1997).

O segundo grupo controla o desenvolvimento dos arcos branquiais e é constituído pelos genes *Treacle*, *AP-2*, *Endotelina-1 (ET-1)* e *receptores para ácido retinóico*. O gene *Treacle* é um dos principais interventores no desenvolvimento da porção da crista neural que migra para os arcos faríngeos

(THE TREACHER COLLINS SYNDROME COLLABORATIVE GROUP, 1996). *AP-2* codifica um fator de transcrição que é expresso nas células da crista neural craniana e está envolvido no desenvolvimento da região craniofacial (ZHANG *et al.*, 1996). ET-1 é um peptídeo secretado pelas células epiteliais da primeira e segunda bolsa faríngeas no início do desenvolvimento e parece ser necessário para que a migração dos neuroblastos ocorra da crista neural para os arcos faríngeos (BARNI *et al.*, 1995). Mutações em receptores de ácido retinóico causam desde pequenas má-formações na bigorna até ausência completa do estribo (LOHNES *et al.*, 1994). Estes dados sugerem que o ácido retinóico está envolvido na morfogênese da cadeia de ossículos da orelha média (MALLO, 1998).

O terceiro grupo de genes está envolvido no desenvolvimento de áreas específicas da orelha média e inclui os genes *gsc*, *MHox*, *Hoxa-1*, *Hoxa-2*, *Dlx-1*, *Dlx-2* e *Msx-1*. O gene *gsc* participa na formação do anel timpânico e manúbrio do martelo. *MHox* está envolvido nos mecanismos responsáveis pela evolução do crânio, em particular a orelha média (MARTIN *et al.*, 1995). Os genes *Hox* foram os primeiros genes descritos na formação da orelha média. Tanto o estribo quanto a janela oval não se formam em animais com genes *Hox* ausentes ou inativados (RIJLI *et al.*, 1993). A família do gene *Dlx* está implicada nos mecanismos evolutivos que resultaram na formação da orelha média (QIU *et al.*, 1997). Por exemplo, a inativação do gene *Dlx-2* resulta na má-formação dos componentes da orelha média que ficam semelhantes às estruturas da mandíbula de não-mamíferos (QIU *et al.*, 1995). Embora o gene *Msx-1* também esteja envolvido na formação da orelha, seu papel parece ser menos crítico, já que a inativação deste gene não resulta em alterações drásticas destas estruturas (SATOKATA e MAAS, 1994).

1.4 Considerações Sobre a Evolução do Sistema Auditivo Periférico

Nos répteis, a articulação temporomandibular ocorre entre o osso quadrado e o articular e o som é transmitido pela ativação da membrana timpânica e um ossículo, a columela. Durante a evolução, os elementos da articulação temporomandibular sofreram alterações de forma e tamanho para

que houvesse o surgimento da orelha média (HILDEBRAND e GOSLOW, 2006).

A análise filogenética de crânios de mamíferos extintos e atuais indica que essas alterações na mandíbula estão associadas com a evolução do neocórtex (ROWE, 1996). HILDEBRAND e GOSLOW (2006) e MANLEY (2010) sugerem que o aumento desproporcional do neocórtex em mamíferos deve ter contribuído para o deslocamento dos ossos da mandíbula para longe da maxila, movendo a articulação entre o osso articular (osso da mandíbula) e o osso quadrado (osso da maxila) para uma posição mais rostral, entre o osso dentário e o esquamosal (Figura 3).

O osso articular tornou-se o martelo e o osso quadrado a bigorna. Cerca de cem milhões de anos antes, o osso hiomandibular (osso da maxila) já havia passado por modificações semelhantes e tinha se tornado o estribo (WEBSTER *et al.*, 1992; FAY e POPPER, 2000). O surgimento dos ossículos da orelha média aumentou a capacidade de amplificação na entrada auditiva e permitiu estender a sensibilidade auditiva para sons de frequências mais altas (ALLMAN, 2000; LUO, 2007).

Atualmente, a presença dos três ossículos (martelo, bigorna e estribo) na orelha média é considerada uma das características marcantes dos mamíferos (MENG, 2003). Recentemente, foi demonstrado que o ouvido médio dos mamíferos evoluiu para a sua forma atual de maneira independente em monotremados e euterianos (RICH *et al.*, 2005). A evolução convergente da estrutura complexa do ouvido médio representa um dos casos mais peculiares de homoplasia em vertebrados (MARTIN e LUO, 2005).

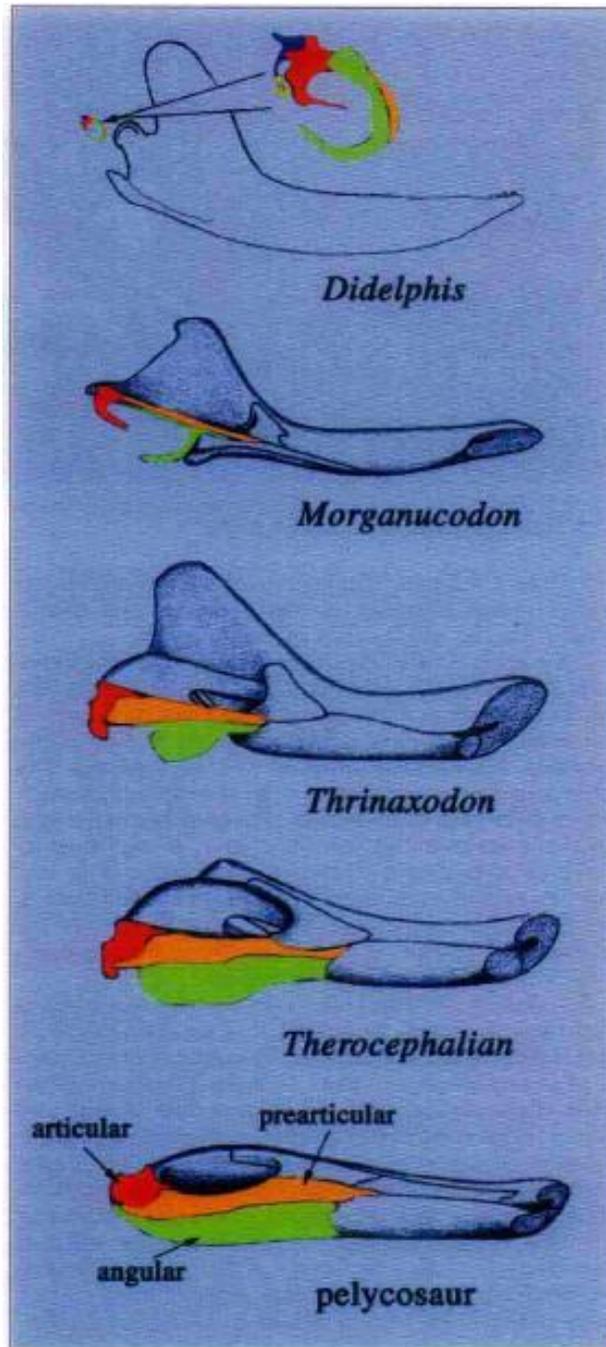


Figura 3. Alterações morfológicas dos ossos da mandíbula que levaram à formação do ouvido médio em répteis e mamíferos (Adaptado de MENG, 2003).

Como discutido antes, as estruturas da orelha interna se desenvolvem a partir do placóide ótico. Existem duas hipóteses diferentes sobre a origem do placóide ótico: uma assume que a orelha interna se originou como uma variação da linha lateral de peixes – hipótese *acusticolateralis* (VAN BERGEIJK, 1967; POPPER e FAY, 1997), a outra sugere que tanto a linha

lateral quanto o placóide ótico evoluíram independentemente a partir de um sistema de poros primitivos contendo células mecanorreceptoras (POPPER e FAY, 1997). Em vertebrados, a evolução da cóclea dependeu bastante das modificações ocorridas paralelamente no ouvido médio (ALLMAN, 2000).

1.5 Filogenia dos Xenarthra

A ordem Xenarthra de mamíferos placentários compreende 31 espécies existentes e um registro fóssil de mais de 150 espécies datadas até a época do Paleoceno. Existem três diferentes subordens de xenárthros: Vermilingua, Folivora, e Cingulata. As preguiças estão incluídas na subordem Folivora e ocupam nichos distribuídos pela América do Sul e América Central (EISENBERG, 1992). Recentemente, métodos moleculares de sistematização foram utilizados para reconstruir a árvore filogenética dos mamíferos placentários, que sofreu uma revisão importante situando a ordem xenarthra como o ramo mais basal da árvore dos mamíferos placentários (KRIEGS *et al.*, 2006) (Figura 4). Este estudo propõe que a primeira divergência na linhagem dos mamíferos euterianos ocorreu entre a ordem Xenarthra e os outros mamíferos placentários (KRIEGS *et al.*, 2006).

Uma diferença interessante quando se compara a estrutura do aparato auditivo periférico das duas linhagens de mamíferos mais estudados neste aspecto é que a cóclea dos euterianos e metaterianos é espiralada e dos monotremados não (MANLEY, 2000). É importante analisar se a ordem Xenarthra também apresenta esta característica, o que poderia sugerir que a mesma estava presente no seu ancestral comum com os chamados epiterianos (os outros mamíferos placentários).

1.5.1 A Preguiça

O grupo dos animais classificados como preguiças está atualmente dividido em dois gêneros: *Choloepus* e *Bradypus*, contendo as espécies *Bradypus pygmaeus* (“preguiça anã”), *Bradypus torquatus* (“preguiça de coleira”), *Bradypus variegatus* (“preguiça comum”), e *Bradypus tridactylus* (“preguiça bentinho”) sendo a primeira bastante semelhante à *B. variegatus*,

com exceção do seu tamanho menor, a cor da pelagem na altura do pescoço, etc. A diferenciação efetiva entre as últimas espécies se dá através da identificação, em *B. tridactylus*, de um forâmen em sua nasofaringe antero dorsal, e da ausência deste, em *B. variegatus* (HAISSEN, 2009a).

A ordem Xenarthra apresentou na América do Sul sua maior radiação adaptativa durante o período terciário, quando este subcontinente estava isolado dos demais (CUBAS, SILVA, DIAS, 2006). Diversos grupos destes mamíferos atingiram com sucesso a América Central durante o período pleistoceno.

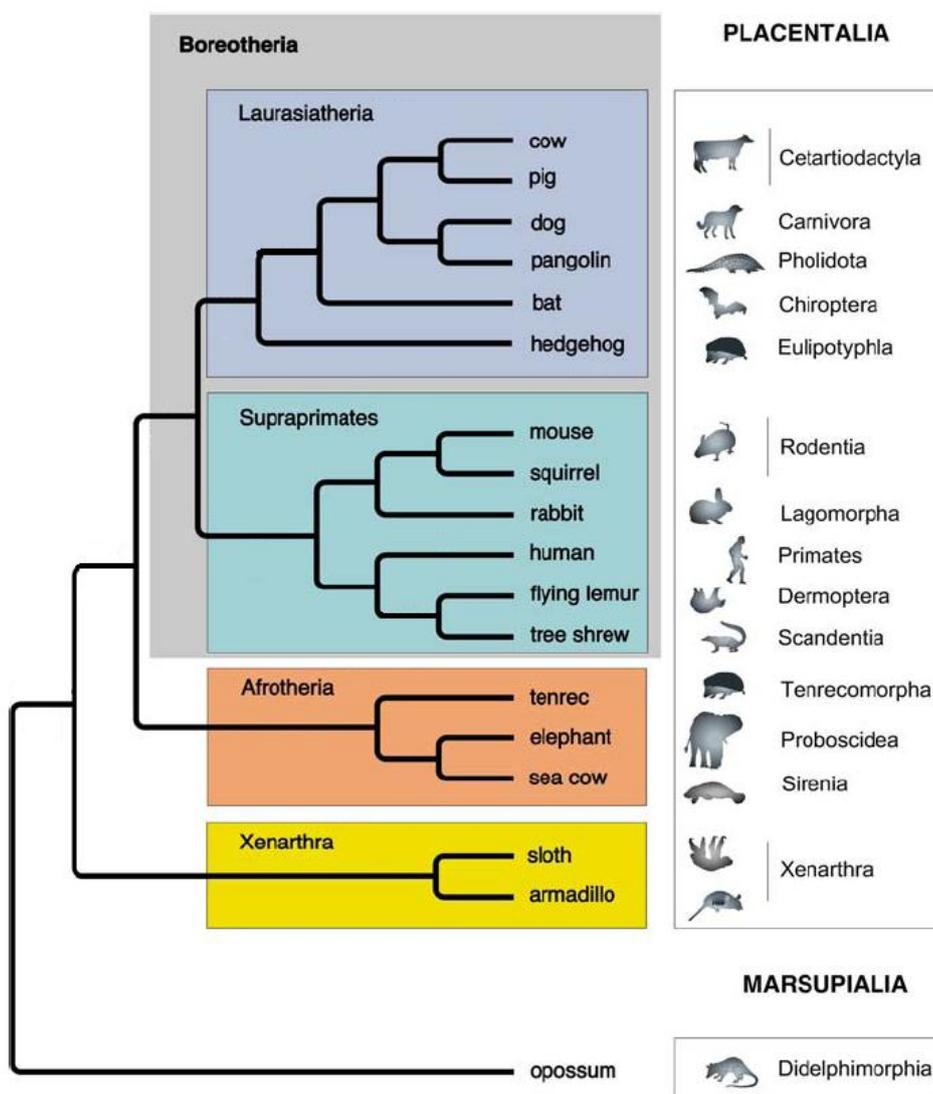


Figura 4. Árvore filogenética dos mamíferos placentários (Fonte: KRIEGS *et al.*, 2006)

1.6 Justificativa do Trabalho

A evolução do ouvido médio dos mamíferos é um dos eventos evolutivos mais documentados de uma estrutura corporal complexa. A modificação da estrutura dos ossículos e da sua organização ocorrida na transição dos sinapsídeos para os mamíferos permitiu um aumento da sensibilidade a altas frequências sonoras que foi fundamental na sobrevivência de espécimes desta classe de vertebrados (ALLMAN, 2000).

Sabe-se bastante da estrutura e função dos ouvidos médio e interno de vários outros grupos de mamíferos, incluindo prototerianos, metaterianos e os euterianos euarchotoglíres, laurasiaterianos e afroterianos. Entretanto, muito pouco se publicou em estudos comparativos sobre esta estrutura nos xenarthras atuais, embora este grupo ocupe uma posição estratégica na árvore filogenética dos mamíferos euterianos. A morfologia dos ouvidos médio e interno de *Bradypus variegatus* é um alvo importante para a pesquisa da linhagem evolutiva deste animal.

1.7 OBJETIVOS

1.7.1 Objetivos Gerais

Analisar as características morfométricas do ouvido da preguiça comum (*Bradypus variegatus* SCHINZ, 1825) e compará-la com a de outros mamíferos atuais.

