

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária

Programa de Pós-Graduação em Saúde Animal

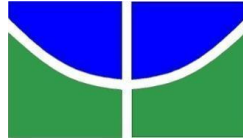
MORFOMETRIA GEOMÉTRICA TRIDIMENSIONAL DE CRÂNIOS DE
Panthera onca

PATRÍCIA TORRES ROCHA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
EM SAÚDE ANIMAL

PUBLICAÇÃO:

BRASÍLIA/DF
JUNHO DE 2024



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária

Programa de Pós-Graduação em Saúde Animal

MORFOMETRIA GEOMÉTRICA TRIDIMENSIONAL DE CRÂNIOS DE
Panthera onca

PATRÍCIA TORRES ROCHA

ORIENTADOR: FABIANO JOSÉ FERREIRA DE SANT'ANA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM SAÚDE ANIMAL

PUBLICAÇÃO:

BRASÍLIA/DF

JUNHO/2024

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

MORFOMETRIA GEOMÉTRICA TRIDIMENSIONAL DE CRÂNIOS DE
Panthera onca

PATRÍCIA TORRES ROCHA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
SUBMETIDA AO PROGRAMA DE
PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE
ANIMAL, COMO PARTE DOS
REQUISITOS NECESSÁRIOS À
OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE
EM PATOLOGIA ANIMAL.

APROVADA POR:

FABIANO JOSÉ FERREIRA DE SANT'ANA, Doutor (Universidade de Brasília)
(ORIENTADOR)

MARCELO ISMAR SILVA SANTANA, Doutor (Universidade de Brasília)
(EXAMINADOR INTERNO)

NAIDA CRISTINA BORGES, Doutora (Universidade Federal de Goiás)
(EXAMINADORA EXTERNA)

BRASÍLIA, 21 JUNHO DE 2024

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA E CATALOGAÇÃO

ROCHA, P.T. **Morfometria geométrica tridimensional de crânios de *Panthera onca***. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2024, 56p. Dissertação de Mestrado.

Documento formal autorizando a reprodução desta dissertação de Mestrado para empréstimo ou comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos, foi passado pelo autor à Universidade de Brasília e encontra-se arquivado na Secretaria do Programa. O autor reserva para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

*Para Lola, minha companheira de quatro patas
pelos dias perdidos longe de você
que eu nunca poderei recuperar.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha psicanalista que me ajudou a me desconhecer e me reconhecer entre tantas coisas que eu fui durante esse mestrado. Ana, obrigada pela sua escuta.

Agradeço as minhas irmãs Poli e Jess e aos meus pais Dona Sueli e Seu Cacau pelo apoio que me deram diante das minhas escolhas, ainda que equivocadas.

Agradeço a Prof. Ludmilla que abriu as portas da UnB para mim, antes mesmo de ser mestranda e pelas amizades que eu encontrei pelo caminho, graças a ela.

Agradeço as minhas parceiras de laboratório Kellen e Ivaloo, pelas conversas, pela ajuda, e principalmente por me darem uma direção dentro do INC. Rsr

Agradeço ao “Oi Bruno, sou eu aqui de novo”. Obrigada pela paciência e por me ajudar com o uso do tomógrafo.

Agradeço a Carlinha, que me deu suporte quando eu não estava mais entendendo o que eu estava fazendo. Sua ajuda foi essencial para eu não desistir.

Agradeço ao Pedro, que me ensinou e me ajudou a fazer as análises morfométricas, sem ele esse estudo não teria sido possível.

Agradeço ao Sévio por ter me colocado nessa confusão chamada mestrado. E por abrir caminhos para o desenvolvimento da Medicina Veterinária Legal.

Agradeço ao meu orientador Fabiano, por ter me aceito como sua orientada e por seu tempo investido no desenvolvimento desse estudo.

Ao professor Marcelo, que me deu uma esperança quando meu tempo para concluir o mestrado estava se esgotando.

Agradeço ao Instituto Nacional de Criminalística da Polícia Federal que abriu as portas e permitiu que este estudo fosse realizado, e a todas as pessoas que estiveram direta e indiretamente envolvidas com a realização de alguns exames dentro do INC; vocês foram essenciais para esse estudo, sem vocês a proposta nunca teria saído do papel. Obrigada pela experiência que me permitiu me autorizar como médica veterinária.

Agradeço a CAPES pela bolsa concedida durante os 24 meses de mestrado.

Agradeço ao IOP que forneceu os crânios para a realização desse e de outros estudos.

Agradeço ao ICMBio pela licença concedida para trabalhar com a espécie em questão.

Por fim, peço desculpas a quem eu perdi no meio desse caminho.

Por nossa posição de sujeito, sempre somos responsáveis.

Jacques Lacan

RESUMO

O combate às práticas de crimes contra a fauna e o meio ambiente tem alcançado cada dia um maior destaque no Brasil e no mundo. A caça e o tráfico ilegal de animais selvagens estão entre as principais ameaças à biodiversidade, e suas consequências estão para além do comércio das espécies envolvidas no crime. Os animais selvagens, destacando os felídeos, tem recebido notável atenção nos últimos anos em função da demanda de produtos como pele, ossos, dentes e garras, visando o comércio internacional, que está diretamente ligado ao mercado asiático tendo em vista à medicina tradicional chinesa e artigos de decoração, acessórios e joias. Dada certa limitação do uso de algumas tecnologias no meio forense principalmente aqueles relacionados a identificação de espécie e determinação do perfil biológico, o presente estudo teve como objetivo buscar parâmetros para determinação do sexo a partir de crânio de *Panthera onca* por meio da morfometria geométrica tridimensional com uso de tomografia computadorizada, buscando fornecer diretrizes aos profissionais para a realização de exames periciais de forma rápida e precisa com base em evidências científicas.

Palavras-chave: *anatomia veterinária, zoomorfologia forense, morfologia, identificação animal, tráfico de animais.*

ABSTRACT

The fight against crimes against wildlife and the environment has become increasingly prominent in Brazil and around the world. Illegal hunting and trafficking in wild animals are among the main threats to biodiversity, and their consequences go beyond the trade of species involved in the crime. Wild animals, especially felids, have received notable attention in recent years due to the demand for products such as skin, bones, teeth and claws, aimed at international trade, which is directly linked to the Asian market in view of traditional Chinese medicine and decorative items, accessories and jewelry. Given a certain limitation in the use of some technologies in the forensic field, especially those related to species identification and determination of the biological profile, the present study aimed to seek parameters for determining sex from the skull of *Panthera onca* through three-dimensional geometric morphometry with use of computed tomography, seeking to provide guidelines for professionals to carry out expert examinations quickly and accurately based on scientific evidence.

Keywords: veterinary anatomy, forensic zoomorphology, morphology, animal identification, animal trafficking.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fotografia do crânio de <i>Panthera onca</i> adulta, representando os landmarks utilizados nas projeções lateral direito (A), dorsal (B) e ventral (C).....	40
Figura 2. Análise de componentes principais (PCA) com as variações encontrada nos marcos anatômicos da <i>Panthera onca</i> após a superimposição de procrustes.. ..	44
Figura 3. Wireframes com relação a média nos extremos do eixo PC1 e PC2 para a variação de forma em crânios de <i>Panthera onca</i> entre fêmeas e machos.....	44
Figura 4. Análise de regressão residual (Regresid) ajustado ao tamanho em crânios de <i>Panthera onca</i>	45
Figura 5. Gráfico de análise de função discriminante (DFA) realizada em crânios de <i>Panthera onca</i> para dimorfismo sexual. Função discriminante (A), validação cruzada (B).	46

LISTA DE TABELA

Tabela 1. Análise de componentes principais (PCA) relacionados ao dimorfismo sexual nas amostras de crânios de <i>Panthera onca</i>	43
---	----

LISTA DE ABREVIACOES

AFD: Análise de Funo Discriminante

CITES: Conventional on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora

CVA: Análise de Variáveis Cannica

DICOM: Digital Imaging and Communications in Medicine

DNA: Desoxiribonucleic acid

GPA: Análise de Procrustes Generalizado

INC-PF: Instituto Nacional de Criminalística da Polícia Federal

IOP: Instituto Onça-Pintada

IUCN: União Internacional para a Conservao da Natureza

MMA: Ministério do Meio Ambiente

P. concolor: *Puma concolor*

P. onca: *Panthera onca*

PCA: Análise de Componentes Principais

PCR: Polymerase Chain Reaction

RegResid: Análise de Resíduos de Regressão

SRY: Sex-Determining Region Y

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT	9
1. REFERENCIAL TEÓRICO	14
1.1. Crimes contra a fauna silvestre	14
1.2 A espécie estudada	16
1.3 Anatomia de felídeos	19
1.4 Medicina veterinária legal	20
1.5 Zoomorfologia forense	23
1.6 Morfometria geométrica tridimensional	24
1.7 Tomografia computadorizada na medicina veterinária legal	25
1.8 Identificação e sexagem genética	26
2. OBJETIVOS	28
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29
4. INFORMAÇÕES ADICIONAIS	32
5. ARTIGO CIENTÍFICO	33

1. REFERENCIAL TEÓRICO

1.1. Crimes contra a fauna silvestre

Os animais frequentemente sofrem declínio por ações diretas ou indiretas do homem nos mais diversos contextos. O desmatamento, juntamente com a expansão da agropecuária, o conflito entre espécies carnívoras predadoras, a caça furtiva, o tráfico ilegal de animais e suas partes são alguns dos exemplos de como a fauna vem sendo ameaçada e reduzida drasticamente ao longo dos anos (MORCATTY et al., 2020).

Somando-se a isso, tem-se ainda conflitos entre tais espécies sendo mal administrados, sistemas jurídicos desatualizados e pouco preocupados com a situação, corrupção nos mais diversos níveis, recursos escassos para constatação do crime, capacitação e treinamento especializado e processos legais ineficientes que dificultam a capacidade de controlar e mitigar o tráfico ilegal de fauna (POLISAR et al., 2023).

A caça furtiva e o tráfico ilegal de animais silvestres, alimentados por uma demanda global e mutável, configuram-se como os principais crimes contra a fauna silvestre, se espalha pelo mundo, causando danos imensuráveis à biodiversidade. Essa atividade criminosa é impulsionada por redes complexas, que podem envolver caçadores profissionais, intermediários, grandes traficantes e consumidores que alimentam essa modalidade de crime em diversos países (NISHANT et al., 2017).

Desde o primórdio da humanidade, a caça é uma das formas mais antigas de interação do homem com os animais. Fornecia alimento, vestimenta, terapêutica, fins mágico-religiosos e confecções de artefatos, dentre outras utilidades que foram moldando a organização social e cultural dos grupos humanos. Apesar de ilegal, a caça é praticada indiscriminadamente, tendo atualmente seus efeitos intensificados pela fragmentação do habitat. Mesmo a caça de subsistência, quando praticada de forma insustentável, pode

resultar à exploração excessiva da fauna, causando declínio populacional, e riscos para a saúde pública pelo contato direto (NISHANT et al., 2017).

No Brasil, a lei 9.605 de 1998 que dispõe sobre as sanções penais e administrativas derivadas de condutas lesivas ao meio ambiente traz consigo um rol de crimes praticados contra a fauna. Em seu artigo 29, proíbe-se a caça, a perseguição, a apanha, e a utilização de espécimes da fauna silvestre, nativos ou em rota migratória, sem a devida licença ou autorização, ou mesmo em desacordo com a obtida, tendo como pena a detenção de seis meses a um ano, e multa (BRASIL, 1998). Todavia, não existe definição sobre o crime de tráfico ilegal de animais no Brasil, no entanto, implicitamente dentro dessa mesma lei pode-se entender que esteja praticando crime de tráfico ilegal aquele que vende, expõe à venda, exporta ou adquire, guarda, tem em cativeiro ou depósito, utiliza ou transporta ovos, larvas ou espécimes da fauna silvestre, nativa ou em rota migratória, bem como produtos e objetos dela oriundos, provenientes de criadouros não autorizados ou sem a devida permissão, licença ou autorização da autoridade competente, incorrendo nas mesmas penas previstas no artigo 29.