1.7.2 Objetivos Específicos

- Realizar a medição, utilizando várias técnicas anatômicas, das seguintes estruturas do ouvido da preguiça *Bradypus variegatus*: bula timpânica, meato acústico externo, membrana timpânica, janela oval e ossículos;
- Determinar a estrutura macroscópica e microscópica da cóclea de *Bradypus variegatus*;
- Identificar possíveis adaptações específicas do sistema auditivo de *Bradypus variegatus*, examinando outras espécies com proximidade cladística ao gênero a que pertence.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Obtenção das Amostras

2.1.1 Obtenção dos Crânios

Para análise morfométrica dos crânios e as bulas timpânicas, foram utilizados 15 crânios de *Bradypus variegatus* pertencentes à coleção de mastozoologia do campus de pesquisa do Paraense Emílio Goeldi (MPEG), tendo os animais sido capturados por esta instituição nos arredores dos municípios de Mojuí dos Campos e Belterra, respectivamente, a 22 e 26 km de Santarém - PA, em diversas coletas realizadas entre os anos 1975 e 1978. Cada um continha em seus registros informações como o sexo, idade e o peso.

2.1.2 Obtenção dos Animais

Para os demais objetos da pesquisa, utilizamos ouvidos de *Bradypus variegatus* adultos e jovens, adquiridas a partir de prévia autorização do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente (IBAMA) (ANEXO 01). As cabeças dos animais foram obtidas *post-mortem* e provinham do Parque Zoobotânico do MPEG, sendo parte dos animais habitantes nativos do parque e a outra parte de animais capturados e entregues a esta instituição. A faixa etária dos animais foi estipulada a partir do exame das gônadas, realizado durante necropsia padrão.

2.2 Procedimentos

2.2.1 Análise dos Crânios e das Bulas Timpânicas

Utilizamos as amostras que estavam em melhores condições, pois algumas delas se achavam com uma ou algumas peças dentárias ausentes. Todos os crânios selecionados foram examinados, fotografados, medidos e pesados com e sem a mandíbula em balança de precisão (BIOPRECISA, modelo B53000A). A partir destes parâmetros, foram calculados, de acordo com a metodologia empregada, respectivamente, por SCHLEICH e VASSALO (2003) e LIAO *et al.* (2007) o volume estimado da bula, o tamanho do crânio e o tamanho relativo da bula timpânica, de acordo com as seguintes fórmulas:

$$VEB = \frac{\left[\pi \left(\left(\frac{1}{2C} \right) \left(\frac{1}{2L} \right) \right) H \right]}{3} \quad (i)$$

Onde VEB representa o volume estimado da bula; C representa o comprimento da bula; L representa a largura da bula, e H representa a altura da bula.

Para calcular o tamanho do crânio e o tamanho relativo da bula, foram utilizadas as seguintes fórmulas:

$$TC = \frac{\pi \left(\frac{LM}{2} \right)^2 MCC}{2} \times \frac{MCC}{2} \quad (ii)$$

Onde TC representa o tamanho do crânio; LM é a largura do osso mastóide e MCC é o maior comprimento do crânio, e

$$TRB = CB \times LB^2 \left[\pi \left(\frac{LM}{2} \right)^2 \left(\frac{MCC}{2} \right)^{-1} \right] \quad (iii)$$

Onde TRB representa o tamanho relativo da bula; CB é o comprimento da bula; LB é a espessura da bula; LM é a largura do osso mastóide e MCC é o maior comprimento do crânio.

Para o cálculo do tamanho do crânio, tamanho relativo da bula e volume estimado da bula, as variáveis largura e altura foram obtidas a partir da média dos lados direito e esquerdo. As medidas realizadas estão ilustradas na Figura 5.

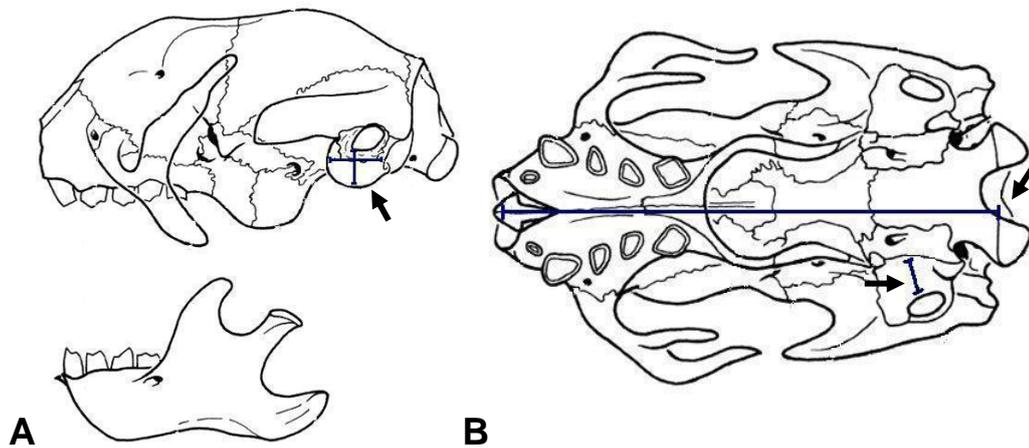


Figura 5. Desenho esquemático do crânio de *Bradypus variegatus*. (A) Vista lateral do crânio e do maxilar inferior indicando o posicionamento utilizado para as medições da altura e do comprimento da bula timpânica (seta). (B) Vista inferior do crânio mostrando os locais utilizados para medição do comprimento do crânio e largura do osso mastóide (setas) (Adaptado de GAUDIN, 2002).

2.2.2 Fixação e Processamento do Material Para Estudo dos Ouvidos Médio e Interno

As cabeças de cada animal foram imersas em paraformaldeído a 4% por um período mínimo de 30 dias. Em seguida, removeram-se os tecidos moles com o auxílio de bisturi (Lâmina Nº 11). Cinco orifícios foram feitos no crânio dos animais através de motor de baixa rotação (Riocar ®) acoplado a broca cirúrgica esférica carbide (multilaminada) nº 5 para uma melhor penetração da solução fixadora. Após este procedimento, as cabeças foram novamente imersas por mais 30 dias em solução de paraformaldeído a 20% para que a calotomia pudesse ser realizada. Depois desse período os encéfalos foram removidos e pesados em balança de precisão (Bioprecisa® FA2104N). A porção temporal do crânio contendo o canal auditivo, ouvido médio e a cóclea foi retirada com o auxílio do mesmo motor e broca. Por fim, o ouvido foi dissecado a partir do meato acústico para obtenção dos dados dos ouvidos externo, médio e interno. Os dados obtidos foram comparados com os de HEMILÄ *et al.* (1995) e NUMMELA (1995). Todos os procedimentos foram fotografados com uma câmera digital (Panasonic® LS80).

2.2.3 Análise Morfométrica dos Ouvidos de *Bradypus variegatus*

Os eixos longitudinal e transversal do meato acústico externo foram medidos com o auxílio de um paquímetro digital (Mitutoyo ® CDS6"CT). Já os eixos da membrana timpânica e da janela oval foram registrados utilizando o programa de domínio público *Image J*. Com base no trabalho de NUMMELA (1995), as áreas do meato acústico, membrana timpânica, janela oval e cóclea foram calculadas usando a equação para área de uma elipse (figura 6) através da seguinte fórmula:

$$A = \pi \times EL \times ET \quad (iv)$$

Onde A representa a área, em milímetros quadrados; EL representa os semi - eixos longitudinais; e ET representa os semi - eixos transversais.

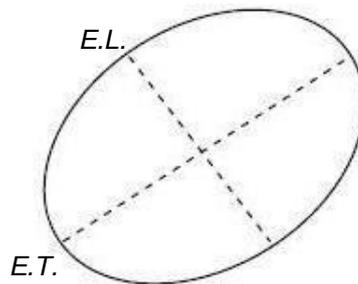


Figura 6. Diagrama esquemático dos eixos longitudinal e transversal.

Os ossículos foram fotografados *in situ*, retirados e mantidos em paraformaldeído a 2%. Em seguida, foram lavados em água corrente e imersos em solução de peróxido de hidrogênio a 4% por 24 h a fim de serem clarificados. Depois eles foram retirados desta solução e lavados em água corrente, para em seguida secarem a temperatura ambiente, por, no mínimo, 24 horas. Depois destes procedimentos eles foram medidos e pesados em balança de precisão (Bioprecisa® FA2104N) para que as massas pudessem ser comparadas com dados da literatura.

2.2.4 Microscopia Eletrônica por Varredura do Ouvido Interno

As amostras foram cortadas ao longo do eixo da cóclea com disco de aço de uma face acoplado ao mesmo motor utilizado para dissecação

anatômica. As faces dos blocos foram aplainadas com lixa 2000 3M®. Em seguida, cada peça permaneceu imersa em água destilada em banheira ultra-sônica por 1 minuto, seguido de 5 minutos em hipoclorito de sódio, 30 segundos na banheira ultra-sônica, 1 minuto em solução de EDTA a 17%, e uma última lavagem de 30 segundos em banheira ultra-sônica. Com o intuito de desidratar o material, o mesmo foi submetido a banhos de 1 minuto em álcool 70%, 80%, 90% e 100% para em seguida ser armazenado em temperatura ambiente sobre papel absorvente acrescido de sílica. A seguir foi realizada a montagem e metalização da peça para análise em microscópio eletrônico de varredura LEO-1430 do Laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura do Instituto de Geociências da Universidade Federal do Pará. As condições de varredura foram: corrente do feixe de elétrons igual a 90µA; voltagem de aceleração constante igual a 15 kV; distância de trabalho de 10 mm. As micrografias eletrônicas digitais foram capturadas em diferentes ampliações.

2.2.5 Análise Histológica da Cóclea de *Bradypus variegatus*

Para que a anatomia interna da cóclea pudesse ser estudada, as cócleas foram submetidas à descalcificação através de solução com 300 ml de água destilada, 60 ml de ácido fórmico a 5% e 40 g de citrato de sódio. Neste procedimento, as cócleas isoladas foram imersas nesta solução por 53 dias.

Após este período as cócleas foram cortadas coronalmente com o auxílio de uma lâmina de bisturi e lavadas com água corrente por cerca de 30 minutos. Logo em seguida as cócleas permaneceram imersas em álcool 70% por 24 horas e em álcool 80%, 90%, absoluto I e absoluto II por 1 hora. Após terem sido desidratadas elas foram incluídas em parafina a 65 °C por meio de máquina de inclusão (Microm® modelo EC350-1) e cortadas através com micrótomo (Microm® modelo HM315R) no Laboratório Carlos Azevedo da Universidade Federal Rural da Amazônia. A seguir, metade das lâminas foi submetida ao processo de coloração por hematoxilina e eosina enquanto a outra metade foi corada por tricromo de Masson.

As lâminas foram fotografadas usando-se o microscópio de luz ZEISS PRIMO STAR® com adaptador CANON A610/A620® 52 mm, no laboratório Professor Carlos Azevedo da Universidade Federal Rural da Amazônia.

2.2.6 Geometria da Cóclea

Dois crânios foram enviados para o Instituto Internacional de Neurociências Edmond and Lily Safra de Natal – RN para serem submetidas ao procedimento de tomografia computadorizada. Os dados obtidos foram processados com o *software* Osirix®, para a reconstrução dos labirintos auditivo e vestibular em terceira dimensão.

2.3 Análise Estatística

O programa Graphpad Software® foi utilizado para a organização dos dados em uma planilha, cálculo da média, desvio padrão, erro padrão, realização das regressões lineares e os gráficos apresentados neste trabalho.

3 RESULTADOS

3.1 Massa Corporal, Massa Encefálica e Tamanho dos Crânios

3.1.1 Massa corporal

A massa corporal média dos espécimes utilizados foi de 1964,00±310,09 g. A Tabela 1 apresenta os dados de massa corporal, sexo e faixa etária de todos os espécimes utilizados neste trabalho.

3.1.2 Massa dos Encéfalos e Tamanho do Crânio

Em virtude do grau de decomposição elevado em que alguns espécimes se encontravam, só foi possível obter valores da massa encefálica de três animais. A massa média destes encéfalos foi de 16,35 ± 0,22 g. Os valores individuais estão apresentados na Tabela 2.

O tamanho médio do crânio foi de 1612,98 ±112,52 mm em fêmeas e 1750,66 ± 167,58 mm em machos (os dados completos se encontram nas

Tabelas 3, 4 e 5). A diferença entre o volume do crânio de machos e fêmeas não foi estatisticamente significativo ($p > 0,05$).

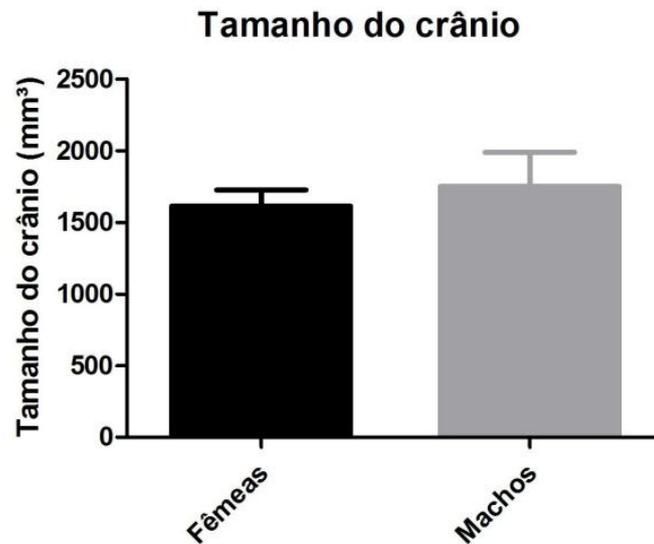


Figura 7. Histograma comparando o tamanho dos crânios de machos e fêmeas de *Bradypus variegatus*.

3.2 Análise morfométrica da bula timpânica

A análise morfométrica da bula timpânica demonstrou que esta estrutura mede $634,78 \pm 152,57$ mm. O tamanho relativo da bula é ligeiramente diferente entre machos e fêmeas, com machos apresentando bulas de tamanho maior que fêmeas ($614,44 \pm 145,30$ mm e $448,89 \pm 55,93$ mm, respectivamente). Como esta diferença não foi estatisticamente significativa, juntamos os dados dos dois sexos para calcular o volume estimado da bula ($97,63 \pm 6,80$ mm³) (Figura 8).

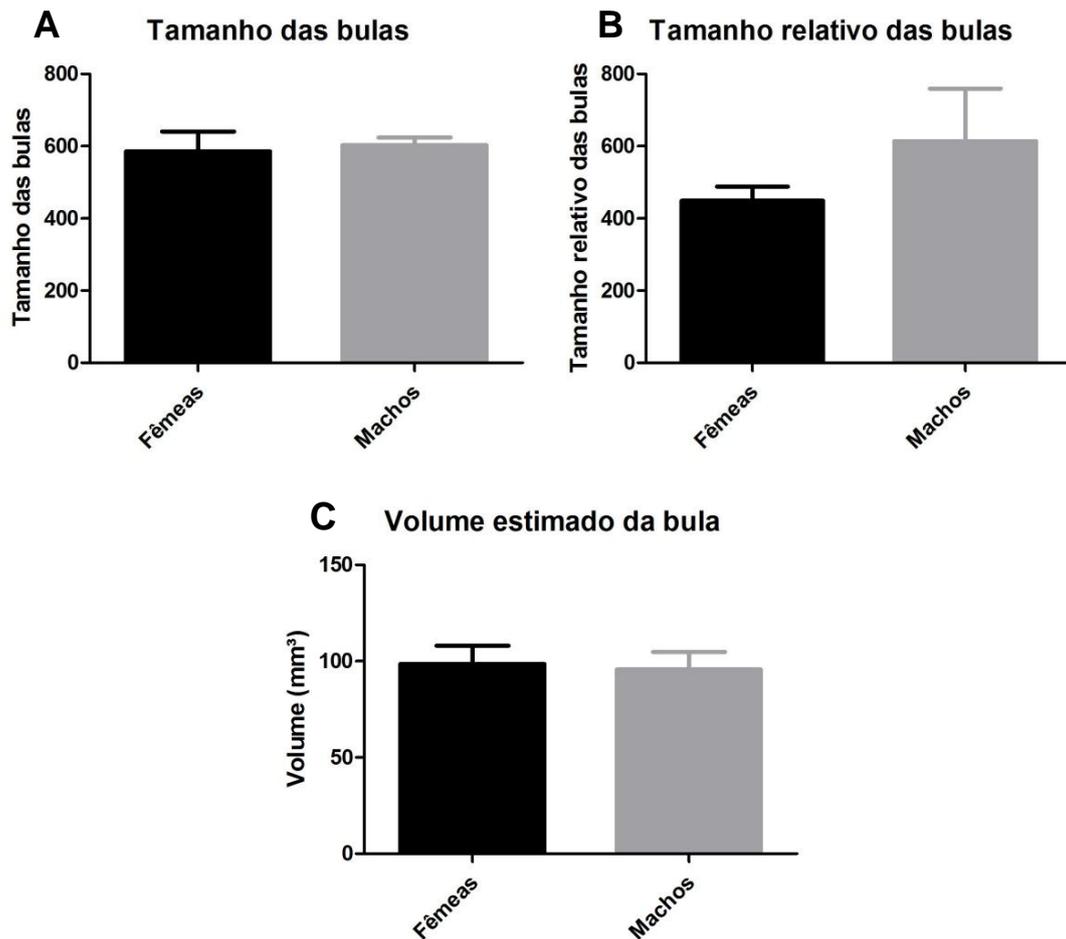


Figura 8. Comparação entre o tamanho da bula timpânica (A), o tamanho relativo (B) e o volume estimado da bula timpânica (C) de machos e fêmeas.

3.3 Análise morfométrica da orelha externa: pavilhão auricular e meato acústico

Na porção externa do meato acústico da preguiça observa-se o pavilhão auricular encoberto por uma densa pelagem (Figura 9). O pavilhão auricular apresenta uma configuração côncava, sempre projetada para frente e com uma subdivisão que viabiliza a entrada das ondas sonoras. No pavilhão auricular são encontrados cerúmen e pêlos até a borda do meato acústico externo (Figura 10). O meato acústico de *Bradypus variegatus* possui uma área de $16,52 \pm 2,24 \text{ mm}^2$ (ver Tabela 6).

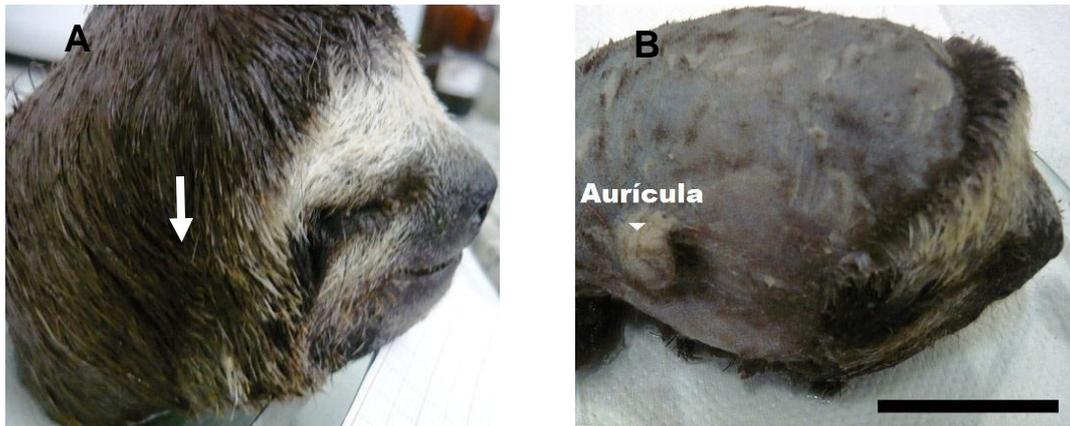


Figura 9. Fotografia da cabeça de *Bradypus variegatus*. (A) Posição da aurícula (seta) encoberta pela pelagem. (B) Fotografia da cabeça de um animal tricotomizado permitindo a observação exata da aurícula. **Escala = 3 cm.**

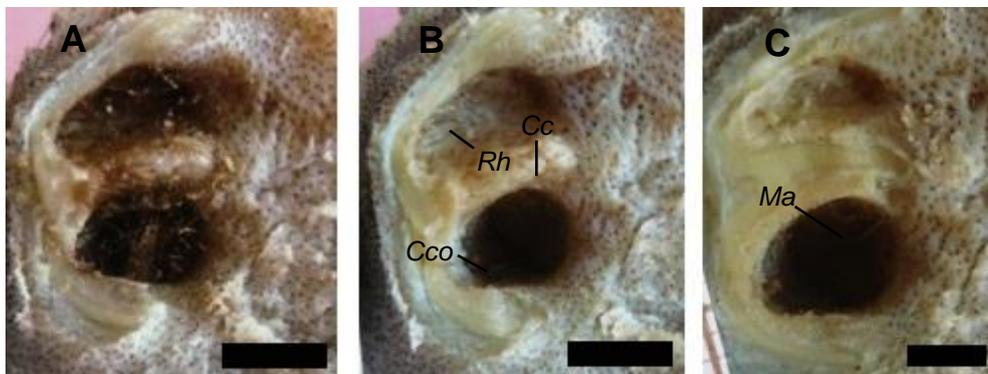


Figura 10. Fotografia do pavilhão auricular de *B. variegatus*. (A) Forma da inserção da orelha mostrada a partir da retirada de parte da mesma (notar a presença de pêlos e cerúmen). (B) A mesma orelha após procedimento de tricotomia e limpeza do cerúmen para melhor visualização da forma em espiral. *Rh*: Ramo da hélice; *Cc* címbar da concha da orelha; *Cco*: Cavidade da concha da orelha. (C) Região onde a orelha estava mostrando sua inserção. *Ma*: Meato acústico externo. Escala = 500 mm (A e B) e 300 mm (C).

3.4 Análise morfométrica do ouvido médio de *Bradypus variegatus*

De forma semelhante ao meato acústico externo, a membrana timpânica pode apresentar forma elíptica e circular, com um estreitamento em sua região central. O posicionamento de seus eixos também é variável (Figura 11A). A membrana timpânica possui uma área média de $26,22 \pm 1,25 \text{ mm}^2$ (ver Tabela 7), podendo ser dividida em parte tensa e parte flácida. Semelhante ao

observado na maioria dos mamíferos, o ouvido médio da preguiça-bentinho é constituído por uma cadeia de três ossículos interligados, martelo, bigorna e estribo que acompanham o movimento da membrana timpânica (Figura 11B).

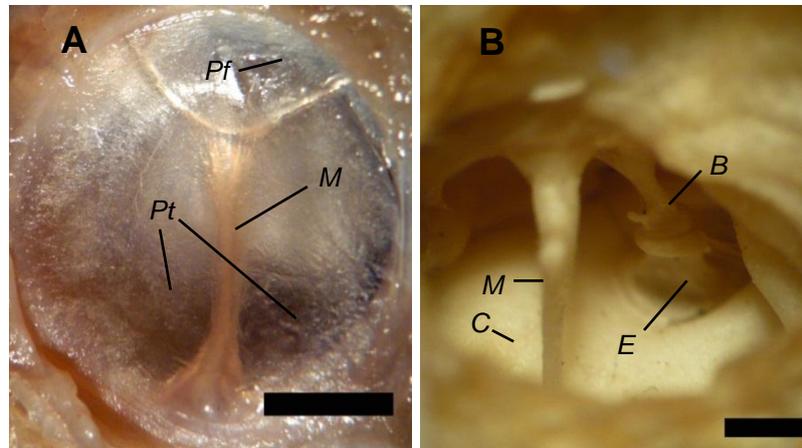


Figura 11. (A) Fotografia da membrana timpânica da *Bradypus variegatus*. Pf: Parte flácida; Pt: Parte tensa; M: Manúbrio. (B) Fotografia dos ossículos *in situ* antes de serem removidos. C: Cóclea; M: Martelo; B: Bigorna; E: Estribo. **Escala = 50 mm.**

O martelo e a bigorna apresentam estruturas comuns aos outros mamíferos (Figura 12A e B). A grande maioria dos estribos examinados, entretanto, não apresenta o forâmen central – uma estrutura observada na maioria dos mamíferos (NOVAECK, 1986).

Os valores médios da massa do martelo, bigorna e estribo foram, respectivamente, $8,46 \pm 0,23$ mg; $3,58 \pm 0,19$ mg e $1,41 \pm 0,10$ mg. O comprimento do martelo e da bigorna foi, respectivamente, $5,81 \pm 0,14$ mm e $2,01 \pm 0,07$ mm. Para o estribo, realizaram-se duas medições: uma no eixo longitudinal (L) e a outra no eixo transversal (T). Estas medidas foram utilizadas para o cálculo da área da janela oval a partir da área da base do estribo. A área média da janela oval foi de $1,28 \pm 0,07$ mm². A massa e o comprimento dos ossículos estão resumidos na Tabela 8.

O martelo apresenta um ângulo de aproximadamente 40° entre as duas partes que formam o manúbrio.

A bigorna possui um processo longo que varia igualmente entre uma forma reta e uma forma inclinada que, se continuada, daria origem a um espiral. Muitos apresentam um formato triangular na sua vista dorso-ventral (Figura 11 A e B).

Como mencionado anteriormente, a maioria dos estribos não apresenta o forame peculiar encontrado em outros mamíferos, apenas uma reentrância enquanto outros apresentam o que seria um forame incompleto. Raros espécimes apresentavam um forame propriamente dito. A base do estribo apresenta uma forma próxima a de uma elipse (Figura 11C), mas podem-se observar formatos próximos ao circular ou um estreitamento em seu eixo transversal.

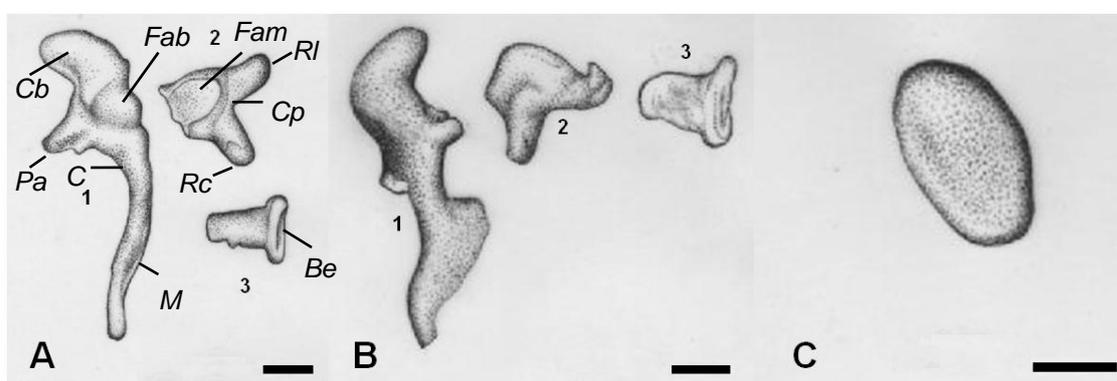


FIGURA 12. Desenho esquemático dos ossículos de *Bradypus variegatus*. Martelo (1): Vista medial (A) e vista lateral (B) onde são observadas as seguintes estruturas – **Cb: Cabeça; Fab: face articular para a bigorna; C: Colo; Pa: Processo anterior; M: Manúbrio.** Bigorna (2): Vista lateral (A) e vista medial (B), onde são observados o **Rc: Ramo curto; Cp: Corpo; Fam: Face articular para o martelo; Rl: Ramo longo.** Estribo (3). **Be: Base do estribo (C).** Escala = 1 mm. Desenhos de José Bertruedes.

3.5 Análise da Cóclea de *Bradypus variegatus*

A análise externa da morfologia da cóclea demonstrou que a estrutura da cóclea de *Bradypus variegatus* é achatada no sentido médio-lateral (Figura 13A e B), havendo diferenças sutis do formato entre os indivíduos analisados.

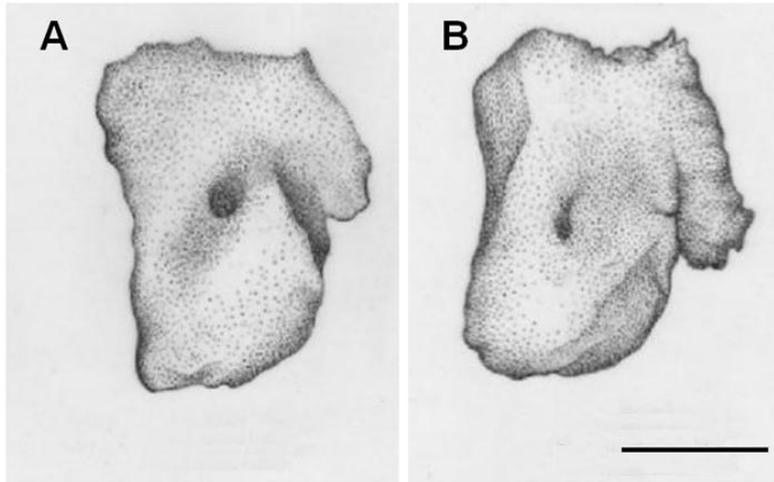


Figura 13. Desenhos esquemáticos de uma visão externa da cóclea de *Bradypus variegatus*. (A) vista lateral da cóclea; (B) vista medial da cóclea. Escala = 5 mm (A e B). Desenho de José Bertruedes.

3.5.1 Análise por Microscopia de Varredura

Internamente, a cóclea apresenta-se organizada em uma espiral contendo duas voltas e meia (Figura 14A e 14B). Nestas regiões podem-se observar as escalas vestibular, média e timpânica.