Sendo imperativo saber que a imposição da pena prevista dependerá também da espécie envolvida. Podendo o juiz deixar de aplicar a pena, aumentá-la ou diminuí-la, conforme a categoria em que o animal, seus produtos e subprodutos se encontram em documentos nacionais e internacionais de proteção (BRASIL, 1998).

§ 2º No caso de guarda doméstica de espécie silvestre não considerada ameaçada de extinção, pode o juiz, considerando as circunstâncias, deixar de aplicar a pena.

§ 4º A pena é aumentada de metade, se o crime é praticado:

I - contra espécie rara ou considerada ameaçada de extinção, ainda que somente no local da infração;

A realidade dos crimes contra o meio ambiente e a fauna brasileira se torna cada vez mais evidente, observa-se aumento crescente do número de casos relacionados a identificação de esqueletos inteiros ou parciais, ossos, dentes e outros tecidos de animais

silvestres que frequentemente estão relacionado a crimes contra a fauna e meio ambiente e requerem exames periciais para o levantamento de informações acerca da identificação de espécie, perfil biológico, causa e circunstâncias da morte, número de indivíduos, dentre outras informações relevantes que são solicitadas pelas autoridades competentes (REIS, 2020).

1.2 A espécie estudada

Os felídeos compreendem um grupo de mamíferos que engloba uma diversidade de espécies selvagens e domésticas com tamanhos e padrões variáveis de pelagem. Os animais são estritamente carnívoros com hábito de caça, sendo suas presas naturais animais silvestres de médio a grande porte, como catetos, queixadas, veados e capivaras, no entanto podem se alimentar de animais domésticos (ADANIA et al., 2014).

A onça-pintada (*P. onca*) é uma espécie nativa do território brasileiro, considerada o maior felídeo das Américas, podendo chegar a pesar até 158 kg. Ocupa uma variedade de habitats, que vão desde florestas tropicais se estendendo até as áreas alagadas sazonalmente como o pantanal mato-grossense (DANTAS et al., 2022). Sua pelagem pode variar de amarelo-dourada, castanho-ocre, amarelo-acastanhado que formam manchas pretas, chamadas de rosetas que tem seu interior preenchido com um ou mais pontos que podem ser usados como forma de identificação taxonômica em contraste a outros felídeos. Frequentemente podem apresentar melanismo e adquirir cor mais escura, bem como albinismo, herdados por genes dominantes e recessivos. Os filhotes apresentam estrias longitudinais branco-amareladas (ADANIA et al., 2014).

Os indivíduos que habitam áreas mais fechadas e densas como a região amazônica, apresentam pelagem mais escura e tamanhos menores comparados a aqueles que habitam áreas mais abertas como Pantanal e Cerrado. Essa diferença em tamanho

pode ser dada pelas presas disponíveis e hábitos de caça. Em vida livre podem chegar a viver por cerca de 20 anos, tendo a sua expectativa de vida aumentada quando em cativeiro, entretanto com baixo desempenho reprodutivo (ADANIA et al., 2014).

P. onca pode ser encontrada por todo o continente americano, podendo ser dividida em algumas subespécies, dentre elas, a *P. onca hernandesii*, encontrada no oeste do México, *P. onca veraecrucis* distribuído no leste e sudeste do México, de Tabasco até o extremo norte do Texas central, *P. onca goldmani* encontrada ao sul para o norte da Guatemala e Belize, na península de Yucatán. Já *P. onca centralis* está distribuída na América Central, desde El Salvador ao sul, passando por Costa Rica, Panamá e Colômbia; enquanto que *P. onca peruviana*, é encontrada nas regiões costeiras do Peru, e *P. onca paraguensis*, que é encontrada no Brasil, desde Mato Grosso e Vale do Rio Paraná, até o nordeste da Argentina e Paraguai e a *P. onca onca*, que está distribuída desde o norte das Guianas, Venezuela e Brasil (LARSON, 1997), com exceção dos Pampas, e principalmente na Amazônia (MORATO et al., 2013).

As fêmeas atingem a maturidade sexual entre 2-3 anos de idade, enquanto os machos entre 3-4 anos, havendo relatos de que algumas fêmeas podem iniciar esse período mais precocemente. A gestação dura em média de 90 a 111 dias, e a ninhada pode variar entre um a quatro filhotes (MORATO et al., 2013), que permanecem com a mãe por cerca de dois anos (ADANIA et al., 2014).

Por se tratar de animal de topo de cadeia alimentar e necessitar de grandes áreas para sobreviver, sua presença se torna um grande e valioso indicador da qualidade ambiental. Atualmente, a *P. onca* encontram-se na Red List (IUCN) sob o status de quase ameaçado (NT- *near threatened*), com tendência de declínio da população (IUCN, 2020). Encontra-se também listado como vulnerável na categoria de extinção na Lista Oficial do Ministério do Meio Ambiente - MMA (BRASIL, 2014) e dentro do apêndice I da

Conventional on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora (CITES) (CITES, 2022).

Dos diversos motivos que levam essa espécie a declinar, uma das mais atuais ameaças percebidas está no comércio de suas partes, produtos e subprodutos, trazendo impactos potenciais para a sobrevivência da espécie. Este tipo de comércio se assemelha aos dos tigres e outros felídeos da Ásia, motivados por demandas de dentes e garras para confecções de joias e troféus, ossos e pó de ossos para remédios, carne para pratos de luxo e peles para decoração, dentre outros possíveis usos (POLISAR et al., 2023).

Recentemente estudos chamaram a atenção para o aumento na procura de grandes felinos nas Américas do Sul e Central, principalmente o comércio de onças-pintadas (*P. onca*), onças-pardas (*Puma concolor*) e jaguatiricas (*Leopardus pardalis*), tendo para essas duas últimas um comércio significativamente menor, comparado a *P. onca*. O relatório envolve o comércio de cerca de 1.038 felídeos, dentre eles 857 eram de *P. onca*. O autor descreve que para essas três espécies o Brasil teve o maior número de notificações, seguido pela Bolívia, Colômbia, Peru e Suriname, entre o período de 2012 a 2018, sendo que ao reunir todos os países observou-se que o número de onças-pintadas apreendidas aumentou cerca de 200 vezes nesse período, tornando-se uma enorme preocupação para esses países (MORCATTY et al., 2020).

Estudo demonstrou que, de acordo com os relatórios de comércio online ilegal de partes de felídeos, o México estava ligado ao maior número de casos envolvendo tráfico de dentes do que a China, Bolívia e o Brasil. O mesmo estudo aponta que o Brasil se posiciona em segundo lugar quanto ao comércio online de partes de onças-pintadas (POLISAR et al., 2023). Esses autores demonstram ainda que, no comércio online de partes de felídeos, os dentes correspondem a 76% do comércio de onças-pintadas, seguidos por pele e pedaços de pele, cabeça e corpos, sendo destacado que o Brasil

corresponde a 12,7% do comércio de dentes de onça-pintada se posicionando em quarto lugar, enquanto ao comércio de peles ele ocupa a primeira posição com 33,3%.

É importante ressaltar que o estudo não reflete apreensões globais de produtos de fauna comercializados ilegalmente, sustentando que esse comércio tenha um escopo geográfico ainda maior. Além disso, em muitos países os dados oficiais de caça furtiva e comércio baseados em interceptações e apreensões têm sido relativamente escassos, possivelmente por subdetecções ou subnotificações, fazendo com que não se possa dizer com precisão a magnitude deste comércio ilegal (POLISAR et al., 2023).

1.3 Anatomia de felídeos

A osteologia é a ciência que estuda os ossos, uma das principais partes que compõe do esqueleto dos animais vertebrados. Os ossos são órgãos compostos por tecido ósseo, revestido interna por endóstio e externamente por perióstio, medula óssea, além de vasos sanguíneos e nervos. O formato do osso em cada espécie é em grande parte determinado geneticamente, podendo apresentar uma gama de variedades em forma, tamanho e resistência, tanto na espécie como no indivíduo. Além da genética, os ossos podem sofrer influências estáticas e dinâmicas alterando sua estrutura em qualquer fase do ciclo de vida do animal digestivo (KÖNIG E LIEBICH, 2016).

O esqueleto axial é composto pelo esqueleto da cabeça, coluna vertebral e esqueleto do tórax. O esqueleto da cabeça inclui o crânio, neurocrânio, viscerocrânio, mandíbula e aparelho hióideo. O crânio é uma estrutura rígida composta por diversos ossos ligados por suturas, tendo como função a proteção do encéfalo e dos órgãos sensoriais, além de alojar órgãos do trato respiratório e digestivo (KÖNIG E LIEBICH, 2016).

A coluna vertebral é composta por vertebrae, cuja quantidade e o formato variam conforme a espécie. Sua principal função está relacionada com o sistema locomotor, ligando os membros pélvicos e os torácicos, dando suporte e sustentação ao corpo. A cauda, continuação da coluna vertebral nos grandes felídeos é uma estrutura multifuncional que contribui significativamente para sua sobrevivência e sucesso como predadores, fornecendo estabilidade durante a caça, facilitando a comunicação entre indivíduos e ajudando na manutenção do equilíbrio (SANTOS, 2022).

A Mandíbula é dividida em duas metades que se desenvolvem a partir da mesoderme craniana do primeiro arco branquial e se articulam no ângulo mental formando rostralmente a sincondrose mandibular média. Essa estrutura é dividida em corpo e ramo da mandíbula, e a união entre elas variam conforme a espécie, podendo ocorrer durante o primeiro ano após o nascimento em suínos e equinos, permanecer bipartida em carnívoros ou ruminantes ou ocorrer mais tardiamente em outras espécies de animais (KÖNIG E LIEBICH, 2016).

O osso hióide encontra-se entre os ramos da mandíbula na base da língua atuando como um mecanismo de suspensão para a língua e laringe. Essa estrutura desempenha um papel crucial na anatomia e nas funções fisiológicas dos felídeos. Em animais do gênero *Panthera* o hioide apresenta uma ossificação incompleta tornando mais flexível devido à presença de cartilagem, permitindo assim a emissão de rugidos e esturros, em contraste com felinos domésticos ou mesmo de felídeos como o *Puma concolor*, onde o hioide é mais ossificado e rígido, o que limitando suas vocalizações (SANTOS, 2022).

1.4 Medicina veterinária legal

A medicina veterinária legal é uma especialidade veterinária que utiliza os conhecimentos técnico-científicos para esclarecimento de fatos do interesse da justiça,

exercendo um papel de grande importância dentro dos interesses individuais e coletivos da sociedade. De outra forma, trata-se de conhecimentos destinados a servir ao Direito, auxiliando na execução dos dispositivos legais no seu campo de ação dentro da medicina veterinária aplicada (REIS et al., 2022).

Define-se perícias médico-veterinárias como um conjunto de procedimentos e técnicas que objetivam o esclarecimento de fatos que interessem à justiça, e são capazes de interferir na decisão de uma sentença. Sua finalidade está em produzir provas acerca do fato, contribuindo para que o juiz possa formar a sua convicção acerca da materialidade do crime (CASTILHO, 2017). Podem ser realizadas em animais vivos, mortos, esqueletos completos ou parciais, produtos e subprodutos da fauna, sendo a natureza de cada perícia diferente de acordo com o crime praticado, dos quais normalmente podem estar envolvidos o abuso, a crueldade, os maus-tratos a animais, tráfico ilegal, caça, dentre outros (REIS et al.,2022).

Seja qual for o crime praticado, as perícias médico-veterinárias são atividades privativas dos profissionais dessa área. A partir da Lei nº 5.157/1968, que dispõe sobre o exercício da profissão de médico veterinário e cria os Conselhos Federal e Regionais de Medicina Veterinária, fica estabelecido que:

Art 5º. É da competência privativa do médico veterinário:

- g) a peritagem sobre animais, identificação, defeitos, vícios, doenças, acidentes, e exames técnicos em questões judiciais.
- h) as perícias, os exames e as pesquisas reveladores de fraudes ou operação dolosa nos animais inscritos nas competições desportivas ou nas exposições pecuárias.