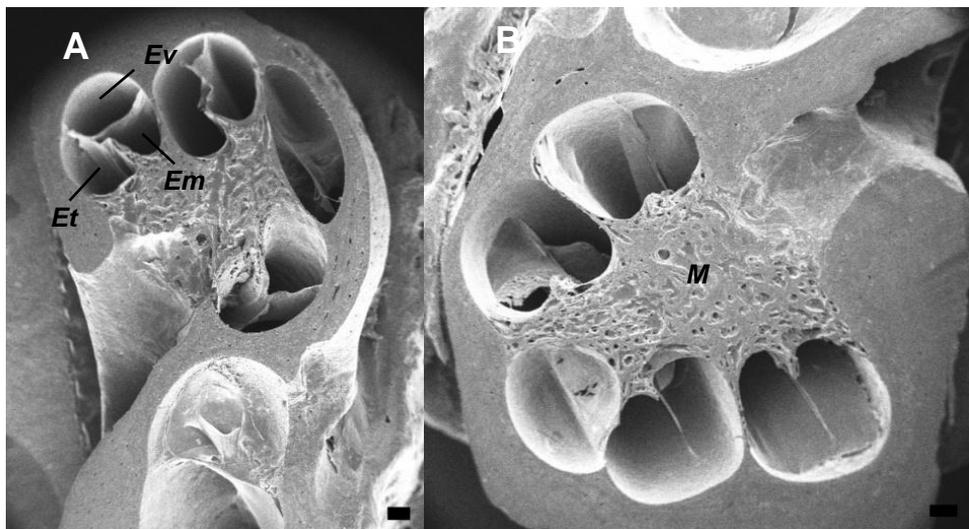


Figura 14. Fotomicrografia eletrônica de varredura da cóclea. (A) Labirinto coclear com destaque para a subdivisão de cada espiral. *Ev*: Escala vestibular; *Em*: Escala média; *Et*: Escala timpânica. (B) destaque para o modíolo (*M*). Escala = 200 μ m (A e B).

Através da análise de cortes verticais da cóclea de *B. variegatus* por microscopia eletrônica de varredura observamos as seguintes estruturas: lâmina espiral e local de inserção do nervo vestibulo-coclear (Figura 15A), escalas vestibular, média e timpânica; Membranas basilar e de Reissner (Figura 15B).

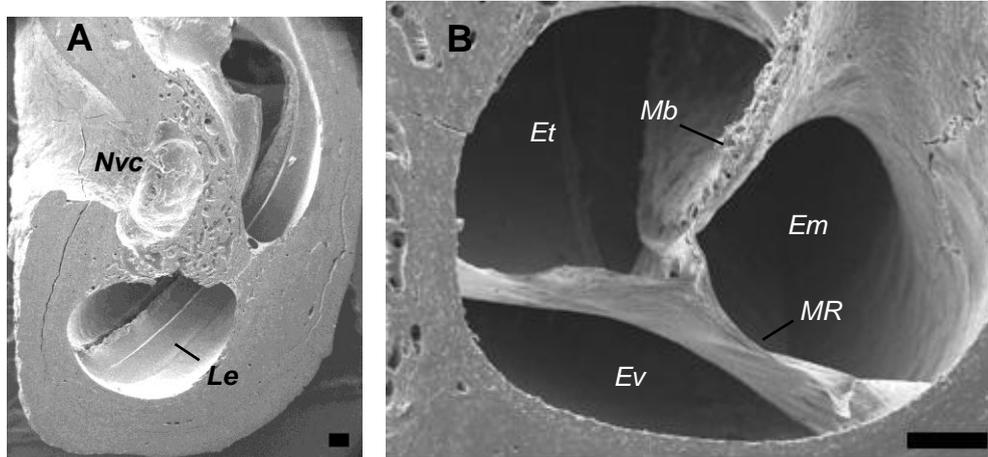


Figura 15. Fotomicrografia eletrônica de varredura de corte vertical da cóclea. *Nvc*: Local de inserção do nervo vestibulo-coclear; *Le*: Lâmina espiral. (B) Rampa em maior aumento. *Et*: Escala timpânica; *Mb*: Membrana basilar; *Em*: Escala média; *MR*: Membrana de Reissner; *Ev*: Escala vestibular. Escala = 200 μm (A e B).

3.5.2 Análise Histológica das Rampas Cocleares de *Bradypus variegatus*

No espiral do labirinto coclear são evidenciadas as escalas vestibular, média e timpânica. Entre a escala vestibular e a escala média está localizada a membrana de Reissner, formada por apenas uma camada de epitélio simples pavimentoso. Formando o limite entre as escalas média e timpânica está a membrana basilar e o órgão de Corti. (Figura 16A). A Figura 16B mostra o ducto coclear de um modo geral, nele a membrana tectorial e o órgão de Corti, onde estão localizadas as células ciliadas externas e internas (Figura 16C).

As células ciliadas externas estão dispostas em três fileiras, apresentando uma arquitetura alongada, contendo cada uma um único núcleo localizado centralmente ou em sua extremidade apical. Já as células ciliadas internas encontram-se em fileira única, apresentam conformação aparentemente mais delgada que as externas e seus núcleos também são

redondos situados centralmente. Ao lado das células ciliadas externas e internas são encontradas, respectivamente, as células pilares externas e internas. Estes achados são semelhantes ao descrito para os demais mamíferos.

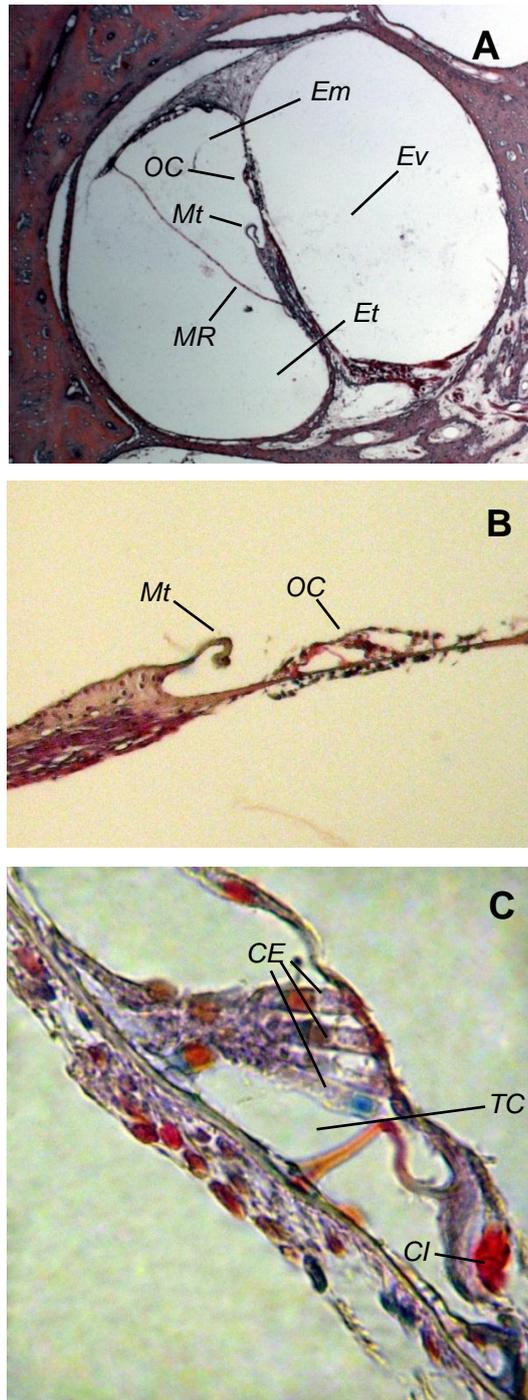


Figura 16. Fotomicrografia do labirinto ósseo demonstrando as escalas vestibular (*Ev*),escala média (*Em*) e escala timpânica (*Et*). Escala = 250 μm (A e B) 25 μm (C). *Mt*: Membrana tectoria; *MR*: Membrana de Reissner; *OC*: Órgão de Corti; *CI*: Célula receptora interna; *CE*: Célula receptora externa; *TC*: Túnel de Corti. A: Aumento de 5X. Coloração por Hematoxilina e Eosina; B: Aumento de 10X; Coloração por Hematoxilina e Eosina. C: Aumento de 40X. Coloração por Tricromo de Masson.

3.5.3 Reconstrução tridimensional dos labirintos auditivo e vestibular de *Bradypus variegatus* por tomografia computadorizada

Na reconstrução das seções obtidas pela TC foram evidenciados a cóclea e canais semicirculares, com as estruturas do lado direito e esquerdo organizadas como imagens especulares umas das outras (figura 17A e B); Ratificando os achados histológicos, o formato da cóclea de *Bradypus variegatus* é exposto pela primeira vez na sua integridade e junto a ela os três canais semicirculares: canal vertical anterior, canal vertical posterior e canal horizontal (figura 17B e C), em uma disposição semelhante à encontrada na maioria dos mamíferos.

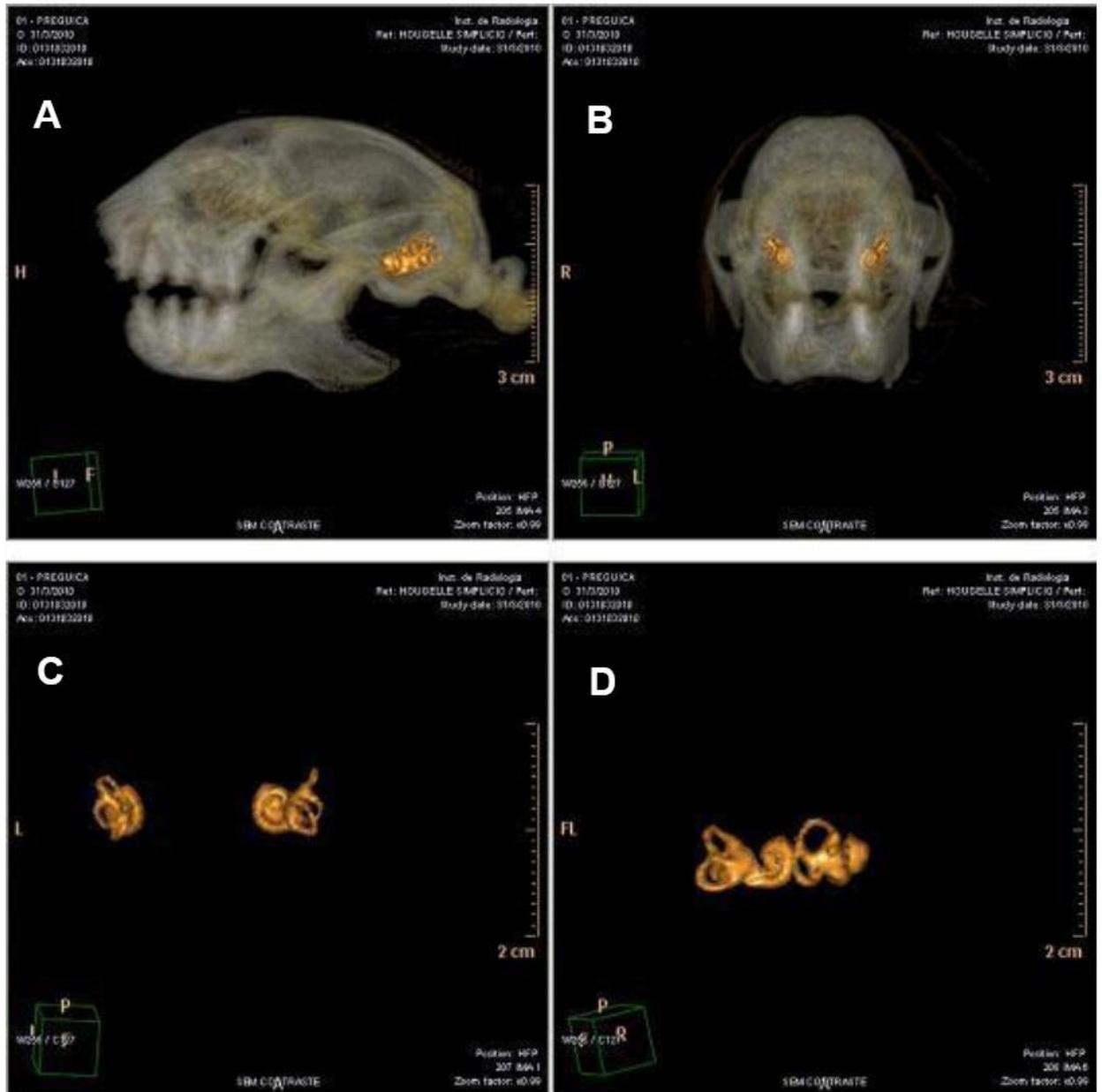


Figura 17. Reconstrução em terceira dimensão do labirinto ósseo da preguiça. Posicionamento especular da cóclea e canais semicirculares (A e B) na cabeça de *Bradypus variegatus*; Disposição dos canais semicirculares (C e D).

3.6 Comparação dos Parâmetros do Ouvido Médio de *Bradypus variegatus* com Outras Espécies de Mamíferos

Para realizar a análise comparativa da morfologia das estruturas do ouvido da preguiça com o de outros mamíferos, utilizamos os dados disponíveis em HEMILÄ *et al.* (1995) e NUMMELA (1995) (ver ANEXO 03).

3.6.1 Análise da relação entre a massa dos ossículos da orelha média de *Bradypus variegatus*

Os valores médios da massa do martelo e da bigorna apresentam uma forte correlação entre si ($r^2 = 0,92$). Esta correlação parece ser a regra entre os mamíferos, conforme se pode observar na figura 18.

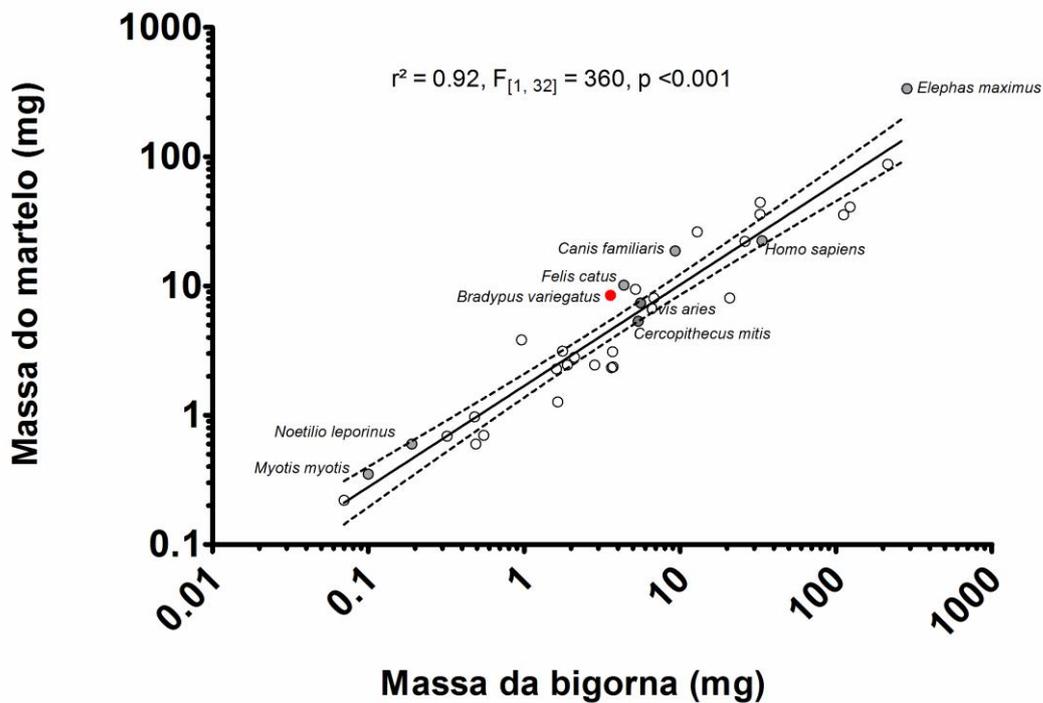


Figura 18. Gráfico comparativo demonstrando a relação entre as massas (em miligramas) do martelo e da bigorna (A linha de regressão foi baseada em todos os dados disponíveis para os mamíferos) ($p < 0,001$).

A figura 19 mostra a relação entre a massa do estribo e a somatória das massas do martelo e da bigorna ($\text{Estribo}/(\text{Martelo} + \text{Bigorna})$) para várias espécies de mamíferos. Existe forte correlação entre a massa do estribo e as massas somadas do martelo e da bigorna ($r^2 = 0,91$) nos mamíferos.

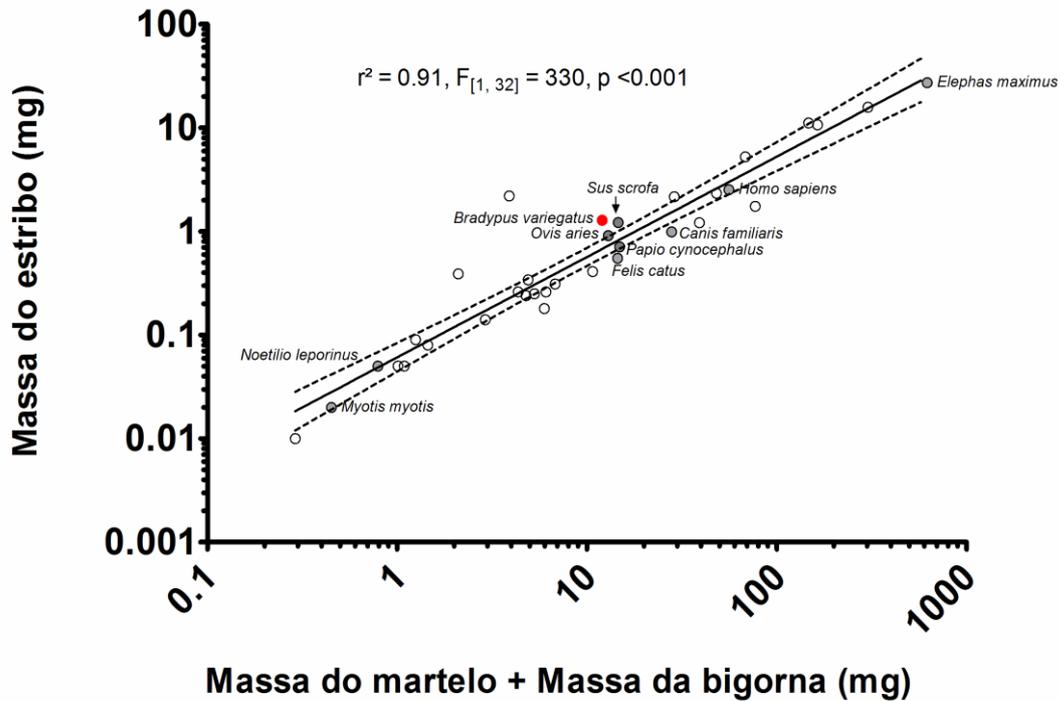


Figura 19. Gráfico comparativo demonstrando a relação entre a massa do estribo (em miligramas) e as massas do martelo e da bigorna somadas (em miligramas).

Comparamos o comprimento do martelo com o comprimento da bigorna (Figura 20) para verificar se a correlação encontrada quando analisou-se as massas desses ossículos também existe em relação ao tamanho dos mesmos. Apesar de existir uma correlação entre os comprimentos desses ossículos, esta é menos acentuada ($r^2 = 0,77$) do que a descrita para a massa dos mesmos, como esperado.

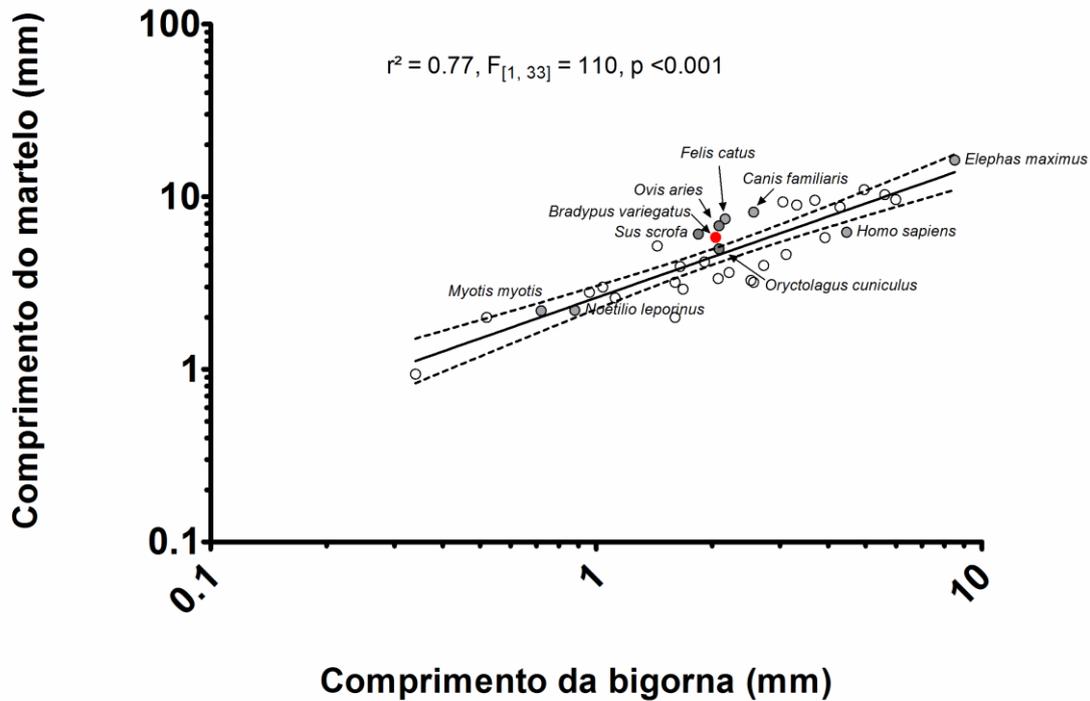


Figura 20. Gráfico comparativo demonstrando a relação entre o comprimento do martelo em função do comprimento da bigorna em vários mamíferos. Em destaque, os valores para *Bradypus variegatus*.

Em suma, estes dados corroboram a hipótese de Nummela (1995) de que as medidas do ouvido médio de mamíferos terrestres de diferentes tamanhos são basicamente isométricas e geometricamente semelhantes.

3.6.2 Relação entre área da membrana timpânica e o tamanho dos ossículos

Para avaliar se a isometria encontrada na orelha média se mantém no restante das estruturas da orelha, analisou-se a relação entre a massa dos ossículos (martelo + bigorna) em função da área da membrana timpânica. Esta análise demonstrou que a isometria das estruturas da orelha média se mantém para a membrana timpânica (Figura 21).

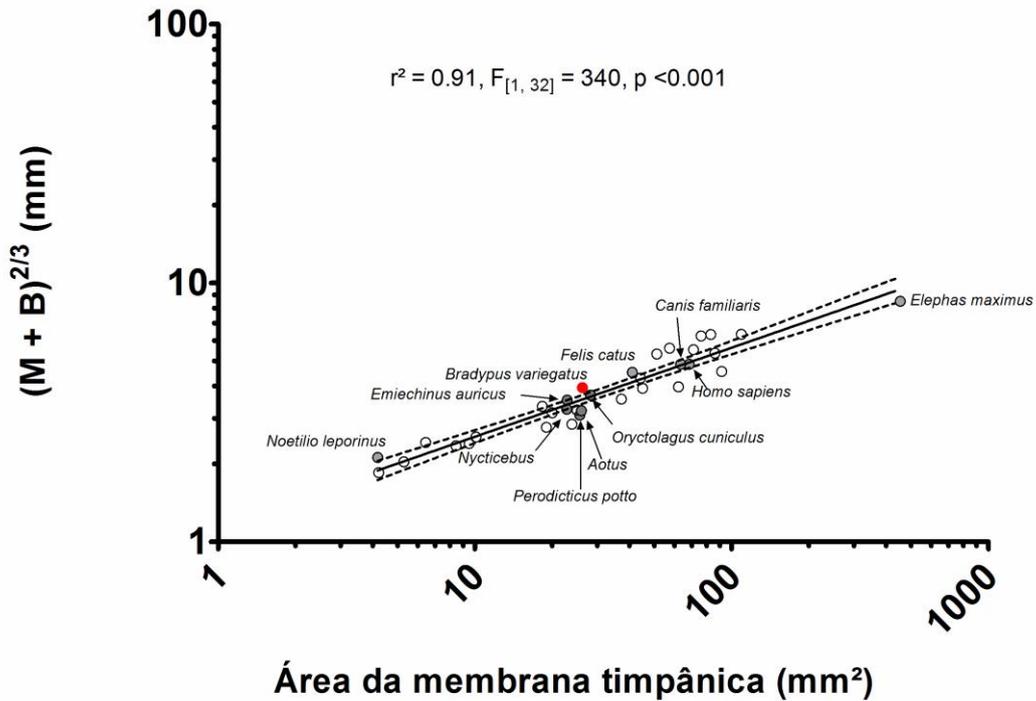


Figura 21. Gráfico comparativo demonstrando a relação entre a área da membrana timpânica em função da área da janela oval.

3.6.3 Relação entre áreas: membrana timpânica versus janela oval

Para averiguar se as estruturas responsáveis pela transferência de energia entre a orelha externa (membrana timpânica) e a orelha interna (janela oval) mantém a mesma correlação encontrada nas estruturas analisadas na orelha média, fizemos uma análise de regressão da área da membrana timpânica em função da área da janela oval (isometria funcional). O resultado desta análise demonstrou que a área da janela oval aumenta em função da área da membrana timpânica e que a correlação entre estas estruturas é bastante acentuada, mas os valores observados em *B. variegatus* foram abaixo do esperado ($r^2 = 0,94$).

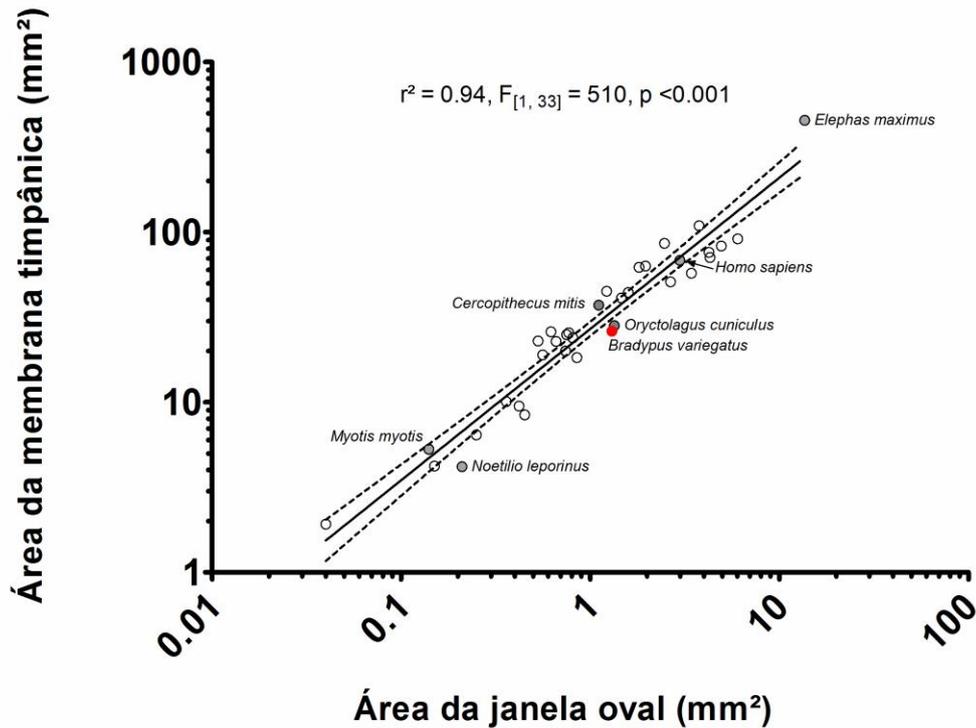


Figura 22. Gráfico comparativo demonstrando a relação entre a área da membrana timpânica em função da área da janela oval.

3.6.4 Relação entre as Massas dos Ossículos (Martelo + Bigorna) e a Massa do Crânio

Para avaliar como o tamanho dos ossículos de *B. variegatus* varia em função do tamanho do crânio, construímos um gráfico dos valores médios das massas do martelo e bigorna (M + B, em miligramas) em função da massa média do crânio (Figura 23). Como observado na figura 19, a massa do estribo é isometricamente relacionada com a somatória da massa do martelo e da bigorna juntos. Portanto, a massa do estribo pôde ser omitida sem afetar a relação com o tamanho do crânio. Esta análise demonstrou que a massa dos ossículos de *Bradypus variegatus* encontra-se acima dos valores previstos para um animal com uma massa de crânio semelhante (Figura 23).

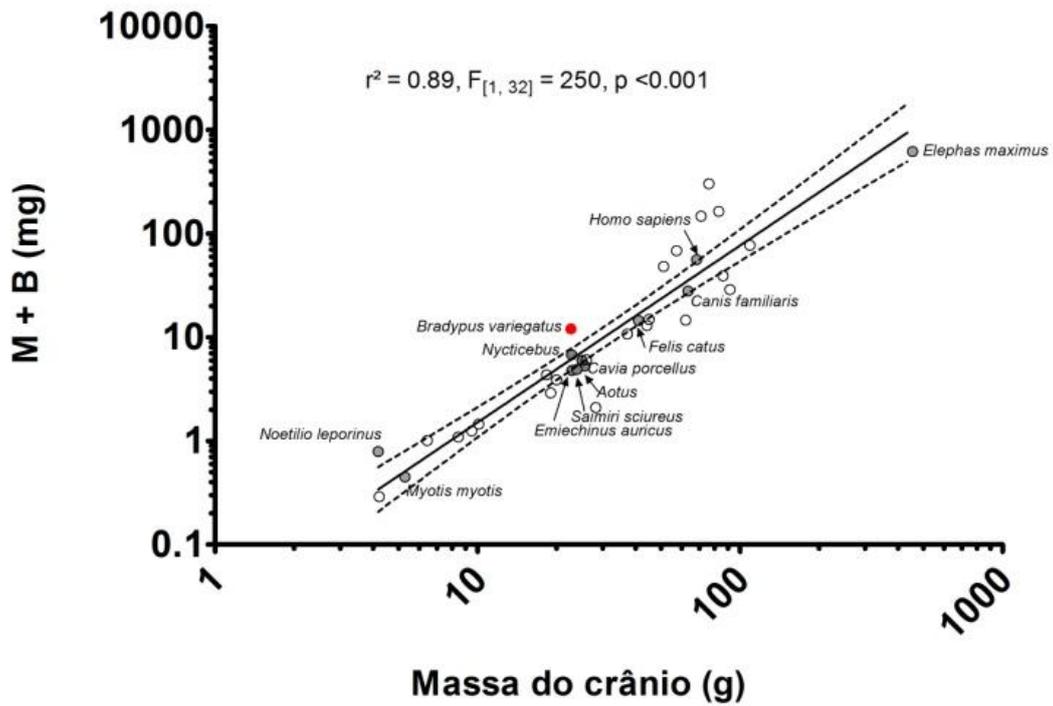


Figura 23. Escalonamento da massa dos ossículos (martelo + bigorna) em função da massa do crânio. Os dados de *Bradypus variegatus* foram comparados com os dados publicados por NUMMELA (1995) para outros mamíferos. A massa dos ossículos de *B. variegatus* é ligeiramente maior do que esperado para uma espécie desse porte.