Além disso, se estabelecem ainda competências comuns com outros profissionais estando relacionados às perícias de outros tipos.

Art 6º Constitui, ainda, competência do médico-veterinário.

- c) a avaliação e peritagem relativas aos animais para fins administrativos de crédito e de seguro.
- g) os exames periciais tecnológicos e sanitários dos subprodutos da indústria animal.

O código de ética estabelece ainda critérios para a atuação do médico-veterinário com relação a justiça em seu Capítulo XII, determinando que:

Art. 21. O médico veterinário na função de perito deve guardar segredo profissional, sendo-lhe vedado:

I - deixar de atuar com absoluta isenção, quando designado para servir como perito ou auditor, assim como ultrapassar os limites das suas atribuições;

II - ser perito de cliente, familiar ou de qualquer pessoa cujas relações influam em seu trabalho;

III - intervir, quando em função de auditor ou perito, nos atos profissionais de outro médico veterinário, ou fazer qualquer apreciação em presença do interessado, devendo restringir suas observações ao relatório.

Dentro das atividades periciais, os peritos médicos-veterinários podem estar sujeitos a exercer perícias na esfera penal, cível, administrativa ou trabalhista, podendo atuar como peritos criminais oficiais, *ad hoc*, judiciais, extrajudiciais, ou ainda exercendo a função de assistente técnico em defesa das partes contratantes (REIS et al., 2022).

A legislação que norteia a proteção ao meio ambiente é bem farta no que diz respeito à proteção animal. Prevendo não somente a responsabilização civil, como também criminal por danos ambientais, bem como controlar práticas empresariais, além de possuir também um aspecto preventivo. A Constituição Federal Brasileira possui dispositivos de tutela descritos no Artigo 225, que prevê, em seu parágrafo 1º, inciso VII, a proteção da fauna, vedadas na forma da lei todas as práticas que coloquem em risco a função ecológica e que levem à extinção de espécies, além de proteger de forma individual os animais contra a crueldade (BRASIL, 1988).

Se tratando de perícias ambientais que envolvam animais não humanos, a identificação de espécies é um dos principais e mais importantes exames a serem realizados por peritos veterinários (REIS, 2020). Para isso está previsto na legislação nacional que a perícia de constatação do dano ambiental, sempre que possível, deverá fixar o montante do prejuízo causado para efeitos de prestação de fiança e cálculo de multa. Isso se deve ao fato de que animais estão inseridos em uma hierarquia de valores nas categorias de risco de extinção, sendo a identificação obrigatória, visto que o cálculo

da pena é estimado a partir da identificação dessas espécies dentro dessas categorias, podendo o juiz aumentar, diminuir ou ainda deixar de aplicar a pena conforme a identificação dos animais (BRASIL, 1998).

1.5 Zoomorfologia forense

A identificação de espécies tem se tornado cada vez mais importante nas práticas forenses, visto que a grande parte de materiais apreendidos se referem à restos mortais, produtos e subprodutos da fauna selvagem, tornando a identificação zoológica um pré-requisito para fornecer o apoio às autoridades competentes em casos de investigação e de aplicação da lei para coibir a caça, o tráfico ilegal de fauna silvestre, e tantos outros crimes que possam envolver animais e suas partes (REIS, 2020).

A zoomorfologia forense foi definida por Reis (2020) como:

“O ramo da medicina veterinária legal e ciências biológicas que trata dos exames de restos mortais de animais com o objetivo de responder questões relacionadas ao perfil biológico, identificação de espécie e sexo, estimativa de porte e idade, traumatologia óssea, tafonomia e zooarqueologia forense, determinação do intervalo *post mortem*, pesquisa das características potencialmente individualizantes, bem como o esclarecimento das causas e circunstâncias da morte”.

De outra forma, a zoomorfologia forense é uma área especializada que utiliza o conhecimento da morfologia animal, traumatologia, zooarqueologia e tafonomia forense para auxiliar em questões criminais envolvendo restos mortais de animais, produtos e subprodutos de fauna. Essa área combina os princípios da zoomorfologia com as ciências forenses, fornecendo informações de grande valia para que seja possível esclarecer aspectos ligados à morte e a prática de crimes (REIS et al., 2020).

A identificação *post mortem* e o levantamento do perfil biológico de animais tem sido algo que vem se destacado frequentemente nos últimos anos, principalmente pela sua importância no âmbito criminal (REIS et al., 2024). Entretanto, profissionais se deparam frequentemente com dificuldades na conclusão do processos que surgem em

função da carência de estudos da morfologia óssea de espécies silvestres, no qual até certo ponto, se torna inviável ou impossível realizar exame de natureza pericial que tenha como objetivo a identificação ou estimativa de sexo, visto não haver dados suficientemente disponíveis para confronto inter ou intra espécies, sendo necessário muitas vezes recorrer a exames moleculares como a genética forense (BURNHAM-CURTIS, 2015).

Aspectos importantes da zoomorfologia forense, se não o mais importante deles, é a identificação de espécies de animais. Isso porque a identificação e individualização são especialmente relevantes em casos de caça ilegal, tráfico ilegal de animais e suas partes e outros crimes ambientais, visto que é somente a partir dessa determinação da espécie que será possível aplicar a pena e responsabilizar corretamente aquele que praticou o ilícito penal, além do mais, o levantamento do perfil biológico, incluindo sexo, idade e porte, pode ajudar a esclarecer a extensão do evento ocorrido e suas possíveis consequências para a conservação da espécie, bem como auxiliar na tomadas de decisões (REIS et al., 2020).

1.6 Morfometria geométrica tridimensional

A morfometria geométrica faz parte do conjunto de técnicas que tem sido utilizada em diversas áreas para analisar e comparar a forma de estruturas biológicas complexas e fornecer uma visão qualitativa e quantitativa da forma e tamanho permitindo investigar padrões, variações e mudanças evolutivas nas estruturas biológicas (FORNEL E CORDEIRO-ESTRELA, 2012). É definida como um conjunto de métodos de aquisição, processamento e análise de variáveis de forma que preserva toda a informação geométrica contida nos dados originais (SLICE, 2005).

Essa técnica tem por base o uso das coordenadas cartesianas geradas por meio de marcos anatômicos, ou *landmarks*, que são obtidos em imagens digitalizadas bi ou

tridimensionais, onde se retém o maior número de informações que serão ilustrados, descritos e calculados por softwares, preservando assim, toda a informação geométrica obtida pelas imagens (FORNEL E CORDEIRO-ESTRELA, 2012).

A morfometria geométrica captura a forma do organismo, além de permitir a reconstrução observada estatisticamente, na qual pode ser visualizada as diferenças médias (FORNEL E CORDEIRO-ESTRELA, 2012). Dentro das análises morfométricas geométricas, o tamanho é dado pelo tamanho do centroide, que é a coordenada média com relação aos marcos anatômicos, no qual o valor é calculado a partir da distância entre cada *landmark* com relação ao centroide, seguido pelo cálculo da raiz quadrada da soma dos quadrados entre tais distâncias (SOUTO et al., 2021).

1.7 Tomografia computadorizada na medicina veterinária legal

A tomografia computadorizada (TC) revolucionou o campo da medicina veterinária diagnóstica, permitindo uma visualização detalhada de tecidos moles e duros, sendo particularmente útil na avaliação de estruturas do animal sem que seja invasiva e destrutiva. Esse exame vem sendo o recurso de extrema importância no campo da medicina veterinária legal com seu uso na realização de necropsia minimamente invasiva, utilizada de forma preliminar permitindo o planejamento da necropsia forense e também como uma ferramenta que permite complementar diagnósticos, além disso o registro digital permite que os resultados possam ser reproduzidos e verificados sempre que preciso (GRELA et al., 2018).

Na medicina veterinária legal, a técnica é utilizada principalmente para investigar lesões, fraturas e outras anomalias ósseas que podem ajudar a na produção de provas e fechar diagnósticos em casos forenses. A TC é particularmente útil para detectar fraturas ósseas complexas que podem não ser visíveis em radiografias convencionais, ou não

identificadas na necrópsia. Sua capacidade de gerar imagens tridimensionais permite uma avaliação detalhada da extensão e localização das fraturas (BATISTA e MENDES, 2022).

Além de ter sido uma tecnologia revolucionária dentro da medicina veterinária legal (BATISTA e MENDES, 2022). A TC tem se mostrado uma ferramenta poderosa para análises precisas e detalhadas, especialmente quando combinada com técnicas de morfometria geométrica, sendo possível entender com maior precisão estruturas complexas, permitindo captar imagens em três dimensões e trabalhar com a morfometria geométrica tridimensional (GILLET et al., 2020).

1.8 Identificação e sexagem genética

Atualmente reconhece-se que a genética forense, utilizada para identificar espécies de animais selvagens, ainda não alcançou o perfil da identificação humana, no entanto caminha nesta mesma direção. Isso se deve a complexidade dos crimes envolvendo animais, seus produtos e subprodutos. Parte das análises pode envolver animais ainda não catalogados, necessitando de marcadores específicos, dos quais, se não existirem, deverão ser desenvolvidos e validados, e isso é válido tanto para a identificação da espécie quanto para a determinação de sexo (JOHNSON et al., 2014).

A técnica de identificação de espécies por meio do uso do ácido desoxirribonucleico (DNA) tem por base o fato de que algumas de suas regiões das quais são denominados marcadores genéticos, são exclusivas de cada espécie podendo assim serem sequenciadas, analisadas e comparadas à sequências já estabelecidas em amostras referências ou banco de dados (CARVALHO, 2017).

A determinação do sexo por meio do uso da genética baseia-se na análise dos cromossomos sexuais presentes no DNA do animal. A determinação de sexo em mamíferos, normalmente faz o uso da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR),

que consiste em amplificar regiões do DNA com *primers* específicos que amplificam regiões presentes no cromossomo Y, como o gene SRY (Sex-Determining Region Y). A presença da amplificação do SRY indica que o indivíduo é do sexo masculino, enquanto a ausência indica que é do sexo feminino (BENTO et al., 2019).

2. OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Realizar análise morfométrica tridimensional de crânios de onça-pintada (*P. onca*) juntamente com análise molecular e investigar se há dimorfismo sexual em crânios dessa espécie.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADANIA, C.H; SILVA, J.C.R; FELIPPE, P.A.N. In: CUBAS, Zalmir Silvino; SILVA, Jean Carlos Ramos; CATÃO-DIAS, José Carlos. **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**. 2ed. São Paulo. Rocca: 2014.

BATISTA, Karine Aparecida Spuri; MENDES, Patrícia Franciscone. A virtópsia como complemento da necrópsia tradicional na medicina veterinária forense. *Pubvet*, v. 16, n. 7, p. 1-13, 2022. doi: <https://doi.org/10.31533/pubvet.v16n07a1161.1-13>

BENTO, H. J. J.; ROSA, M.A.; MORGADO, T.O.; GRANJEIRO, M.D.B.; BIANCHINI, M.A.; IGLESIAS, G.A.; DUTRA, V.; NAKAZATO, L.; PAZ, R.C.R. Sexagem em tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) por meio do teste da reação em cadeia da polimerase. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 71, p. 538-544, 2019. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-9923>.

BRASIL. Constituição da República Federativa do Brasil de 1988. Brasília, DF, 1998. Acesso em 15/08/2023: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/constituicao/constituicao.htm>.

BRASIL. Lei Federal Nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998. Dispõe sobre as sanções penais e administrativas derivadas de condutas e atividades lesivas ao meio ambiente, e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, p. 1, 13 fev. 1998. Acesso em 15/08/2023: < http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/19605.htm>.