4 DISCUSSÃO

4.1 Considerações sobre o comprimento do crânio e a massa encefálica da Preguiça

No presente trabalho, a média registrada do comprimento do crânio de *B. variegatus* foi 69,49 mm \pm 0,84. O comprimento do crânio desta espécie foi maior apenas do que o descrito por HAISSSEN (2008) para *B. pygmaeus* com valor de 69 mm. O tamanho do crânio de *B. variegatus* é ligeiramente inferior ao de *B. torquatus* cuja média é 72 mm (HAISSSEN, 2009b) e *B. tridactylus* cuja média é 72,59 mm (HAISSSEN, 2009a). O tamanho do crânio do gênero *Bradypus* é menor do que o descrito para o gênero *Choloepus sp.*, cuja medida registrada foi 111,20 mm (ADAM, 1999). Levando-se em consideração que existe uma relação entre tamanho do crânio e o tamanho do corpo do animal, este resultado está de acordo com o que se esperava encontrar para esta espécie, pois *B. variegatus* possui um tamanho próximo as espécies *B. torquatus* e *B. tridactylus*, é maior que *B. pygmaeus*, mas menor que *Choloepus sp.*

A medida encontrada neste trabalho para *B. variegatus* é menor do que aquela descrita por HAISSSEN (2010), cujo valor foi de 80,30 mm, utilizando o método de escaneamento coronal do crânio por tomografia computadorizada em preguiças do Panamá com peso médio de 4,3 kg. ANDERSON e HANDLEY (2001) haviam estabelecido um valor mínimo de 69 mm para *B. variegatus*. Os resultados encontrados neste trabalho estão de acordo com o valor estabelecido por aqueles autores. Em relação ao tamanho do crânio destes animais, muitos podem ser os motivos para as diferenças encontradas, como por exemplo a diferença no peso devido ao estado de desidratação, saúde debilitada dos animais estudados, etc.

O valor médio da massa encefálica registrada a partir de encéfalos fixados de *B. variegatus* foi de 16,35 g \pm 0,22. Este resultado está de acordo com os publicados por FERREIRA *et al.* (2005), onde a média da massa encefálica tanto para *B. variegatus* quanto para *B. torquatus* foi de 16 g.

4.2 O ouvido da Preguiça: Relação ecofisiológica e evolutiva

Não existem registros sobre medições do volume, altura e largura da bula timpânica, volume estimado e tamanho relativo da bula para *B. variegatus*, assim como da largura do osso mastóide e tamanho do crânio para este gênero. No entanto, WISOCKI (2001) afirma que o tamanho da bula de mamíferos está diretamente relacionado ao comprimento do corpo do animal. No presente trabalho, estes dados foram mensurados por que eles podem informar a respeito do tipo de habitat em que tais animais vivem, de acordo com MORELL *et al.* (2007). Segundo LAY (1972) animais que habitam áreas secas apresentam grandes bulas timpânicas enquanto que animais que habitam áreas úmidas apresentam bulas timpânicas pequenas. O volume estimado da bula timpânica no presente estudo foi $97,77 \pm 6,80$ – um tamanho considerável para um animal desse porte - um animal arborícola típico de florestas tropicais.

A orelha externa contribui para um ganho acústico de aproximadamente 20 dB em diversas espécies, incluindo a espécie humana. Segundo COLEMAN e COLBERT (2010) esta amplificação ocorre provavelmente devido ao formato aberto que a orelha apresenta. Porém, ao contrário do que observamos em humanos e outros animais, a orelha externa de *B. variegatus* apresenta uma curvatura extremamente acentuada, praticamente vedando a entrada do meato acústico externo. LANGE *et al.* (2004) sugerem que orelhas pequenas e escondidas estão relacionadas com uma redução da capacidade de localização de sons. ANDERSON e HANDLEY (2001) estabeleceram um valor médio para o diâmetro do meato acústico externo de *B. variegatus* de 5,40 mm. Esta medida equivale ao eixo longitudinal descrito neste estudo de 5,01 mm. O tamanho do meato acústico pode contribuir para que as preguiças tenham capacidade de detectar frequências auditivas menores. SUGA (1967) e VIZCAÍNO E LOUGHRY (2008) descreveram a faixa auditiva de *Bradypus* entre 0,3 – 30 KHz e determinou que a melhor frequência para ativar o sistema auditivo deste animal esta na faixa de 2 – 8 KHz.

Outro fator que pode contribuir para alterar a faixa de frequência auditiva deste animal é o peso dos ossículos. HEMILÄ *et al.* (1995) afirmam que a massa dos ossículos é inversamente proporcional às frequências auditivas percebidas. O valor da massa dos ossículos de *B. variegatus* foi acima do valor

esperado para esta espécie. Este fato se está de acordo com a citação anterior de que a preguiça apresenta uma orelha externa e média adaptada para detectar frequências menores. No entanto, existe a necessidade de estudos eletrofisiológicos adicionais em *B. variegatus* para comprovar esta hipótese.

Além da análise dos ossículos fornecerem informações importantes sobre o funcionamento do sistema auditivo de *B. variegatus*, esta análise pode também auxiliar na elucidação do caminho evolutivo desta espécie. Com base na descrição da cadeia de ossículos das preguiças, PATTERSON *et al.* (1992) sugerem que existem algumas peculiaridades na linha evolutiva deste gênero. Tanto as preguiças extintas quanto as existentes podem ser divididas em dois grupos com base na morfologia do martelo. O primeiro grupo, caracterizado pelo martelo de *Bradypus*, corresponde à divisão sistemática *Bradypus* / *Megatherium*. O segundo grupo, exemplificado pelo martelo de *Choloepus sp.*, corresponde a divisão sistemática *Choloepus sp.* / *Megalonyx* e Milodonte. Portanto, de acordo com estes autores, *B. variegatus* estaria mais próxima das extintas preguiças de hábitos terrestres do que de *Choloepus sp.* - um gênero também vivente. Os dados descritos no presente estudo estão de acordo com os discutidos por estes autores e podem contribuir para a elucidação desta questão ainda em aberto sobre a história evolutiva da ordem Xenarthra.

A morfologia do estribo é outro ponto a ser discutido. O estribo das preguiças apresenta um diferencial em relação aos outros mamíferos. Enquanto o estribo de mamíferos possui um forâmen, no estribo das preguiças este forâmen está ausente e provavelmente está presente apenas durante o início do seu desenvolvimento. De acordo com NOVACEK e WYSS (1986), a imperfuração encontrada no estribo das preguiças seria uma característica primitiva. Um estudo realizado em *Choloepus sp.* evidenciou que espécimes infantis apresentam um forâmen que não é encontrado em espécimes adultos. Embora o presente estudo tenha analisado apenas espécimes adultos de *B. variegatus*, nenhum destes apresentou o forâmen estapedial, mas sim apenas um indício do mesmo, corroborando com a hipótese acima apresentada.

4.3 Considerações sobre a cóclea

A cóclea de *B. variegatus* possui uma conformação interna em espiral com duas voltas e meia, semelhante à descrita para a preguiça real (gênero *Choloepus sp.*) que possui duas voltas e um quarto de volta (RAMPRASHAD *et al.*, 1985). MONTGOMERY (1985), com base no estudo de RAMPRASHAD *et al.* (1985), afirmou que a cóclea da preguiça real é uma cóclea típica de um mamífero. A descrição da cóclea de *B. variegatus* no presente estudo está de acordo com os dados publicados tanto por RAMPRASHAD *et al.* (1985) quanto por MONTGOMERY (1985). De acordo com MENG e FOX (1995), mamíferos marsupiais e placentários vivos possuíam um ancestral em comum que já apresentava uma cóclea espiralada. A análise histológica do órgão de Corti de *B. variegatus* mostrou que a histologia da cóclea desta espécie é equivalente à descrição feita para *Choloepus sp.* Embora não saibamos como ocorreu de fato a evolução do sistema auditivo nesta ordem, se a hipótese de MANLEY (2010), que afirma que primeiro houve o desenvolvimento dos ossículos e depois o desenvolvimento da cóclea, estiver correta, os dados do presente estudo podem sugerir que o ouvido de *B. variegatus* evoluiu independente dos eventos ocorridos em *Choloepus sp.* caracterizando um tipo de evolução polifilética.

5 CONCLUSÃO

O sistema auditivo periférico de *Bradypus variegatus* é organizado de forma similar à maioria dos mamíferos. A exceção é a ausência do forâmen estapedial.

Todo o aparato auditivo periférico de *Bradypus variegatus* apresenta conformação adaptada para a extensão da faixa de sensibilidade auditiva para baixas frequências. Sua orelha externa tende a isolar a entrada do meato acústico externo, uma forma de proteção a esta região.

A comparação dos dados morfométricos do ouvido de *Bradypus variegatus* com os valores publicados para outras espécies de mamíferos mostrou que os parâmetros obtidos na preguiça são equivalentes aos valores esperados para um mamífero do mesmo tamanho.

O formato dos ossículos do ouvido médio do gênero *Bradypus sp.* não é considerado próximo ao de *Choloepus sp.*, no entanto, a arquitetura externa e estrutura histológica da cóclea destes dois gêneros é semelhante, sugerindo que o ouvido de *Bradypus sp.* pode ter evoluído de maneira independente do ouvido de *Choloepus sp.*

6 REFERÊNCIAS

- ADAM, P. J. *Choloepus didactylus*. **Mammalian Species: v. 621**, p. 1 - 8, 1999.
- AIRES, M. M. Fisiologia. 3 ed. **Guanabara Koogan S.A.** . Rio de Janeiro, 2008.
- ALLMAN, J. M. Evolving brains. 1 ed. **Scientific American Library**. New York, 2000.
- ANDERSON, R. P. e HANDLEY, C. O. A new species of three- toed sloth (Mammalia: Xenarthra) from Panamá, with a review of the genus *Bradypus*. **Proceedings of the biological society of Washington: v. 114**, p. 1 - 33, 2001.
- BARNI, T., MAGGI, M., FANTONI, G., SERIO, M., TOLLARO, I., GLORIA, L. e VANNELLI, G. B. Identification and localization of endothelin-1 and its receptors in human fetal jaws. **Developmental Biology: v. 169**, p. 373 - 377, 1995.
- BEAR, M. F., CONNORS, B. W. e PARADISO, M. A. Neurociências: Desvendando o Sistema nervoso. 2 ed. **Artmed**. Porto Alegre, 2002.
- CARLSON, B. M. Human embryology and developmental biology. 3 ed. **Mosby** Michigan, 2004.
- CAULDWELL, E. W. e ANSON, B. J. Stapes, fissulas ante fenestrum and associated structures in man from 6, 7 to 50 mm in length. **Archives of Otolaryngology: v. 36**, p. 891-925, 1942.
- COLEMAN, M. N. e COLBERT, M. W. Correlations Between Auditory Structures and Hearing Sensitivity in Non-Human Primates. **Journal of Morphology: v. 271**, p. 511 - 532, 2010.
- CUBAS, Z. S., SILVA, J. C. R. e DIAS, J. L. C. Tratado de animais selvagens – medicina veterinária. 1 ed. **Roca**. São Paulo, 2006.
- DIMOPOULOS, P. e MUREN, C. Anatomic variations of the cochlea and relations to other temporal bone structures. **Acta Radiologica: v. 31**, p. 439 - 444. 1990.
- EISENBERG, J. F. e REDFORD, K. H. Mammals of Neotropics - The Southern Cone: Chile, Argentina, Uruguay, Paraguay. 1 ed. **University of Chicago Press**. Chicago, 1992.
- FAY, R. R. e POPPER, A. N. Evolution of hearing in vertebrates: The inner ears and processing. **Hearing Research: v. 149**, p. 1 - 10, 2000.
- FERREIRA, J. R., OLIVEIRA, V. L. O., K. M. e SOUSA-JÚNIOR, N. B.

Contribuições ao estudo da anatomia macroscópica do encéfalo do *Bradypus torquatus* (Linnaeus, 1758) e *Bradypus variegatus* (Schinz, 1825). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science: v. 42**, p. 397 - 404, 2005.

GRAVES, J. Two uses for old SOX. **Nature Genetics: v. 16**, p. 114 - 115, 1997.

GUIDA, H. L., FENIMAN, M. R., ZANCHETTA, S., FERRARI, C., GIACHETI, C. M. e ZORZETTO, N. L. Revisão anatômica e fisiológica do processamento auditivo. **ACTA ORL/Técnicas em Otorrinolaringologia: v. 25**, p. 177 - 181, 2007.

HAISSEN, V. *Bradypus pygmaeus* (Pilosa: Bradypodidae). **Mammalian Species: v. 812**, p. 1 - 4, 2008.

HAISSEN, V. *Bradypus tridactylus* (Pilosa: Bradypodidae). **Mammalian Species: v. 839**, p. 1 - 9, 2009a.

HAISSEN, V. *Bradypus torquatus* (Pilosa: Bradypodidae). **Mammalian Species: v. 829**, p. 1 - 5, 2009b.

HAISSEN, V. *Bradypus variegatus* (Pilosa: Bradypodidae) **Mammalian Species: v. 850**, p. 19 - 32, 2010.

HALL, B. K. e MIYAKE, T. Divide, accumulate, differentiate: cell condensation in skeletal development revisited **International Journal of Developmental Biology: v. 39**, p. 881 - 893, 1995.

HANKEN, J. e HALL, B. K. Patterns of Structural and Systematic Diversity. 1 ed. **University of Chicago Press**. Chicago, 1993.

HEINE, P. A. Anatomy of the ear. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal: v. 34** p. 379 - 395, 2004.

HEMILÄ, S., NUMMELA, S. e REUTER, T. What middle ear parameters tell about impedance matching and high frequency hearing. **Hearing Research: v. 85**, p. 31 - 44, 1995.

HILBEBRAND, M. e GOSLOW, G. Análise da estrutura dos vertebrados 2ed. **ATENEU**. São Paulo, 2006.

KANDEL, E. R., SCHWART, J. H. e JESSEL, T. M. Principles of neural science. 4 ed. **McGraw- Hill Companies, Inc**. New York, 2000.

KOEPPEN, B. M. e STANTON, B. A. Berne e Levy - Fisiologia. 6 ed. **Guanabara Koogan**. Rio de Janeiro. 2009.

- KOLB, B. e WISHAW, I. Q. Neurociência do comportamento. 1 ed. **Manole**. Baueri São Paulo, 2002.
- KRIEGS, J. O., CHURAKOV, G., KIEFMANN, M., JORDAN, U., BROSIUS, J. e SCHMITZ, J. Retro posed Elements as Archives for the Evolutionary History of Placental Mammals. **Public Library of Science Biology: v. 4**, p. 537 - 544, 2006.
- LANGE, S., STALLEICKEN, J. e BURDA, H. Functional Morphology of the Ear in Fossorial Rodents, *Microtus arvalis* and *Arvicola terrestris*. **Journal of Morphology: v. 262** p. 770-779, 2004.
- LAY, D. M. The anatomy, physiology, functional significance and evolution of specialized hearing organs of gerbilline rodents **Journal of Morphology: v. 138** p. 41 - 120, 1972.
- LE DOUARIN, N. M., ZILLER, C. e COULY, G. F. Patterning of neural crest derivatives in the avian embryo: in vivo and in vitro studies. **Developmental Biology: v. 159**, p. 24 - 49, 1993.
- LI, S.-W., PROCKOP, D. L., HELMINEN, H., FÄSSLER, R., LAPVETELÄINEN, T., KIRALY, K., PELTARRI, A., AROKOSKI, J., LUI, H., ARITA, M. e KHILLAN, J. S. Transgenic mice with targeted inactivation of the *Col2a 1* gene for collagen II develop a skeleton with membranous and periosteal bone but no endochondral bone. **Genes & Development: v. 9**, p. 2821 - 2830, 1995.
- LIAO, J., ZHANG, Z. e LIU, N. Effects of altitudinal change on the auditory bulla in *Ochotona daurica* (Mammalia, Lagomorpha). **Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research: v. 45**, p. 151 - 154, 2007.
- LOHNES, D., MARK, M., MENDELSON, C., DOLLÉ, P., DIERICH, A., GORRY, P., GANSMULLER, A. e CHAMBON, P. Function of the retinoic acid receptors (RARs) during development (I) Craniofacial and skeletal abnormalities in RAR double mutants. **Development: v. 120**, p. 2723 - 2747, 1994.
- LUO, Z. Transformation and diversification in early mammal evolution. **Nature: v. 450** p. 1011 - 1019, 2007.
- MALLO, M. Retinoic acid disturbs mouse middle ear development in a stage-specific fashion. **Developmental Biology: v. 184**, p. 175 - 186, 1997.
- MALLO, M. Embryological and genetic aspects of middle ear development **The International Journal of Developmental Biology: v. 42** p. 11 - 22, 1998.
- MALLO, M. e BRÄNDLIN, I. Segmental identity can change independently in

the hindbrain and rhombencephalic neural crest **Developmental Dynamics: v. 210** p. 146 – 156, 1997.

MALLO, M. e GRIDLEY, T. Development of the mammalian ear: coordinate regulation of formation of the tympanic ring and the external acoustic meatus **Development: v. 122** p. 173 - 179, 1996.

MALLO, M., SCHREWE, H., MARTIN, J. F., OLSON, E. N. e OHNEMUS, S. Assembling a functional tympanic membrane: signals from the external acoustic meatus coordinate development of the malleal manubrium. **Development: v. 127** p. 4127 - 4136, 2000.

MANLEY, G. A. An evolutionary perspective on middle ears. **Hearing Research: v. 263**, p. 3 - 8, 2010.

MANLEY, G. A. An evolutionary perspective on middle ears. **Hearing Research: v. 263**, p. 3 - 8, 2010.

MANLEY, G. A. Cochlear Mechanisms from a phylogenetic viewpoint **Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America: v. 97**, p. 11736 - 11743, 2000.

MARTIN, J. F., BRADLEY, A. e OLSON, E. N. The paired-like homeobox gene MHox is required for early events of skeletogenesis in multiple lineages. **Genes & Development: v. 9**, p. 1237 - 1249, 1995.

MARTIN, T. e LUO, Z. X. Paleontology: Homoplasy in the Mammalian Ear. **Science: v. 307**, p. 861 - 862, 2005.

MARTIN, T. e RUF, I. On the Mammalian Ear. **Science: v. 326** p. 243 - 244, 2009.

MENG, J. The journey from jaw to ear. **Biologist - Institute of Biology: v. 50**, p. 154 - 158, 2003.

MENG, J. e FOX, R. C. Osseous inner ear structures and hearing in early marsupials and placentals. **Zoological Journal of the Linnean Society: v. 115** p. 47 - 71, 1995.

MIYAKE, T., CAMERON, A. M. e HALL, B. K. Stage-specific onset of condensation and matrix deposition for Meckel's and other first arch cartilages in inbred C57BL/6 mice. **Journal of Craniofacial Genetics and Developmental Biology: v. 16**, p. 32 - 47, 1996.

MOORE, K. L. e PERSAUD, T. V. N. Embriologia Clínica. 7 ed. **Elsevier**. Rio de Janeiro, 2004.

- MORELL, M., DEGOLLADA, E., SCHAAR, M. V., ALONSO, J. M., DELORY, L., A., DEWEZ, A. e ANDRÉ, M. Comparative morphometry of odontocete ears through computerized tomography. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom: v. 87**, p. 69 - 76, 2007.
- NOVAECK, M. J. e WYSS, A. Origin and transformation of the mammalian stapes. **Contributions to Geology, University of Wyoming, Special Paper: v. 3**, p. 35 - 53, 1986.
- NUMMELA, S. Scaling of the mammalian middle ear. **Hearing Research: v. 85**, p. 18 - 30, 1995.
- PATTERSON, B., SEGALL, W., TURNBULL, W. D. e GAUDIN, T. J. The Ear Region in Xenarthran (=Edentata: Mammalia) Part II Pilosa (Sloths, Anteaters). Palaeonodons, and a Miscellany. ed. **Field Museum of Natural History** Chicago, 1992.
- POPPER, A. N. e FAY, R. R. Evolution of the ear and hearing: issues and questions. **Brain Behaviour and Evolution: v. 50**, p. 213 - 221, 1997.
- PURVES, D., AUGUSTINE, G. J., FITZPATRICK, D., HALL, W. C., LAMANTIA, A., MCNAMARA, J. O. e WILLIAMS, S. M. Neuroscience. 3 ed. **Sinecure Associates, Inc.** Illinois, 2004.
- QUIU, M., BULFONE, A., MARTINEZ, S., MENESES, J. J., SHIMAMURA, K., PEDERSEN, R. A. e RUBENSTEIN, J. L. R. Null mutation of Dix-2 results in abnormal morphogenesis of proximal first and second branchial arch derivatives and abnormal differentiation in the forebrain. **Genes & Development.: v. 9** p. 2523 - 2538, 1995.
- RAMPRASHAD, F., LANDOLT, J. P., MONEY, K. E., CORREIA, M. J., LAUFER, J. Functional cochlear morphology of the two- toed sloth (*Choloepus sp.*) em: MONTGOMERY, G. G. The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas. 1 ed. **Smithsonian Institution Press.** Washington, 1985.
- REDFORD, K. H. e EISENBERG, J. F. Mammals of Neotropics, The Southern Cone: Chile, Argentina, Uruguay, Paraguay. 1 ed. **The University of Chicago Press.** Chicago, 1992.
- REED, S. J. B. Electron Microprobe Analysis and Scanning Electron Microscopy in Geology. 1 ed. **Cambridge University Press.** Cambridge, 1996.
- RICH, T. H., HOPSON, J. A., MUSSER, A. M., FLANNERY, T. F. e VICKERS-RICH, P. V. Independent Origins of Middle Ear Bones in Monotremes and

- Therians. **Science: v. 307**, p. 910 - 914, 2005.
- RIJLI, F. M., MARK, M., LAKKARAJU, S., DIERICH, A., DOLLE, P. e CHAMBON, P. A homeotic transformation is generated in the rostral branchial region of the head by disruption of Hoxa-2, which acts as a selector gene. **Cell: v. 75** p. 1333 - 1349, 1993.
- ROWE, T. Coevolution of the mammalian middle ear and neocortex. **Science: v. 273**, p. 651 - 654, 1996.
- SANTEE, D. P. e VALE, O. C. Programa de prevenção e identificação precoce de alterações auditivas neonatais. **Estudos: v. 33**, p. 333 - 356, 2006.
- SATOKATA, I. e MAAS, R. Msx1 deficient mice exhibit cleft palate and abnormalities of craniofacial and tooth development. **Nature Genetics: v. 6**, p. 348 - 356, 1994.
- SCHLEICH, C. E. e VASSALLO, A. I. Bullar volume in subterranean and surface-dwelling caviomorph rodents. **Journal of Mammalogy: v. 1**, p. 185 - 189, 2003.
- STREIT, A. Origin of the vertebrate inner ear: evolution and induction of the otic placode. **Journal of Anatomy: v. 199**, p. 99 - 103, 2001.
- SUGA, N. Hearing in some arboreal edentates in terms of cochlear microphonics and neural activity. **Journal of Auditory Research: v. 7**, p. 267 - 270, 1967.
- TAKEDA, Y., NISHIZAKI, K., MASUDA, Y. e WATANABE, S. Middle ear anomalies induced by hypertriazene administration in the mouse. **Auris Nasus Larynx: v. 23**, p. 1 - 12, 1996.
- THE TREACHER COLLINS SYNDROME COLLABORATIVE GROUP. Positional cloning of a gene involved in the pathogenesis of Treacher Collins syndrome. **Nature Genetics: v. 12**, p. 130 - 136, 1996.
- VAN BERGHEIJK, W. A. Contributions to sensory physiology. 1 ed. **Academic Press**. Seattle 1967.
- VIZCAÍNO, S. F. e LOUGHRY, S. F. The Biology of the Xenarthra. 1 ed. **University Press of Florida**. Gainesville, 2008.
- WEBSTER, D. B., FAY, R. A. e POPPER, A. N. The Evolutionary biology of hearing. 1 ed. **Springer**. New York, 1992.
- WISOCKY, J. Dimensions of the vestibular and tympanic scalae of the cochlea in selected mammals. **Hearing Research: v. 161**, p. 1 - 9, 2001.

YEHOASH, R. e ALTSCHULER, R. A. Structure and innervation of the cochlea.

Brain Research Bulletin: v. 60, p. 397 - 422, 2003.

ZHANG, J., HAGOPIAN-DONALDSON, S., SERBEDZIJA, G., ELSEMORE, J.,

PLEHN-DUJOWICH, D., MCMAHON, A. P., FLAVELL, R. A. e WILLIAMS, T.

Neural tube, skeletal and body wall defects in mice lacking transcription factor

AP-2. **Nature: v. 381**, p. 238 - 41, 1996.

APÊNDICE A – DADOS MORFOMÉTRICOS DE *BRADYPUS VARIEGATUS*

TABELA 1. IDENTIFICAÇÃO, SEXO, FAIXA ETÁRIA E MASSA CORPÓREA DOS ESPÉCIMES ANALISADOS.

Identificação	Sexo	Faixa etária	Massa corpórea (g)
A1	M	ADULTO	3.200
A2	F	SUB-ADULTO	1.000
A3	F	ADULTO	2.100
A6	M	ADULTO	1.350
A7	M	ADULTO	1.750
A9	F	ADULTO	-
A10	M	ADULTO	2.900
A11	F	ADULTO	1.450
A12	-	-	-
Média	-	-	-
Erro Padrão	-	-	-

TABELA 2. MASSA DOS ENCÉFALOS

Identificação	Massa dos encéfalos (g)
A2	16,77
A3	16,26
A9	16,03
Média	16,35
Erro Padrão	0,22

TABELA 3. DADOS DAS AMOSTRAS DE *BRADYPUS VARIEGATUS*
(PROCEDÊNCIA - COLEÇÃO DE MASTOZOOLOGIA DO MPEG)

Identificação	Sexo	Massa Corpórea (g)	Massa dos crânios (g)	Comprimento dos crânios (mm)
MG13263	M	-	17,00	66,08
MG13271	F	3.400	19,00	71,26
MG13265	F	-	25,10	71,04
MG20192	M	-	26,30	72,42
MG20199	F	-	27,30	69,83
MG10233	-	-	29,90	72,23
MG13287	F	3.000	21,00	65,73
MG13282	M	3.520	23,90	66,87
MG13264	F	3.100	22,80	69,23
MG20203	F	-	30,30	77,85
MG20194	F	-	19,50	68,73
MG20172	M	-	21,30	70,47
MG13267	F	1.300	19,90	66,20
MG13274	F	3.300	18,10	66,76
MG13278	F	3.000	18,70	67,64
Média	-	-	22,67	69,49
Erro Padrão	-	-	1,11	0,84

TABELA 4. MEDIDAS DAS BULAS E DOS OSSOS MASTÓIDES
(PROCEDÊNCIA - COLEÇÃO DE MASTOZOOLOGIA DO MPEG)

Identificação Lado	Largura do Osso Mastóide	Largura da Bula Timpânica	Altura da Bula Timpânica	Comprimento da Bula Timpânica
MG13263 (D)	5,32	7,40	4,64	9,23
MG13271 (D)	5,97	7,89	4,91	9,13
MG13265 (D)	6,57	6,30	3,94	10,39
MG20192 (D)	8,57	9,08	4,88	9,91
MG20199 (D)	5,75	7,82	5,09	9,34
MG10233 (D)	8,59	7,92	5,43	9,54
MG13287 (D)	5,50	7,95	5,66	9,66
MG13282 (D)	5,59	5,95	4,12	10,47
MG13264 (D)	5,45	8,22	4,99	10,61
MG20203 (D)	7,47	8,65	6,73	11,14
MG20194 (D)	6,61	7,41	5,04	9,80
MG20172 (D)	7,58	9,13	5,61	9,54
MG13267 (D)	5,18	8,43	4,07	10,19
MG13274 (D)	4,79	8,17	4,79	9,24
MG13278 (D)	6,28	6,69	5,63	9,30
MG13263 (E)	4,73	7,66	4,17	9,64
MG13271 (E)	4,92	7,81	5,09	8,83
MG13265 (E)	7,81	4,67	2,91	8,83
MG20192 (E)	7,30	8,88	3,63	9,92
MG20199 (E)	6,42	7,62	4,92	9,29
MG10233 (E)	6,24	7,11	5,56	9,91
MG13287 (E)	5,31	8,67	6,34	9,38
MG13282 (E)	5,49	6,95	4,17	9,55
MG13264 (E)	5,99	7,22	4,16	9,91
MG20203 (E)	6,42	8,17	6,66	11,19
MG20194 (E)	5,59	7,93	3,93	8,99
MG20172 (E)	4,98	9,08	5,05	9,73
MG13267 (E)	5,75	7,53	5,21	9,87
MG13274 (E)	5,48	8,72	5,18	8,76
MG13278 (E)	5,11	7,05	5,00	9,38