BRASIL. Lei nº 5.517, de 23 de outubro de 1968. Dispõe sobre o exercício da profissão de médico-veterinário e cria os Conselhos Federal e Regionais de Medicina Veterinária. 1968. Acesso em 20/10/2022: < https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/15517.htm>.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Portaria MMA nº 148, de 7 de junho de 2022. Altera os Anexos da Portaria nº 443, de 17 de dezembro de 2014, da Portaria nº 444, de 17 de dezembro de 2014, e da Portaria nº 445, de 17 de dezembro de 2014, referentes à atualização da Lista Nacional de Espécies Ameaçadas de Extinção. 2022. Acesso em 20/03/2024 <<https://www.icmbio.gov.br>>.

BURNHAM-CURTIS, M.K; TRAIL, P.W.; KAGAN, R.E.; MOORE, M.K. Wildlife Forensics: An Overview and Update for the Prosecutor. **USA Att'ys Bull.** 63, p. 53, 2015.

CARVALHO, C.B.V. de. In: COSTA, F.J.V. Ciência contra o tráfico: Avanços no Combate ao Comercio Ilegal de Animais Silvestres. João Pessoa, **IMPRELL**, 2017. 250p. <https://doi.org/10.21664/2238-8869.2018v7i2.p324-346>.

CASTILHO, V.V. Atuação do Perito em Medicina Veterinária. In: TOSTES, R. B; REIS, S. T. J; CASTILHO, V. **Tratado de Medicina Veterinária Legal**. Curitiba: Medvep, 2017. P. 171-181.

Convention on International trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora (CITES). Appendices I, II and III. 2022. Acesso em: 26/08/2023: <<https://www.cites.org/org>>.

COSTA, F.J.V.; TOLEDO, V. Identificação morfológica de animais domésticos e silvestres. *In*: TOSTES, R. B; REIS, S. T. J; CASTILHO, V. V. **Tratado de Medicina Veterinária Legal**. Curitiba: Medvep, 2017. P. 171-181.

DANTAS, M.A.T.; ARAÚJO, A.V.; CHERKINSKY. L.A.S.A. *Panthera onca* (Linnaeus, 1758) from the late Pleistocene of Brazilian Intertropical Region: taxonomy, habitat, isotopic diet composition, and isotopic niche overlap with extinct faunivores. **Journal of South American Earth Sciences**, v. 113, p. 103666, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.jsames.2021.103666>.

FORNEL, R.; CORDEIRO-ESTRELA, P. Morfometria geométrica e a quantificação da forma dos organismos. *In*: Jorge R. Marinho; Luiz U. Hepp; Rodrigo Fornel. (Org.). **Temas em Biologia**: Edição comemorativa aos 20 anos do Curso de Ciências Biológicas e aos 5 anos do PPG-Ecologia da URI Campus de Erechim. Erechim: Edifapes, p. 101-120, 2012

GRELA, M.; LISTOS, P.; GRYZINSKA, M.; CHAGOWSKI, W.; BUSZEWICZ, G.; TERESINSKI, G. Imaging techniques as a method of sectional examination in forensic veterinary medicine. *Med. Weter*, v. 74, n. 12, p. 751-758, 2018.

GILLET, Claudia et al. Sex estimation in the cranium and mandible: a multislice computed tomography (MSCT) study using anthropometric and geometric morphometry methods. *International Journal of Legal Medicine*, v. 134, p. 823-832, 2020. doi: <https://doi.org/10.1007/s00414-019-02203-0>

International Union for Conservation of Nature (IUCN). **The IUCN Red List of threatened species**. Versão 2020-2. IUCN, Gland, Switzerland. Acesso em: 26/08/2023: <<https://www.iucnredlist.org>>.

JOHNSON, R.N.; WILSON-WILDE, L.; LINACRE, A. Current and future directions of DNA in wildlife forensic science. **Forensic Science International: Genetics**, v. 10, p. 1-11, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.fsigen.2013.12.007>.

KÖNIG, H. E. e LIEBICH, H. G. Anatomia dos animais domésticos: texto e atlas colorido. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

LARSON, S.E. Taxonomic re-evaluation of the jaguar. **Zoo Biology: Published in affiliation with the American Zoo and Aquarium Association**, v. 16, n. 2, p. 107-120, 1997. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2361\(1997\)16:2<107::AID-ZOO2>3.0.CO;2-E](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2361(1997)16:2<107::AID-ZOO2>3.0.CO;2-E).

MORATO, R.; BEISIEGEL, B.; RAMALHO, E.E.; CAMPOS, C.; BOULHOSA, R.L. P.A. Avaliação do risco de extinção da onça-pintada *Panthera onca* (Linnaeus, 1758) no Brasil. **Biodiversidade Brasileira**, v. 3, n. 1, p. 122-132, 2013. <https://doi.org/10.37002/biodiversidadebrasileira.v3i1.378>.

MORCATTY, T.Q., MACEDO, J.C., NEKARIS, K.A., Ni, Q., DURIGAN, C.C., SVENSSON, M.S., & NIJMAN, V. Illegal trade in wild cats and its link to Chinese-led development in Central and South America. **Conservation Biology**, 34, 2020. <https://doi.org/10.1111/cobi.13498>.

NISHANT, K.; VRIJESH, K.Y.; AJAY, K.R. Wildlife forensic: current techniques and their limitations. **J Forensic Sci Criminol**, v. 5, n. 4, p. 402, 2017.

POLISAR, John et al. Multi-lingual multi-platform investigations of online trade in jaguar parts. **Plos one**, v. 18, n. 1, p. E0280039, 2023. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0280039>.

REIS, S.T.J. COSTA, I. L.; ROCHA, P. T. Papel do Médico Veterinário na Atuação Como Perito. In: Marcello Rodrigues da Roza, André Lacerda de Abreu Oliveira. (Org.). **PROMEvet: Pequenos Animais: Programa de Atualização em Medicina Veterinária**. 4ed. Porto Alegre: Artmed Panamericana, 2022, v. 4, p. 130-159.

REIS, S.T.J. Zoomorfologia forense. **Medvep - Revista Científica de Medicina veterinária**, Ed. 50, p. 138-141, 2020.

REIS, S.T.J.; MONTEIRO, K.R.G.; COSTA, I.L.; ROCHA, P.T.; DEITOS, A.R. Zoomorfologia Forense. In TOSTES, R.A.; REIS, S.T.J.; CASTILHO, V.V. **Tratado de Medicina Veterinária Legal – Volume 2**. Cap 9, Curitiba, Medvep, (No Prelo).

SANTOS, Andressa Satiko Watanabe et al. Descrição anatômica esquelética de uma onça-parda, Puma concolor (Linnaeus 1771) encontrado morto em rodovia na região de Itirapina-SP: Skeletal anatomical description of a Cougar Puma concolor (Linnaeus, 1771) found dead on a highway in the region of Itirapina-SP. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 5, n. 4, p. 4342-4352, 2022. doi: 10.34188/bjaerv5n4-074

SOUTO, N. M. M-F, ROBERTA A.F, DANIEL, S. A Morfometria Geométrica e suas aplicações nos estudos de Serpentes. **Sociedade Brasileira de Herpetologia**. V 10, N 02. 2021. Acesso em 20/05/2024: < https://www.researchgate.net/publication/354820866_A_Morfometria_Geometrica_e_suas_aplicacoes_nos_estudos_de_Serpentes>.

SLICE, D.E. Modern Morphometrics em Slide, D.E. (ed) Modern Morphometrics in Physical Anthropology. Kluwer Academic/Plenum Publishers. 1-45. 2005. Acesso em 18/05/2024: < <https://riu.ufam.edu.br/handle/prefix/6215>>.

4. INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Como parte da dissertação, foi redigido um artigo científico intitulado “Morfometria geométrica tridimensional de crânios de *Panthera onca* para análises forense” que será posteriormente traduzido para o inglês e submetido para publicação no periódico “Anatomia, Histologia, Embryologia”.

5. ARTIGO CIENTÍFICO

Morfometria geométrica tridimensional de crânios de *Panthera onca* para análises forenses

P.T. Rocha¹; S.T.J. Reis²; M.I.S. Santana^{1,3}, F.J.F. Sant'Ana^{1,3}

1. Programa de Pós-Graduação em Saúde Animal, Universidade de Brasília (UnB), Brasília, DF, Brasil.

2. Polícia Federal, Instituto Nacional de Criminalística (INC), Brasília, DF, Brasil.

3. UnB, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, DF, Brasil.

RESUMO

A identificação de restos mortais, produtos e subprodutos de espécies de felídeos, bem como a determinação do perfil biológico tem sido de extrema importância para responsabilizar indivíduos que praticaram crimes contra a fauna e o meio ambiente. Com base nisso, o presente estudo realizou análise morfogeométrica tridimensional por tomografia computadorizada em crânios de onça-pintada (*Panthera onca*) com o objetivo de analisar elementos que possam contribuir para a determinação do sexo na presente espécie. No estudo, dez crânios de *P. onca*, entre eles machos ($n = 4$) e fêmeas ($n = 6$), foram analisados. Um total de 32 marcos anatômicos foram utilizados, e submetidos a análise de componentes principais (PCA), análise de regressão residual (Regresid), análise de variação canônica (CVA) em paralelo à análise de função discriminante (DFA). Os resultados revelam que não foi apontado padrões de dimorfismo sexual em crânios de *P. onca*, visto que os dois primeiros componentes principais explicam apenas 38,4% da variação da forma, e as CVA e FDA em paralelo apontando que não há significância nos resultados quanto ao dimorfismo sexual. Entretanto, apesar de não ser encontrado padrões para determinar o sexo a partir das estruturas cranianas, o estudo apontou um agrupamento com indivíduos machos e fêmeas que não pode ser explicado pelo fator sexo, sendo necessário a incorporação de informações como idade e origem para melhores resultados.

Palavras-chave: anatomia veterinária, zoomorfologia forense, morfologia, identificação animal, tráfico de animais.

INTRODUÇÃO

A *Panthera onca* é o maior felídeo das Américas e encontra-se atualmente ameaçado de extinção, listado em documentos internacionais sob o status de quase ameaçado (NT- *near threatened*) Red List - IUCN (IUCN, 2020), dentro do apêndice I da Conventional on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora (CITES), do qual refere-se às espécies cujo comércio é proibido, possuindo uma rigorosa regulamentação, sendo autorizado apenas por circunstâncias excepcionais (CITES, 2022). Ademais, encontra-se relatado em documentos nacionais recentes com o status de vulnerável, na lista oficial de espécies ameaçadas de extinção do Ministério do Meio Ambiente (Brasil, 2022).

Estudos recentes realizados por Morcatty et al. (2020) e Polisar et al. (2023) levantaram preocupações com a mudança de tendência nos crimes perpetrados contra a fauna e meio ambiente. O comércio ilegal físico e online de produtos e subprodutos como pele, ossos e dentes de onça-pintada e outras espécies de felídeos para alimentar o mercado asiático tem se tornado um grande problema para as agências de aplicação da lei e para preservação da espécie em todo o mundo, sendo o Brasil um dos principais países ligados a esse comércio ilegal.

Análises em morfometria geométrica permitem uma melhor compreensão da evolução morfológica e dos efeitos adaptativos nos animais, uma vez que permitem quantificar a variação da forma e entender os fatores que podem influenciar nas diferenças morfológicas das espécies em questão (Fornel e Cordeiro-estrela, 2012). Técnicas modernas de análises morfogeométricas tem sido empregadas na avaliação de estruturas cranianas de algumas espécies como tartarugas (Duro et al., 2021), raposas (Hadžimerović et al., 2023), onça-parda (Segura et al., 2016), tigres (Mazák 2011), urso

pardo (Baryshnikov e Puzachenko 2011) e ovinos (Özkan et al., 2024), entretanto estudos similares não têm sido desenvolvidos em *P. onca*.

O dimorfismo sexual foi relatado em várias espécies de animais, incluindo várias espécies de felídeos (Martinez et al., 2014). Christiansen e Harris (2012) com base em medidas lineares avaliaram crânios de *Smilodon Fatalis* e de outras espécies do gênero *Panthera* e concluiu que os crânios desses animais são sexualmente dimórficos em tamanho, sendo o *Panthera leo*, o mais dimórfico entre eles e o *Uncia uncia* o menos dimórfico, constatando que machos eram maiores que fêmeas. Pontier et al. (2023) investigou o dimorfismo sexual em crânios de *Lutra lutra* observando um forte dimorfismo sexual tanto em forma, quanto em tamanho, onde machos possuíam crânios maiores e mais largos enquanto as fêmeas crânios mais delgados e alongados, variando ainda conforme a localização geográfica em que se encontravam.

Atualmente técnicas de análise molecular tem sido amplamente empregada para entender aspectos biológicos de diversas espécies de animais. Entretanto, no que se refere a identificação e determinação de sexo essas análises produzem um entendimento diferente da morfometria e morfologia, ainda que tenham o mesmo objetivo com relação a taxonomia, entretanto essas metodologias e técnicas quando aplicadas em paralelo poderiam promover maior robustez nas informações (Farhadinia et al., 2015).

O desenvolvimento de novas técnicas forenses poderá ajudar em casos de perícia envolvendo animais e suas partes, além de auxiliar investigações futuras, permitindo conhecer as proporções de machos e fêmeas presentes no tráfico ilegal, ajudando a elucidar a tendência de gênero, permitindo a melhor aplicação da lei. Para isso, formar um perfil biológico completo auxilia profissionais a tomarem melhores decisões acerca das investigações, exames periciais e ações de conservação necessárias (Reis et al., 2024).

Assim, o presente estudo tem como objetivo realizar análise morfogeométrica tridimensional do crânio de *P. onca*, juntamente com identificação e sexagem molecular, visando buscar elementos que auxiliem na determinação do sexo com uso de crânios da espécie de *P. onca*, contribuindo assim para as análises em zoomorfologia forense.

MATERIAL E MÉTODOS

Um total de 65 crânios de *P. onca* foram tomografados e avaliados quanto a sua viabilidade para análises morfogeométricas tridimensionais. Dentre eles foram utilizados dez crânios de *P. onca* adulta, compreendendo machos (n=4) e fêmeas (n=6). As amostras analisadas foram cedidas pelo Instituto Onça-Pintada (IOP). As licenças de pesquisa para trabalhar nas atividades de coleta e transporte do material foram obtidas através do Ministério do Meio Ambiente (autorização SISBIO- 82701-1). Os crânios foram destinados ao Laboratório de Zoomorfologia Forense no Instituto Nacional de Criminalística da Polícia Federal (INC-PF), localizado em Brasília, Distrito Federal.

Os crânios selecionados para as análises não possuíam fraturas *antemortem* ou *perimortem*, bem como alterações tafonômicas que inviabilizassem a coleta e análise dos dados. Antes da realização das tomografias, todos os crânios sem mandíbula foram fotografados com escala e com câmera digital Sony DSC-H9, em mesa reproestativa para registro documental (Kaiser Fototechnik, Buchen, Alemanha).

Por se tratar de amostras com sexo desconhecido, e identificação não confirmada, foram realizados exames moleculares para determinar o sexo e confirmar a espécie do material analisado. Todo o procedimento de coleta das amostras foi executado no Laboratório de Zoomorfologia do INC-PF. A coleta foi realizada dentro da capela de exaustão com forma de guilhotina (Famolab) e uso de equipamentos de proteção individual adequados.

Genética

As coletas de amostras para exame genético foram realizadas em duas etapas. A primeira consistia em uma limpeza para retirar as sujidades mais superficiais e evitar a contaminação com o DNA de outras espécies que poderiam ter entrado em contato com a amostra. Na segunda etapa foi realizada a troca de roda de corte e dos EPI's e uma limpeza mais profunda, seguida da retirada completa do côndilo occipital esquerdo.

Para execução de ambas as etapas foram utilizadas, micro retífica (Dremel) com roda de corte de metal EZ Lock para plástico, com diâmetro 3,8 cm, máx. diâmetro de corte 1/2 polegada e espessura 1/32 polegada. As amostras foram colocadas em frascos estéreis, identificadas e encaminhadas ao Laboratório de Genética da do INC-PF para o processamento e análise. Posteriormente, o material foi triturado em moinho criogênico (Freezer Mill) ou vibratório de esferas (Retsch). O DNA das amostras foi extraído com o kit de extração PrepFiler Express™ usando um sistema AutoMate Express™ (ambos Applied Biosystems), seguindo as orientações do fabricante.

A identificação genética por DNA *barcoding* seguiu protocolos padronizados e primers utilizados pelo Laboratório de Genética da PF. Segmentos dos genes COI e cyt b foram amplificados com os primers FISHCOILBC_ts/REVshort1 (Handy et al., 2011, Armani et al., 2015), LCO1490/HCO2108 (Folmer et al., 1994) e cytbF/cytbR (Branicki et al., 2003). Reações de PCR de 25 µl foram realizadas em tubos contendo 2U de AmpliTaq Gold® (Applied Biosystems), 1,5 mM de MgCl₂ (Applied Biosystems), 0,2 mM de dNTPs (Promega), 0,4 mM de cada primer (IDT) e 3 µl de DNA (não quantificado). Para os primers cytbF/cytbR – fragmento cyt b de 420 pares de bases (pb) – os parâmetros de ciclagem foram: passo inicial de 94°C por 11 min, 34 ciclos de 94°C por 20 s, 51°C por 30 s e 72°C por 40 s; e etapa final a 72° C por 10 min. Para os primers

LCO1490/HCO2108 – fragmento COI com cerca de 650 pb – as etapas inicial e final foram as mesmas utilizadas para o par de primers anterior, enquanto as etapas intermediárias consistiram em 35 ciclos de 94°C por 30 s, 54°C por 30 s e 72°C por 1 min.

Para os primers FISHCOILBC_ts/REVshort1 – fragmento COI com cerca de 150 pb – as etapas inicial e final também foram as mesmas e as etapas intermediárias consistiram de 40 ciclos de 94°C por 30 s, 51°C por 40 s e 72°C por 30 s. Controles positivos e negativos foram usados para verificar falhas de PCR e contaminação. Os produtos de amplificação foram visualizados em gel de agarose (1%) e purificados NucleoSap® (Biocell), seguindo o protocolo do fabricante. O produto purificado foi sequenciado nos dois sentidos com o kit de sequenciamento Big Dye™ Terminator v1.1 (Applied Biosystems). Os produtos de extensão foram purificados por precipitação com EDTA/etanol e a eletroforese capilar foi realizada utilizando um analisador genético ABI 3500 (Applied Biosystems).

As sequências consensuais obtidas foram montadas e tiveram sua qualidade avaliada pelos softwares SeqScape 3 (Applied Biosystems) e MEGA 11 (Tamura et al. 2021). As sequências cyt b e COI foram então comparadas com aquelas mantidas no GenBank (Benson et al. 2013) e no banco de dados Species Level Barcode Records do BOLD (Ratnasingham & Hebert, 2007) para obter valores de similaridade (%) e verificar a identidade das amostras. De forma geral, para proceder a identificação molecular, considerou-se os valores de similaridade resultantes dos confrontos dos *barcodes* nos bancos de dados e a representatividade dos grupos identificados.

A sexagem molecular foi realizada utilizando protocolo descrito por Joshi et al. (2019). Este protocolo utiliza primers Y53-3C/Y53-3D (Fain & LeMay, 1995) para amplificar um fragmento de 220 pb do gene SRY. As reações de PCR foram realizadas

da mesma forma descrita para a amplificação de fragmentos de DNA mitocondrial, exceto para o volume de DNA, que foi de 4 µl.

Em relação aos parâmetros de ciclagem, as etapas inicial e final foram mantidas, mas as etapas intermediárias consistiram em 40 ciclos de 95°C por 45 s, 57°C por 1 min e 72°C por 1 min. Os produtos de amplificação e um padrão de DNA de 100 pb foram visualizados em gel de agarose (2%). Optou-se pela não utilização de controle interno nas reações de amplificação, pois a existência de DNA em todas as amostras já havia sido comprovada através do sucesso da amplificação dos marcadores *cyt b* e *COI*.

Tomografia computadorizada

Para análise morfogeométrica tridimensional, os crânios foram posicionados ao lado de suas respectivas mandíbulas na mesa do tomógrafo Lightning Aquilion TM, da Canon Medical Systems, com kVP: 135, mA: 190, msec: 750, mAs: 142 em posição ventral, obtendo-se imagens com cortes a espessura de 0,5mm. As imagens tridimensionais foram reconstruídas em três dimensões (3D) com emprego do Vitrea Advanced Visualization da Canon Medical Systems e armazenadas no formato DICOM.

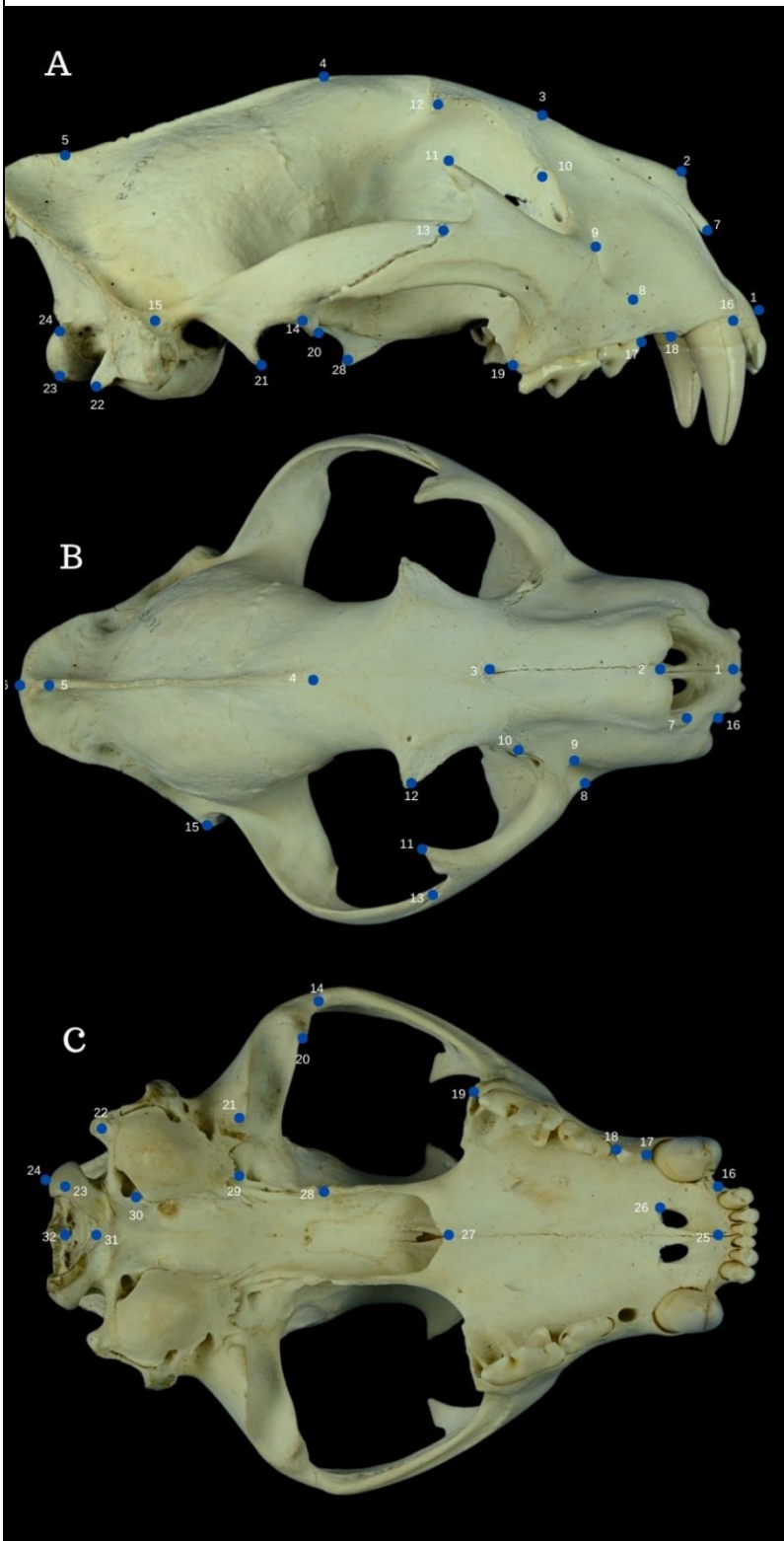
As imagens tridimensionais obtidas pelo Vitrea foram tratadas por meio do InVesalius[®] 2007-2024 para a digitalização dos marcos anatômicos. Os crânios foram separados de suas mandíbulas, e uma nova reconstrução tridimensional foi realizada. Foram digitalizados 32 marcos anatômicos, escolhidos com base no estudo de Christiansen e Harris (2012), Segura et al. (2016) adaptados conforme a necessidade e descritos conforme a nomenclatura anatômica veterinária (Fig. 1).

Cada marco anatômico coincide com uma estrutura de localização no crânio. Com base no estudo de Palci et al. (2017), optou-se pelo uso do Software Landmark Versão 3.0, Institute for Data Analysis and Visualization[®], para realizar as marcações dos pontos

nos crânios nas imagens tridimensionais e obtenção das coordenadas cartesianas. Os pontos anatômicos foram colocados do lado direito e os dados das coordenadas foram exportados em formato NTsys Landmarks Points (*.dta). Foram adicionados os *landmarks*: 5 (ponto caudal da crista sagital externa), 10 (ponto do processo lacrimal), 14 (ponto do extremo do arco zigomático), 25 (ponto rostral da sutura palatina mediana do osso incisivo) e 26 (ponto do forame incisivo).

Figura 1.

Fotografia do crânio de Panthera onca adulta, representando os landmarks utilizados nas projeções lateral direito (A), dorsal (B) e ventral (C).



1. Ponto do osso incisivo;
2. Ponto rostral do osso nasal;
3. Ponto caudal do osso nasal;
4. Ponto cranial da crista sagital externa
5. Ponto caudal da crista sagital externa;
6. Ponto da protuberância occipital externa;
7. Ponto do processo nasal;
8. Ponto ventral do forame infraorbital;
9. Ponto dorsal do forame infraorbital;
10. Ponto do processo lacrimal;
11. Ponto do processo frontal-zigomático;
12. Ponto do processo zigomático-frontal;
13. Ponto da sutura temporozigomática;
14. Ponto do extremo do arco zigomático;
15. Ponto do processo mastoide;
16. Ponto da face mesial do canino;
17. Ponto da face distal do canino;
18. Ponto da face distal do pré-molar;
19. Ponto do tubérculo da maxila;
20. Ponto do tubérculo articular;
21. Ponto do processo retroarticular;
22. Ponto do processo paracondilar;
23. Ponto inferior do cômulo occipital;
24. Ponto superior do cômulo occipital;
25. Ponto rostral da sutura palatina mediana do osso incisivo;
26. Ponto do forame incisivo;
27. Ponto da espinha nasal caudal do palatino;
28. Ponto do hâmulos pterigóideo
29. Ponto rostral da bulha timpânica;
30. Ponto caudal da bulha timpânica;
31. Ponto ventral do forame magno;
32. Ponto dorsal do forame magno.

Estatística

Para a análise das coordenadas foi utilizado o *software* MorphoJ v 1.06d. Inicialmente, as coordenadas dos pontos de referências foram sobrepostas com um Análise de Procrustes Generalizado (GPA), no qual, o conjunto de coordenadas de cada crânio sofre uma rotação, uma translação e uma uniformização de escala, sendo possível diminuir ao máximo a diferença de medida da sua forma.

O método de sobreposição de procrustes normaliza todas as configurações do tamanho do centroide, transla todas as configurações de modo que o centroide se sobreponha em uma origem comum e ajusta a rotação das imagens buscando minimizar a soma dos quadrados das distâncias entre os marcos anatômicos (Fornel e Cordeiro-estrela, 2012).

Para pesquisar as características da variação de forma foram realizadas análise de componentes principais (PCA), para reduzir a dimensionalidade do conjunto de dados e quantificar a variação morfológica, e análise de variação canônica (CVA) em paralelo com a análise de função discriminante (FDA), para quantificar a discriminação da forma e a identificação de diferenças significativas em traços morfológicos. Para entender o tamanho realizou-se análise de regressão residual (RegResid). As médias sobrepostas foram representadas graficamente como wireframes de acordo com os pontos dos *landmarks*.

RESULTADOS

O protocolo de sexagem aqui utilizado apresentou resultados claros, com faixas bem definidas e dentro do tamanho esperado para os machos e ausência dessas bandas para as fêmeas. As imagens geradas pela tomografia computadorizada com o respectivo

protocolo de aquisição não obtiveram detalhes suficientes para se utilizar os *landmarks* que foram descritos na literatura, então um ajuste foi necessário.

O resultado da PCA para dimorfismo sexual demonstra que o PC1 explica 18,1% da variação total da amostra, enquanto o PC2 explica 16,3% da variação total. Juntos correspondem cumulativamente a 34,4% da variação total da amostra. Isso demonstra que dentro da amostra não foi encontrado dimorfismo sexual significativo com relação aos machos e fêmeas de *P. onca*. Os resultados da PCA estão sumarizados na Tab. 1.

Tabela 1.

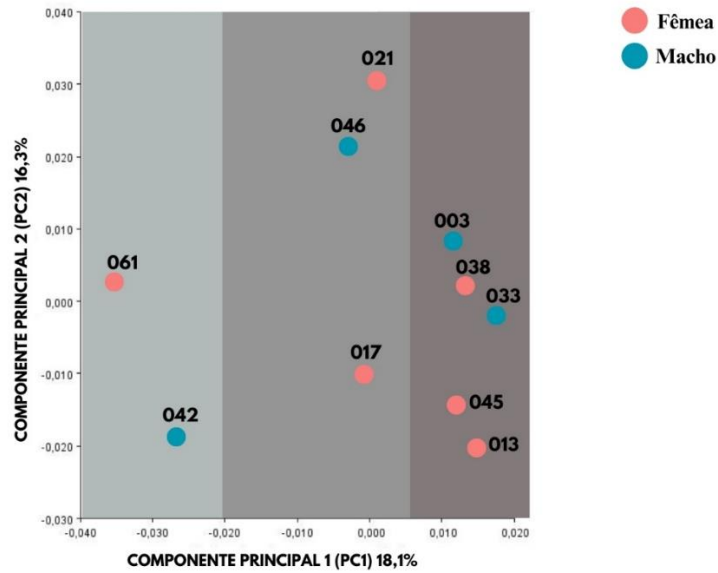
Análise de componentes principais (PCA) relacionados ao dimorfismo sexual nas amostras de crânios de Panthera onca.

PC	Autovalores	Variância%	Cumulativa%
1	0,00032155	18,141	18,141
2	0,00028945	16,330	34,472
3	0,00026165	14,762	49,234
4	0,00022602	12,752	61,985
5	0,00020277	11,440	73,425
6	0,00016245	9,165	82,591
7	0,00012936	7,298	89,889
8	0,00010751	4,718	95,954
9	0,00008668	6,065	95,954
10	0,00007171	4,046	100,000

O gráfico de dispersão entre o PC1 e PC2 o qual explica a maior variação dentro da amostra, mostram como os animais se distribuem no espaço com relação a forma e aponta que apesar de não haver indícios de separação entre machos e fêmeas de *P. onca*, observa-se sobreposição e agrupamento entre os indivíduos que não pode ser explicado pelo fator sexo (Fig. 2).

Figura 2.

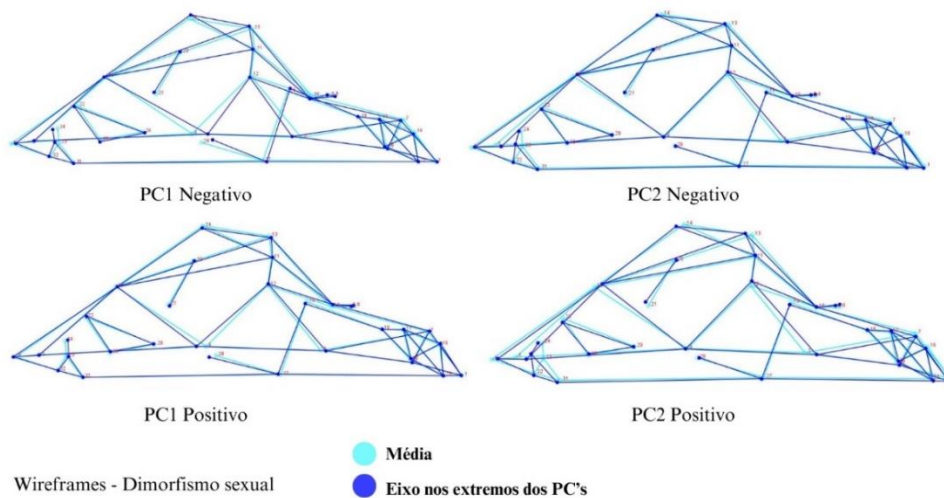
Análise de componentes principais (PCA) com as variações encontrada nos marcos anatômicos da *Panthera onca* após a superimposição de procrustes. Os pontos rosas correspondem as fêmeas e os pontos azuis correspondem aos machos.



Nos *wireframes* gerados a partir dos vetores para melhor visualização dos resultados da PCA, é possível verificar a variação da forma nos extremos do eixo PC1 e PC2 para o dimorfismo sexual em crânios de *P. onca*. O azul-claro representa a média enquanto o azul-escuro representa os extremos dos eixos dos PC's (Fig. 3).

Figura 3.

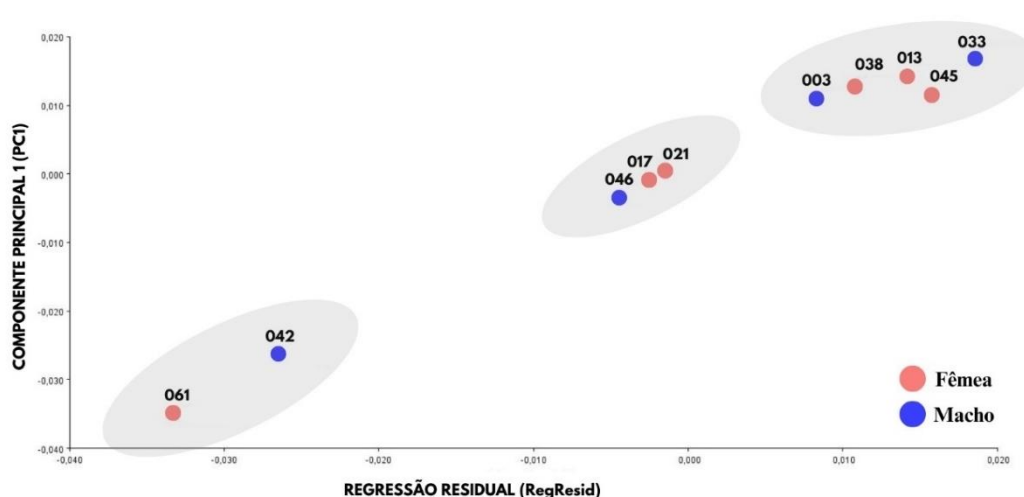
Wireframes com relação a média nos extremos do eixo PC1 e PC2 para a variação de forma em crânios de *Panthera onca* entre fêmeas e machos.



A análise de resíduos de regressão analisou o tamanho do centroide pela forma do crânio pelo eixo PC1, o qual explica a maior variação de forma (18,1%) na amostra (Fig. 4). Como a forma pode ser influenciada pelo tamanho, a análise de regressão residual tem como objetivo entender o quando da forma está sendo influenciado pelo tamanho, entretanto observou-se que o tamanho não influenciou na forma, demonstrando que o sexo continua não sendo o fator que explica a separação dos crânios.

Figura 4.

Análise de regressão residual (Regresid) ajustado ao tamanho em crânios de Panthera onca. Os pontos rosas correspondem as fêmeas e os pontos azuis correspondem aos machos.

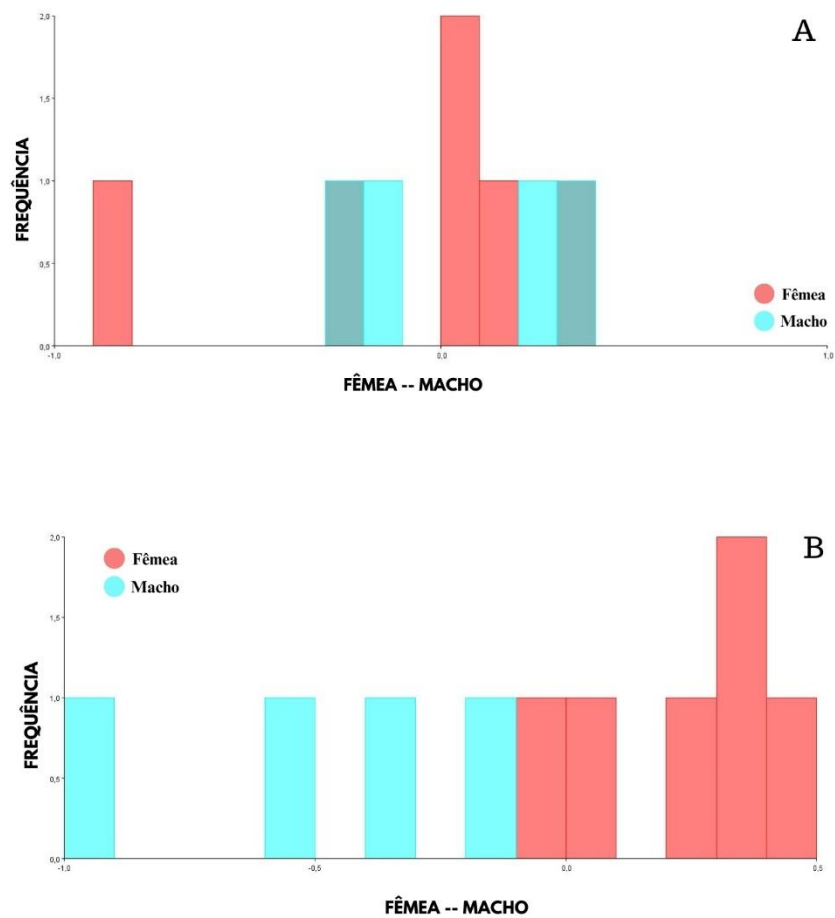


A análise de variância canônica (CVA) para o crânio de *P. onca* resultou em Mahalanobis (0,2852) e distância de procrustes (0,0207), não demonstrando significância com relação a forma do crânio para dimorfismo sexual, indicando que os conjuntos de dados analisados nas análises de variância canônica são bastante semelhantes, entre machos e fêmeas. A análise de função discriminante (DFA) realizada paralelamente a CVA também não apresentou significância nos resultados, podendo ser visualizada na

Fig. 5. Por se tratar de baixo número amostral, é válido ressaltar que as análises de CVA e DFA podem superestimar os resultados, visto que a frequência das fêmeas é maior que a dos machos.

Figura 5.

Gráfico de análise de função discriminante (DFA) realizada em crânios de Panthera onca para dimorfismo sexual. Função discriminante (A), validação cruzada (B) Machos são representados pelas colunas verdes e as fêmeas pelas colunas rosas.



DISCUSSÃO

A antropologia tem sido usada em contextos forenses de diversas formas, dentre elas a determinação do sexo pode ser feita a partir do esqueleto, sendo o crânio o segundo osso mais dimórfico sexualmente e que normalmente se apresenta mais bem preservado nesses contextos. Com o surgimento das novas tecnologias, a morfometria geométrica tem sido incorporada aos exames, e aplicada com diversos interesses, dentre eles a identificação e determinação do sexo em restos mortais de humanos (Gillet et al., 2020) e de animais (Duro et al., 2021; Hadžiomerović et al., 2023; Özkan et al., 2024).

Embora estudos de morfometria linear e geométrica tenham sido realizados em felídeos como *P. tigris*, *P. leo* e *P. pardus*, pela primeira vez, um estudo morfológico avaliou por tomografia computadorizada e morfometria geométrica tridimensional os crânios de *P. onca*, buscando determinar a contribuição dessa amostra para estimativa do sexo, bem como contribuir para análises de zoomorfologia forense.

As análises realizadas nesse estudo apontam que não há diferenças significativas na forma e tamanho que demonstrem padrões de dimorfismo sexual em crânio de *P. onca*, Isso pode ter ocorrido por se tratar de um número amostral baixo, no qual pode não ter estabelecido padrões para diferenciar machos e fêmeas, portanto o método poderia ser aplicado em mais indivíduos da espécie em estudos futuros. Entretanto, apesar de não serem encontrados padrões de dimorfismo sexual com relação a forma e tamanho nos crânios, observou-se uma sobreposição e agrupamento com machos e fêmeas não explicado pelo fator sexo, apontando que outros fatores podem ser mais influentes que o sexo dentro da morfologia dessa espécie, entretanto não foi possível estabelecer uma resposta para este agrupamento, sendo necessário a incorporação de outras informações como a idade e a origem dos crânios.

Foi sugerido por Meachen-Samuel e Valkenburgh (2009) que felídeos de grande porte que capturam animais próximos ou acima do seu tamanho apresentam caninos mais robustos e as dimensões dos focinhos relativamente mais largos comparados a animais com massa corporal inferior e que capturam presas pequenas. Além do mais, foi observado por Radloff e DU Toit (2004) que os felídeos machos consistentemente preferem presas maiores do que as fêmeas, o que por consequência faz com que os crânios e dentes desses animais se tornem maiores e robustos. Christiansen e Harris (2012) afirmam que felídeos do género *Panthera* possuem crânios fortemente dimórficos sexualmente com relação ao tamanho e forma, sendo o *P. leo* a espécie apontada com maior dimorfismo sexual, podendo ser reconhecidos que machos são maiores que as fêmeas entre os felídeos. Segundo esse mesmo autor, algumas espécies podem variar conforme a sua geografia em tamanho, como *P. tigris* e *P. pardus* e *P. onca*, podendo haver subespécies com populações de machos pequenos e menores que as fêmeas, sendo a origem do animal um ponto importante a ser investigado juntamente com o sexo.

Posto que estudos realizados em outras espécies de felídeos revelem que existam forte dimorfismo sexual em forma e tamanho nestes animais, sendo o macho considerado dentro do género *Panthera* maior que a fêmea para a maioria das espécies, os resultados encontrados para dimorfismo sexual em crânios de *P. onca* no presente estudo não estão em acordo com os dados encontrados em literatura no que tange os grandes felídeos, visto que não foram apontados dentro do número amostral significância nos valores para dimorfismo sexual.

Estudo realizados por Pitakarnnop et al. (2017) em morfometria linear com gatos domésticos apontaram que o crânio não seria um bom elemento para determinação de sexo em felinos, diferentemente da pelve e mandíbula onde encontraram-se padrões significativos de dimorfismo sexual, que podem ser usados para determinar o sexo. O que

também se observa no presente estudo exploratório, onde os crânios não apresentaram significância para dimorfismo sexual.

Fatores ontogenéticos, geográficos, comportamentais ou a dieta, podem estar relacionados com o agrupamento e a sobreposição dos indivíduos do estudo. Apesar dos espécimes selecionados serem animais adultos, vale ressaltar que, embora a taxa de crescimento diminua consideravelmente na fase adulta, os tecidos ósseos continuam em atividade e crescimento, devendo assim, quando possível a idade ser incorporada dentro de análises de dimorfismo sexual. Além do mais, é bem conhecido que a localização geográfica e o comportamento alimentar podem influenciar na morfologia de diversas espécies de animais, incluindo felídeos (Christiansen e Harris 2012).

Segundo estudo realizado por Hoogesteijn e Mondolfi (1996) observou-se que *P. onca* de várzea são significativamente maiores podendo os machos chegarem a 104,5 kg e as fêmeas 66,9 kg, sendo os animais do bioma Pantanal relativamente maiores com machos pesando cerca de 99,5 kg e fêmeas 76,7 kg, comparados com onças-pintadas da floresta, na Amazônia, onde machos pesam uma média de 83,6 kg e sem informações disponíveis para fêmeas e América Central possuindo animais ainda menores, com machos com massa corporal de 56,1 kg e fêmeas com 41,4 kg. Foi observado também que os animais menores encontrados em ambientes mais denso e fechados também se alimentavam de presas menores, comparados aos que pertenciam a planícies alagadas.

Sabe-se que em vida livre a *P. onca* é um caçador solitário e predador oportunista, que se alimenta de diversas espécies de animais diretamente relacionados com o bioma que ocupam, (Hayward et al., 2016), esta espécie captura presa com uma mordida na parte de trás do crânio, em comparação com outros felídeos no qual a mordida mais comum é na parte anterior ou posterior do pescoço (Segura et al., 2017). Vale salientar também, que muitos estudos com relação a felídeos, são realizados com animais de cativeiro, o que

também pode influenciar no resultado. Estudos realizados em morfometria geométrica em *P. tigris* e *P. leo* por Hartstone-Rose et al. (2014) demonstraram que felídeos de cativeiro sofreram modificações com relação a forma do crânio, visto que a dieta disponibilizada tem propriedade mecânicas diferentes dos animais de vida livre, demonstrando que o estado de cativeiro influencia mais que o dimorfismo sexual. Georgescu et al. (2016) afirma em estudo que felídeos criados em cativeiro possuem crânios ligeiramente menores comparados a animais de vida livre.

Os trabalhos em morfometria geométrica tridimensional escolhidos como base para a escolha dos *landmarks* se utilizavam do microscribe como técnica para obtenção de imagens, o que possivelmente pode ter causado interferência na replicabilidade de alguns pontos anatômicos, visto que a técnica usada no presente estudo foi a tomografia computadorizada, que apesar de obter ótimas imagens tridimensionais com o protocolo de aquisição, não era possível utilizá-las de imediato no programa de análises estatísticas MorphoJ, precisando assim serem processadas no programa Invesalio para realizar a separação da mandíbula e a criação de uma nova imagem tridimensional do crânio, o que possivelmente pode ter causado perda de algumas informações e qualidade da imagem.

A obtenção de material para estudos em *P. onca* para análises em morfometria geométrica tridimensional (3D) utilizando tomografia computadorizada e análises genética, envolveram uma série de desafios logísticos e técnicos que dificultaram a execução de estudos científicos nessa área. Por se tratar de uma espécie listada em documentos nacionais e internacionais de proteção, a coleta de qualquer parte do animal estava sujeita a rigorosas regulamentações legais, ainda que emprestados de museus ou outras instituições. Além disso, por se tratar de crânios, a obtenção dependia também da mortalidade desses animais.

Uma vez que obtido os crânios, eles precisariam estar íntegros para as análises morfométricas, além de conter informações necessárias para as análises, aqueles que não possuem essas informações, inviabilizam o desenvolvimento da pesquisa, o que requeria a realização de exames destrutivos, como exames moleculares, o que acabou por interferir no número amostral. Além disso, a logística de transporte de material biológico, especialmente entre diferentes estados, apresenta desafios adicionais.

O transporte de crânios ou cadáveres de animais deve ser realizado em condições que garantam a integridade e preservação do material que será analisado, bem como obedecer as normas de transporte, no mais os custos envolvidos dentro da logística podem ser um fator limitante na pesquisa.

Com o levantamento bibliográfico observou-se que existe um escassez de estudos quanto às estruturas esqueléticas de animais selvagens, destacando-se espécies que estão listadas em categorias de risco de extinção, sendo importante também desenvolver estudos descritivos, visto que o uso de ferramentas quantitativas em exames periciais na medicina veterinária legal deve sempre ser apoiado em chaves taxonômicas e quando possível, por exames moleculares, visto que a incorporação de métodos moleculares aos morfométricos e morfológicos podem fornecer maior robustez na compreensão e interpretação das análises, ajudando a confirmar com maior certeza a espécie e o sexo do animal em questão (Farhadinia et al., 2015).

Os achados do presente estudo exploratório demonstram que não há dimorfismo sexual em crânios de *P. onca*, que sejam potencialmente significativas e que possibilitem a determinação do sexo, sendo necessário maior exploração sobre os dados obtidos, incluindo a necessidade de maior número amostral.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida, ao Instituto Nacional de Criminalística (INC-PF) pelo suporte fornecido ao longo da pesquisa, ao Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) pela autorização concedida para trabalhar com a espécie em questão, ao Instituto Onça Pintada (IOP) que forneceu os crânios para o estudo e a todas as pessoas envolvidas direta e indiretamente neste trabalho. Em conclusão, esperamos que este estudo incentive novas investigações contribuindo para o avanço do conhecimento sobre a espécie e a área da medicina veterinária legal.

DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram que o estudo foi conduzido na ausência de quaisquer relações comerciais ou financeiras que pudessem ser interpretadas como um potencial conflito de interesses.

REFERÊNCIAS

- Armani, A., Guardone, L., Castigliego, L., D'Amico, P., Messina, A., Malandra, R., Gianfaldoni, D. and Guidi, A. (2015). *DNA and Mini-DNA barcoding for the identification of Porgies species (family Sparidae) of commercial interest on the international market*. Food Control, 50, 589–596. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.09.025>.
- Baryshnikov, G. F., & Puzachenko, A. Y. (2011). *Craniometrical variability in the cave bears (Carnivora, Ursidae): Multivariate comparative analysis*. Quaternary International, 245(2), 350-368. DOI: 10.1016/j.quaint.2011.02.035
- Benson, D. A, Cavanaugh M, Clark K, Karsch-Mizrachi I, Lipman DJ, Ostell J, Sayers EW. (2012). *GenBank. Nucleic Acids Res. 41(Database issue): D36-42*. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gks1195>
- Branicki, W., Kupiec, T., Pawlowski, R. (2003). *Validation of cytochrome b sequence analysis as a method of species identification*. J. Forensic Sci. 48(1):83-7.
- Brasil, Portaria MMA, nº 148. (2022), altera os Anexos da Portaria nº 443, de 17 de dezembro de 2014, da Portaria nº 444, de 17 de dezembro de 2014, e da Portaria nº 445, de 17 de dezembro de 2014, referentes à atualização da Lista Nacional de Espécies Ameaçadas de Extinção.
- Centro de Tecnologia da Informação Renato Archer. Invesalium Versão 3.0. Disponível em: <https://softwarepublico.gov.br/social/invesalium>
- Christiansen, P., & Harris, J. M. (2012). *Variation in craniomandibular morphology and sexual dimorphism in pantherines and the sabercat Smilodon fatalis*. PLoS one, 7(10), e 48352. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048352>.
- Convention on International trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora - CITES (2022). Appendices I, II and III. Disponível em: <https://cites.org/>
- Duro, S., Gündemir, O., Sönmez, B., Jashari, T., Szara, T., Pazvant, G., & Kambo, A. (2021). *A different perspective on sex dimorphism in the adult Hermann's tortoise: Geometric morphometry*. Zoological Studies, 60, e9. DOI: [10.6620/ZS.2021.60-09](https://doi.org/10.6620/ZS.2021.60-09).
- Fain, SR, LeMay JP. (1995). *Gender identification of humans and mammalian wildlife 162 species from PCR amplified sex linked genes*. Proc Am Acad Forensic Sci 1:34.
- Farhadinia, M. S., Farahmand, H., Gavashelishvili, A., Kaboli, M., Karami, M., Khalili, B., & Montazamy, S. (2015). *Molecular and craniological analysis of leopard, Panthera pardus (Carnivora: Felidae) in Iran: support for a monophyletic clade in Western Asia*. Biological Journal of the Linnean Society, 114(4), 721-736.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. & Vrijenhoek, R. (1994). *DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates*. Mol. Mar. Biol. Biotechnol. 3(5): 294-9.

- Fornel, R., & Cordeiro-Estrela, P. (2012). *Morfometria geométrica e a quantificação da forma dos organismos*. Temas em Biologia: Edição comemorativa aos, 20, 101-120.
- Georgescu, B., Predoi, G., Roșu, P. M., Belu, C., Ghimpețeanu, O. M., Purdoiu, L., Vișoiu, c., Petrescu, C. & Matei, P. B. (2016). *Comparative study on certain parameters of the skull of some cats species grown in captivity in Romania*.
- Gillet, C., Costa-Mendes, L., Rérolle, C., Telmon, N., Maret, D., & Savall, F. (2020). *Sex estimation in the cranium and mandible: a multislice computed tomography (MSCT) study using anthropometric and geometric morphometry methods*. International Journal of Legal Medicine, 134, 823-832.
- Hadžiomerović, N., Gundemir, O., Tandir, F., Avdić, R., & Katica, M. (2023). *Geometric and morphometric analysis of the auditory ossicles in the red fox (Vulpes vulpes)*. Animals, 13(7), 1230. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani13071230>.
- Handy, S. M., Deeds, J. R., Ivanova, N. V., Hebert, P. D., Hanner, R. H., Ormos, A. & Yancy, H. F. (2011). *A single-laboratory validated method for the generation of DNA barcodes for the identification of fish for regulatory compliance*. Journal of AOAC International, 94(1), 201-210. DOI: <https://doi.org/10.1093/jaoac/94.1.201>
- Hartstone-Rose, A., Selvey, H., Villari, J. R., Atwell, M., & Schmidt, T. (2014). *The three-dimensional morphological effects of captivity*. PloS one, 9(11), e113437. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0113437>
- Hayward, M. W., Kamler, J. F., Montgomery, R. A., Newlove, A., Rostro-García, S., Sales, L. P., & Van Valkenburgh, B. (2016). *Prey preferences of the jaguar Panthera onca reflect the post-Pleistocene demise of large prey*. Frontiers in Ecology and Evolution, 3, 148.
- Hoogesteijn, AL, e Mondolfi, E. (1996). *Medidas de massa corporal e crânio em quatro populações de onças e observações sobre sua base de presas*. Bull. Fla. Mus. Nat. Hist. 39, 1952–1219.
- IUCN (International Union for Conservation of Nature). *The IUCN Red List of threatened species*. Versão (2022). IUCN, Gland, Switzerland. Disponível em: <https://www.iucnredlist.org>
- Joshi, B. D., De, R., & Goyal, S. P. (2019). *Utility and applicability of a universal set of primers in identifying the sex of South and Southeast Asian mammals*. Zoological Studies, 58. DOI: [10.6620/ZS.2019.58-19](https://doi.org/10.6620/ZS.2019.58-19).
- Klingenberg, C. P. MorphoJ (2014). Version 1.06d. Disponível em: https://morphometrics.uk/MorphoJ_page.html
- Martinez, P. A., Amado, T. F., & Bidau, C. J. (2014). *Una aproximación filogenética al estudio del dimorfismo sexual de tamaño en Felidae y la evaluación de la regla de Rensch*. Ecosistemas, 23(1), 27-36.

- MAZÁK, Ji H. *Craniometric variation in the tiger (Panthera tigris): implications for patterns of diversity, taxonomy and conservation*. *Mammalian Biology*, v. 75, p. 45-68, 2010. doi:10.1016/j.mambio.2008.06.003
- Meachen-Samuels, J., & Van Valkenburgh, B. (2009). *Craniodental indicators of prey size preference in the Felidae*. *Biological Journal of the Linnean Society*, 96(4), 784-799. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2008.01169.x>.
- Morcatty, T. Q., Bausch Macedo, J. C., Nekaris, K. A. I., Ni, Q., Durigan, C. C., Svensson, M. S., & Nijman, V. (2020). *Illegal trade in wild cats and its link to Chinese-led development in Central and South America*. *Conservation Biology*, 34(6), 1525-1535. DOI: <https://doi.org/10.1111/cobi.13498>.
- Nomina Anatomica Veterinaria, sixth edition, Published by the Editorial Committee Hanover (Germany), Ghent (Belgium), Columbia, MO (U.S.A.), Rio de Janeiro (Brazil).
- Özkan, E., Boz Doğan, İ., Duro, S., Szara, T., Jashari, T., Parkan Yaramış, Ç., Spataru, M.-C., & Witkowski, M. (2024). *Geometric morphometric evaluation of mandibles of four sheep breeds: Bardoka, İvesi, Polish Mountain sheep and Turcana*. *Anatomia, Histologia, Embryologia*, 53, e13048. DOI: [10.6620/ZS.2019.58-19](https://doi.org/10.6620/ZS.2019.58-19).
- Palci, A., Hutchinson, M. N., Caldwell, M. W., & Lee, M. S. (2017). *The morphology of the inner ear of squamate reptiles and its bearing on the origin of snakes*. *Royal Society open science*, 4(8), 170685. DOI: <https://doi.org/10.1098/rsos.170685>.
- Pitakarnnop, T., Buddhachat, K., Euppayo, T., Kriangwanich, W., & Nganvongpanit, K. (2017). *Feline (Felis catus) skull and pelvic morphology and morphometry: Gender-related difference?* *Anatomia, histologia, embryologia*, 46(3), 294-303. Doi: 10.1111/ahe.12269
- Polisar, J., Davies, C., Morcatty, T., Da Silva, M., Zhang, S., Duchez, K., ... & Reuter, A. (2023). *Multi-lingual multi-platform investigations of online trade in jaguar parts*. *PloS one*, 18(1), e0280039. DOI:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0280039>
- Radloff, F. G., & Du Toit, J. T. (2004). *Large predators and their prey in a southern African savanna: a predator's size determines its prey size range*. *Journal of Animal Ecology*, 73(3), 410-423. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.0021-8790.2004.00817.x>.
- Ratnasingham, S., & Hebert, P. D. (2007). *BOLD: The Barcode of Life Data System (http://www.barcodinglife.org)*. *Molecular ecology notes*, 7(3), 355-364. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01678.x>.
- Reis, S.T.J.; Monteiro, K.R.G.; Costa, I.L.; Rocha, P.T.; Deitos, A.R. *Zoomorfologia Forense*. In Tostes, R.A.; Reis, S.T.J.; Castilho, V.V. *Tratado de Medicina Veterinária Legal*, (No Prelo). V. 2. Cap 9, Curitiba, Medvop.
- Segura, V., Prevosti, F., & Cassini, G. (2013). *Cranial ontogeny in the Puma lineage, Puma concolor, Herpailurus yagouaroundi, and Acinonyx jubatus (Carnivora: Felidae): a three-dimensional geometric morphometric approach*. *Zoological*

Journal of the Linnean Society, 169(1), 235-250. DOI:
<https://doi.org/10.1111/zoj.12047>.

Segura, V; Cassini, G. H.; Prevosti, F. J. *Three-dimensional cranial ontogeny in pantherines (Panthera leo, P. onca, P. pardus, P. tigris; Carnivora; Felidae)*. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 120, n. 1, p. 210-227, 2017. Doi: <https://doi.org/10.1111/bij.12888>

Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA11: *molecular evolutionary genetics analysis version 11*. *Molecular biology and evolution*, 38(7), 3022-3027. DOI: <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>.

Wiley, D. F., Amenta, N., Alcantara, D. A., Ghosh, D., Kil, Y. J., Delson, E., Harcourt-Smith, W., Rohlf F. J., John, K. St. & Hamann, B. (2007). *Landmark Editor Version 3.6*. Institute for Data Analysis and Visualization. Davis CA: University California.