Média	6,09	7,74	4,92	9,69
Erro Padrão	0,20	0,24	0,21	0,14

TABELA 5. PARÂMETROS DOS CRÂNIOS DO MPEG

Identificação	Tamanho do Crânio	Tamanho da Bula Timpânica	Tamanho Relativo da Bula Timpânica	Volume Estimado da Bula Timpânica
MG13263	655,24	289,12	321,11	81,93
MG13271	829,66	799,55	361,65	92,28
MG13265	1.442,19	549,22	330,49	47,26
MG20192	1.790,66	416,44	1.091,95	99,18
MG20199	1.015,37	789,68	462,40	94,23
MG10233	1.559,56	552,70	656,71	105,14
MG13287	754,08	798,75	458,97	124,27
MG13282	805,96	641,86	300,24	70,06
MG13264	889,50	440,82	453,94	94,87
MG20203	1.474,57	579,84	768,52	164,58
MG20194	1.004,31	553,73	470,03	84,61
MG20172	1.091,40	555,16	702,18	122,41
MG13267	776,42	657,41	452,64	97,23
MG13274	691,29	611,48	398,22	99,19
MG13278	861,49	638,71	332,02	89,28
Média	1.042,78	591,63	504,07	97,77
Erro Padrão	91,62	36,90	55,82	6,80

TABELA 6. MEDIDAS DO MEATO ACÚSTICO

Identificação	Eixo Longitudinal (mm)	Eixo Transversal (mm)	Área (mm ²)
A7D	4,38	3,30	11,34
A7E	3,71	2,67	7,77
A4D	4,72	3,61	13,40
A4E	4,13	3,42	11,08
A5D	6,86	5,34	28,74
A5E	6,52	4,97	25,43
A6D	4,68	4,65	17,08
A6E	3,14	2,58	6,35
A8D	4,86	3,98	15,17
A8E	4,29	3,42	11,52
A13D	6,27	4,70	23,12
A13E	6,61	5,24	27,24
Média	5,01	3,99	16,52
Erro Padrão	0,36	0,28	2,24

TABELA 7. MEDIDAS DA MEMBRANA TIMPÂNICA

Identificação	Eixo Longitudinal (mm)	Eixo Transversal (mm)	Área (mm ²)
A7D	5,66	5,22	23,21
A7E	5,41	4,98	21,14
A4D	6,41	6,24	31,42
A4E	6,25	5,46	26,83
A5D	6,43	5,36	27,07
A5E	6,18	5,54	26,89
A6D	5,37	4,68	19,74
A6E	5,07	4,87	19,38
A8D	6,62	5,76	29,99
A8E	6,53	6,06	31,08
A13D	6,13	6,01	28,92
A13E	6,41	5,77	29,03
Média	6,04	5,50	26,22
Erro Padrão	0,15	0,14	1,25

TABELA 8. MASSA DOS OSSÍCULOS DE BRADYPUS VARIEGATUS

Identificação	Martelo (mg)	Bigorna (mg)	Estribo (mg)
A3D	7,60	3,40	1,60
A3E	8,90	3,80	1,50
A2D	8,60	3,0	1,90
A2E	8,40	4,1	1,60
A9E	8,80	3,6	1,40
Média	8,46	3,58	0,18
Erro Padrão	0,23	0,19	0,08

TABELA 9. MEDIDAS DOS OSSÍCULOS DE BRADYPUS VARIEGATUS

Identificação	Martelo (mm)	Bigorna (mm)	Estribo Eixo L (mm)	Estribo Eixo T (mm)	Estribo Área da Base (mm ²)
A2D	5,69	2,05	-	0,80	1,14
A3D	6,01	1,65	1,82	1,11	1,43
A3E	-	2,13	1,63	0,97	1,24
A7E	6,09	1,71	1,63	0,96	1,03
A4D	6,18	1,81	1,38	-	-
A6D	5,86	1,82	-	1,13	1,61
A4E	-	2,08	1,80	-	-
A8D	6,20	2,44	-	-	-
A13E	6,05	2,22	-	0,87	1,25
A13D	5,37	2,57	1,83	-	-
A5D	-	1,95	1,27	1,07	1,07
A7D	5,58	1,99	1,45	1,06	1,2
A6E	5,08	1,91	-	-	-
A8E	6,69	2,62	-	-	-
A5E	4,73	1,63	-	-	-
A2E	6,05	-	-	-	-
A1D	-	-	1,70	0,99	1,32
A10E	-	-	1,82	1,21	1,72
Média	5,81	2,04	1,64	0,99	1,28
Erro Padrão	0,14	0,08	0,06	0,14	0,07

APÊNDICE B – COMPARAÇÃO DOS DADOS MORFOMÉTRICOS DE BRADYPUS VARIEGATUS COM OUTROS GRUPOS DE MAMÍFEROS

QUADRO 1: MEDIDAS DO OUVIDO MÉDIO DE MAMÍFEROS

Ordem , Família, Espécie	AMT (mm ²)	AJO (mm ²)	EIXOS DA BASE DO ESTRIBO (mm/mm)	Martelo (mm)	Bigorna (mm)	Martelo (M) (mg)	Bigorna (B) (mg)	Estribo (mg)	M+B (mg)
PRIMATAS									
Macaco esquilo	25	0,75	1,40/0,68	3,28	2,52	2,33	3,63	0,18	5,97
Macaco coruja	26	0,62	1,32/0,60	3,2	2,56	2,37	3,71	0,26	6,08
Macaco azul	37,2	1,11	1,76/0,80	4	2,72	5,34	5,394	0,41	10,7
Babuíno Amarelo	45	1,22	1,76/0,88	4,64	3,11	8,08	6,79	0,71	14,9
Chipanzé	91,5	6,03	4,00/1,92	5,8	3,92	22,35	20,79	2,16	43,1
Humano	68,3	2,98	2,99/1,27	6,24	4,46	28,45	33,59	2,53	62
Lagomorpha									
Coelho	28,2	1,34	1,52/1,12	5	2,08	2,81	2,1	0,39	4,92
RODENTIA									
Rato de laboratório	10,1	0,36	0,88/0,52	3	1,04	0,97	0,48	0,08	1,46
Camundongo feroz de casa	4,22	0,15	0,55/0,35	2	0,52	1,09	0,53	0,1	0,29
Camundongo de laboratório	3,62	0,14	0,54/0,34	2	0,56	0,28	0,1	0,02	0,38
Porquinho -da- Índia	23,9	0,81	1,52/0,68	3,2	1,6	3,13	1,76	0,34	4,9
CARNÍVORA									
Lobo	86,1	2,47	2,28/1,38	9,35	3,05	26,23	12,89	1,21	39,1
Cachorro	63,3	1,96	2,08/1,20	8,16	2,56	18,64	9,3	0,99	28
Doninha do Leste	9,5	0,42	1,12/0,48	2,6	1,12	0,7	0,55	0,09	1,26
Gato	41	1,46	1,72/1,08	7,45	2,16	10,16	4,36	0,55	14,5
Leão	109	3,76	2,72/1,76	11	4,95	44,35	32,67	1,75	77
PROBOSCIDEA									
Elefantes indianos	454	13,6	5,04/3,44	16,3	8,5	335,1	285,2	27,23	620
PERISSODACTYLA									
Cavalo	57,3	3,43	2,99/1,46	9,55	3,69	35,8	32,54	5,25	68,3
ARTIODACTYLA									
Porco	62,1	1,81	1,80/1,28	6,08	1,84	9,43	5,17	1,22	14,6
Boi	51,1	2,66	2,42/1,40	8,97	3,31	22,09	26,03	2,34	48,1
Carneiro	44,2	1,59	1,88/1,08	6,8	2,08	7,38	5,57	0,91	13
Preguiça - bentinho	26,22	1,30	1,63/1,02	5,81	2,04	8,46	3,58	1,28	12,04

Fonte: NUMMELA, 1995.

ANEXO A – Autorização do IBAMA para a coleta dos Animais



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 19297-1	Data da Emissão: 04/03/2009 15:13	Data de Validade: 04/03/2010
-----------------	-----------------------------------	------------------------------

Dados do titular

Registro no Ibama: 1978390	Nome: Pêssi Socorro Lima de Sousa	CPF: 619.769.202-30
Título do Projeto: Análise Morfométrica do Ouvido Médio da Preguiça (<i>Bradypus</i> sp.)		
Nome da Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ		CNPJ: 34.621.748/0001-23

Observações, ressalvas e condicionantes

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passa da, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização não exime o titular e a sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade.
3	Esta autorização não poderá ser utilizada para fins comerciais, industriais, esportivos ou para realização de atividades inerentes ao processo de licenciamento ambiental de empreendimentos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES). Em caso de material consignado, consulte www.ibama.gov.br/sisbio - menu Exportação.
5	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospeção e desenvolvimento tecnológico.
7	Em caso de pesquisa em Unidade de Conservação Federal, o pesquisador titular deverá contactar a administração dessa unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.
8	As atividades contempladas nesta autorização NAO abrangem espécies brasileiras constante de listas oficiais (de abrangência nacional, estadual ou municipal) de espécies ameaçadas de extinção, sobreexplotadas ou ameaçadas de sobreexplotação.

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	BELEM	PA	Universidade Federal do Pará	Fora de UC

Atividades X Táxons

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

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ	Laboratório de Neuroproteção e Neuroregeneração Experimental

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa Ibama nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Ibama/Sisbio na internet (www.ibama.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 26238887



Página 1/2



Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 19297-1	Data da Emissão: 04/03/2009 15:13	Data de Validade: 04/03/2010
Dados do titular		
Registro no Ibama: 1978390	Nome: Péssi Socorro Lima de Sousa	CPF: 619.769.202-30
Título do Projeto: Análise Morfométrica do Ouvido Médio da Preguiça (<i>Bradypus</i> sp.)		
Nome da Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ		CNPJ: 34.621.748/0001-23

Anexo para registrar Coletas Imprevistas de Material Biológico

De acordo com a Instrução Normativa Ibama nº154/2007, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

Nível	Táxon*	Qtde.	Amostra	Qtde.	Data

* Identificar o espécime no nível taxonômico mais específico possível.

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa Ibama nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Ibama/Sisbio na internet (www.ibama.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 26238887



Anexo B – Autorização do IBAMA para transporte



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

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 19297-2	Data da Emissão: 12/02/2010 14:29
Dados do titular	
Nome: Pêssi Socorro Lima de Sousa	CPF: 619.769.202-30
Título do Projeto: Análise Morfométrica do Ouvido Médio da Preguiça (<i>Bradypus</i> sp.)	
Nome da Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ	CNPJ: 34.621.748/0001-23

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Coleta e processamento do material	03/2009	12/2009
2	Coleta e envio do material para análises complementares - ressonância e tomografia	03/2009	03/2010

De acordo com o art. 33 da IN 154/2009, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto.

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passa da, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização não exime o titular e a sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade.
3	Esta autorização não poderá ser utilizada para fins comerciais, industriais, esportivos ou para realização de atividades inerentes ao processo de licenciamento ambiental de empreendimentos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES). Em caso de material consignado, consulte www.icmbio.gov.br/sisbio - menu Exportação.
5	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospeção e desenvolvimento tecnológico.
7	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.
8	As atividades contempladas nesta autorização NÃO abrangem espécies brasileiras constante de listas oficiais (de abrangência nacional, estadual ou municipal) de espécies ameaçadas de extinção, sobreexploradas ou ameaçadas de sobreexploração.

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	ANTONIO PEREIRA JUNIOR	Professor Orientador	257.153.302-97	2497197 SSP/PA-PA	Brasileira

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	BELEM	PA	Universidade Federal do Pará	Fora de UC
2	NATAL	RN	IINN - ELS	Fora de UC

Atividades X Táxons

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

Material e métodos

1	Amostras biológicas (Outros mamíferos)	Animal morto ou partes (carcaça/osso/pele)
---	--	--

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 77261788



Página 1/3



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

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 19297-2	Data da Emissão: 12/02/2010 14:29
-----------------	-----------------------------------

Dados do titular

Nome: Pêssi Socorro Lima de Sousa	CPF: 619.769.202-30
Título do Projeto: Análise Morfométrica do Ouvido Médio da Preguiça (Bradypus sp.)	
Nome da Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ	CNPJ: 34.621.748/0001-23

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	UFRN - UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO G. NORTE	IINN - ELS
2	UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ	Laboratório de Neuroproteçãoe Neuroregeneração Experimental

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 77261788



Página 2/3



Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 19297-2		Data da Emissão: 12/02/2010 14:29	
Dados do titular			
Nome: Pêssi Socorro Lima de Sousa		CPF: 619.769.202-30	
Título do Projeto: Análise Morfométrica do Ouvido Médio da Preguiça (Bradypus sp.)			
Nome da Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ		CNPJ: 34.621.748/0001-23	

Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº154/2007, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

Táxon*	Qtde.	Tipo de amostra	Qtde.	Data

* Identificar o espécime no nível taxonômico possível.

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 77261788



ANEXO C – Autorização Emitida pelo Comitê de Ética



comitê de ética em pesquisa
com animais de experimentação



PARECER BIO002-10

Projeto: Análise Morfométrica do Ouvido Médio da Preguiça (*Bradypus variegatus*)

Coordenador: Prof. Dr. Antonio Pereira Jr.

Área Temática: Biologia

Vigência: 04/2008 a 04/2010

Nº no CEPAE-UFPA: BIO002-10

O projeto acima identificado foi avaliado pelo Comitê de Ética Em Pesquisa Com Animais de Experimentação da Universidade Federal do Pará (CEPAE). O tema eleito para a investigação e de alto teor científico justificando a utilização do modelo animal proposto. Os procedimentos experimentais utilizados seguem as normas locais e internacionais para tratamento e manipulação de animais de experimentação. Portanto, o CEPAE, através de seu presidente, no uso das atribuições delegadas pela portaria Nº 1568/2005 do Reitor da Universidade Federal do Pará, resolve **APROVAR** a utilização de animais de experimentação nas atividades do projeto em questão, no período de vigência estabelecido. As atividades experimentais fora do período de vigência devem receber nova autorização deste comitê.

Belém, 04 março de 2008

Presidente do Comitê de Ética Em Pesquisa
Com Animais de Experimentação da Universidade
Federal do Pará

ANEXO D – Apresentação de dados do presente trabalho em congresso



CERTIFICADO

Certificamos que

o trabalho 01.007 - ANÁLISE MORFOMÉTRICA DO SISTEMA AUDITIVO PERIFÉRICO DA PREGUIÇA (BRADYPUS VARIEGATUS) de autoria de Lima de Sousa¹, Franco, E. C. S. ¹, Cardoso, M. M. ¹, Pereira, A. ^{2,3,1} - ¹ Laboratório de Neuroproteção e Neuroregeneração da UFPA, UFPA² Universidade Federal do Rio Grande do Norte, UFRN³ Instituto Internacional de Neurociências de Natal, IINN- ELS foi apresentado sob a forma de painel na

V Reunião Regional da Federação de Sociedades de Biologia Experimental - FeSBE, realizada no Hotel Parque dos Coqueiros Aracaju - SE, de 27 a 29 de maio de 2010.

Comissão Organizadora

Agradecimentos:

