

MAURICIO PINTO DE ALMEIDA

Pesca, Policromatismo e Aspectos Sistemáticos de

***Potamotrygon scobina* Garman, 1913**

(Chondrichthyes: Potamotrygonidae)

da Região da Ilha de Colares - Baía de Marajó - Pará

Dissertação apresentada como requisito parcial para
obtenção do título de Mestre do Programa de Pós-
Graduação em Zoologia da Universidade Federal do Pará
e do Museu Paraense Emílio Goeldi.

Orientador: Prof. Dr. Ronaldo Borges Barthem

BELÉM

2003

MAURICIO PINTO DE ALMEIDA

Pesca, Policromatismo e Aspectos Sistemáticos de

***Potamotrygon scobina* Garman, 1913**

(Chondrichthyes: Potamotrygonidae)

da Região da Ilha de Colares - Baía de Marajó - Pará

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre do Programa de Pós-Graduação em Zoologia da Universidade Federal do Pará e do Museu Paraense Emílio Goeldi, pela Banca Examinadora formada pelos professores:

Orientador:

Prof. Dr. Ronaldo Borges Barthem
Coordenação de Zoologia, MPEG.

Prof. Dr. Ricardo de Souza Rosa
Departamento de Sistemática e Ecologia, UFPB.

Prof. Dr. Horácio Higuchi
Coordenação de Zoologia / Ictiologia, MPEG.

Prof^a. Dr^a. Maria Iracilda da Cunha Sampaio
Departamento de Genética - Universidade Federal
do Pará - Campus Universitário de Bragança.

Prof. Dr. Wolmar Benjamin Wosiacki
Coordenação de Zoologia / Ictiologia MPEG.

Belém, 07 de março de 2003.

Dedico este trabalho a **PATRICIA...**

porque só você sabe...

que sem a sua ajuda...

NADA DISSO SERIA POSSÍVEL!

AGRADECIMENTOS

- Ao Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG) pelo apoio ao curso de Mestrado em Zoologia e uso de suas dependências na realização do presente estudo;
- Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de uma bolsa no decorrer de 24 meses de mestrado;
- A **WWF** – Fundo Mundial para a Natureza e **Ford Foundation** pelo apoio financeiro parcial para realização desta pesquisa;
- Ao meu orientador, Dr. Ronaldo B. Barthem, pelo espaço para o presente estudo, também pela orientação, sugestões, críticas, confiança e amizade;
- Aos meus também “orientadores”, Dr. Ulisses Galatti e Dra. Cristina Espósito, que colaboraram para cumprir com as burocracias da Coordenação do PPGZ - MPEG;
- A Coordenação do Mestrado em Zoologia (Dra. Ana Harada e Dra. Cristina Espósito), do convênio MPEG / UFPA, pelo apoio parcial recebido e atenção para realização desta pesquisa;
- A Dra. Maria Iracilda da Cunha Sampaio, do Laboratório de Genética e Biologia Molecular do Núcleo de Estudos Costeiros (NEC) do Campus Universitário de Bragança (UFPA), pela disponibilização irrestrita de suas instalações, além de todo apoio, sugestões, carinho e atenção;
- Ao Dr. Cecílio e Dr. Cassou, que entenderam a importância deste estudo e criaram condições especiais, para que ele pudesse ser realizado;
- Agradecimento especial ao estagiário Anderson Viana pela amizade, auxílio irrestrito nas análises (independentemente de horários ou datas), críticas e sugestões;

- Aos biólogos e estagiários Alexandre Bragança e Raimundo Maués, pelo incansável apoio nas fases de campo;
- A MSc. Simoni (UFPA - Bragança), cuja colaboração, carinho, atenção e disponibilidade, foi primordial para os resultados genéticos aqui apresentados;
- Ao MSc. Vicente Faria, que mesmo estando longe e ocupado sempre se prontificou a ajudar, aconselhar e resolver os meus problemas;
- Ao MSc. Robson Gil e MSc. Simoni Teixeira, por toda ajuda nas análises estatísticas, sugestões e disponibilidade de tempo para colaborar;
- Ao MSc. Ricardo Santos, pela amizade e ajuda na estadia em Bragança;
- A MSc. Claudene, MSc. Renan, Janice e MSc. Alexandra (UFPA - Bragança), pelo apoio e auxílio nas análises genéticas, busca de bibliografias, sugestões e idéias;
- Aos meus amigos e “padrinhos” em elasmobrânquios, MSc. Getúlio Rincón, MSc. Maria Lúcia Araújo e ao Dr. Ricardo Rosa pelo incentivo e apoio na pesquisa com raias de água doce;
- A colega MSc. Lilianne Pirker pela companhia, amizade, apoio, sugestões, revisões, críticas e incansável auxílio;
- Agradecimento especial ao meu amigo Augusto Ruffeil “Guto”, nem tanto pela ajuda, mas pela amizade (que para mim vale muito mais), nestes últimos 03 anos;
- A todos os pescadores da ilha de Colares por terem realizado as capturas dos exemplares analisados e por terem se arriscado a trazer raias com os ferrões a bordo de seus barcos;

- A todos os professores do curso de mestrado em zoologia por terem compartilhado sua sabedoria e conselhos durante as aulas;
- As secretárias Ana Cristina Pacheco Quaresma (PPGZ), Márcia Costa (DZO) e Dorotéia de Fátima Silva de Albuquerque - “madame XXX” (PPGZ) pelo carinho e auxílio em tantas ocasiões, que se listadas fossem, seriam maiores que este trabalho;
- A todos os funcionários do MPEG que auxiliaram nesta pesquisa, em especial aos do Setor de Ictiologia: Dr. Horácio, MSc. Ivaneide, Sr. Aragão, Sr. Alberto;
- Ao pessoal que sempre estava presente no Museu Goeldi (produzindo ou navegando) Caio, Fernando, “Travassos”, Gabriel, Renata, Suleima, Emil, “Cristiano - ta ligado”, Mauricio Zorro, Ruth, Rodolfo, Tomaso, Lula, Miúdo, Marcos Pérsio, por ter tornado este caminhar mais descontraído e divertido;
- Aos meus pais e ídolos, Lory e José Maria, por me mostrarem todo dia, que com dedicação, educação e principalmente honestidade tudo é possível na vida;
- A todos aqueles que contribuíram de maneira direta ou indireta para realização deste trabalho e não são citados aqui, por motivos de espaço e / ou esquecimento, os meus mais sinceros agradecimentos;
- Ainda agradeço a todos aqueles “espíritos de porco”, que apesar de poderem, não colaboraram com absolutamente nada, mas felizmente também não atrapalharam.

“Se consegui ver mais longe...

foi porque me apoiei no ombro de gigantes” (Isaac Newton).

SUMÁRIO

1 - Introdução.....	1
2 - Objetivos	8
2.1 - Objetivo Geral.....	8
2.2 - Objetivos Específicos.....	8
3 - A Pesca de Raias na Região de Colares	9
3.1 - Introdução.....	9
3.1.1 - Ambiente de Estudo	9
3.2 - Material e Métodos	13
3.2.1 - Periodicidade e Esforço de Coleta	13
3.2.2 - Caracterização do Ambiente	14
3.2.3 - Procedimentos Gerais de Coleta em Campo.....	14
3.3 - Resultados.....	17
3.3.1 - Características Ambientais	17
3.3.2 - Composição das Capturas.....	18
3.4 - Discussão	26
3.5 - Conclusões.....	32
4 - Padrões de Coloração e Considerações Morfológicas, Morfométricas e Genéticas de <i>Potamotrygon scobina</i>	34
4.1 - Introdução.....	34
4.1.1 - Revisão da Literatura sobre <i>P. scobina</i>	36
4.2 - Materiais e Métodos.....	42
4.2.1 - Padrões de Coloração	42
4.2.2 - Características Externas.....	42
4.2.3 - Morfometria	43
4.2.3.1 - Caracteres Morfométricos Utilizados.....	43
4.2.3.2 - Dimorfismo Sexual Considerando Medidas Morfométricas.....	48
4.2.3.3 - Análise Multivariada	48
4.2.3.4 - Componentes Principais.....	49
4.2.3.5 - Análise de Função Discriminante.....	50
4.2.4 - Genética	50
4.3 - Resultados.....	55

4.3.1 - Estrutura Sexual e de Tamanho em <i>Potamotrygon scobina</i>	55
4.3.2 - Caracterização dos Padrões de Coloração Dorsal.....	57
4.3.2.1 - Juvenis.....	57
4.3.2.2 - Adultos.....	58
4.3.3 - Características Externas.....	66
4.3.3.1 - Juvenis.....	66
4.3.3.2 - Sub-adultos / Adultos.....	67
4.3.4 - Morfometria.....	71
4.3.4.1 - Caracterização Morfométrica.....	71
4.3.4.2 - Dimorfismo Sexual.....	71
4.3.4.3 - Análise Multivariada Morfométrica.....	72
4.3.4.3.1 - Análise de Componente Principal de Machos.....	72
4.3.4.3.2 - Análise de Componente Principal de Fêmeas.....	76
4.3.4.3.3 - Função Discriminante de Machos.....	81
4.3.4.3.4 - Função Discriminante de Fêmeas.....	82
4.3.4.3.4.5 – Análise conjunta <i>P. scobina</i> e <i>P. orbignyi</i>	84
4.3.4.3.4.5.1 Análise de Componente Principal de Machos.....	84
4.3.4.3.4.5.2 Função Discriminante de Machos.....	89
4.3.5 - Genética.....	90
4.4 - Discussão.....	94
4.5 - Conclusões.....	105
5 - Conclusões Finais.....	107
6 - Referências Bibliográficas.....	108
7 - Anexos.....	119

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Imagem da região da baía de Marajó. O ponto 1 representa a ilha de Colares (Landsat TM, de 17/07/1986m, composição: 1B, 2G, 3R).	12
Figura 2 – Logaritmo da captura de raias em Colares por fase de coleta e sexo.....	20
Figura 3 – Localização esquemática dos três principais pontos de coleta na ilha de Colares.....	22
Figura 4 – Ilustração esquemática de um exemplar de <i>Potamotrygon scobina</i> , em vista ventral, com a indicação das medidas morfométricas tomadas para o presente estudo..	46
Figura 5 – Ilustração esquemática de um exemplar de <i>Potamotrygon scobina</i> , em vista dorsal, com a indicação das medidas morfométricas tomadas para o presente estudo...	47
Figura 6 - Distribuição dos padrões de coloração dorsal por sexo em animais sub-adultos e adultos de <i>P. scobina</i>	63
Figura 7 - Distribuição dos padrões de coloração dorsal por classes de largura de disco.	66
Figura 8 - Decaimento dos autovalores (Eigenvalues) da amostra estudada de machos sub-adultos e adultos de <i>P. scobina</i> capturadas em Colares	74
Figura 9 - Dispersão dos grupos a partir dos dois primeiros eixos de variação gerados pela análise de componentes principais para machos sub-adultos e adultos de <i>P. scobina</i> (A- Spot / B – Roseta / C – Roseta modificada / D – Escuro).....	75

Figura 10 - Decaimento dos autovalores (Eigenvalues) da amostra estudada de fêmeas sub-adultas e adultas de <i>P. scobina</i> provenientes de Colares.....	78
Figura 11 - Dispersão dos grupos a partir dos dois primeiros eixos de variação gerados pela análise de componentes principais para fêmeas sub-adultas e adultas de <i>P. scobina</i> . (A- <i>Spot</i> / B – <i>Roseta</i> / C – <i>Roseta modificada</i> / D – <i>Escuro</i>).....	79
Figura 12 - Plotagem dos scores canônicos 1 e 2 para machos sub-adultos e adultos de <i>P. scobina</i> . (A- <i>Spot</i> / B – <i>Roseta</i> / C – <i>Roseta modificada</i> / D – <i>Escuro</i>).	82
Figura 13 - Plotagem dos scores canônicos 1 e 2 para fêmeas sub-adultas e adultas de <i>P. scobina</i> . (A- <i>Spot</i> / B – <i>Roseta</i> / C – <i>Roseta modificada</i> / D – <i>Escuro</i>).....	83
Figura 14 - Decaimento dos autovalores (Eigenvalues) utilizando os dados morfométricos logaritimizadas da amostra estudada analisando-se concomitante os machos capturados em Colares, de <i>P. scobina</i> e <i>P. orbigny</i>	86
Figura 15 - Dispersão dos grupos a partir dos dois primeiros eixos de variação gerados pela análise de componentes principais para machos sub-adultos e adultos de <i>P. scobina</i> . (A- <i>Spot</i> / B – <i>Roseta</i> / C – <i>Roseta modificada</i> / D – <i>Escuro</i>) e <i>P. orbigny</i> (ORB).....	87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Medidas de máxima, mínima e média de temperatura, condutividade, salinidade, pH e oxigênio dissolvido nas áreas de coleta do presente estudo, sendo n= número de medidas realizadas.	17
Tabela 2 – Composição das capturas por espécie e classe de tamanho em Colares (%FO porcentagem de frequência de ocorrência).	19
Tabela 3 – Distribuição do número de exemplares capturados por espécie nos locais específicos de capturas na ilha de Colares (FOCAP = Frequência de ocorrência de captura).	21
Tabela 4 – Peso e número de animais por classes de peso bruto e espécie da amostra capturada em Colares.	23
Tabela 5 – Demonstrativo das capturas por aparelhos de pesca em Colares.	24
Tabela 6 – Demonstrativo em peso do conjunto das capturas, por aparelhos de pesca e marés em Colares.	25
Tabela 7 – Distribuição do número de animais capturados de acordo com os diferentes tipos de substratos identificados nas localidades de coleta.	25
Tabela 8 - Distribuição do número de <i>P. scobina</i> capturadas na região de Colares, por viagem (fase de coleta), classes de largura de disco e sexo.	55
Tabela 9 - Contribuição das fêmeas com largura de disco superior a 500 mm nas fases de captura em Colares.	56

Tabela 10 – Valores de proporção sexual, para as fases de captura, utilizando-se o método do chi-quadrado.....	56
Tabela 11 - Relação entre os principais padrões de coloração dorsal e a presença de reticulado na amostra sub-adultos/adultos de <i>P. scobina</i> de Colares.	59
Tabela 12 - Relação entre a coloração dos spots e os principais padrões de coloração na superfície dorsal em sub-adultos / adultos.....	60
Tabela 13 - Combinação numérica dos caracteres cor da superfície ventral, coloração ventral das nadadeiras pélvicas e coloração ventral da cauda em espécimens sub-adultos/adultos de <i>P. scobina</i> capturados em Colares.	62
Tabela 14 – Distribuição dos padrões de coloração dorsal em sub-adultos/adultos identificados como <i>P. scobina</i>	63
Tabela 15 – Valores de chi-quadrado para distribuição dos padrões de coloração dorsal entre machos e fêmeas em sub-adultos / adultos de <i>P. scobina</i> capturados em Colares.....	64
Tabela 16 - Porcentagens dos padrões de coloração dorsal por fase de captura, em relação ao total de animais sub-adultos e adultos de <i>P. scobina</i> capturados.....	64
Tabela 17 - Distribuição dos padrões de coloração dorsal por classes de largura de disco.	65
Tabela 18 - Distribuição dos espinhos na superfície da cauda em animais sub-adultos / adultos identificados como <i>P. scobina</i>	68

Tabela 19 – Porcentagens da combinação entre locais e densidades dos denticulos dérmicos, encontrados na superfície dorsal do disco de <i>P. scobina</i> (des. = desenvolvidas).	69
Tabela 20 - Resultados do teste ANCOVA aplicado para verificar variações nas medidas que sejam relacionadas ao dimorfismo sexual de <i>P. scobina</i> . (em vermelho as medidas que apresentaram significância para $p < 0,05$).	72
Tabela 21- Representação dos autovalores (Eigenvalues) encontrados nos machos utilizando os dados morfométricos logaritimizados de <i>P. scobina</i> provenientes de Colares.....	73
Tabela 22 – Autovetores (Eigenvector) dos cinco primeiros componentes das variáveis morfométricas analisadas em machos (em vermelho os autovetores maiores que 0,70).	76
Tabela 23 - Representação dos autovalores (Eigenvalues) encontrados nas fêmeas, utilizando os dados morfométricos logaritimizados de <i>P. scobina</i> capturadas em Colares.....	77
Tabela 24 – Correlação entre as variáveis morfométricas analisadas em fêmeas, utilizando os cinco primeiros componentes resultantes (em vermelho as significativas para $p > 0,70$).	80
Tabela 25 - Reclassificação dos machos utilizando padrões de coloração dorsal em exemplares sub-adultos / adultos de <i>P. scobina</i> capturadas em Colares.....	81

Tabela 26- Reclassificação das fêmeas utilizando padrões de coloração dorsal em exemplares sub-adultos/adultos de <i>P. scobina</i> capturadas em Colares.....	83
Tabela 27 - Representação dos autovalores (Eigenvalues) encontrados na análise concomitante dos machos capturados em Colares de <i>P. scobina</i> e <i>P. orbignyi</i> , utilizando-se os dados morfométricos logaritimizados.....	85
Tabela 28 – Correlação entre as variáveis morfométricas analisadas em machos, utilizando os cinco primeiros componentes resultantes.....	88
Tabela 29 - Reclassificação dos machos utilizando padrões de coloração dorsal em exemplares sub-adultos / adultos de <i>P. scobina</i> e <i>P. orbignyi</i> capturados em Colares. .	89
Tabela 30 - Exemplares amostrados de <i>Potamotrygon scobina</i> capturados em Colares para o estudo de genética molecular.	92
Tabela 31 – Comparação dos percentuais de divergências nucleotídicas para um segmento de gene mitocondrial rRNA 16 S, entre e os dados de Marques, 2000 (1); e Araújo, 2002 (2); animais identificados como <i>P. scobina</i> de Colares (3) e (4) animais identificados como <i>P. orbignyi</i> coletados em Colares. (em amarelo os animais que quando comparados, obtiveram 100 % de similaridade)	93

RESUMO

O presente estudo incluiu espécimes da Família Potamotrygonidae, única dentre os elasmobrânquios em que todos os representantes são exclusivamente de água doce. Este trabalho foi desenvolvido na região estuarina da baía de Marajó, na ilha de Colares, durante os meses de maio, agosto, outubro e dezembro de 2000, dezembro de 2001 e março de 2002. As coletas compreenderam os gêneros *Plesiotrygon*, *Potamotrygon*, *Paratrygon* e um quarto gênero não descrito, totalizando 723 exemplares capturados. Informações relacionadas à frequência de ocorrência e biomassa indicaram uma predominância nesta região do gênero *Potamotrygon*, em especial da espécie *P. scobina*. O tamanho das raias capturadas foi influenciado pelos aparelhos de pesca. Observações sobre os padrões de coloração dorsal, estrutura de tamanho e sexual da espécie *P. scobina* foram realizadas. Os resultados da análise estatística multivariada e da genética molecular para *P. scobina*, mostraram que os morfotipos comumente definidos com base em padrões de coloração dorsal não se referem na realidade a espécies distintas. Três novos padrões de coloração dorsal para sub-adultos / adultos e dois novos padrões para juvenis foram observados em *P. scobina*. Os caracteres externos analisados para a referida espécie mostraram uma ampla variação em forma, número, tamanho e disposição dessas estruturas, mais evidentes nas classes sub-adulta / adulta. As raias de água doce nesta região são rotineiramente capturadas predominantemente para fins como alimento, medicinais e ornamentais. A conservação das espécies de raias de água doce requer maiores conhecimentos sobre sua biologia e taxonomia para acompanhamento de sua exploração e eventuais medidas de manejo.

ABSTRACT

The present study included specimens of the Family Potamotrygonidae, the only one among elasmobranchs formed entirely by freshwater representatives. This research was developed in the estuarine region of the Marajó Bay, in the island of Colares, during the months of May, August, October and December of 2000, December of 2001 and March of 2002. Sampling included the genera *Plesiotrygon*, *Potamotrygon*, *Paratrygon* and a fourth undescribed genus, totalizing 723 captured specimens. Frequency of occurrence and biomass results indicated a predominance of the genus *Potamotrygon* especially of the species *P. scobina* in this area. Fishing gear utilized influenced the size of the stingrays captured. Specific observations related to the dorsal color patterns, size and sexual distribution of the species *P. scobina* were made. Results of multivariate statistical analysis and molecular genetics indicated that dorsal color patterns as currently employed in distinguishing morphotypes in fact did not indicate separate species and a single group was formed. Three previously undescribed dorsal color patterns for sub-adults / adults and two new patterns for juvenile specimens were identified for *P. scobina*. External characters analyzed for this species presented a wide variation in form, number, size and structure disposition that were more evident in sub-adults / adults. In this region, freshwater stingrays are routinely captured mainly for food and for medical and ornamental purposes. The conservation of freshwater stingrays species requires further knowledge about their biology and taxonomy in order to follow-up its exploitation and perhaps indicate management procedures.

1 - Introdução

A América do Sul abarca um considerável número de espécies de peixes tropicais de água doce (Lowe-McConnell, 1998), dentre as quais representantes da Classe Chondrichthyes.

A Classe Chondrichthyes subdivide-se, segundo Nelson (1994), nas sub-classes Elasmobranchii, (tubarões e raias), e Holocephalii, (quimeras).

Esta Classe apresenta como principais características diagnósticas, o esqueleto cartilagenoso, crânio composto de uma só peça, ausência de bexiga natatória, pele recoberta por denticulos dérmicos (Compagno 1990), além de mandíbulas articuladas e a presença de brânquias com filamentos em forma de lâminas (Lasso, 1985).

Compagno (1990), em um levantamento mundial para espécies de Chondrichthyes, relata a ocorrência de aproximadamente 494 espécies de raias e 376 de tubarões. Considerando apenas o Território brasileiro, o Relatório do Programa Nacional de Levantamento Biológico (Lessa *et al.*, 1999) indica a ocorrência de 45 espécies de raias e 82 espécies de tubarões para a costa nacional; entretanto, não são consideradas nesta estimativa as raias de água doce. A Família Potamotrygonidae, na qual estes últimos estão inclusos, caracteriza-se por ser a única família de elasmobrânquios cujos representantes são todos estritamente dulce aquícolas (Compagno & Cook, 1995), com a capacidade de se reproduzir e osmorregular de maneira eficiente neste ambiente (Thorson *et al.*, 1983) e possuindo ainda uma distribuição restrita a algumas bacias hidrográficas da região neotropical.

As raias são Chondrichthyes que possuem como principais características gerais: o corpo achatado, fendas branquiais na região ventral, nadadeiras peitorais grandes e amplamente unidas à cabeça e ao tronco, nadadeiras caudal e dorsais reduzidas ou

ausentes, inexistência de nadadeira anal e, finalmente, a presença na região posterior aos olhos de uma estrutura denominada espiráculo, que tem função auxiliar no envio de água para as brânquias (Compagno 1990).

O conhecimento da taxonomia e da nomenclatura deste grupo ainda é bastante polêmico e confuso, sendo comuns denominações diferentes para uma mesma espécie (Zorzi, 1995). Historicamente, a maioria dos trabalhos existentes com raias, referem-se a descrições e considerações sistemáticas nas décadas de 60 e 70 (Castex, 1963; Castex, 1964; Castex & Maciel, 1965 e Achenbach & Achenbach, 1976, dentre outros), existindo ainda atualmente poucas informações sobre a biologia e ecologia deste grupo, apesar de sua ampla distribuição e comprovada importância médica.

Rosa (1985), em uma revisão da Família Potamotrygonidae, elaborou um trabalho de fundamental importância para organizar, fornecer caracteres diagnósticos e descrever de maneira padronizada as espécies contidas nesta Família. Ele apontou a existência de três gêneros válidos, com aproximadamente 24 espécies para a região neotropical.

Mould (1997) disponibilizou por meio eletrônico o levantamento das espécies baseada na literatura e em sua experiência, que culminou numa lista de 20 espécies válidas, da Família Potamotrygonidae, distribuídas em três gêneros. No Brasil são conhecidas até o momento, 15 espécies pertencentes aos três gêneros (Mould, 1997), o que indica que no país encontra-se um importante reservatório da biodiversidade destes animais.

Pode-se afirmar, entretanto, que o número de espécies e mesmo de gêneros ainda é um tanto incerto (Rosa *et al.*, 1987), já que novas espécies e um gênero não descrito têm sido encontrados tanto na Bacia Amazônica (região de Marajó), quanto na Bacia do Paraná e no sistema do rio da Prata (Araújo, 1998; Charvet-Almeida, 2001).

Este incremento sistemático deve-se basicamente ao aumento considerável de pesquisas pelos diferentes grupos envolvidos no Brasil a partir do final da década de 90. Tais estudos enfocaram principalmente a biologia destes animais e, em alguns casos, representaram o único trabalho realizado depois da descrição da espécie, a qual na sua maioria ocorreu no início do século passado.

Etimologicamente originário do grego, significa raia de água doce. Os gêneros: *Trygon*, *Taeniura*, *Taenura*, *Toenura*, *Ellipesurus*, são sinônimos em parte do gênero *Potamotrygon*, apresentando ainda em algumas citações, erros de grafia (*lapsus calami*), como em *Potamotrigon*, *Potomotrygon*, *Potamotrygan*, *Potamotriygon* (Rosa, 1985). O gênero *Potamotrygon* apresenta uma combinação de caracteres que tem como elementos diagnósticos principais: cauda relativamente curta, menos que duas vezes a largura do disco em comprimento, distalmente comprimida, apresentando pregas ("finfolds") ventrais e dorsais; disco oval a circular com proeminência anteromediana; olhos relativamente grandes e pedunculados; ceratobranquiais I-IV fundidas umas as outras; e 82 a 112 raios na nadadeira peitoral (Rosa, 1985).

Estudos (Rosa & Menezes, 1996; Rosa, 1997) apontam a possível ocorrência de endemismo para as espécies *Potamotrygon henlei* no sistema Tocantins-Araguaia e *P. leopoldi* na Bacia do rio Xingu, sendo que *P. henlei* é afetada biologicamente pelos efeitos de represamentos e *P. leopoldi* é afetada por atividades de mineração e também de represamento (Rosa, 1997).

A respeito dos aspectos gerais de alimentação de potamotrigonídeos, existe um número restrito de trabalhos. Ferreira *et al.* (1998) apontam as Potamotrygonidae como sendo consumidoras de peixes e crustáceos. Rosa *et al.* (1987) apontam *Plesiotrygon iwamae* com sendo uma espécie predominantemente piscívora. Lasso *et al.* (1996)

observaram que *Paratrygon aiereba* tem uma preferência por peixes e camarões, enquanto que *Potamotrygon orbignyi* apresentou uma grande quantidade de insetos em seus estômagos. Charvet-Almeida (2001) observou que na região de Colares *Plesiotrygon iwamae* apresentou preferência por crustáceos e peixes.

Ecologicamente, as raia caracterizam-se como k-estrategistas, apresentando alta longevidade, taxas lentas de crescimento, maturação sexual tardia, baixa fecundidade e longos períodos de gestação, apresentando desta forma uma baixa capacidade de recuperação a impactos negativos (Holden, 1974).

A estratégia reprodutiva de elasmobrânquios marinhos tem sido apontada como fator limitante para a sustentabilidade de sua exploração (Pratt & Casey, 1990). Raia de água doce são muito mais vulneráveis a impactos localizados que as raia marinhas devido principalmente à sua restrita distribuição. Considerando que ambas possuem estratégias reprodutivas semelhantes, pode-se afirmar que as raia marinhas são menos ameaçadas por apresentarem uma distribuição bem mais ampla (Compagno & Cook, 1995).

O conhecimento da reprodução das raia de água doce é ainda escasso, destacando-se os trabalhos de Thorson *et al.*, 1983; Pinto, 1987; Lasso *et al.*, 1996 e Araújo, 1998. Os estudos feitos até o momento relatam que as raia de água doce apresentam um modo de reprodução denominado viviparidade aplacentária (Thorson *et al.*, 1983) ou viviparidade com matrotrofia-trofodermata (Wourms *et al.*, 1988), típica das raia de ferrão, a qual se caracteriza pelo desenvolvimento de trofonemas (vilos uterinos), que secretam uma substância rica em lipídios e proteínas que nutre o embrião durante a gestação (Wourms, 1981). O número de filhotes, em geral, é proporcional à largura do disco da mãe. O trabalho de Achenbach & Achenbach (1976) relata observações de

Potamotrygon motoro com 9 a 15 fetos e *P. brachyura* com 19 crias, apesar de apontarem relatos de um número superior ao observado. Neste mesmo trabalho, os autores relatam pela primeira vez o cuidado maternal pela prole, onde indivíduos neonatos seriam mantidos sobre o dorso da mãe. Este fato também tem sido relatado mais recentemente por outros autores como Araújo (1998). Charvet-Almeida (2001) observou a ocorrência de um número máximo de quatro embriões para *Plesiotrygon iwamae* na região de Colares e Araújo (1998) o máximo de dois embriões para *Potamotrygon* sp. C. (arraia - cururu).

As raias de água doce não são apreciadas como peixe comestível, sendo consideradas como peixe de terceira qualidade e aproveitadas para fins de consumo somente na falta de uma melhor opção (Charvet-Almeida, 2001). Entretanto, são conhecidas por representarem perigo para os banhistas nas margens de lagos e rios, devido ao seu esporão que pode causar ferimentos dolorosos.

Charvet-Almeida (2001) relata o registro de até 25 acidentes por mês na região de Colares, que coincidem com feriados prolongados e meses de maior frequência por banhistas nos balneários.

A importância das arraias de água doce para a indústria brasileira de peixes ornamentais, principalmente no Estado do Amazonas, não pode mais ser ignorada (Araújo, 1999). No entanto, a mortalidade da produção é muito alta, sendo que apenas 40% do total de raias capturadas sobrevivem até a exportação (Araújo, 2000). As principais causas desta alta mortalidade são relacionadas a deficiências no transporte entre a área de captura e a de exportação, à rejeição por tamanho durante a triagem realizada pelos intermediários ou a perdas ao acaso. Além disso, o Brasil exporta regularmente espécies da fauna que ainda são desconhecidas para ciência,

desconhecendo as conseqüências dos efeitos da exploração comercial sobre sua população (Charvet-Almeida, 2001).

Brooks (1995) afirma que existe uma tendência de aumento na demanda das espécies de *Potamotrygonidae* no mercado internacional de peixes ornamentais. Araújo (1998) afirma que as espécies mais procuradas chegam a representar oficialmente cerca de um por cento do total de peixes ornamentais comercializados no Amazonas. Espécies do gênero *Potamotrygon* vêm sendo capturadas com freqüência no Estado do Pará, para a atividade ornamental; entretanto, a quase inexistência de trabalhos sobre a maioria das espécies deste gênero é indubitavelmente uma ameaça real à sua conservação (Charvet-Almeida, 2001).

Castex (1963) relata um procedimento tradicional comum entre os moradores de ilhas no rio Paraná, de cortar as caudas das raias com os esporões e devolvê-las aos rios, pelo receio de acidentes, o que caracterizaria para estes elasmobrânquios a prática de “pesca negativa”. Este mesmo procedimento foi detectado no Estado do Amazonas (no médio rio Negro) (Castello, 1975; Compagno, 1990; Araújo, 1998) e na região de Colares (Charvet-Almeida, 2001). A pesca negativa associada à destruição de seus habitats, poluição e desmatamentos, podem vir a comprometer a sobrevivência de algumas espécies do gênero *Potamotrygon* (Araújo, 1998).

A população residente na Bacia Amazônica em geral considera as raias de duas formas distintas: por um lado os acidentes nas praias comprometem as atividades de turismo local, com conseqüências econômicas negativas; por outro, o uso esporádico das raias como peixe ornamental, aliado ao uso alimentar e medicinal bastante difundido em algumas regiões, geram benefícios imediatos. De qualquer maneira, para gerar benefícios ou diminuir prejuízos, o aproveitamento local das raias em geral

consiste no seu abate. Assim, de uma maneira ou de outra, o seu manejo se faz necessário.

O conhecimento atual sobre estes animais na região de Colares, que é o local de estudo deste trabalho, é mais detalhado para *Plesiotrygon iwamae* (Charvet-Almeida, 2001). O gênero *Potamotrygon* Garman 1877 representou mais de 90 % da comunidade de raias nesta região, mas suas espécies não são facilmente reconhecidas (Charvet-Almeida, 2001).

A intenção deste trabalho é o de apresentar uma revisão sobre alguns aspectos da taxonomia e da pesca das raias na baía de Marajó, esclarecendo a identificação dos animais vulgarmente denominados “raias brancas”, identificadas previamente como *Potamotrygon scobina*, e descrevendo aspectos relacionados à captura destas raias.

O presente estudo está dividido em dois capítulos: o primeiro apresenta considerações sobre a comunidade de raias e sua pesca na região de Colares, e o segundo trata especificamente da confirmação da identificação de *P. scobina*, apresentando considerações sobre padrões de coloração dorsal, análises morfométricas e genéticas.

2 - Objetivos

2.1 - Objetivo Geral

Estudar a pesca de raias de água doce, as variações policromáticas, características taxonômicas externas e aspectos morfométricos de *Potamotrygon scobina* presentes na região de Colares - baía de Marajó - Pará.

2.2 - Objetivos Específicos

Pesca e Composição de Capturas de Raias em Colares

- Avaliar a biomassa e frequência de ocorrência de raias do gênero *Potamotrygon* nos períodos de coleta;
- Caracterizar a estrutura sexual e de tamanho (largura de disco) da espécie *P. scobina*;
- Estudar a distribuição espacial de *P. scobina* nos diferentes ambientes da ilha de Colares;
- Analisar a distribuição de *P. scobina* considerando características ambientais.

Morfometria e Policromatismo de *Potamotrygon scobina*

- Realizar um estudo morfométrico multivariado, baseado em medidas externas;
- Verificar através de estudos de genética molecular se os resultados do estudo morfométrico multivariado são consistentes;
- Caracterizar o polimorfismo de coloração corporal presente nesta espécie nos diferentes estádios de vida.

3 – A Pesca de Raias na Região de Colares

3.1 - Introdução

A pesca de raias para consumo na Amazônia não é comum e seu desembarque não é detectado nos principais portos comerciais da região (Isaac *et al.*, 1996; Cerdeira *et al.*, 1997; Batista, 1998). No entanto, a abundância de raias de água doce na costa da ilha de Colares é conhecida pelos pescadores que atuam na baía de Marajó, tendo propiciado o desenvolvimento de uma pescaria voltada para estas espécies.

A facilidade de captura dos elasmobrânquios, gerada pela suposta abundância local, despertou o interesse em se estudar as raias desta região. O estudo de raias na região de Colares é recente, tendo sido iniciado em 2000 (Charvet-Almeida, 2001). Este trabalho comprovou a abundância das raias de água doce e mostrou que o gênero *Potamotrygon* representa grande parte da captura das raias em Colares. No entanto, Charvet-Almeida (2001) não indicou quais eram as espécies de *Potamotrygon* ocorrentes na região.

Os objetivos do presente capítulo são: (i) identificar gêneros e espécies que ocorrem na baía de Marajó, (ii) estimar a biomassa e a frequência de ocorrência (distribuição sazonal) por espécie e (iii) fornecer informações básicas sobre as características ambientais e a captura de raias de água doce no município de Colares.

3.1.1 - Ambiente de Estudo

A baía de Marajó está incluída em um grande sistema estuarino (Figura 1) situado ao sul da ilha de Marajó no Estado do Pará. Ela recebe a descarga do rio Tocantins; de alguns afluentes de menor porte, como os rios Guamá, Mojú e Acará; e provavelmente

também parte da descarga do rio Amazonas, através do estreito de Breves (Barthem, 1985; Barthem & Schwassmann, 1994).

O Estuário Amazônico forma um ambiente peculiar e ainda pouco estudado abrigando espécies marinhas e de água doce, algumas de fundamental importância para a pesca regional e nacional, despertando assim interesse científico e econômico (Barthem, 1985; Charvet-Almeida, 2001).

Diferenças sazonais marcantes de pluviosidade na bacia Amazônica e do Tocantins provocam uma variação considerável no volume de água carreado por esses rios ao longo do ano, fazendo com que a zona de contato entre o rio e mar se desloque por aproximadamente 200 km de extensão (Egler & Schwassmann, 1962) e influencie diretamente a salinidade na baía de Marajó. As alterações na salinidade das águas desta baía tornam as mesmas salobras no verão amazônico (junho a dezembro) e doces no inverno amazônico (janeiro a maio) (Barthem, 1985). Dados obtidos por Barthem & Schwassmann (1994) indicam que nesta região há uma complexa dinâmica de deslocamentos de massas de água ao longo do ano. Durante o período chuvoso (1º semestre - inverno), a elevada descarga do rio Tocantins parece represar as águas do rio Amazonas próximo ao estreito de Breves e afastar as águas salobras para fora da baía, enquanto que no período mais seco (2º semestre - verão), quando a descarga do rio Tocantins é mínima, as águas do rio Amazonas penetram pelo estreito de Breves e entram em contato com as águas salobras que invadem a baía de Marajó (Barthem & Schwassmann, 1994).

Desta forma a alteração na salinidade das águas da baía de Marajó afeta diretamente a distribuição das espécies de raias de água doce ocorrentes na região, tanto

longitudinalmente como temporalmente, que são capturadas artesanalmente pelas comunidades ribeirinhas existentes (Charvet-Almeida, 2001).

O município de Colares é delimitado pela ilha de Colares situada na margem direita da baía de Marajó (latitude 0° 56' 23" S, longitude 48° 17' 10" W) (Figura 1). As curvas de precipitação totais anuais indicam que Colares está mais próximas da isoietas de 3000 mm. A temperatura média anual é de 26^o C. O trimestre mais seco do ano compreende os meses de setembro, outubro e novembro, e o mais chuvoso o período de fevereiro a abril (Brasil, 1974; Sudam, 1984).

O clima de Colares é do tipo Am (Sudam, 1984) ou Amw' (Brasil, 1974), caracterizado por chuvas do tipo monção, que mesmo com uma curta estação seca (um ou dois meses) garante umidade suficiente para alimentar a floresta tropical.

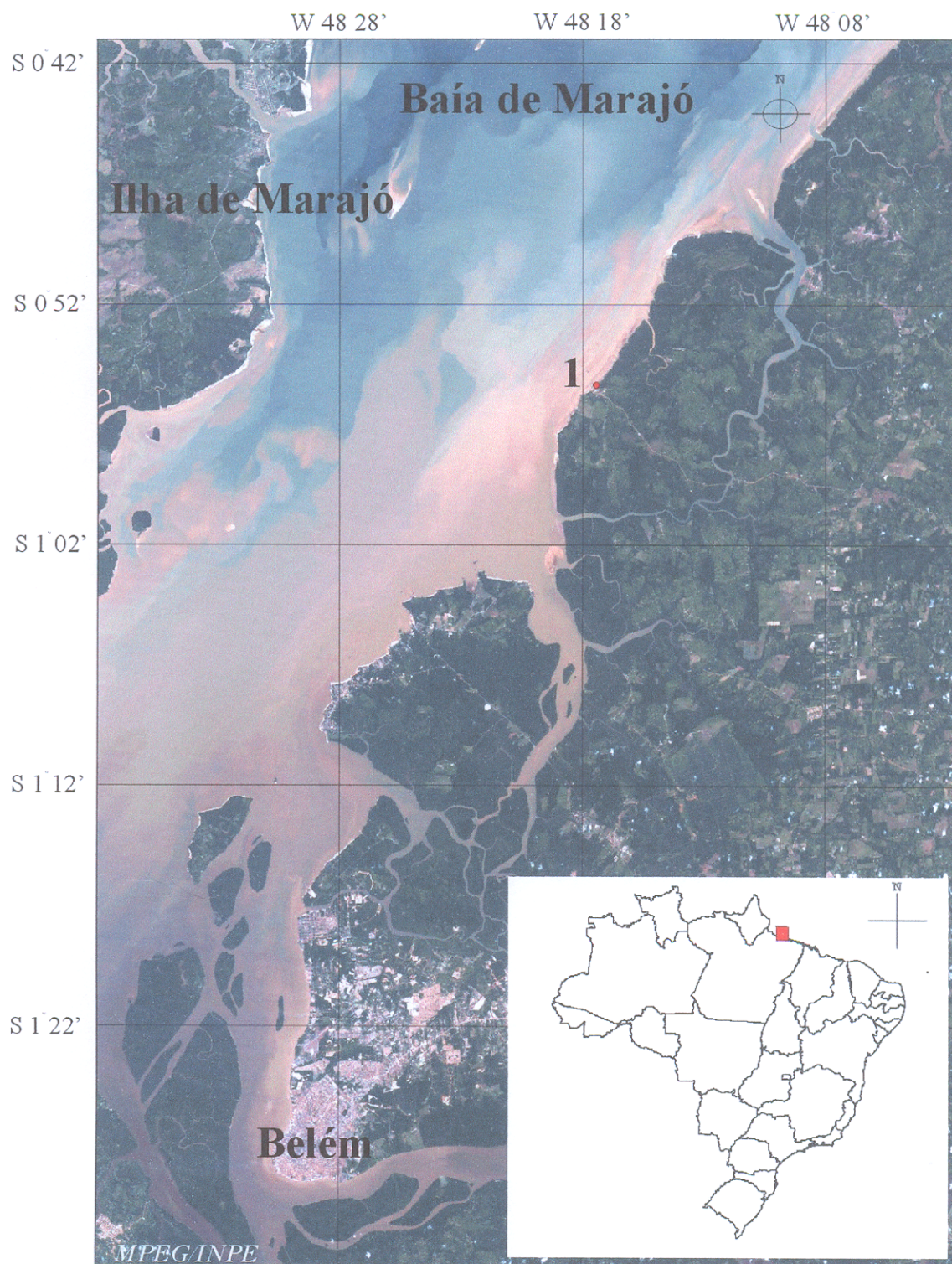


Figura 1 – Imagem da região da baía de Marajó. O ponto 1 representa a ilha de Colares (Landsat TM, de 17/07/1986m, composição: 1B, 2G, 3R).

3.2 - Material e Métodos

3.2.1 - Periodicidade e Esforço de Coleta

As coletas de material foram realizadas em sete viagens de campo, com duração de cinco dias cada, nos meses de maio, agosto e outubro de 2000; janeiro e dezembro de 2001 e março de 2002, abrangendo as principais variações sazonais (chuva, seca e de transição) para a região de Colares. Apenas as duas últimas fases de campo foram efetuadas para o presente estudo, sendo que as demais coletas e informações biológicas foram registradas na mesma localidade por Charvet-Almeida (2001). Os exemplares coletados anteriormente e durante o presente trabalho encontram-se em processo de tombamento junto à Coleção Ictiológica do Museu Paraense Emílio Goeldi.

As coletas foram efetuadas com auxílio de ajudantes de campo e pescadores artesanais locais pertencentes à Colônia de Pesca Z-18 do Município de Colares. Os exemplares foram capturados através de aparelhos de pesca utilizados pelos pescadores regionais, consistindo de espinhéis de 30-300 metros de comprimento, com espaçamento entre anzóis (número 7) de dois metros. Além dos espinhéis, foi construída uma rede de arrasto de praia de 100 metros de comprimento e malha de 70 mm entre nós extremos. Ambos os apetrechos utilizados são reconhecidos na literatura pela eficiência na captura de raias de água doce (Lasso *et al.*, 1996; Araújo, 1998; Charvet-Almeida, 2001). O uso de dois apetrechos de pesca também serviu para reduzir o efeito da seletividade de ambos, sendo os espinhéis eficientes em qualquer profundidade, mas seletivos quanto ao tamanho do peixe, e a rede eficiente na captura de qualquer tamanho de raias em águas rasas, mas impossível de ser empregada em águas mais profundas (acima de três metros). O esforço amostral não foi uniforme ao longo do período de estudo e nos vários locais de amostragem, mas pode ser considerado aproximado.

3.2.2 - Caracterização do Ambiente

Na ocasião de cada coleta foi medida a temperatura (°C), a condutividade (μS) e a salinidade (ppm), sendo que nas duas últimas coletas foram medidos também o pH e o oxigênio dissolvido (mg/l) da água. As medidas foram tomadas por aparelhos específicos portáteis (YSI 30 e OAKTON pH CON 10 Series). A hora aproximada, maré, tipo de substrato encontrado nos locais de captura, informações complementares, assim como a localização do ponto exato de coleta (quando possível) foi feita através de GPS (Magellan MAP 330). Os dados obtidos foram anotados em uma planilha de campo (Anexo 1).

3.2.3 - Procedimentos Gerais de Coleta em Campo

De maneira geral, para comparação e utilização de informações anteriormente coletadas, foram adotados os mesmos procedimentos metodológicos utilizados e descritos por Charvet-Almeida (2001). A identificação do material coletado foi baseada nas chaves dicotômicas e descrições de espécies dos trabalhos de Garman (1913), Rosa (1985) e Rosa *et al.* (1987).

As raias examinadas foram trazidas pelos pescadores e adquiridas assim que as canoas chegavam às praias ou quando as redes eram despescadas. No momento do desembarque foram registradas as informações relativas à pesca (Anexo 1). Após o desembarque, as raias para o estudo eram imediatamente analisadas, sendo dada atenção especial ao padrão de coloração dorsal. Diversos exemplares foram fixados para serem depositados na Coleção Ictiológica do Museu Paraense Emílio Goeldi, a fim de servirem de referência para condrofauna local amostrada. Outros espécimes foram imediatamente eviscerados, tendo em vista que seus órgãos reprodutivos, especialmente os dos machos, que sofrem rápida deterioração (Charvet-Almeida, 2001).

A rotina de análise das raias em campo consistia de: (i) fotografar o padrão de coloração das regiões ventral e dorsal; (ii) pesar, sexar e etiquetar as raias examinadas; (iii) anotar as informações relativas à captura; (iv) eviscerar em posição ventral por um corte de meia lua na cartilagem escapulocoracóide na região do abdome; e (v) extrair o fígado (que era imediatamente pesado e descartado), o estômago e os órgãos reprodutivos internos, rins e órgão epigonal. A pesagem dos indivíduos foi efetuada com balanças do tipo digital de marca Ohaus modelo LS 2000 (até dois quilogramas) ou do tipo dinamômetro de marca Pesola (acima de dois quilogramas).

Os estômagos, os órgãos reprodutivos internos, rins e órgão epigonal também foram etiquetados com a mesma numeração do exemplar, ensacados e imediatamente imersos para fixação em solução de formol 10 % tamponado com bórax. Este material não foi analisado no presente estudo.

Um fragmento de tecido muscular da região ventral também foi removido a partir da dissecação dos exemplares, fixado e armazenado em álcool etílico 70 %. Estas amostras foram posteriormente utilizadas nas análises genéticas.

Os exemplares eviscerados foram pesados novamente e, junto com aqueles destinados à coleção, foram fixados em solução de formol 10 %, recebendo injeções intramusculares / intraperitoniais e permanecendo imersos neste fixador por um mínimo de 48 horas e um máximo de 72 horas. Mesmo não sendo o intervalo de tempo de fixação mais recomendado para vertebrados (recomenda-se serem fixados por mais tempo - Ricardo S. Rosa comunicação pessoal), essa metodologia teve que ser seguida devido às condições e limitações do trabalho em campo.

O material formalizado foi lavado em água corrente por um período que variou entre 48 e 62 horas. Os exemplares foram posteriormente conservados em álcool 70 %,

dentro de tambores e caixas d'água de plástico. O material relacionado às análises genéticas ficou armazenado em potes plásticos de menores dimensões. A partir deste ponto as análises foram específicas para cada objetivo e metodologia empregada.

Utilizou-se o cálculo da frequência de ocorrência de captura (%FOCAP) dos gêneros e / ou espécies capturados, para indicar a abundância relativa dos táxons, estimada com base na fórmula:

$$\%FOCAP = \frac{FCAP}{n} \times 100$$

Onde: FCAP = número de indivíduos de uma determinada espécie que foram capturados; e n = número total de exemplares capturados durante os períodos de amostragem.

Para a avaliação da biomassa foi utilizado o cálculo de percentagem de biomassa (%B):

$$\%B = \frac{B_i}{B_{total}}$$

Onde: B_i = biomassa de um gênero ou espécie determinada que foi capturada ao longo do período de coletas; e B_{total} = biomassa total de todas as raias capturadas, a partir da obtenção do peso (g) de cada exemplar.

Importante salientar que 26 exemplares (exclusivamente neonatos ou juvenis) não foram pesados em campo por problemas operacionais. O conjunto destes exemplares pesou aproximadamente 3 kg e não foi computado na biomassa total capturada. Consideraram-se neonatos / juvenis aqueles animais que apresentaram largura de disco inferior a 200 mm (recém-nascidos ou sem qualquer evidência de início de maturidade sexual) e sub-adultos / adultos os que apresentaram valores maiores que 200 mm.

3.3 - Resultados

3.3.1 - Características Ambientais

Ao todo foram realizadas 60 medidas de parâmetros ambientais nas sete viagens de campo realizadas (Tabela 1). As variáveis ambientais que menos se alteraram ao longo das estações foram temperatura da água (27,2 - 31,5 °C), pH (5,64 - 5,75) e oxigênio dissolvido (7,2 - 8,5 mg/l) e as que refletiram melhor as variações sazonais foram condutividade (32,6 - 8040 μ S) e salinidade (0,0 - 4,5 ppm). As maiores médias mensais de salinidade e condutividade foram obtidas no mês de dezembro dos anos de 2000 e 2001 e os menores valores foram obtidos nos meses de maio de 2000 e março de 2002.

Tabela 1 – Medidas de máxima, mínima e média de temperatura, condutividade, salinidade, pH e oxigênio dissolvido nas áreas de coleta do presente estudo, sendo n= número de medidas realizadas.

Mês	n	Temperatura (°C)			Condutividade (μ S)			Salinidade (ppm)			pH			Oxigênio Dissolvido		
		min	máx	média	min	máx	média	min	máx	média	min	máx	média	min	máx	média
Maio 2000	9	28,3	29,0	28,64	32,6	1460	252,3	0,0	0,6	0,1	-	-	-	-	-	-
Agosto 2000	10	28,4	31,0	29,32	608	3372	1.990,9	1,3	4,0	2,18	-	-	-	-	-	-
Outubro 2000	23	27,5	30,0	28,66	491	5970	2.589,9	1,0	3,3	2,11	-	-	-	-	-	-
Dezembro 2000	3	27,2	28	27,63	3702	8040	5.610,7	2,0	4,5	3,46	-	-	-	-	-	-
Janeiro 2001	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dezembro 2001	9	28,6	30,7	29,26	4560	7660	6.070	2,4	4,1	3,17						
	4										5,64	5,72	5,67	7,4	8,5	7,7
Março 2002	6	28,0	31,5	29,61	54,8	112,2	92,1	0,0	0,1	0,05						
	1										5,64	5,75	5,71	7,2	-	-

3.3.2 - Composição das Capturas

Foi capturado um total de 723 raias da família Potamotrygonidae nas sete viagens de campo. As espécies do gênero *Potamotrygon* representaram 94 % da captura total de raias na região de Colares, sendo *P. scobina* a mais abundante, correspondendo a 55 % (n= 398) da amostra total, seguida de *P. orbignyi*, com 39 % (n= 281). Ainda foram capturados 40 indivíduos de *Plesiotrygon iwamae* e apenas dois exemplares de *Paratrygon aireba* e dois do novo gênero não identificado (Tabela 2).

Em janeiro de 2001, excepcionalmente foi realizado o resgate de um único exemplar (espécime do novo gênero) com tempo de permanência em Colares de apenas um dia, entretanto, os dados de captura foram utilizados nas estatísticas gerais do presente estudo.

A relação entre as classes de tamanho mostrou-se praticamente equilibrada considerando todas as raias, sendo 51 % (n= 371) composta por animais neonatos / juvenis e 49 % (n= 352) de animais sub-adultos / adultos. No entanto, esta relação não é verdadeira ao analisarmos as espécies isoladamente. A captura de *P. orbignyi* foi predominantemente baseada em indivíduos neonatos / juvenis (n= 276 ou 98 %) e a de *Plesiotrygon iwamae* e *P. scobina* em sub-adultos / adultos (n= 40 ou 100 % e n= 305 e 87 %, respectivamente), mostrando uma clara distinção na composição da captura dessas espécies (Tabela 2).

Tabela 2 – Composição das capturas por espécie e classe de tamanho em Colares (%FO por porcentagem de frequência de ocorrência).

Gênero espécie	Total de animais capturados		Animais neonatos / juvenis			Animais sub-adultos / adultos		
	Número de animais capturados	%FO do total capturado	Número de animais capturados	%FO na amostra total	%FO na espécie	Número de animais capturados	%FO na amostra total	%FO espécie
<i>Novo gen.</i>	2	0,28	1	0,26	50	1	0,28	50
<i>Paratrygon aireba</i>	2	0,28	1	0,26	50	1	0,28	50
<i>Plesiotrygon iwamae</i>	40	5,5	0	0	0	40	11,36	100
<i>Potamotrygon orbignyi</i>	281	38,9	276	74,4	98,22	5	1,42	1,77
<i>Potamotrygon scobina</i>	398	55,0	93	25,1	23,36	305	86,7	76,63
Total	723	100,00	371	100,00	-	352	100,00	-
% em relação ao total	---	---	51,31			48,69		

A Figura 2 apresenta a distribuição da captura logaritimizada das raia por época do ano, sexo e espécie. Pode-se observar a predominância de *P. scobina* e *P. orbignyi* na maioria dos meses, diferindo apenas no mês de dezembro de 2000, quando apenas um número extremamente baixo de *P. scobina* foi capturado (não representado no gráfico), e no mês de março de 2002, quando *P. orbignyi* não foi capturada. *Plesiotrygon iwamae* foi a mais abundante no mês de outubro de 2000.

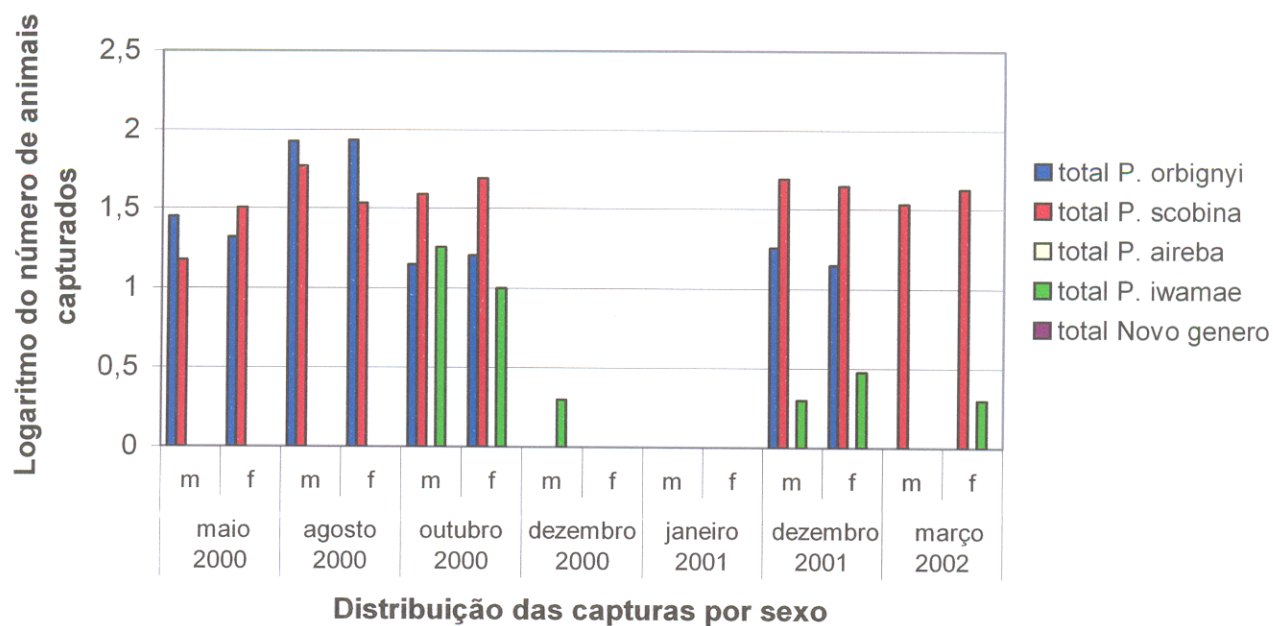


Figura 2 – Logaritmo da captura de raias em Colares por fase de coleta e sexo.

Quanto à distribuição das capturas por localidade, observou-se que as três localidades com maior porcentagem de captura foram Humaitá (286 animais ou 39,5 % do total capturado), Fora do Farol (171 animais ou 23,6 % do total capturado) e Ponta do Carmo (106 animais ou 14,6 % do total capturado). Os locais com menor frequência de captura foram Baía de Sol (três animais) e Pedra do Quati (um animal) (Tabela 3 e Figura 3).

Tabela 3 – Distribuição do número de exemplares capturados por espécie nos locais específicos de capturas na ilha de Colares (FOCAP = Frequência de ocorrência de captura).

Local de Captura	GÊNERO E ESPÉCIE										Total
	<i>Potamotrygon orbignyi</i>		<i>Potamotrygon scobina</i>		<i>Plesiotrygon iwamae</i>		<i>Paratrygon aireba</i>		<i>Novo gen.</i>		
	n	%FOCAP	n	%FOCAP	n	%FOCAP	n	%FOCAP	n	%FOCAP	
Pedras de fora	0	0	10	100,00	0	0	0	0	0	0	10
Baia doSol	0	0	1	33,33	2	66,66	0	0	0	0	3
Boca do Igarapé Ariri	21	40,38	30	57,69	0	0	1	1,92	0	0	52
Cajueiro	9	29,03	20	64,51	2	6,45	0	0	0	0	31
Farol	1	3,44	27	93,10	1	3,44	0	0	0	0	29
Fora do Farol	2	1,16	133	77,77	35	20,46	1,00	0,58	0	0	171
Humaitá	239	83,56	46	16,08	0	0	0	0	1,00	0,34	286
Pedra do Quati	0	0	1	100,00	0	0	0	0	0	0	1
Perto do Farol	0	0	7	100,00	0	0	0	0	0	0	7
Ponta do Carmo	2	1,88	104	98,11	0	0	0	0	0	0	106
Praia do Correio	7	63,63	3	27,27	0	0	0	0	1,00	9,09	11
Praia do Igarapé Poca	0	0	16	100,00	0	0	0	0	0	0	16
Total	281	---	398	---	40	---	2	---	2	---	723



Figura 3 – Localização esquemática dos três principais pontos de coleta na ilha de Colares.

A classe de peso entre um e cinco kg foi a mais representativa, com uma biomassa total final de 669,47 kg (40 %), sendo que *P. scobina* contribuiu com 88,8 % deste total. A menos representativa, apesar de ser a que possuía o maior número de animais capturados (n= 360), foi a classe de zero a um kg com 53,6 kg (3,2 %), onde os animais identificados como *P. orbignyi* representaram 78 % desta classe de peso. A classe de peso maior que 15 kg representou apenas 1,5 % dos indivíduos capturados, mas contribuiu com 11 % para biomassa total calculada (Tabela 4).

As espécies que contribuíram com a menor e maior biomassa em Colares foram o novo gênero não identificado, com dois animais capturados e 7,8 kg de peso total, e *Potamotrygon scobina*, com 398 animais (55 %) e 1.410,7 kg. Cerca de 47 % dos exemplares de *P. scobina* pesavam entre um e cinco kg e esta foi a única espécie que apresentou animais com peso maior que 15 kg (n= 11). A segunda espécie mais capturada foi *P. orbignyi*, com 281 exemplares (38 %) representando 57,4 kg (39 %) da biomassa total. Nesta espécie 73 % da biomassa e 97 % dos indivíduos apresentaram peso igual ou menor que um kg e nenhum indivíduo pesava mais que cinco kg (Tabela 4).

Tabela 4 – Peso e número de animais por classes de peso bruto e espécie da amostra capturada em Colares.

Espécies	Peso por classes de peso bruto (em kg)							Número de animais por classes de peso bruto					Total (n)
	0-<1	1-<5	5-<10	10-<15	=>15			0-<1	1-<5	5-<10	10-<15	=>15	
<i>Novo gênero</i>	0,33	0	7,5	0	0	7,83	2	1	0	1	0	0	2
<i>P. orbignyi</i>	41,93	15,48	0	0	0	57,41	281	273	8	0	0	0	281
<i>P. iwamae</i>	0,95	58,09	120,73	20,9	0	200,67	40	1	19	18	2	0	40
<i>P. aireba</i>	0	1,35	7,2	0	0	8,55	2	0	1	1	0	0	2
<i>P. scobina</i>	10,42	594,55	397,86	222,85	185	1410,7	398	85	228	55	19	11	398
Total Geral	53,63	669,47	533,29	243,75	185	1685,1	723	360	256	75	21	11	723

A arte de pesca mais eficiente foi o espinhel, que capturou 358 indivíduos (50 %) e 1.612 kg (96 %), e a menos eficiente foi à rede de arrasto de fundo, com três indivíduos (0,4 %) e 5 kg (0,3 %). A maior eficiência do espinhel foi na maré de enchente, quando foram capturados 1.054,09 kg (60 %), e a menor foi na baixa-mar, 62,8 kg (4 %). De uma maneira geral, a maré de enchente foi a mais favorável para a pesca de raias (1.073,76 kg), seguida da vazante (407,44 kg) e cheia (115,22 kg). A maré vazante foi à única em que se capturou animais com todos os aparelhos de pesca utilizados (Tabelas 5 e 6).

O espinhel foi o apetrecho de pesca mais eficiente para a captura de *P. scobina* (99 % da biomassa e 78 % dos indivíduos) e de *Plesiotrygon iwamae* (98,4 % da biomassa e 95 % dos indivíduos). Por sua vez, a rede de arrasto de praia, capturou 49,6 % da biomassa e 73,6 % dos animais identificados como *P. orbignyi*. Todos os animais (100 %) do novo gênero foram capturados em rede de arrasto de praia. O maior peso médio dos exemplares capturados foi proveniente da arte de pesca espinhel, enquanto que os menores estão relacionados ao apetrecho rede de arrasto de praia (Tabelas 5 e 6).

Tabela 5 – Demonstrativo das capturas por aparelhos de pesca em Colares.

Arte de Pesca	Número de animais					Indivíduos		Peso		Peso médio dos exemplares
	<i>Potamotrygon orbignyi</i>	<i>Potamotrygon scobina</i>	<i>Plesiotrygon iwamae</i>	<i>Paratrygon aireba</i>	<i>Novo gen.</i>	n	%	kg	%	
Espinhel	5	314	38	1	0	358	49,51	1.612,00	95,7	4,50
Rede de arrasto de fundo	0	1	2	0	0	3	0,42	4,98	0,3	1,66
Rede de arrasto de praia	207	70	0	1	2	280	38,72	49,9	3,0	0,17
Tapagem parcial de praia	69	13	0	0	0	82	11,35	18,26	1,1	0,22
Total Geral	281	398	40	2	2	723	100,00	1.685,14	100	---

Tabela 6 – Demonstrativo em peso do conjunto das capturas, por aparelhos de pesca e marés em Colares.

Apetrecho de pesca	Maré	Peso em kg					
		<i>Novo gênero</i>	<i>P. orbignyi</i>	<i>P. iwamae</i>	<i>P. aireba</i>	<i>P. scobina</i>	Total Global
Espinhel	baixa-mar	0	0	0	7,2	55,67	62,87
	cheia	0	2,08	2,42	0	110,72	115,22
	enchendo	0	10,25	70,31	0	973,53	1054,09
	vazante	0	0	124,66	0	255,16	379,82
Espinhel Total		0	12,33	197,39	7,2	1395,08	1612
Rede de arrasto de fundo	vazante	0	0	3,28	0	1,7	4,98
Rede de arrasto de fundo Total		0	0	3,28	0	1,7	4,98
Rede de arrasto de praia	baixa-mar	7,5	1,86	0	1,35	2,74	13,45
	enchendo	0	12,66	0	0	7,01	19,67
	vazante	0,33	13,98	0	0	2,47	16,78
Rede de arrasto de praia Total		7,83	28,5	0	1,35	12,22	49,9
Tapagem parcial de praia	baixa-mar	0	11,53	0	0	0,87	12,4
	vazante	0	5,05	0	0	0,81	5,86
Tapagem parcial de praia Total		0	16,58	0	0	1,68	18,26
Total Geral (kg)		7,83	57,41	200,67	8,55	1410,68	1685,14

A maioria das capturas das raias foi originada em ambientes relacionados a: substrato de lama (86,7 %), areia-lama (9 %) e lama-pedra (4 %). Somente um exemplar de *Potamotrygon orbignyi* e outro do novo gênero não identificado, foram coletados em fundo de areia (Tabela 7).

Tabela 7 – Distribuição do número de animais capturados de acordo com os diferentes tipos de substratos identificados nas localidades de coleta.

SUBSTRATO	<i>Potamotrygon orbignyi</i>	<i>Potamotrygon scobina</i>	<i>Plesiotrygon iwamae</i>	<i>Paratrygon aireba</i>	<i>Novo gen</i>	Total (n)	% de ocorrência
Areia	1	0	0	0	1	2	0,28
Areia/lama	30	34	0	1	0	65	8,99
Lama	249	337	39	1	1	627	86,72
Lama/pedra	1	27	1	0	0	29	4,01
Total Geral	281	398	40	2	2	723	100,00

3.4 - Discussão

As pescarias realizadas na região de Colares encontraram três gêneros conhecidos e um novo gênero de raias de água doce, mantendo a lista de gêneros obtida por Charvet-Almeida (2001). Destes, apenas *Potamotrygon* apresentou mais de uma espécie, *P. scobina* e *P. orbignyi*, sendo os demais monoespecíficos. A captura destas duas espécies representou 93,8 % da ocorrência de raias de água doce capturadas em Colares durante o estudo. A mais abundante foi *P. scobina* (n= 398 - 55 % do total), seguida de *P. orbignyi* (n= 281 - 38,8 % do total). Esta porcentagem indica claramente a importância deste gênero e mais especificamente de *P. scobina* na estrutura de comunidade de raias dessa ilha.

A captura de *P. orbignyi* foi composta de 98 % de animais pequenos, neonatos e / ou juvenis, em contraste com *P. scobina* que apresentou uma composição com predominância de sub-adultos e adultos (87 %). A composição de tamanho da captura de *P. orbignyi* na região de Colares é similar à composição da mesma espécie encontrada em Barcelos e Altamira (Maria Lucia Góes de Araújo - comunicação pessoal). A abundância maior de jovens em relação a adultos é a situação normalmente encontrada na natureza, que no caso de *P. orbignyi* para a região de Colares poderia estar sendo intensificado pela migração dos adultos para outras áreas, tendo em vista que muito poucos adultos aptos para a reprodução foram capturados. Apesar de ser uma hipótese de difícil aceitação, a ocorrência de elevadas taxas de mortalidade natural para esta espécie também poderia contribuir para explicar este fato.

De qualquer modo, tudo indica que os ambientes amostrados na região de Colares representam uma área de berçário desta espécie. Por outro lado, na composição de

tamanho encontrada para *P. scobina* foi observado um número relativamente reduzido de indivíduos neonatos e juvenis que provavelmente pode ser atribuído a deslocamentos que os exemplares desta espécie realizam nesta região durante as primeiras etapas do seu desenvolvimento. Aparentemente a região de Colares não está entre as principais áreas de berçário para *P. scobina*.

Uma segregação espacial entre as classes de tamanho ficou evidente, indicando que possivelmente os sub-adultos / adultos preferem águas profundas e neonatos / juvenis águas rasas.

A salinidade, indubitavelmente, tem um papel importante na distribuição temporal das raias de água doce em Colares. Verificou-se que no mês de dezembro de 2000 a salinidade média foi de 3,4 ppm com picos de 4,5 ppm, podendo ser considerada bastante alta para espécies estenohialinas. Neste mês, praticamente só foi capturada *Plesiotrygon iwamae*, que possui reconhecidamente uma maior tolerância à variável salinidade (Charvet-Almeida, 2001). Uma diminuição significativa na captura do gênero *Potamotrygon* também pôde ser verificada nesta época.

Não se pode omitir o fato de que no ano de 2000, quando foi realizada a maior parte das coletas, houve um atraso significativo na temporada de chuvas em Colares causado pelo efeito climático “El Niño”. Esta situação possivelmente pode ter afetado a distribuição característica das espécies encontradas nas diferentes épocas de captura daquele ano. Este fato pode ser observado pelos resultados obtidos na coleta de dezembro de 2001 (fase cinco) quando foram capturados 131 animais que incluíam praticamente todas as espécies da comunidade de Colares, ao invés de apenas cinco raias como ocorreu em dezembro de 2000.

A nítida diferença de captura e distribuição das espécies envolvidas aparentemente está relacionada a fatores ambientais. A salinidade aparentemente é o principal fator determinante na distribuição de espécies de raias de água doce em Colares. De acordo com as informações coletadas, o intervalo do limite de tolerância para a permanência das espécies na região aparentemente é muito pequeno considerando-se a diferença encontrada entre os dois anos. Este intervalo de limite de tolerância provavelmente está situado entre 3,17 ppm (dezembro de 2001) e 3,46 ppm (dezembro de 2000).

De qualquer maneira, os valores de salinidade máxima encontrada na região podem ser considerados relativamente elevados para permanência de raias de água doce.

Com relação aos principais locais de captura na área de estudo, a localidade denominada Ponta do Carmo foi observada como sendo um dos pontos mais distantes de captura da cidade de Colares. O elevado número de animais capturado neste local ($n = 106$) pode estar relacionado ao fato da existência de diversos igarapés que deságuam na baía de Marajó, mantendo uma salinidade mais favorável à permanência das raias de água doce. Humaitá é um ponto de coleta localizado em uma enseada (praia), amplamente utilizada para recreação pela população local e situado em frente à cidade de Colares. A grande quantidade de raias de água doce capturada nesta localidade pode estar relacionada ao fato deste local ser mais abrigado, assim favorecendo a permanência de animais neonatos / juvenis, o que pode ser observado por ser a classe de tamanho mais capturada neste local ($n = 286$). O local denominado Fora do Farol está situado próximo a uma ilha rochosa, que provavelmente funciona como uma boa área de abrigo para potenciais presas, favorecendo assim também a presença e captura de espécies de predadores, inclusive raias de água doce ($n = 171$).

A análise dos resultados da distribuição da biomassa por espécie indica que *Potamotrygon scobina* contribuiu com a maior biomassa (83,7 %), seguida de *Plesiotrygon iwamae* (12 %). A captura de animais predominantemente adultos conseqüentemente contribuiu com os resultados de elevada biomassa para estas espécies. *Potamotrygon orbignyi* foi representada basicamente pela classe de peso entre um e cinco kg (39,7 % da biomassa para esta espécie) contribuindo com apenas 3,4 % para biomassa total.

As variações de marés aparentemente também influenciaram as capturas. As marés vazante e enchente foram as mais representativas nas capturas com 78,2 %. Este resultado provavelmente está relacionado a deslocamentos de presas potenciais e à movimentação espacial / temporal dos animais capturados no ambiente. Segundo os pescadores locais, nestas duas marés ocorre um deslocamento dos sedimentos superficiais do fundo, seja no sentido águas mais profundas - águas mais rasas com a maré enchendo, ou no sentido oposto com a maré vazando, e junto com este sedimento superficial ocorre também a movimentação de crustáceos e pequenos peixes, que são a base de alimentação do grupo.

A preferência da lama como substrato predominante possivelmente pode ser explicado, além da disponibilidade de presas, pelo hábito, já bem conhecido e citado na literatura, de as raias de água doce permanecerem preferencialmente parcialmente enterradas no fundo. Pode-se também cogitar a hipótese levantada por Charvet-Almeida (2001), de os animais (principalmente neonatos / juvenis) enterrarem-se na lama para manutenção térmica nas áreas mais rasas nos momentos de maior insolação, uma vez que na coluna d'água foram registradas temperaturas de até 31,5° C. As raias também eventualmente utilizam esta estratégia para surpreender presas em potencial, sendo que

algumas dessas presas podem ter preferência por um substrato lodoso, conseqüentemente atraindo as raias para este tipo de substrato.

É importante comentar que houve uma clara predominância de indivíduos neonatos / juvenis nas áreas mais rasas de captura. Esta observação está baseada no fato de que todos os animais de pequeno porte da amostra ($n= 362$), representando aproximadamente 50 % do total capturado, foram provenientes de redes de arrasto de praia ou redes de tapagem parcial de praia e sempre nas marés vazante e enchente. Esta predominância indica uma preferência de uso dos animais neonatos / juvenis pelos habitats mais rasos e próximos da costa. Saliente-se que não foi capturado nenhum indivíduo neonato / juvenil nas áreas mais profundas (com rede de arrasto de fundo e espinhel), assim como não foi capturado nenhum indivíduo sub-adulto / adulto nas áreas mais próximas das praias. Esta observação sugere que ocorra uma segregação espacial de indivíduos jovens / adultos, assim como a existência de uma região de berçário próxima à praia. Este fato mostra-se relevante quando consideramos aspectos de conservação do recurso, adotando medidas preventivas de captura em massa de indivíduos neonatos / juvenis nas praias, e conseqüentemente, colaborando para o recrutamento anual das espécies. Além disso, cabe alertar a população local que utiliza a área para recreação, da necessidade de se tomar medidas preventivas para minimizar os acidentes envolvendo ferroadas de raias.

Os aparelhos de pesca mostraram-se bastante seletivos para o tamanho das raias capturadas. O espinhel foi responsável por 49,5 % das capturas, capturando mais de 1.600 kg de raias durante o período de amostragem dos desembarques. Entretanto, a rede de arrasto de praia foi responsável por 38,7 % das capturas, mas foi efetiva para apenas 49,9 kg da amostra final, possivelmente devido ao grande número de exemplares

de pequeno porte que foram capturados por esta arte de pesca. Pode-se evidenciar ainda mais a seletividade da arte de pesca empregada, quando comparamos a diferença entre as duas principais artes de captura (espinhel e rede de arrasto de praia). A diferença no número de exemplares capturados é representada por apenas 78 animais, entretanto, a diferença de peso final das captura é brutal, com a rede de arrasto de praia representando no total apenas 0,03 % da biomassa capturada pelo espinhel. Logicamente, a explicação para tal discrepância está diretamente relacionada ao tamanho dos animais capturados, que no espinhel foram grandes (indivíduos sub-adultos / adultos), enquanto que na rede de arrasto de praias, capturaram-se apenas animais de pequeno porte (neonatos / juvenis).

3.5 - Conclusões

Nas sete fases de campo efetuadas, totalizando 30 dias efetivos de esforço de pesca, foram capturados 723 exemplares (1.685,14 kg) pertencentes a todos os gêneros da Família Potamotrygonidae.

O principal local de captura foi a localidade de Humaitá, onde foram coletados 286 animais, representando 39,5 % de todo esforço realizado. O mês que apresentou maior número de exemplares capturados foi agosto de 2000.

As espécies predominantes foram *Potamotrygon scobina* (n= 398), representando 55 % da captura total, e *Potamotrygon orbignyi* (n= 281), com 38,8 %. Estas duas espécies correspondem às únicas representantes do gênero *Potamotrygon* capturadas em Colares e, conjuntamente, representam 94 % das raias de água doce capturadas no local. Esta porcentagem indica claramente a importância deste gênero para comunidade de elasmobrânquios de água doce da região de Colares.

As artes de pesca empregadas mostraram-se seletivas para o tamanho dos espécimens. O aparelho de pesca mais eficiente foi o espinhel, capturando 49,5 % dos exemplares. A espécie que mais contribuiu para biomassa foi *P. scobina* com 1.410,70 kg.

As capturas de raias de água doce em Colares aparentemente são influenciadas pela salinidade, por movimentos de maré e pelo substrato presente nos locais de coleta.

A salinidade parece desempenhar um papel importante na distribuição espacial / temporal das espécies presentes no local de estudo, principalmente quando consideramos as capturas de *Plesiotrygon iwamae*.

O predomínio da classe de tamanho correspondente aos juvenis (largura de disco inferior a 200 mm) foi mais representativo quando considerada a espécie *P. orbignyi*, que apresentou 98,2 % (n= 276) dos espécimens nesta categoria. Para esta espécie 97,2 % dos animais capturados apresentaram peso inferior a um kg. Por outro lado, a amostra coletada de *P. scobina* foi constituída predominantemente por animais considerados sub-adultos / adultos (86,7 %).

As outras espécies capturadas (*Plesiotrygon iwamae*, *Paratrygon aireba* e o novo gênero), conjuntamente representaram apenas 6 % das raias amostradas, devendo ser, isoladamente, consideradas raras para região de Colares.

Observou-se também a existência de uma possível segregação espacial entre animais classificados como neonatos / juvenis e sub-adultos / adultos. Os primeiros aparentemente ocupam áreas mais rasas e protegidas, enquanto que a segunda categoria parece preferir águas mais profundas.

A grande quantidade de animais neonatos / juvenis capturados, aliada a fatores específicos dos locais de captura, indicam que a ilha de Colares pode ser considerada como uma área de berçário para a espécie *P. orbignyi* e ao menos uma área de reprodução para *P. scobina*, sendo assim significativa para a manutenção de populações dessas espécies.

4 - Padrões de Coloração e Considerações Morfológicas, Morfométricas e Genéticas de *Potamotrygon scobina*

4.1 - Introdução

O status sistemático das raias de água doce ainda não é bem conhecido. Os problemas envolvendo este grupo estão relacionados ao fato de que algumas descrições são incompletas, por vezes não possuem ilustrações e muitas foram feitas com base em um só espécime ou em poucos exemplares (Brooks *et al.*, 1981). A ocorrência de variabilidade intraespecífica em padrões de coloração (policromatismo), a ausência de coletas e coleções intensivas e representativas em nível nacional e a possível existência de exemplares híbridos (Castex & Maciel, 1965; Lasso, 1985) colaboram também para a identificação problemática de raias de água doce

Rosa (1985), em uma revisão da Família Potamotrygonidae, elaborou um trabalho de fundamental importância para organizar, fornecer caracteres diagnósticos e descrever de maneira padronizada as espécies contidas nesta família. Ele apontou a existência de três gêneros válidos na região Neotropical (*Paratrygon*, *Plesiotrygon* e *Potamotrygon*), sendo *Paratrygon* e *Plesiotrygon* monoespecíficos, e *Potamotrygon* contendo 20 espécies, das quais 18 seriam realmente válidas e as outras duas de validade ainda a ser verificada.

No referido trabalho o autor comenta que, para o gênero *Potamotrygon*, existem onze espécies com distribuição amazônica (incluindo o rio Tocantins): *P. castexi*, *P. constellata*, *P. dumerilii*, *P. henlei*, *P. humerosa*, *P. leopoldi*, *P. motoro*, *P. ocellata*, *P. orbignyi*, *P. schroederi* e *P. scobina*, sendo que quatro delas podem ocorrer também em outras bacias de drenagem. Quatro espécies deste gênero (*Potamotrygon brachyura*, *P.*

falkneri, *P. hystrix*, *P. schuemacheri*) aparentemente são endêmicas do rio Paraguai e região do baixo rio Paraná; *Potamotrygon yepezi* é endêmica da bacia do rio Maracaibo, na Venezuela; *P. magdalenae* é endêmica das drenagens dos rios Magdalena e rio Atrato na Colômbia e, finalmente, *P. signata* é aparentemente endêmica da região de drenagem do rio Parnaíba, no Piauí.

A presença de raias de água doce na foz amazônica foi inicialmente apontada por Barthem (1985). Somente bem mais tarde as raias de água doce na foz amazônica foram investigadas pela primeira vez por Charvet-Almeida (2001). Este trabalho considerou uma amostra expressiva de raias nas ilhas de Colares e Cotijuba, na baía de Marajó, e apresentou uma lista de espécie para a região contendo três gêneros válidos, um novo gênero em descrição e pelo menos, quatro espécies da família Potamotrygonidae. A pesquisadora concluiu em 2001 sua dissertação de mestrado, centrando suas considerações na espécie *Plesiotrygon iwamae*, que representou nos anos de 2000 e 2001 cerca de 6 % da frequência total de captura em Colares, enquanto que os representantes do gênero *Potamotrygon* representaram aproximadamente 94 % da amostra total. No entanto, este trabalho não identificou quais as espécies de *Potamotrygon* que ocorrem na região.

As raias do gênero *Potamotrygon* coletadas por Charvet-Almeida (2001), acrescidas de mais exemplares coletados posteriormente, foram identificados neste estudo utilizando a chave dicotômica e as diagnoses propostas por Rosa (1985) e Rosa *et al.* (1987). Apesar de não ser a única existente, é seguramente a mais completa e confiável, tendo em vista a utilização de caracteres externos diferenciadores, encontrados na maioria das vezes nos tipos analisados. O primeiro capítulo apresentou a lista de espécies de raias deste gênero para a região de Colares, situada na foz

Amazônica, utilizando esta chave. Duas espécies foram identificadas: *P. orbignyi* e *P. scobina*. Vários espécimes de *P. scobina* apresentaram problemas na sua identificação, pois alguns caracteres (principalmente coloração dorsal do disco) não se encaixavam perfeitamente nas características diagnósticas de *P. scobina*, podendo ser identificadas como outras espécies. Apesar do reconhecido policromatismo presente no grupo, os padrões de coloração são importantes características separadoras / agrupadoras das espécies para o gênero *Potamotrygon*, segundo a chave de Rosa (1985).

O presente capítulo investigou os padrões de coloração encontrados em *P. scobina* e testou a hipótese deles poderem caracterizar mais de uma espécie, o que alteraria a lista de espécies elaboradas até o momento. Este trabalho empregou métodos morfométricos e de biologia molecular para testar esta hipótese.

4.1.1 - Revisão da Literatura sobre *P. scobina*

O levantamento bibliográfico realizado localizou apenas dez referências para a espécie, a maioria com repetições de informações e não oferecendo subsídios para confirmação da identificação do material capturado em Colares.

O primeiro trabalho citando *P. scobina* foi o de Garman em 1913, descrevendo a espécie, e cuja versão do texto traduzido consiste nas seguintes informações:

“Potamotrygon scobina, sp. nov.

Disco circular, extremidade do focinho com uma ligeira proeminência. Boca pequena, com largura sendo um terço da distância até o fim do focinho, suavemente ondulada com cinco papilas. As papilas estão arranjadas em duas séries: a anterior contendo uma papila bífida mediana e uma em cada ângulo da boca; e as duas papilas posteriores situadas mais atrás que a anterior. Dentes pequenos e semelhantes, em 34 séries superiores e 25 séries inferiores; coroas transversalmente côncavas, bastante lisas.

Olhos pequenos, pálpebras curvadas para fora nas margens. Espiráculos um pouco maiores que a maior distância entre os olhos, contidos por uma distância de uma vez a uma vez e meia no comprimento do focinho aos olhos. Disco e superfície dorsal da cauda coberta por espinhos pequenos e muito próximos, com base estrelada, misturada com espinhos maiores, na superfície dorsal e fendas branquiais atrás da cabeça e em uma área ao longo do meio da superfície superior da cauda. Atrás do meio do abdome, em cima da coluna vertebral, existem duas séries irregulares de tubérculos baixos, em forma de gancho e de base ampla, estendendo-se para trás sobre a base da cauda. Superfície ventral lisa. Dorso marrom ferrugem com pequenos spots esbranquiçados espalhados; superfície ventral amarronzada com pequenos spots brancos e com manchas (pintas) marrons.

O tipo é um macho imaturo de Cametá - Brasil. Comprimento do disco nove polegadas e três quartos e a maior largura do disco nove polegadas e três oitavos. Expedição Thayer."

Pode-se notar que estão presentes nesta descrição original todos os problemas em relação aos aspectos sistemáticos envolvendo raias de água doce, comentados por Brooks *et al.* (1981) na introdução deste capítulo, uma vez que o texto pouco ultrapassa 20 linhas, não possui ilustrações, utiliza um animal imaturo (provavelmente pequeno) como tipo, que por sua vez não é designado no texto.

A utilização prática das informações contidas na descrição da espécie para confirmação da identificação do material como sendo *P. scobina* foi muito pequena. O autor não identifica o tipo e apresenta apenas duas medidas relacionadas ao tamanho do animal, portanto, não se podem relacionar as proporções descritas com as encontradas no presente estudo. A utilização e caracterização de número de dentes na série superior

e inferior, sua disposição e forma, aparentemente pode variar em raias de água doce conforme o sexo, desenvolvimento ontogênico da espécie e ser específico do tamanho do animal analisado. As demais características citadas, como o número e a distribuição das papilas, espinhos na cauda, série de tubérculos, etc., da maneira que foram descritas e utilizando apenas um exemplar, são muito genéricas e superficiais, podendo abranger outras espécies do mesmo gênero.

Entretanto, esta referência oferece uma característica importante que é a presença de pequenos spots esbranquiçados espalhados no dorso. Esta característica é bem marcante em alguns morfotipos de Colares, independentemente do tamanho do animal em questão, e perfeitamente similar com o padrão A (*Spots*) na análise de coloração dorsal efetuada no presente estudo.

A segunda referência encontrada foi Fowler (1948). Neste trabalho, o autor situou todas as espécies do gênero *Potamotrygon* no gênero *Paratrygon* da Ordem *Rajia*, Família *Paratrygonidae*, Subfamília *Paratrygoninae*. Comentou também que "*Paratrygon scobina*" possuía como distribuição a região Amazonas - Guiana e fez apenas referência que *Potamotrygon scobina* foi descrita por Garman in *Memoirs of the Museum of Comparative Zoology at Harvard College*, vol. 36, 1913, página 418, apresentando Cametá como localidade-tipo.

A terceira referência encontrada foi uma publicação de Castex (1964). Neste trabalho, o autor classificou a espécie *P. scobina* como pertencente ao gênero *Potamotrygon*. O autor repetiu resumidamente as colocações da descrição original de Garman (1913), indicando que existia um exemplar rotulado como holótipo no *Museum of Comparative Zoology at Harvard College*.

A quarta referência é também uma publicação de Castex (1967). O autor comentou que *Potamotrygon scobina* era uma espécie pertencente à Sub-região Amazônica da grande Região Amazônica-Platense. Informou que, tendo acesso à coleção de Garman, no Museu de Zoologia Comparada de Harvard, analisou diversos espécimes, e que o exemplar número 295 havia sido identificado como *P. circularis* e o exemplar de número 602 identificado como *P. scobina*. Este autor apontou que estes exemplares não apresentavam grandes diferenças entre si e que eram ambos semelhantes aos exemplares identificados como *P. motoro*. Desta forma, aparentemente Castex considerou que o exemplar 602, identificado como *P. scobina*, era na verdade *P. motoro*.

A quinta referência localizada foi de Fowler (1970). O autor considerou que as raias de rios sul-americanos estavam contidas na Família Paratrygonidae, Subfamília Paratrygoninae, gênero *Paratrygon*. Este trabalho incluiu apenas uma citação igual ao trabalho do mesmo autor em 1948, no sentido apenas de constar que a espécie *Potamotrygon scobina* de Garman, 1913 pertencia, segundo a nova classificação do autor, ao gênero *Paratrygon*.

A sexta referência encontrada foi um trabalho de Taniuchi (1982) em japonês. Importante comentar que existe uma foto legendada em inglês de um exemplar identificado como *P. scobina*, coletado em Manaus. Neste trabalho foi anexada uma tabela, também legendada em inglês, com a morfometria de dois exemplares (*P. scobina* e *Potamotrygon sp.*), capturados em 1980. Apesar da impossibilidade da tradução do referido material, verifica-se claramente pela foto (principalmente pela forma e tamanho da cauda) que o exemplar identificado como *P. scobina*, na verdade é *Plesiotrygon iwamae*, uma espécie só descrita em 1987 por Rosa e colaboradores. Desta forma, pode-

se considerar que as informações morfométrica apresentadas não são válidas para comparação com os resultados de *P. scobina* obtidos no presente estudo, por se tratar de espécimes de gêneros diferentes. Salienta-se ainda que este trabalho, apesar da identificação incorreta da espécie em questão, foi a primeira publicação com dados morfométricos, depois da descrição original feita sessenta e nove anos antes.

Todos os trabalhos até 1982 referiam-se apenas à descrição original (novas classificações, sinonímias, listas de espécies), não produzindo nenhuma informação biológica e não apresentando qualquer informação adicional que colaborasse para confirmação da identificação do material coletado em Colares.

O sétimo trabalho encontrado com referências a *P. scobina*, que alterou completamente o panorama comentado no parágrafo anterior, foi a tese de doutorado de Ricardo Rosa, defendida em 1985 e ainda não publicada. Neste trabalho o autor fez uma revisão de Potamotrygonidae, elaborando um trabalho de fundamental importância para organizar, fornecer caracteres diagnósticos e descrever de maneira padronizada as espécies contidas na família. Como comentado na introdução deste capítulo, este autor apontou a existência de três gêneros válidos na região Neotropical: *Paratrygon*, *Plesiotrygon* e *Potamotrygon*. Esta referência, por possuir a maior quantidade de informações sistemáticas encontrada, foi utilizada como bibliografia básica para comparações e conclusões. Maiores considerações sobre esta referência são realizadas posteriormente.

A oitava referência localizada foi Ross & Schafer (2000). Este livro divulgou resumidamente os dados e conclusões de Rosa (1985). Apresentou também uma chave dicotômica, apenas para os gêneros da Família Potamotrygonidae, assim como a identificação pelo Sistema P (fotos) adotada pelo mercado ornamental. Este sistema de

identificação não considera realmente aspectos sistemáticos e sim os padrões de coloração presentes nos animais. Desta forma, espécies iguais podem ser consideradas diferentes de acordo com os padrões de coloração dorsal. Estes autores apresentaram ainda diversas fotos coloridas, inclusive de *P. scobina*.

O penúltimo trabalho localizado foi a tese de doutorado de Marques (2000), também não publicada. Apresentou uma caracterização molecular de um fragmento de citocromo b para a espécie *P. scobina*, além de outras considerações gerais sobre parasitas e filogenia, não oferecendo desta forma parâmetros diretos de comparação que auxiliassem na problemática considerada.

A última referência encontrada foi a monografia de conclusão de curso de Bragança (2002). Neste trabalho o autor faz considerações sobre aspectos de alimentação de *P. scobina* para região da ilha de Cotijuba (baía de Marajó - Pará), apontando para esta espécie uma preferência alimentar por crustáceos.

Analisando conjuntamente os comentários de todas as referências bibliográficas encontradas, verifica-se que apenas o trabalho de Rosa (1985) oferece reais subsídios para comparação e comprovação da identificação de *P. scobina*, que é o tema deste trabalho. Para esta espécie, o referido autor designou como holótipo o animal MCZ 602-S, coletado por L. Agassiz, baseando-se nas características de sexo, mensurações e dados de localidade. Este espécimen é um macho com 230 mm de largura de disco e está depositado no Museu de Zoologia Comparada na Universidade de Harvard - Cambridge, nos Estados Unidos.

Considerando aspectos históricos e destacando a enorme confusão sistemática presente no grupo, salienta-se que o holótipo de *P. scobina* (animal MCZ 602-S), designado por Rosa (1985), aparentemente é o mesmo espécime considerado por Castex

(1967) como sinônimo de *P. circularis* e conjuntamente são sinônimos de *P. motoro*. Rosa considerou *P. scobina* e *P. motoro* espécies distintas pelos caracteres de coloração, dentição e distribuição dos espinhos caudais, comentando que a identificação feita por Castex em 1967 foi errônea.

4.2 - Materiais e Métodos

A metodologia empregada neste trabalho foi dividida em duas etapas. A primeira consistia em definir os padrões de coloração e classificar os espécimes segundo estas categorias. Em seguida, estas categorias de coloração eram comparadas com (i) as características externas, (ii) os padrões morfométricos e (iii) as suas divergências gênicas.

As análises de alguns destes aspectos consideraram dois grupos de tamanho de raias no presente estudo: (i) neonatos/juvenis, animais com largura de disco inferior a 200 mm; e (ii) sub-adultos/adultos os que apresentaram esta medida superior a 200 mm.

4.2.1 - Padrões de Coloração

As raias de água doce capturadas foram fotografadas dorsal e ventralmente, para que fossem registrados seus padrões de coloração ainda a fresco. Após a fixação, os animais foram analisados, triados e agrupados, levando-se em consideração a presença, forma e tamanho de figuras padronizadas como: rosetas, spots, ocelos e reticulados (Anexo 2).

4.2.2 - Características Externas

Os caracteres utilizados na análise de características externas seguiram as recomendações de Leible (1988) (Anexo 2).

4.2.3 - Morfometria

4.2.3.1 - Caracteres Morfométricos Utilizados

O estudo morfométrico dos exemplares de *Potamotrygon scobina*, conforme sugerido por Rosa (1985), foi efetuado com os animais fixados em laboratório para comparação com dados bibliográficos anteriores. As medições realizadas seguem as sugeridas por Lasso *et al.* (1996), com algumas adaptações que por sua vez não deixam de incluir aquelas principais utilizadas por Hubbs & Ishiyama (1968); Thorson *et al.* (1983); Rosa (1985); Rosa *et al.* (1987); Leible & Stehmann (1987); Leible (1988) e Charvet-Almeida (2001) (Anexo 3).

As medidas morfométricas e suas respectivas abrangências tomadas dos exemplares foram as seguintes: 1 - comprimento total (= comp. total) - distância medial da ponta do focinho à ponta da cauda (indicando caso a cauda estivesse incompleta); 2 - largura do disco (= larg. disco) - maior distância entre margens laterais do disco; 3 - comprimento do disco (= comp. disco) - maior distância diagonal da ponta do focinho à margem posterior do disco; 4 - pré-ocular (= preocular) - ponta do focinho à margem anterior do olho; 5 - largura interocular (= interocular) - distância entre pontos médios nas margens superiores dos glóbulos oculares; 6 - interorbital - distância entre as margens laterais das cápsulas nasais; 7 - comprimento do olho (diam. olho - diam. horiz orb.) - maior diâmetro horizontal da parte exposta do globo ocular; 8 - largura inter-espiracular (= interespiracular) - distância entre margens posteriores dos espiráculos; 9 - comprimento do espiráculo (= comp. espiráculo - diam. horiz.) - maior diâmetro oblíquo do espiráculo, entre as margens anterior e posterior do mesmo; 10 - largura da cauda (= larg. da cauda na base) - maior largura da base da cauda, excluindo espinhos laterais; 11 - altura da cauda na base - maior altura na base da cauda, excluindo espinhos dorsais; 12

- comprimento do esporão (= comp. maior esp.) - maior comprimento da parte exposta do esporão caudal; 13 - largura da cauda na inserção do ferrão/ esporão (= larg. cauda na inserc. esp.) - largura da cauda tomada na origem do primeiro ferrão/ esporão caudal; 14 - comprimento interno do disco (= comp. disc. até axil nad. peit.) - distância da ponta do focinho à axila da nadadeira peitoral; 15 - boca a escapulocoracóide (= boca a escapulocorac.) - distância medial da margem posterior da arcada dentária inferior até a margem anterior da cartilagem escapulocoracóide (tomada com a boca fechada); 16 - boca a cloaca - distância medial da margem anterior da arcada dentária inferior até a margem proximal da cloaca (tomada com a boca fechada); 17 - comprimento pré-cloacal (= precloacal) - distância da ponta do focinho à margem proximal da cloaca; 18 - cloaca a ferrão caudal (= cloaca a inserc. esp.) - distância da margem posterior da cloaca a base do primeiro ferrão/ esporão caudal (tomada com a cauda reta); 19 - comprimento da cauda (= cloaca a ponta da cauda) - distância da margem posterior da cloaca à ponta da cauda; 20 - largura da pélvica (= margem post. nad. pelv.) - maior largura da margem posterior da nadadeira pélvica, incluindo a margem interna do cláspes em machos; 21 - comprimento da nadadeira pélvica (= margem ant. da nad. pelv.) - comprimento da margem anterior da nadadeira pélvica; 22 - comprimento do cláspes (= comp. clasp. desde a cloac.) - distância da margem posterior da cloaca a ponta do cláspes; 23 - comprimento pré-oral (= preoral) - distância medial da ponta do focinho a abertura da boca (tomada com a boca fechada); 24 - comprimento pré-narial (= prenasal) - distância da ponta do focinho à margem anterior da narina; 25 - comprimento da cesta branquial (= dist. entre 1ª e 5ª abert. branq.) - distância entre margens internas da 1ª e 5ª fendas branquiais; 26 - largura da cesta branquial 1º par (= dist. entre 1ªs fendas branq.) - distâncias entre margens internas do 1º par de aberturas

branquiais; 27 - largura da cesta branquial 5º par (= dist. entre 5ª fendas branq.) - distâncias entre margens internas do 5º par da aberturas branquiais; 28 - comprimento da narina (= comp. da narina) - distância entre as margens externas posterior e anterior das narinas; 29 - largura inter-narial (= internasal) - distância entre margens anteriores das narinas; 30 - comprimento da cauda desde a margem posterior do disco à inserção do espinho (= comp. caud. desde marg. post. disc. a ins. esp.); 31 - largura da boca (= larg. boca) - maior distância entre os bordos laterais da boca.

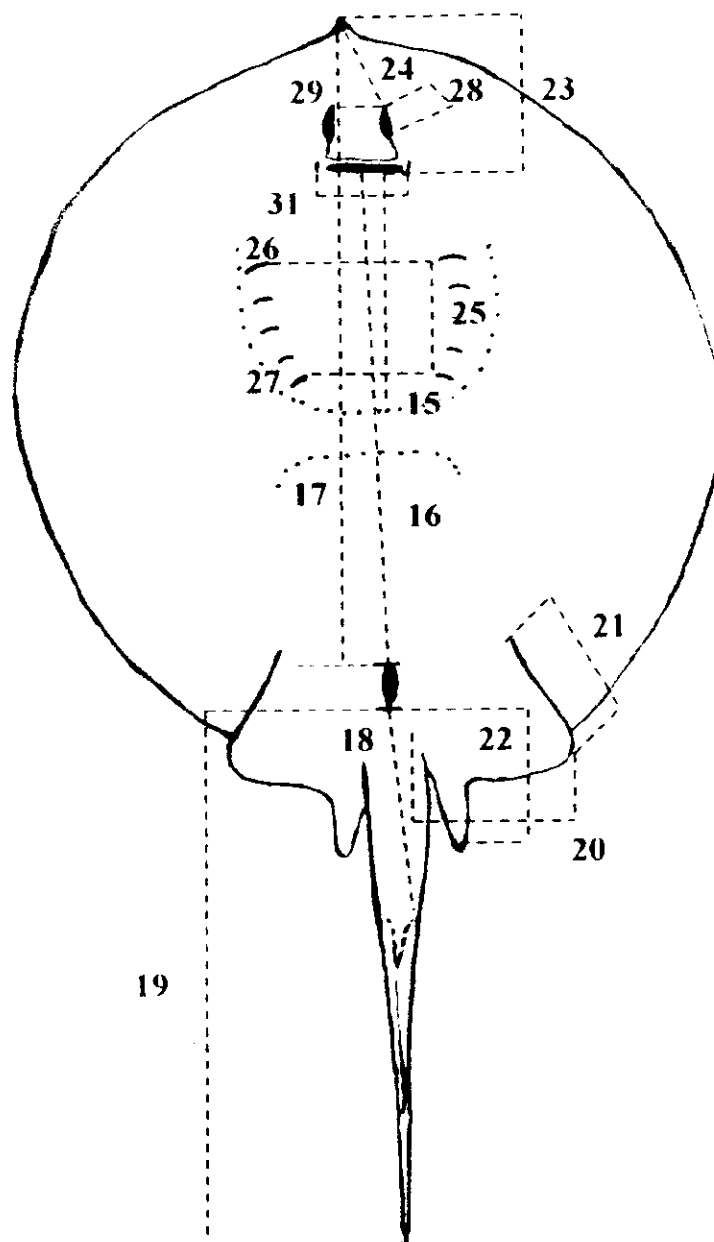


Figura 4 – Ilustração esquemática de um exemplar de *Potamotrygon scobina*, em vista ventral, com a indicação das medidas morfométricas tomadas para o presente estudo.

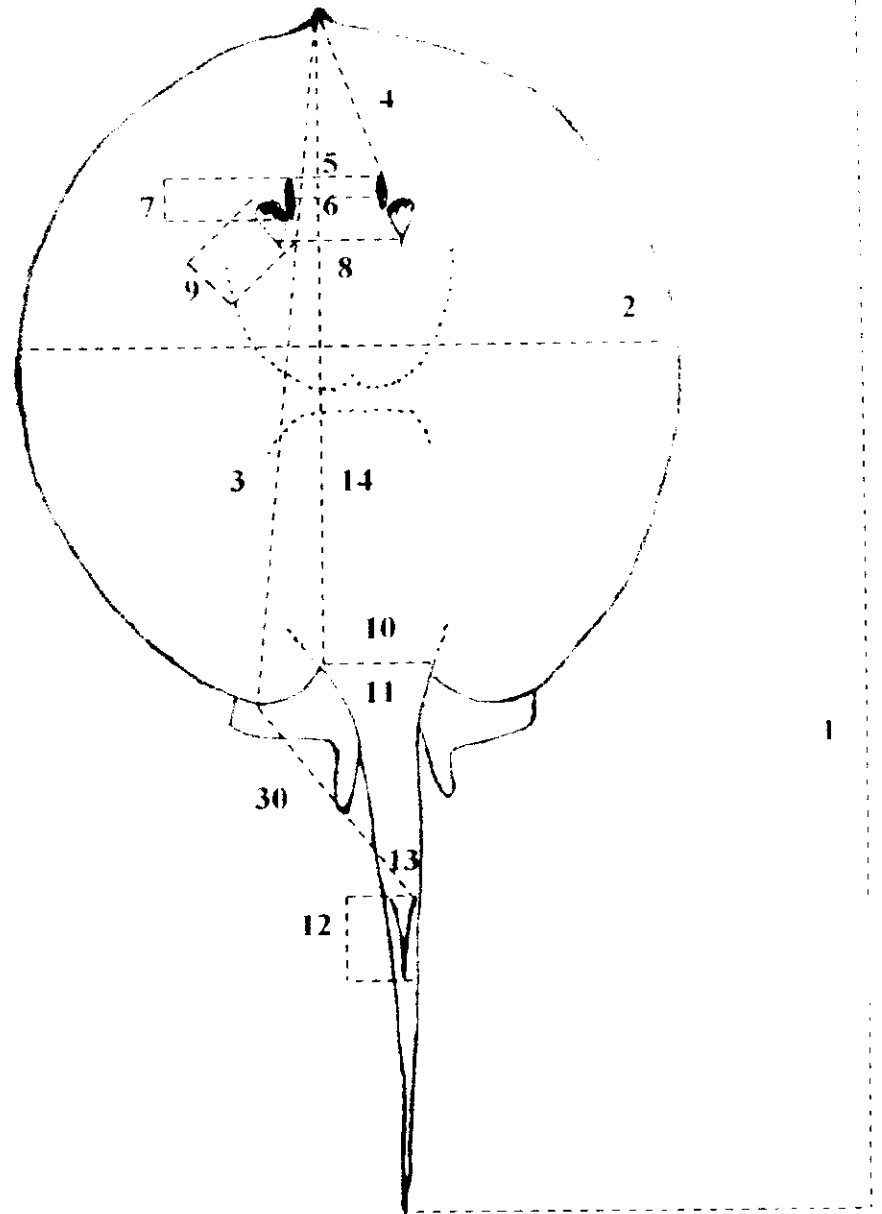


Figura 5 – Ilustração esquemática de um exemplar de *Potamotrygon scobina*, em vista dorsal, com a indicação das medidas morfométricas tomadas para o presente estudo.

Padronizou-se que todas as medidas relacionadas ao comprimento de estruturas seriam tomadas do lado esquerdo do animal. Apenas quando estas se apresentavam danificadas, considerou-se a medida da mesma estrutura do lado direito. Os espécimes foram medidos com maior detalhe em laboratório e um paquímetro digital de aço inox de 150 mm (Mitutoyo), assim como trenas de aço, foram utilizadas para tomar as devidas medidas dos exemplares.

4.2.3.2 - Dimorfismo Sexual Considerando Medidas Morfométricas

As análises morfométricas entre os sexos das raia foram feitas por meio do teste de uma Análise de Covariância (ANCOVA) programa STATISTICA (StatSoft. Inc., 1996), considerando a largura de disco como covariante, sexo como variável independente e as medidas morfométricas como variável depende, sendo 0,05 o nível de significância.

4.2.3.3 - Análise Multivariada

Os dados da matriz de morfometria foram transformados em logaritmos decimais, visando homogeneizar as variâncias e normalizar os dados, mas preservando eventuais relações alométricas entre as mesmas (Jolicouer, 1963; Pinto, 2002).

A utilização de indivíduos de tamanhos distintos de um mesmo grupo em análises de componente principal e função discriminante pode gerar grupos artificiais cujas formas estejam relacionadas ao tamanho e / ou idade, mascarando as diferenças entre os demais grupos (Araújo, 2002). Assim sendo, recomenda-se minimizar o efeito do tamanho nas análises (Peres-Neto, 1995). Os espécimes pequenos capturados,

enquadrados na categoria neonatos e / ou juvenis, foram então desconsiderados na análise multivariada para diminuir o efeito do tamanho bastante diferenciado entre este grupo e os animais categorizados como sub-adultos ou adultos.

O comprimento da cauda e o comprimento total foram considerados apenas nas estatísticas descritivas básicas (máximo, mínimo, média e desvio padrão), independentemente dos resultados do teste ANCOVA, devido ao fato de muitos dos exemplares apresentarem a cauda quebrada, comprometendo desta forma as duas medidas citadas.

As variáveis que apresentavam uma significativa quantidade de espécimes com mensurações duvidosas foram excluídas da análise. Apenas aqueles animais que possuíam todas as suas medidas corretas foram considerados.

Os animais sofreram análises no sentido de caracterização dos padrões de coloração dorsal e os grupos obtidos a partir deste estudo foram utilizados como variável agrupadora nas análises multivariadas.

4.2.3.4 - Componentes Principais

A análise de Componentes principais é uma técnica de análise multivariada, que consiste basicamente de um teste interpretativo a partir da análise um grupo de n variáveis correlacionadas, transformando-as em outro conjunto de variáveis não correlacionadas e independentes, dispostas em combinações lineares e em ordem decrescente de importância através da formulação de índices. Esta metodologia recomenda que se deve dar maior ênfase àqueles índices finais, também denominados de fatores, que descrevam cerca de 80 % ou mais da variação assinalada pelos indicadores, os quais na maioria dos casos estão representados pelos dois primeiros componentes resultantes (Ayres *et al.*, 2000).

4.2.3.5 - Análise de Função Discriminante

A análise discriminante linear é mais uma técnica de análise multivariada empregada neste estudo, que possibilita analisar simultaneamente um grande número de variáveis morfométricas, produzindo coeficientes numéricos que caracterizam grupos taxonômicos (Blackith & Reyment, 1971; James, 1985). Esta técnica requer que os grupos em estudo sejam estabelecidos *a priori*, em contraste com outros métodos de estatística multivariada (como componente principal) que não exigem um conhecimento prévio das relações existentes entre os grupos estudados. Some-se a estas considerações o fato de que a análise de função discriminante fornece a contribuição de cada uma das variáveis consideradas para discriminação entre grupos estudados (Cavalcanti *et al.*, 1997), o que a transforma numa ferramenta bastante interessante.

Algumas premissas devem ser verificadas antes da execução dos referidos testes. Uma delas seria de que o dimorfismo sexual intraespecífico é uma fonte importante de variação e pode influenciar na obtenção dos resultados nas análises multivariadas. Portanto, os dados morfométricos precisam ser testados para verificar a ocorrência estatística significativa de dimorfismos sexuais presentes.

Para a análise multivariada discriminante foram utilizados os padrões de coloração encontrados pelo estudo de policromatismo, como variável agrupadora, e como variáveis independentes as medidas morfométricas coletadas e tratadas matematicamente, conforme descrito anteriormente. O método escolhido foi o Standard com tolerância de 0,01 no programa STATÍSTICA (StatSoft. Inc., 1996).

4.2.4 - Genética

Visando uma comprovação adicional dos resultados obtidos nas análises multivariadas, foi realizado no Laboratório de Genética e Biologia Molecular do Núcleo

de Estudos Costeiros (NEC) do Campus Universitário de Bragança (UFPA) o sequenciamento de um fragmento do gene mitocondrial rRNA 16 S em uma sub-amostra de *P. scobina*, de acordo com o procedimento descrito abaixo.

A escolha dos animais para este experimento considerou cada padrão morfológico encontrado (baseado nos padrões de coloração dorsal), onde foram selecionados aleatoriamente cinco animais classificados como sub-adultos e / ou adultos de ambos os sexos para cada um dos quatro padrões de coloração dorsal. Uma pequena amostra de tecido muscular foi retirada de cada exemplar e as amostras ficaram preservadas em álcool 70 % até o momento dos procedimentos laboratoriais.

O DNA total de cada indivíduo foi extraído em laboratório através do protocolo padrão de digestão por proteinase K e extração via fenol/clorofórmio. Em seguida, o DNA foi visualizado através de eletroforese submarina com gel de agarose a 1 %, corado com brometo de etídio.

Para o isolamento e amplificação do rRNA 16 S foi utilizada a técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR). As reações de PCR foram realizadas em volume de 50 µl no termociclador GeneAmp - PCR System 9700 (Applied Biosystems), com reagentes da Amersham Pharmacia Biotech Inc. A quantidade de reagentes utilizada na reação foi a seguinte: 5 µl de tampão (10X concentrado), 8 µl da mistura de dinucleotídeos, dATP, dGTP, dCTP e dTTP (1,25 mM), 1 µl de DNA, 0,5 µl de cada primer, 0,25 µl de Taq DNA polimerase, e 34,75 µl de água para completar o volume final da reação.

Os iniciadores usados para a amplificação do rRNA 16 S foram: 16 S L1987: 5' GCCTCGCCTGTTTACCAAAAAC 3' e H2609 : 5' CCGGTCTGAACTCAGATCACGT 3', descritos por Palumbi *et al.* (1991). As

condições para amplificação do gene foram: uma desnaturação inicial de 5 minutos a 94 °C, seguida de 30 ciclos com os parâmetros: 94 °C por 5 minutos (desnaturação), 50 °C por 1 minuto (hibridização) e 72 °C por 2 minutos (síntese do fragmento ou extensão); houve ainda um ciclo de 7 minutos a 72 °C para extensão final, mantendo posteriormente temperatura em 4 °C.

Após o término das reações, as amostras foram visualizadas em minigel de agarose a 1 %, e as positivas purificadas usando-se o kit ExoSAP-IT (Amersham Pharmacia Biotech Inc.), para posterior seqüenciamento. Este protocolo de purificação consta das seguintes etapas: transferir 5 µl da reação de PCR para um tubo de 0,6 ml; adicionar 2 µl da enzima de purificação ExoSAP-IT; agitar brevemente e incubar a uma temperatura de 37 °C por 15 minutos; inativar a ExoSAP-IT, através de aquecimento do tubo a 80 °C por 15 minutos.

Ao final destas etapas a mistura foi considerada pronta para a reação de sequenciamento.

Os produtos da PCR purificados, contendo o fragmento do rRNA 16 S amplificados, foram seqüenciados utilizando-se o método didesoxiterminal (Sanger *et al.*, 1977), com reagentes do Kit Big Dye (ABI Prism™ Dye Terminator Cycle Sequencing Reading Reaction - Perkin Elmer). Este método de sequenciamento consiste no uso de moléculas fluorescentes com quatro diferentes cores do tipo “rodamina” ligadas aos didesoxinucleotídeos (uma cor para cada um).

Cada amostra teve as duas fitas de DNA seqüenciadas. A reação de sequenciamento foi realizada em microtubos de 0,2 ml no termociclador GeneAmp – PCR System 9700 (Applied Biosystems). O programa utilizado consiste das seguintes

etapas: 25 ciclos de 96 °C por 50 segundos (desnaturação), 50 °C por 5 segundos (hibridização), 60 °C por 4 minutos (extensão).

A mistura para o seqüenciamento teve a seguinte composição: 3 µl de tampão, 1 µl do Dye mix , 0,5 µl de um dos oligonucleotídeos (mesmo tipo e concentração utilizados na reação de PCR), 1 µl de DNA purificado e, 4,5 µl de água destilada estéril para completar 10 µl de reação final.

Após o término da reação, as amostras foram submetidas ao protocolo de precipitação e lavagem para a retirada do excesso de reagentes não incorporados, de acordo com as etapas abaixo: transferir cada amostra para microtubos de 0,6 ml; acrescentar a cada amostra 2 µl de acetato de sódio (3M, pH 4,6) e 55 µl de etanol 100 %; misturar gentilmente no vortex e deixar os tubos em repouso no gelo por 15 minutos; centrifugar a 14.000 rpm por 15 minutos; aspirar e descartar o sobrenadante; adicionar 250 µl de etanol fresco a 70 %; misturar gentilmente no vórtex e centrifugar por 5 minutos a 14.000 rpm; descartar totalmente o sobrenadante e colocar os tubos na estufa a 37 °C, com a tampa aberta, até a completa evaporação do álcool (cerca de 5 a 10 minutos); dissolver bem o sedimento em 3 µl de corante azul (loading buffer); aquecer os tubos a 70 °C por 3 minutos (para desnaturação do DNA); colocá-los imediatamente em gelo picado e aplicar 1,5 µl de cada amostra no gel de seqüenciamento.

Para o seqüenciamento foi utilizado um gel de poliacrilamida preparado com os seguintes reagentes: 21,6 g de uréia (Gibco BRL), 6 ml de Long Ranger Gel Solution (50 %) da FMC Bio Products, 6 ml de TBE 10X concentrado, 31,2 ml de água destilada, 300 µl de persulfato de amônia (10 %) e 42 µl de TEMED (Amresco). A preparação do gel seguiu o seguinte protocolo: adicionou-se em um Becker a água destilada, em seguida adicionou-se a uréia e levou-se ao agitador automático por cerca

de 30 minutos para a completa diluição da mesma. Logo após levou-se o Becker para uma capela com exaustão e adicionou-se o Long Ranger, o TBE e misturou-se bem. Para a polimerização do gel adicionou-se o persulfato de amônia e o TEMED. Essa mistura foi colocada na placa do gel, preparada com espaçador de 0,2 mm e deixada em repouso para polimerização por pelo menos 2 horas.

As eletroforeses foram realizadas no ABI 377 (Perkin Elmer), com corrida rápida de 3,5 horas a 2.400 volts. As seqüências foram automaticamente armazenadas em computador MacIntosh acoplado ao ABI 377.

Ao final da eletroforese, o gel foi analisado para verificação do tracking automático e, quando necessário, analisado manualmente para geração das seqüências definitivas. No programa Bio - Edit, as seqüências obtidas no presente trabalho foram alinhadas com seqüências retiradas dos trabalhos de Marques (2002) e Araújo (2002) que incluíram espécies do mesmo gênero e de gêneros diferentes (*P. motoro*, *P. henlei*, *P. orbigny* e *P. leopoldi*). A inclusão de indels (inserções/deleções) foi necessária para o correto alinhamento das seqüências. Após edição e alinhamento, as seqüências foram exportadas para o programa MEGA versão 2.0 (Kumar *et al.*, 2001), onde foi construída a matriz de distância nucleotídica através do método Kimura 2-parâmetros (Kimura, 1980).

4.3 - Resultados

4.3.1 - Estrutura Sexual e de Tamanho em *Potamotrygon scobina*

As capturas e análises incluíram 385 *P. scobina*, sendo 80 juvenis e 305 sub-adultos e adultos. A Tabela 8 apresenta a distribuição de frequência das raias capturadas por sexo, classe de tamanho e período de coleta. As classes de largura de disco para os animais sub-adultos e adultos de 200-300 mm e 650-700 mm (consideradas os extremos da amostra), foram as menos representativas da amostra, com 1,3 % (n= 5) e 1,6 % (n= 6), respectivamente. A classe de largura de disco de 350-400 mm representou a moda desta amostra, com 25 % (n= 92). O mês que apresentou maior captura foi o de agosto de 2000, com 24,1 % (n= 93), e no mês de janeiro de 2001 foi resgatado apenas o exemplar do novo gênero. Os machos representaram 50,6 % (n= 195) do total capturado, enquanto que fêmeas 49,3 % (n= 190). As fêmeas adultas, com largura de disco superior a 500 mm, ocorreram em todos os meses, representando sempre mais de 32 % das fêmeas capturadas em cada mês (Tabela 9).

Tabela 8 - Distribuição do número de *P. scobina* capturadas na região de Colares, por viagem (fase de coleta), classes de largura de disco e sexo.

Classes de largura de disco	Meses														Total
	2000								2001				2002		
	Maio		Agosto		Outubro		Dezembro		Janeiro		Dezembro		Março		
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	
100-200	2	4	14	14	3	9	0	0	0	0	13	21	0	0	80
200-300	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	2	0	0	5
300-350	2	2	7	0	9	7	1	0	0	0	9	2	5	3	47
350-400	3	10	20	7	14	12	0	0	0	0	11	6	7	6	96
400-450	4	0	14	2	6	8	0	0	0	0	6	5	12	5	62
450-500	3	2	5	1	4	0	0	0	0	0	6	2	7	4	34
500-550	1	4	0	1	2	5	0	0	0	0	2	0	0	7	22
550-600	0	4	0	3	0	4	0	0	0	0	1	4	0	3	19
600-650	0	3	0	4	0	3	0	0	0	0	0	2	0	2	14
650-700	0	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	2	0	1	6
Total	15	32	61	32	39	49	1	0	0	0	48	46	31	31	385

Tabela 9 - Contribuição das fêmeas com largura de disco superior a 500 mm nas fases de captura em Colares.

Fase de coleta	Número de fêmeas		Porcentagem das fêmeas com largura de disco maior que 500 mm
	Total	Com largura de disco maior que 500 mm	
Maio 2000	28	13	46,42
Agosto 2000	18	8	44,44
Outubro 2000	40	13	32,5
Dezembro 2000	0	0	0
Janeiro 2001	0	0	0
Dezembro 2001	25	8	32
Março 2002	31	13	41,93

A razão sexual foi de 1:1 na amostra total, mas foram encontradas diferenças significativas entre sexos nos meses de maio com predominância de fêmeas e agosto de 2000 com predominância de machos (Tabela 8).

Tabela 10 – Valores de proporção sexual, para as fases de captura, utilizando-se o método do chi-quadrado.

Meses de Captura	Chi quadrado	p
Maio 2000	6,148	0,013
Agosto 2000	9,043	0,002
Outubro 2000	1,136	0,286
Dezembro 2000	---	---
Janeiro 2001	---	---
Dezembro 2001	2,000	0,157
Março 2002	0,000	1,000

Algumas das fêmeas capturadas apresentaram embriões e o maior embrião observado mediu 142 mm de largura do disco; entretanto foram observadas variações de largura de disco entre embriões de uma mesma mãe. O menor neonato observado mediu 115 mm de largura de disco.

4.3.2 - Caracterização dos Padrões de Coloração Dorsal

Os padrões de coloração para *P. scobina* foram baseados nas disposições das manchas (amorfas ou circulares) e das listras escuras (padrão reticulado). As cores de fundo da região dorsal foram: marrom claro, marrom escuro e preto.

Os animais juvenis (largura de disco inferior a 200 mm) e sub-adultos / adultos foram analisados separadamente, por apresentarem padrões e características de coloração dorsal e ventral diferenciados.

4.3.2.1 - Juvenis

Uma amostra de 51 exemplares foi separada para análise, a partir do total de 80 juvenis coletados. Algumas características não apresentaram variação de padrões, tais como: (i) quando as manchas circulares (spots) ocorriam na região dorsal, estas eram amarelo-claras; (ii) a superfície ventral era branca e não possuía manchas circulares escuras no ventre; (iii) as margens escuras nunca eram evidentes na superfície ventral do disco; (iv) o padrão de coloração da parte dorsal das nadadeiras pélvicas era semelhante ao da superfície dorsal do disco, e o da parte ventral era predominantemente branca e (v) a coloração ventral da cauda era predominantemente branca e apresentava trabéculas após a inserção do ferrão.

As características que apresentaram variação de padrões foram a coloração dorsal do disco e as figuras formadas por spots e retículos. As cores de fundo da superfície dorsal do disco encontradas em juvenis variaram entre marrom-claro (90 % ou 46 raias) e marrom-escuro (10 % ou cinco raias).

Três padrões de coloração dorsal em juvenis foram identificados: (i) a coloração *Spot*, caracterizada pela presença de círculos pequenos menores que o diâmetro dos

olhos e em geral de coloração amarelo-clara; (ii) *Reticulado com Spots*, composto por figuras hexagonais de linhas escuras, com uma pinta escura central e pequenos spots circulares nas margens do disco; e (iii) *Reticulado sem Spots*, composto por figuras hexagonais de linhas escuras, com uma pinta escura central, mas sem os spots na margem do disco (Anexo 4).

4.3.2.2 - Adultos

As 305 raias sub-adultas e adultas capturadas em Colares foram agrupadas usando basicamente a cor do disco e o padrão de coloração dorsal. A coloração de fundo do disco marrom-claro foi encontrada em 21,3 % da amostra (n= 21); marrom-escuro representou 75,4 % (n= 230) e finalmente a coloração preta esteve presente em 3,3 % (n= 10).

Quatro grandes padrões de coloração dorsal foram definidos para *P. scobina*: (i) *Spot*, animais com pequenos spots (círculos) de coloração amarela até branca; (ii) *Roseta*, animais apresentando “rosetas” (figura circular constituída por um spot central circular rodeado por spots circulares menores); (iii) *Roseta modificada*, animais apresentando uma mancha circular, aparentemente formada por pequenos spots circulares que fundiam suas margens quase que formando um “borrão”; e finalmente (iv) *Escuro*, animais escuros, em geral desprovidos de spots ou rosetas, mas podendo apresentar na região dorsal do disco agrupamentos circulares isolados de pequeníssimos spots (Anexo 5 A, B, C, D e E). O padrão *Spot* representou praticamente 12 % da amostra analisada (n= 36); *Roseta* 53,7 % (n= 164); *Roseta modificada* 22,2 % (n= 68) e finalmente *Escuro* esteve presente em 12 % (n= 37).

Verificou-se que 71 % (n= 216) da amostra não apresentou retículos em nenhum dos padrões principais de coloração dorsal, enquanto que 29 % apresentou retículos em

pelo menos um dos padrões dorsais. O padrão mais encontrado em *P. scobina* foi *Roseta* sem reticulado (46 % ou 139 raias), enquanto que o mais raro foi o padrão *Spot* com reticulado, observado em apenas dois exemplares (1 % da amostra total). *Roseta* e sua variação *Roseta modificada* (apresentando ou não reticulado) representaram 76 % da amostra. O padrão *Spot* sem reticulado, que é o padrão de coloração da descrição de *P. scobina*, representou apenas 11 % do total (Tabela 11).

Tabela 11 - Relação entre os principais padrões de coloração dorsal e a presença de reticulado na amostra sub-adultos/adultos de *P. scobina* de Colares.

Reticulado	Padrão final	Número de animais	% total
Com reticulado	<i>Escura</i>	24	7,87
	<i>Roseta modificada</i>	39	12,79
	<i>Roseta normal</i>	24	7,87
	<i>Spot solto</i>	2	0,66
Com reticulado Total		89	29,18
Sem reticulado	<i>Escura</i>	14	4,59
	<i>Roseta modificada</i>	29	9,51
	<i>Roseta normal</i>	139	45,58
	<i>Spot solto</i>	34	11,15
Sem reticulado Total		216	70,82
Total Geral		305	100,00

Considerando o total de sub-adultos / adultos analisados, 75 % (n= 233) apresentaram spots nítidos no disco, nas cores amarelo claro, amarelo, branco e bege, enquanto que 23,6 % da amostra capturada, não apresentou spots evidentes. Esta situação esteve presente nos padrões de coloração *Roseta normal*, *Roseta modificada* e *Escuro*. A partir da amostra total de *P. scobina* analisada, 23,6 %, não apresentou spots evidentes no disco. O padrão *Escuro* representou, na categoria de animais com ausência de spots, 51,3 % do total (Tabela 12).

Tabela 12 - Relação entre a coloração dos spots e os principais padrões de coloração na superfície dorsal em sub-adultos / adultos.

Cor dos spots – sup. dorsal	Padrão de coloração	Total	% total
Amarelo claro (fixado)	<i>Roseta modificada</i>	32	10,49
	<i>Roseta</i>	133	43,61
	<i>Spot</i>	28	9,18
Amarelo claro (fixado) Total		193	63,28
Amarelo	<i>Roseta</i>	2	0,66
	<i>Spot</i>	1	0,33
Amarelo Total		3	0,98
Branco	<i>Escuro</i>	1	0,33
	<i>Roseta modificada</i>	5	1,64
	<i>Roseta</i>	17	5,57
	<i>Spot</i>	7	2,30
Branco Total		30	9,84
Sem spots evidentes	<i>Escuro</i>	37	12,13
	<i>Roseta modificada</i>	27	8,85
	<i>Roseta</i>	8	2,62
Sem spots evidentes Total		72	23,6
Bege	<i>Roseta modificada</i>	4	1,31
	<i>Roseta</i>	3	0,98
Bege Total		7	2,30
Total Geral		305	100,00

A superfície ventral do disco apresentou três padrões básicos: (i) branca sem margens escuras evidentes; (ii) branca com margens evidentes e pintas escuras e (iii) predominantemente escura. (Anexo 6 A, B e C)

A superfície ventral do disco com margens escuras evidentes e pintas escuras esteve presente na maioria dos animais (n= 298), enquanto que a superfície ventral totalmente branca sem margens escuras foi representada por apenas quatro raias. O padrão de coloração da superfície ventral da cauda predominantemente branca foi encontrado em 62 animais, rajada em 130 e predominantemente escura em 111 exemplares. A soma da frequência dos padrões de superfície ventral do disco branco com margens escuras evidentes e pintas escuras e superfície ventral do disco branco

com margens escuras evidentes representou 97,7 % (n= 298) da amostra total de sub-adultos / adultos (Tabela 15).

Verifica-se que todos os animais com coloração da superfície ventral do disco branca sem margem evidente, também apresentaram as características de coloração ventral das nadadeiras pélvicas predominantemente brancas e superfície ventral da cauda também branca.

A combinação de coloração ventral do disco branca com margens escuras e pintas, coloração ventral das nadadeiras pélvicas branca com bordas escuras e pintas coloração ventral da cauda escura ou rajada foi a mais representativa na amostra de Colares, presente em 56,3 % (n= 156) da amostra estudada.

O ventre todo escuro, ou todo branco representaram respectivamente cada um apenas 1 % da amostra total.

O padrão de cauda rajada foi o mais observado na amostra (42,6 % / n= 130), caracterizando-se pela superfície ventral branca com manchas escuras esparsas. O padrão de coloração da cauda predominantemente escura esteve presente em 36,3 % (n= 111) do total analisado, como seu próprio nome indica, apresenta em geral apenas uma pequena mancha branca circular na base da cauda, podendo esta ser também ser totalmente escura. Finalmente, as caudas com superfície ventral predominantemente branca, sem manchas escuras, representaram 20,3 % (n= 62) da amostra de *P. scobina* em Colares.

Considerando a característica de coloração ventral das nadadeiras pélvicas analisadas isoladamente, as observações a serem feitas dizem respeito à presença de animais apresentando o padrão de coloração branca com bordas escuras e pintas em 59,3 % da amostra estudada, seguida do padrão branca com bordas escura, mas sem

pintas, em 32,8 % da amostra. Animais com superfície ventral das nadadeiras pélvicas totalmente brancas (sem margem escura ou pintas) representam apenas 7,2 % e os com a coloração totalmente escura menos de 1 % das raias analisadas (Tabela 13).

A característica spot escuro central, mancha escura de formato circular geralmente situada sobre a cartilagem escapulocoracóide, esteve presente em 54 % dos animais sub-adultos e adultos estudados.

Tabela 13 - Combinação numérica dos caracteres cor da superfície ventral, coloração ventral das nadadeiras pélvicas e coloração ventral da cauda em espécimens sub-adultos/adultos de *P. scobina* capturados em Colares.

Superfície ventral do disco	Superfície ventral das nadadeiras pélvicas	Superfície ventral da cauda (número de animais)			Sem cauda	Totais	
		Predominantemente branca	rajada	Predominantemente escura		n	%
Total Geral	% total						
Branca sem margem evidente	Predominantemente branca	3	1	0	0	4	1,31
Branca sem margem evidente Total		3	1	0	0	4	1,31
Branca com margem escura evidente	Predominantemente branca	12	3	3	0	18	5,90
	Branca com bordas escuras	30	31	13	0	74	24,26
	Branca com bordas escuras e pintas	1	5	1	0	7	2,30
Branca com margem escura evidente Total		43	39	17	0	99	32,46
Branca com margem escura evidente e pintas escuras	Branca com bordas escuras	1	11	14	0	26	8,52
	Branca com bordas escuras e pintas	15	78	78	1	172	56,39
	Predominantemente escura	0	1	0	0	1	0,33
Branca com margem escura evidente e pintas escuras Total		16	90	92	1	199	65,25
Predominantemente marrom	Branca com bordas escuras e pintas	0	0	1	1	2	0,66
	Predominantemente escura	0	0	1	0	1	0,33
Predominantemente marrom Total		0	0	2	1	3	0,98
Total Geral		62	130	111	2	305	100,00

Verifica-se que o padrão *Roseta* foi o mais representado com 53,7 % (n= 164), seguido de *Roseta modificada* com aproximadamente 23 % (n= 68). Conjuntamente estes dois padrões representaram 76,7 % da amostra de *P. scobina*, capturada em Colares. O padrão *Spot* foi o menos representado com 11,8 % (n= 36) (Tabela 14 e Figura 6).

Tabela 14 – Distribuição dos padrões de coloração dorsal em sub-adultos/adultos identificados como *P. scobina*.

Padrões	M	F	Total	%
<i>Spot</i>	22	14	36	11,80
<i>Roseta</i>	96	68	164	53,77
<i>Roseta modificada</i>	33	35	68	22,29
<i>Escuro</i>	12	25	37	12,14
Total	163	142	305	100

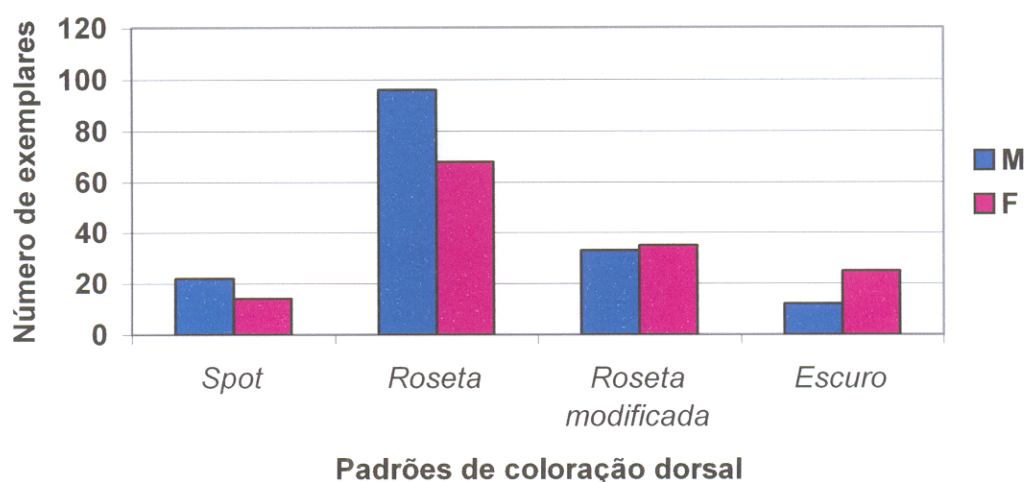


Figura 6 - Distribuição dos padrões de coloração dorsal por sexo em animais sub-adultos e adultos de *P. scobina*.

Com relação à distribuição dos padrões de coloração dorsal entre os sexos podemos verificar pelo método de chi-quadrado que existiram diferenças significativas entre os sexos para os padrões *Roseta* e *Escuro* (Tabela 15).

Tabela 15 – Valores de chi-quadrado para distribuição dos padrões de coloração dorsal entre machos e fêmeas em sub-adultos / adultos de *P. scobina* capturados em Colares.

Padrão de Coloração Dorsal	Chi-quadrado	p
<i>Spot</i>	1,777	0,182
<i>Roseta</i>	4,780	0,028
<i>Roseta modificada</i>	0,058	0,808
<i>Escuro</i>	4,567	0,032

Conclui-se que o padrão *Roseta* foi o mais capturado na maioria dos meses de coleta e que o padrão *Escuro* e *Spot* foram os menos capturados considerando todas os meses amostrados (Tabela 16).

Tabela 16 - Porcentagens dos padrões de coloração dorsal por fase de captura, em relação ao total de animais sub-adultos e adultos de *P. scobina* capturados.

Padrão de Coloração Dorsal	Maio 2000	Agosto 2000	Outubro 2000	Dezembro 2000	Janeiro 2001	Dezembro 2001	Março 2002	Total
<i>Spot</i>	1,64	3,28	1,97	0	0	3,61	1,31	11,80
<i>Roseta</i>	8,20	10,82	13,77	0,33	0	9,84	10,82	53,77
<i>Roseta modificada</i>	2,30	4,26	7,21	0	0	2,95	5,57	22,30
<i>Escuro</i>	1,31	2,95	1,97	0	0	3,28	2,62	12,13
Total	13,44	21,31	24,92	0,33	0	19,67	20,33	100,00

Houve a predominância do padrão de coloração dorsal caracterizado como *Roseta* até a classe de largura de disco de 500 mm. Pode-se também notar que o padrão *Spot* esteve presente apenas até a classe de 550 mm e que, a partir desta houve uma certa predominância da coloração escura. Importante salientar também que a partir da classe de 600 mm de largura de disco não ocorreu mais a presença de machos, portanto, as classes maiores são basicamente compostas de fêmeas adultas e com padrão de coloração dorsal *Escuro*. Esta observação de certa forma confirma a suposição de haver fatores ontogênicos relacionados à distribuição dos padrões de coloração (Tabela 17 e Figura 7).

Tabela 17 - Distribuição dos padrões de coloração dorsal por classes de largura de disco.

Classes de largura de disco / padrões de coloração	<i>Spot</i>	<i>Roseta</i>	<i>Roseta</i> <i>Modificada</i>	<i>Escuro</i>	Total
100-200	---	---	---	---	80
200-300	2	2	1	0	5
300-350	6	27	14	0	47
350-400	12	62	15	7	96
400-449	8	35	14	5	62
450-500	4	16	9	5	34
500-549	3	9	6	4	22
550-599	1	6	4	8	19
600-650	0	5	3	6	14
650-700	0	2	2	2	6
Total	36	164	68	37	385

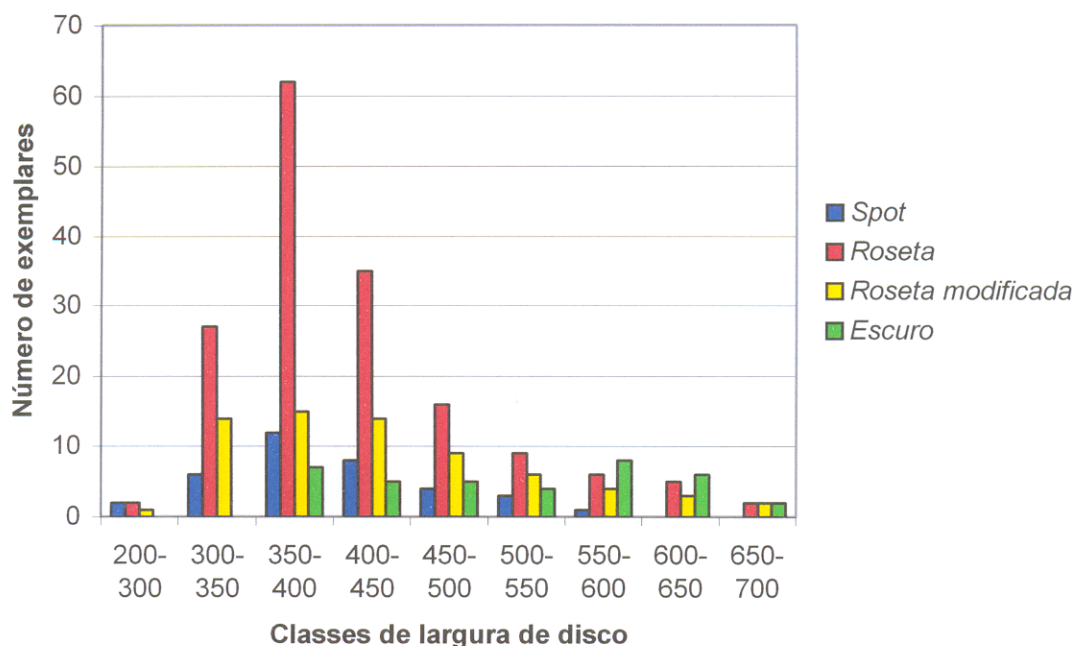


Figura 7 - Distribuição dos padrões de coloração dorsal por classes de largura de disco.

4.3.3 - Características Externas

Os exemplares juvenis e sub-adultos / adultos tiveram suas características externas também analisadas separadamente para que essas duas categorias ficassem mais bem categorizadas.

4.3.3.1 - Juvenis

Todos os animais juvenis analisados apresentaram quilha caudal (finfold) dorsal pequena e lisa, sulco labial pouco profundo, pregas labiais laterais pequenas, mas evidentes, finalmente, nenhum animal apresentou dentículos evidentes nas margens ou na região anterior do disco.

O número de ferrões presentes na cauda de juvenis apresentou basicamente duas configurações. Da amostra analisada, 88 % (n= 45) apresentou um ferrão, enquanto que 12 % (n= 6) apresentou dois ferrões.

A configuração da série de espinhos no dorso da cauda mostrou que 52 % (n= 27) dos animais apresentaram a cauda lisa sem espinhos ou denticulos dérmicos; 20 % (n= 10) possuíam a cauda apenas com uma leve aspereza, possuindo espinhos diminutos identificados pelo toque; 6 % da amostra (n= 3) apresentou espinhos esparsos distribuídos irregularmente na superfície dorsal da cauda, e finalmente, 22 % (n= 11) de juvenis/neonatos de Colares apresentaram uma única série de espinhos na região dorsal da cauda.

A coloração dos dentes apresentou a seguinte distribuição: 41,1 % (n= 21), eram castanho claro; 35,2 % (n= 18) foram classificadas como castanho escuro e 23,5 % (n= 12) classificados como branco / transparente.

4.3.3.2 - Sub-adultos / Adultos

A análise de características externas no grupo de sub-adultos e adultos constatou que 41 % (n= 125) das raias nesta classe de tamanho apresentaram apenas uma série única (em uma fileira única) de espinhos na região dorsal da cauda. A segunda forma mais freqüente correspondeu a 33,4 % (n= 102) da amostra e apresentou uma única fileira central de espinhos ladeada por espinhos acessórios. As duas categorias de distribuição de espinhos na cauda, acima citadas, conjuntamente representam 74,4 % (n= 227) do total. As formas envolvendo duas ou três séries nítidas de espinhos estiveram presentes em aproximadamente 3 % da amostra (n= 8). A situação em que as séries duplas ou triplas de espinhos apareceram apenas na região próxima do disco representaram 9,8 % (n= 30) do total (Tabela 18).

Tabela 18 - Distribuição dos espinhos na superfície da cauda em animais sub-adultos / adultos identificados como *P. scobina*.

Forma da série de espinhos no dorso da cauda	número de animais	% em relação ao total amostrado
Só uma série em fileira única	125	40,98
Só uma série em fileira única com espinhos acessórios	102	33,44
Inserção da cauda com distribuição irregular e à partir da região mediana uma só série simples	20	6,56
Inserção com 2 a 3 séries de espinhos e à partir da região mediana uma só série simples	30	9,84
Parte final do disco e/ou inserção da cauda com espinhos em escada - cauda com uma série em fileira única	11	3,61
Sem uma linha evidente - series irregulares formando 2 ou 3 series	1	0,33
Sem série evidente - apenas alguns espinhos soltos	2	0,66
Aparentemente duas series de espinhos	7	2,30
Séries duplas ate o meio da cauda e depois serie simples	1	0,33
Com padrão irregular	4	1,31
Cauda cortada	2	0,66
Total	305	100,00

A Tabela 19 indica que 98,3 % da amostra (n= 300) apresentou uma aspereza (denticulos dérmicos) em outra região além da médio dorsal. Nesta situação, 78,6 % (n= 240) dos denticulos estavam presentes apenas na região anterior do disco, enquanto que em 19,6 % (n= 60) das raias verificou-se esta característica, tanto na região anterior do disco como nas margens. Apenas 1,6 % (n= 5) da amostra total apresentou denticulos dérmicos apenas na região médio dorsal.

Considerando a amostra de fêmeas sub-adultas e adultas coletadas em Colares, 57 % não apresentaram denticulos na margem do disco. Os 43 % restantes apresentaram esta característica que foi constatada visualmente ou sensível ao toque, entretanto, os denticulos destes exemplares apresentaram ampla variação de forma e tamanho.

Tabela 19 – Porcentagens da combinação entre locais e densidades dos denticulos dérmicos, encontrados na superfície dorsal do disco de *P. scobina* (des. = desenvolvidas).

Posição da aspereza no disco		Forma dos denticulos							Total Geral
		Mais des.	Menos des.	Similar	Mais des., na região anterior e similares nas margens	Mais des. na região anterior e menos des. nas margens	Similar na região anterior e menos des. nas margens	Sem informação	
Áspero só no meio do corpo	Sem informação	0	0	0	0	0	0	1,64	1,64
Áspero só no meio do corpo Total		0	0	0	0	0	0	1,64	1,64
Áspero em outra região além do meio do corpo	Só na região anterior	38,36	7,54	32,46	0,33	0	0	0	78,69
	Nas margens e na região anterior	0,98	0,33	0,33	3,28	14,10	0,66	0	19,67
Áspero em outra região além do meio do corpo Total		39,34	7,87	32,79	3,61	14,10	0,66	0	98,36
Total Geral		39,34	7,87	32,79	3,61	14,10	0,66	1,64	100,00

A análise das variações encontradas na estrutura dos ferrões da cauda dos animais sub-adultos e adultos de *P. scobina* capturadas em Colares, indicou que 56,4 % (n= 172) da amostra possuía um único ferrão e que 41,3 % (n= 126) apresentou dois ferrões sobrepostos (em geral sendo o superior maior que o inferior). Os 2,3 % restantes para complementar a análise correspondem a apenas um espécime com três ferrões, três espécimes sem ferrão e a três animais com a cauda cortada (mutiladas).

A maioria dos machos sub-adultos e adultos identificados na amostra (52,1 % ; n= 85) apresentaram os dois cláspes bem calcificados estando, portanto, aparentemente aptos para a reprodução. Os outros machos apresentaram cláspes

parcialmente endurecidos (28,2 %, n= 46), classificados como medianamente calcificados; e finalmente também foram observados machos com cláspes pequenos, moles e bem flexíveis na amostra (19,6 %, (n= 32). As duas últimas categorias citadas representaram juntas 47,8 % (n= 78) da amostra de machos sub-adultos e adultos de Colares (n= 163) e, provavelmente, abrangem exemplares que ainda não estão aptos para os processos de cópula.

A característica de coloração dos dentes foi observada com o intuito básico apenas de mostrar que houve variações na amostra de Colares. Não foi identificado nenhum outro padrão de caracteres que pudesse ser relacionando com a coloração dos dentes. Considerando a amostra analisada, 1,6 % (n= 5) não puderam ser verificados por ser impossível de observar a coloração dos dentes (as bocas estavam completamente fechadas e não foram dissecadas); 3,2 % (n= 10) dos dentes observados, apresentaram coloração castanho-média; 18,0 % (n= 55) eram branco-transparentes; 34,7 % (n= 106) castanho-claros e finalmente 42,3 % (n= 129) de coloração castanho-escura.

Praticamente todos os animais analisados apresentaram um leve sulco labial. Esta afirmação considera o fato de que em 3,6 % da amostra (n= 11) não pode ser verificada esta estrutura, devido à sua não localização causada por problemas de fixação do material.

P. scobina não apresentou os sulcos labiais profundos e estes estão dispostos imediatamente ao lado da boca em 56 % (n= 171) dos casos. Estes sulcos labiais aparentemente também podem expandir-se em direção ao centro do disco, formando uma estrutura circular abaixo da maxila, sendo isso verificado em 38 % (n= 116) dos casos.

4.3.4 - Morfometria

4.3.4.1 - Caracterização Morfométrica

A caracterização morfométrica foi realizada através de uma estatística morfométrica, apresentando os valores mínimos, máximos e médios da matriz de dados transformados em porcentagem em relação à largura do disco, segundo Rosa (1985). A diferença entre o número de exemplares medidos em algumas variáveis e o número total da amostra deve-se ao fato de alguns exemplares apresentarem estruturas danificadas ou deformadas, que poderiam comprometer a sua medida (Anexo 7 A, B, C, D e E).

4.3.4.2 - Dimorfismo Sexual

As diferenças entre as 29 variáveis relacionadas ao sexo foram analisadas. Não foram consideradas as medidas do cláster por ser uma variável exclusiva de um dos sexos, e a largura do disco por ser a covariável. A Tabela 20 apresenta os resultados da ANCOVA, sendo destacado em vermelho as probabilidades consideradas significantes ($p < 0,05$). Verificou-se que das 29 variáveis morfométricas consideradas, 18 apresentaram diferenças em relação ao sexo.

Tabela 20 - Resultados do teste ANCOVA aplicado para verificar variações nas medidas que sejam relacionadas ao dimorfismo sexual de *P. scobina*. (em vermelho as medidas que apresentaram significância para $p < 0,05$).

	Medida Morfométrica	EFFECT	MS EFFECT	Df ERROR	MS ERROR	F	p- level
1	Comprimento total	1	6873,32	75	994,30	6,91	0,010
2	Comprimento do disco	1	15,45	289	61,97	0,24	0,617
3	Preocular	1	8,60	288	16,69	0,51	0,473
4	Interocular	1	351,50	288	9,35	37,58	0,000
5	Interorbital	1	4,05	290	4,09	0,98	0,320
6	Diâmetro do olho (diam. horiz. orb.)	1	0,21	289	0,59	0,36	0,544
7	Interespiracular	1	36,25	287	15,05	2,40	0,121
8	Comprimento do espiráculo (diam horiz)	1	41,26	291	3,95	10,43	0,001
9	Largura da cauda na base	1	210,42	287	11,22	18,74	0,000
10	Altura da cauda na base	1	33,64	290	3,68	9,13	0,002
11	Comprimento do maior espinho	1	777,15	281	103,81	7,48	0,006
12	Largura da cauda na inserção do ferrão	1	0,02	286	4,73	0,00	0,937
13	Comprimento do disco até a axila da nadadeira peitoral	1	1335,14	290	74,96	17,80	0,000
14	Boca a escapulocoracóide	1	266,92	287	14,94	17,86	0,000
15	Boca a cloaca	1	1911,00	287	60,75	31,45	0,000
16	Precloacal	1	1389,98	288	65,16	21,32	0,000
17	Cloaca a inserção de ferrão	1	1973,00	284	142,88	13,80	0,000
18	Cloaca a ponta da cauda	1	2641,86	75	940,92	2,80	0,097
19	Margem posterior da nadadeira pélvica	1	287,61	288	69,45	4,14	0,042
20	Margem anterior da nadadeira pélvica	1	67,30	289	48,23	1,39	0,238
21	Preoral	1	81,58	286	13,01	6,26	0,012
22	Prenasal	1	47,94	288	9,50	5,04	0,025
23	Distancia entre a 1ª e 5ª abertura branquial.	1	13,98	290	4,33	3,22	0,073
24	Distância entre as 1ªs fendas branquiais	1	54,64	284	9,72	5,62	0,018
25	Distância entre as 5ªs fendas branquiais	1	104,59	288	6,66	15,69	0,000
26	Comprimento da narina	1	0,50	289	1,77	0,28	0,595
27	Internasal	1	119,18	287	2,78	42,80	0,000
28	Margem posterior do disco à inserção do ferrão	1	243,54	286	289,24	0,84	0,359
29	Largura da boca	1	66,39	290	7,21	9,19	0,002

4.3.4.3 - Análise Multivariada Morfométrica

4.3.4.3.1 - Análise de Componente Principal de Machos

A análise de componentes principais para machos abrangeu 28 medidas obtidas de 137 raias. Não foram consideradas as medidas da distância entre a cloaca e a ponta da cauda e o comprimento total por existirem na amostra muitos exemplares com cauda incompleta. O comprimento do maior espinho também foi desconsiderado pelo fato de

ser uma estrutura que apresenta reposição periódica, além de freqüentemente encontrar-se danificado (ponta quebrada). A Tabela 21 e a Figura 8 apresentam os 10 autovalores obtidos na Análise de Componente Principal. A variância do primeiro componente responde por 88 % da variação total, a do segundo aproximadamente por 2 % e as demais por menos de 2 % das variações, indicando que as características morfométricas envolvidas estariam bastante relacionadas ao tamanho e não à forma.

Tabela 21- Representação dos autovalores (Eigenvalues) encontrados nos machos utilizando os dados morfométricos logaritimizadas de *P. scobina* provenientes de Colares.

Componentes	Autovalores	% Variância total	Autovalores acumulados	% acumulada
1	24,66	88,08	24,66	88,08
2	0,59	2,12	25,25	90,20
3	0,45	1,62	25,71	91,82
4	0,34	1,21	26,05	93,04
5	0,27	0,98	26,32	94,02
6	0,25	0,89	26,57	94,92
7	0,21	0,78	26,79	95,70
8	0,18	0,66	26,98	96,36
9	0,17	0,60	27,15	96,97
10	0,13	0,47	27,28	97,45

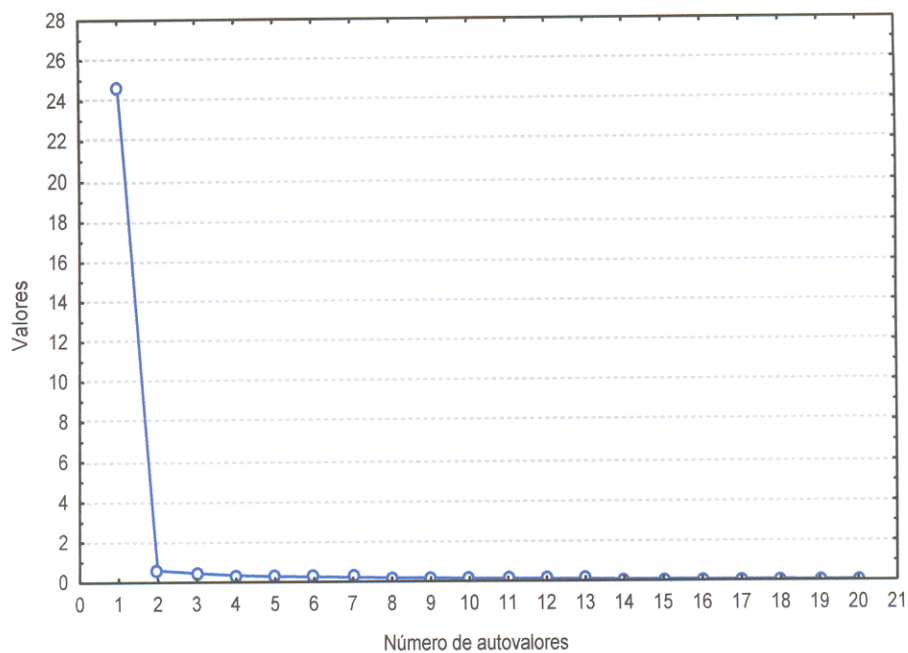


Figura 8 - Decaimento dos autovalores (Eigenvalues) da amostra estudada de machos sub-adultos e adultos de *P. scobina* capturadas em Colares

A Figura 9 apresenta a dispersão dos pontos em relação aos dois primeiros componentes. Verifica-se que não há formação de nenhum agrupamento relacionado ao padrão de coloração dorsal. Estes resultados não indicam a presença de mais de um grupo, ou espécie, independentemente do fator coloração dorsal presente nos animais.

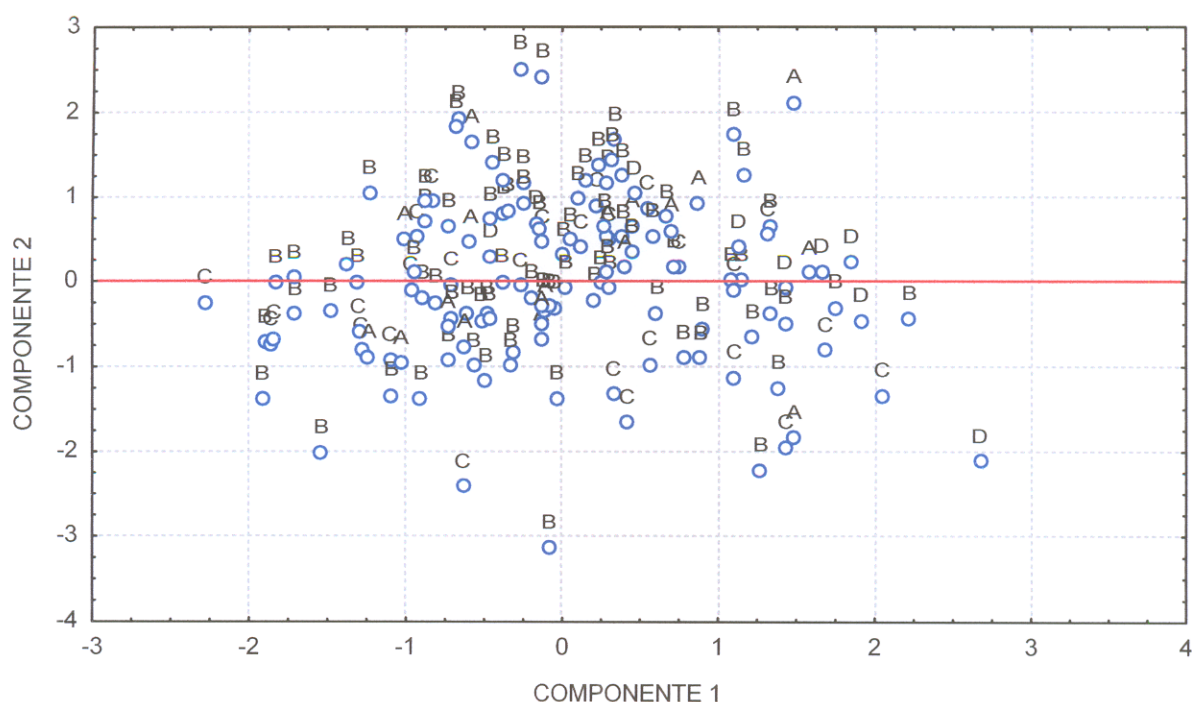


Figura 9 - Dispersão dos grupos a partir dos dois primeiros eixos de variação gerados pela análise de componentes principais para machos sub-adultos e adultos de *P. scobina* (A- *Spot* / B – *Roseta* / C – *Roseta modificada* / D – *Escuro*)

A Tabela 22 apresenta os autovetores para os cinco primeiros componentes e mostra que todas as variáveis morfométricas apresentaram maior peso no primeiro componente, indicando claramente que a possível variação encontrada na amostra é relacionada apenas ao gradiente de tamanho e não a padrões de formas diferentes.

Tabela 22 – Autovetores (Eigenvector) dos cinco primeiros componentes das variáveis morfométricas analisadas em machos (em vermelho os autovetores maiores que 0,70).

Logaritmo das Variáveis morfométricas	Componente 1	Componente 2	Componente 3	Componente 4	Componente 5
Largura do disco	0,992	-0,011	0,003	-0,022	-0,023
Comprimento do disco	0,994	0,002	-0,004	-0,038	-0,033
Preocular	0,972	0,008	0,055	-0,049	0,031
Interocular	0,959	-0,037	0,044	0,049	0,027
Interorbital	0,955	0,050	-0,023	0,004	0,014
Diâmetro do olho	0,779	0,429	0,126	0,401	0,135
Interespiracular	0,944	0,038	-0,201	0,003	-0,054
Comprimento do espiráculo	0,924	0,103	-0,115	-0,026	-0,123
Largura da cauda na base	0,881	-0,269	-0,010	0,161	-0,126
Altura da cauda na base	0,914	-0,246	0,089	0,046	0,068
Largura da cauda na inserção do ferrão	0,823	-0,186	0,472	-0,040	-0,013
Comprimento do disco	0,993	-0,007	-0,012	-0,034	-0,025
Boca a escapulocoracóide	0,985	0,008	-0,031	0,006	-0,054
Boca a cloaca	0,991	-0,028	-0,023	-0,022	0,003
Preloacal	0,994	-0,021	0,006	-0,025	0,005
Cloaca a inserção do ferrão	0,93	-0,194	-0,169	0,036	0,091
Margem posterior da nadadeira pélvica	0,905	-0,007	0,144	-0,026	0,106
Margem anterior da nadadeira pélvica	0,905	0,048	-0,015	-0,010	-0,213
Cláster	0,829	0,295	-0,046	-0,318	0,172
Preoral	0,974	-0,004	0,056	-0,038	0,035
Prenasal	0,956	0,029	0,103	-0,071	0,059
Primeira a quintas fenda branquial	0,982	-0,007	0,004	-0,038	-0,044
Primeiras fendas branquiais	0,984	0,034	0,024	-0,011	-0,018
Quintas fendas branquiais	0,981	0,006	0,002	-0,015	-0,011
Comprimento da narina	0,906	0,044	-0,118	0,140	-0,103
Internasal	0,961	0,156	0,002	-0,023	-0,008
Margem posterior do disco a inserção do ferrão	0,866	-0,252	-0,247	0,071	0,285
Largura da boca	0,934	0,063	-0,063	-0,048	-0,126
Expl.Var	24,663	0,593	0,454	0,340	0,275
Prp.Totl	0,880	0,021	0,016	0,012	0,009

4.3.4.3.2 - Análise de Componente Principal de Fêmeas

A análise de componente principal para as fêmeas utilizou 27 medidas obtidas de 114 raias. A porcentagem de variação, quando considerados os dados logaritimizadas

para fêmeas, demonstrou que 95,4 % da variação da amostra, está relacionada ao primeiro componente, demonstrando que as características morfométricas envolvidas são relacionadas ao tamanho e não à forma. O componente 2 foi responsável por 0,9 % da variação (Tabela 23).

Tabela 23 - Representação dos autovalores (Eigenvalues) encontrados nas fêmeas, utilizando os dados morfométricos logaritimizadas de *P. scobina* capturadas em Colares.

Componentes	Autovalores	% Variância total	Autovalores acumulados	% acumulada
1	25,77	95,46	25,77	95,46
2	0,24	0,89	26,01	96,36
3	0,18	0,67	26,20	97,04
4	0,16	0,59	26,36	97,64
5	0,11	0,41	26,47	98,05
6	0,08	0,32	26,56	98,38
7	0,07	0,28	26,64	98,67
8	0,05	0,20	26,69	98,87
9	0,04	0,17	26,74	99,05
10	0,03	0,14	26,78	99,19

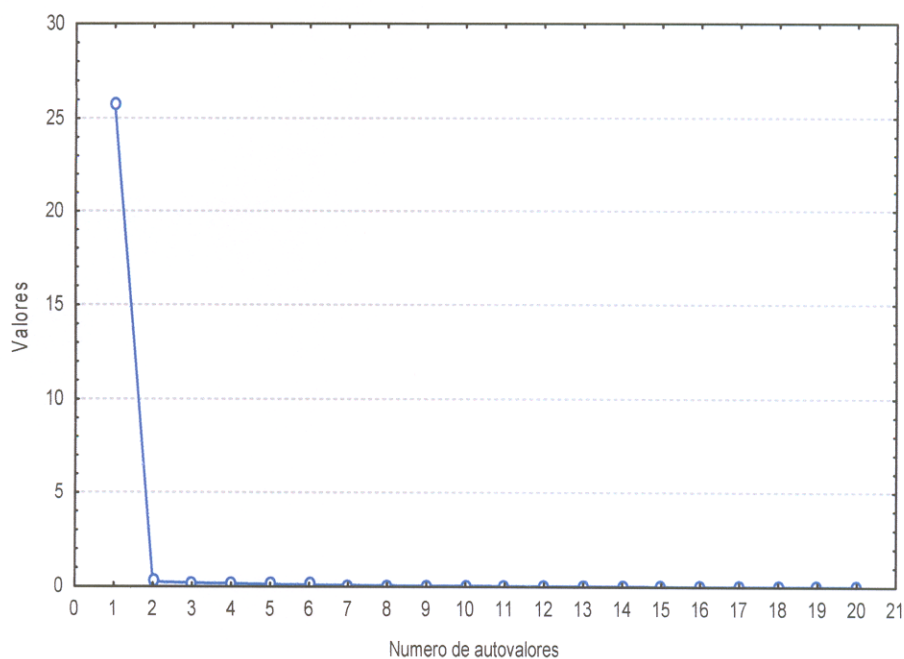


Figura 10 - Decaimento dos autovalores (Eigenvalues) da amostra estudada de fêmeas sub-adultas e adultas de *P. scobina* provenientes de Colares.

Pode-se verificar claramente que não houve a formação de um grupo em particular, considerando os padrões de coloração dorsal identificados. Os resultados do teste de componentes principais para as fêmeas, indicaram a presença de um só grupo, ou espécie, independentemente do fator coloração dorsal presente nas raia (Figura 11).

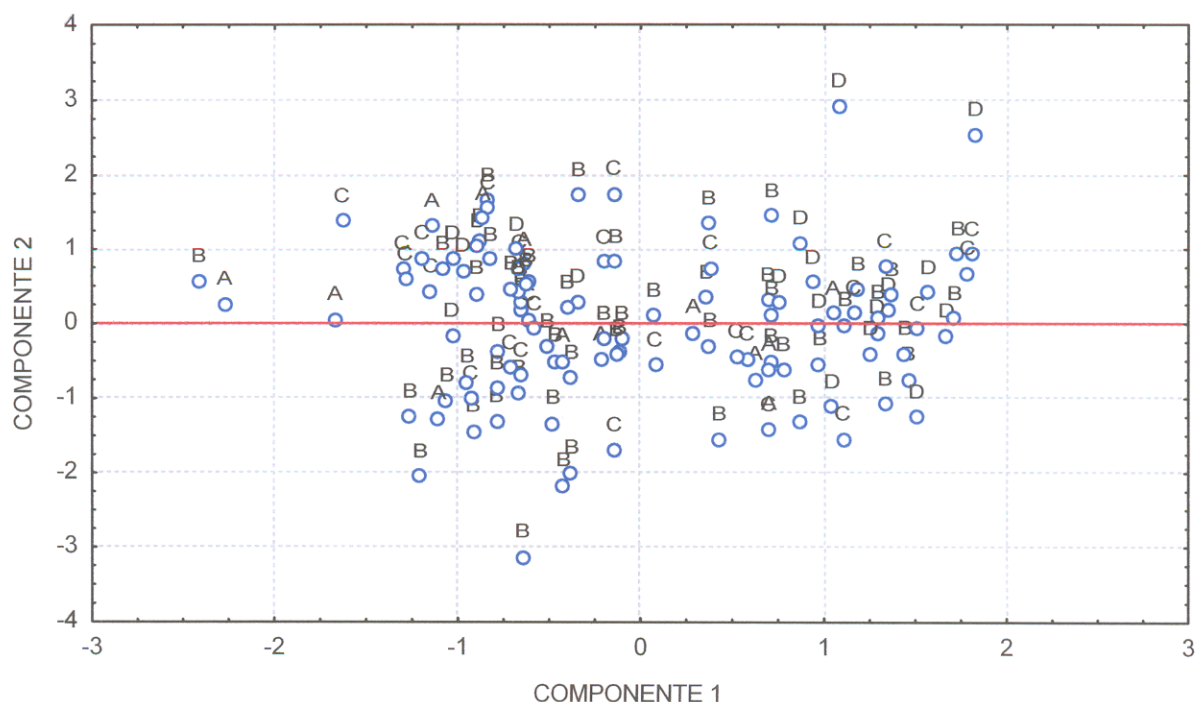


Figura 11 - Dispersão dos grupos a partir dos dois primeiros eixos de variação gerados pela análise de componentes principais para fêmeas sub-adultas e adultas de *P. scobina*. (A- *Spot* / B – *Roseta* / C – *Roseta modificada* / D – *Escuro*).

Verifica-se que todas as variáveis morfométricas do primeiro componente (tamanho) tiveram uma alta correlação com o respectivo componente e que isso não aconteceu em nenhum dos outros componentes analisados. Esta observação indica que a possível variação encontrada na amostra está relacionada a apenas a um gradiente de tamanho e não de forma.

A Tabela 24 apresenta os autovetores para os cinco primeiros componentes e mostra que todas as variáveis morfométricas apresentaram maior peso no primeiro componente, indicando claramente que a possível variação encontrada na amostra é relacionada apenas ao gradiente de tamanho e não a padrões de formas diferentes.

Tabela 24 – Correlação entre as variáveis morfométricas analisadas em fêmeas, utilizando os cinco primeiros componentes resultantes (em vermelho as significativas para $p > 0,70$).

Logaritmo das Variáveis morfométricas	Componente 1	Componente 2	Componente 3	Componente 4	Componente 5
Largura do disco	0,997	-0,018	-0,004	0,015	-0,024
Comprimento do disco	0,998	-0,011	0,001	0,025	-0,008
Preocular	0,990	-0,001	-0,040	0,039	-0,035
Interocular	0,986	0,047	-0,009	-0,048	-0,031
Interorbital	0,982	0,011	0,031	-0,008	-0,051
Diâmetro do olho	0,896	0,401	-0,116	-0,045	0,122
Interespiracular	0,985	0,040	0,074	-0,002	-0,000
Comprimento do espiráculo	0,976	0,060	0,021	0,079	-0,050
Largura da cauda na base	0,959	-0,098	0,102	-0,077	0,182
Altura da cauda na base	0,974	-0,093	0,011	-0,104	0,060
Largura da cauda na inserção do ferrão	0,918	-0,212	-0,301	-0,019	0,103
Comprimento do disco	0,997	-0,014	-0,001	0,011	-0,004
Boca a escapulocoracóide	0,994	0,009	0,002	-0,003	0,006
Boca a cloaca	0,995	-0,002	-0,012	0,000	-0,017
Precloacal	0,997	-0,003	-0,017	0,014	-0,034
Cloaca a inserção do ferrão	0,978	-0,028	0,137	-0,045	0,037
Margem posterior da nadadeira pélvica	0,967	-0,006	-0,019	-0,139	-0,131
Margem anterior da nadadeira pélvica	0,946	-0,037	0,117	0,251	0,105
Preoral	0,985	-0,029	-0,028	0,085	-0,061
Prenasal	0,982	-0,036	-0,039	0,070	-0,060
Primeira a quintas fenda branquial	0,992	-0,021	0,007	0,000	-0,032
Primeiras fendas branquiais	0,994	0,010	-0,033	0,012	-0,037
Quintas fendas branquiais	0,993	-0,004	-0,024	0,010	-0,021
Comprimento da narina	0,972	0,036	0,040	0,043	0,004
Internasal	0,985	0,047	-0,023	0,008	0,004
Margem posterior do disco a inserção do ferrão	0,956	-0,032	0,133	-0,177	0,003
Largura da boca	0,967	0,006	-0,023	-0,003	0,002
Expl.Var	25,776	0,242	0,182	0,161	0,112
Prp.Totl	0,954	0,008	0,0064	0,005	0,004

4.3.4.3.3 - Função Discriminante de Machos

O modelo final considerou 28 variáveis, resultando em um valor Wilk's lambda de 0,357 com $p < 0,0039$.

A matriz de classificação não apresentou padrões de coloração alocados com 100% de correção. A média de alocação foi de 80 %, sendo o padrão que apresentou maior percentagem de alocação foi o *Roseta* (94 %) e o de menor alocação foram os *Roseta Modificada* e *Escuro* (56 % cada). Mais exemplares de outros padrões foram alocados no padrão *Roseta* do que o inverso, do padrão *Roseta* para outro padrão qualquer, entretanto, não houve diferenças estatísticas significativas quando considerando $p < 0,05$ (Tabela 25).

Tabela 25 - Reclassificação dos machos utilizando padrões de coloração dorsal em exemplares sub-adultos / adultos de *P. scobina* capturadas em Colares.

Padrão de Coloração dorsal	Porcentagem correta	<i>Roseta modificada</i> $p=0,197$	<i>Roseta</i> $p=0,605$	<i>Spot</i> $p=0,131$	<i>Escuro</i> $p=0,065$	Total
<i>Roseta modificada</i>	56%	15	11	1	0	27
<i>Roseta</i>	94%	2	78	2	1	83
<i>Spot</i>	61%	1	6	11	0	18
<i>Escuro</i>	56%	1	3	0	5	9
Total	80%	19	98	14	6	137

O gráfico apresentado a seguir (Figura 12) demonstra que não ocorreu a formação de nenhum grupo diferenciado dentre os padrões de coloração dorsal na amostra de machos analisada, indicando assim tratar-se de uma amostra única.

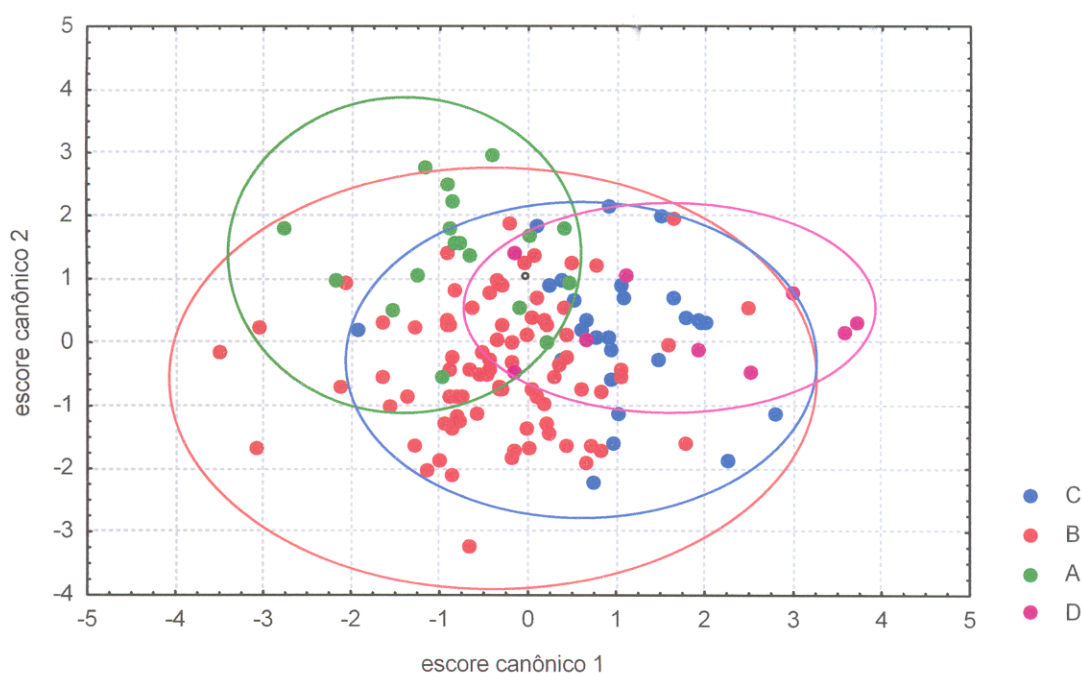


Figura 12 - Plotagem dos scores canônicos 1 e 2 para machos sub-adultos e adultos de *P. scobina*. (A- *Spot* / B – *Roseta* / C – *Roseta modificada* / D – *Escuro*).

4.3.4.3.4 - Função Discriminante de Fêmeas

O modelo final considerou 27 variáveis, resultando em um valor Wilk's lambda de 0,345 para $p > 0,05$.

Assim como nos machos, a matriz de classificação mostrou que nenhum dos padrões de coloração foi alocado com 100 % de correção. A média de alocação foi de 70 %, sendo o padrão que apresentou maior percentagem de alocação foi o *Roseta* (88 %), e o de menor alocação foi o *Roseta Modificada* (34%). Mais exemplares de outros padrões foram alocados nos padrões *Roseta* e *Escuro* do que o inverso, do padrão *Roseta* e *Escuro* para outro padrão qualquer. Entretanto, não houve diferenças estatísticas significativas quando considerando $p < 0,05$ (Tabela 26).

Tabela 26- Reclassificação das fêmeas utilizando padrões de coloração dorsal em exemplares sub-adultos/adultos de *P. scobina* capturadas em Colares.

	Porcentagem correta	<i>Roseta</i> p=0,500	<i>Escuro</i> p=0,157	<i>Roseta modificada</i> p=0,228	<i>Spot</i> p=0,114	Total
<i>Roseta</i>	88%	50	3	3	1	57
<i>Escuro</i>	66%	5	12	1	0	18
<i>Roseta modificada</i>	34%	12	4	9	1	26
<i>Spot</i>	61%	4	1	0	8	13
Total	70%	71	20	13	10	114

A Figura 13 não indica claramente a formação de nenhum grupo diferenciado de padrão de coloração dorsal em fêmeas, indicando assim tratar-se de uma amostra única.

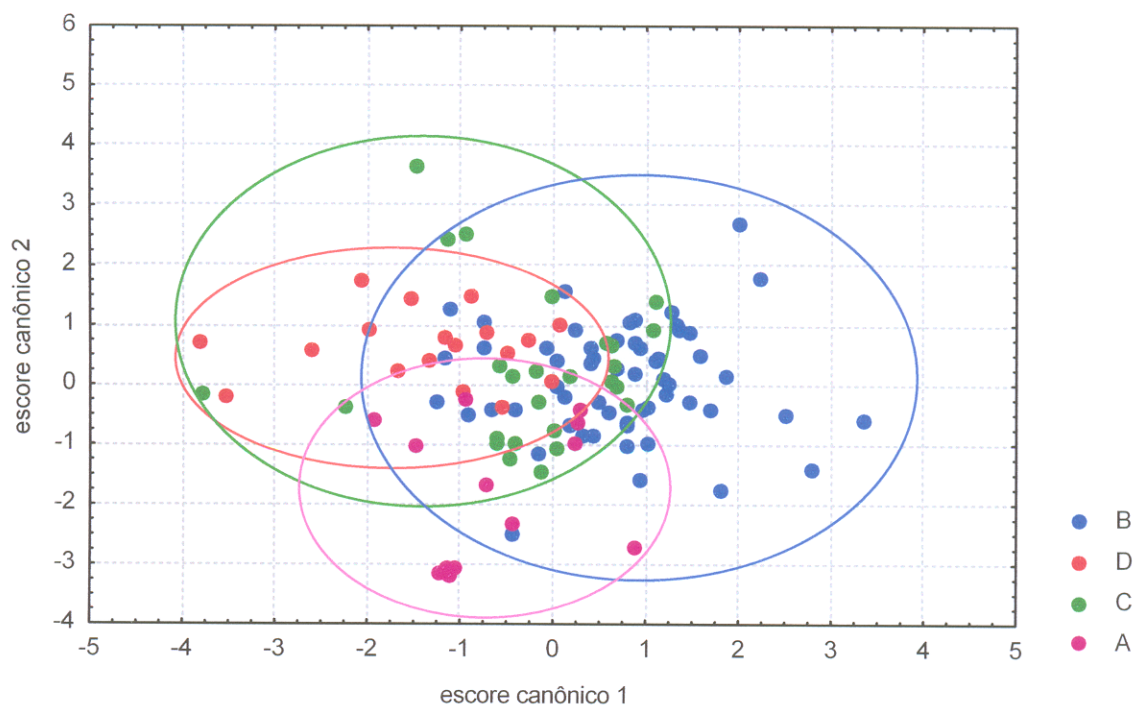


Figura 13 - Plotagem dos scores canônicos 1 e 2 para fêmeas sub-adultas e adultas de *P. scobina* (A- *Spot* / B – *Roseta* / C – *Roseta modificada* / D – *Escuro*).

Os resultados da análise multivariada (componentes principais e análise de função discriminante) não mostram grupos evidentes de padrão de coloração ao serem considerados os dados morfométricos. Este resultado pode ser visualizado através da alta sobreposição dos grupos gerados pelas análises.

4.3.4.3.4.5 – Análise conjunta *P. scobina* e *P. orbignyi*

Optou-se em realizar um estudo comparativo entre as duas espécies do gênero *Potamotrygon* capturadas em Colares, no sentido da validação dos estudos morfométricos multivariados utilizados neste trabalho e objetivando demonstrar que realmente os morfotipos de *P. scobina* referiam-se a esta espécie nominal.

Verifica-se na tabela 2 que foram capturados apenas 5 exemplares sub-adultos / adultos de *P. orbignyi*. (3 machos - 2 sub adultos e 1 adulto e 2 fêmeas adultas) em Colares. As análises de Covariância para *P. orbignyi*, visando a verificação de um possível dimorfismo sexual utilizando-se um n amostral tão baixo podem causar distorções. Some-se a esta situação o fato de que uma das fêmeas capturadas apresentou diversas estruturas que seriam utilizadas nos estudos de morfometria danificadas e desta forma apenas um exemplar poderia ser utilizado em um estudo comparativo. Desta forma, foi realizado um estudo comparativo utilizando-se apenas exemplares machos das duas espécies

4.3.4.3.4.5.1 Análise de Componente Principal de Machos

A análise de componente principal para os machos utilizou 28 medidas obtidas de 140 raias (137 espécimes de *P. scobina* e 3 de *P. orbignyi*). A porcentagem de

variação, quando considerados os dados logaritimizados para machos das duas espécies concomitantemente, demonstrou que 86,7 % da variação da amostra, está relacionada ao primeiro componente, demonstrando que as características morfométricas envolvidas continuam bastante relacionadas ao tamanho e não à forma. O componente 2 foi responsável por 2,31 % da variação (Tabela 27).

Tabela 27 - Representação dos autovalores (Eigenvalues) encontrados na análise concomitante dos machos capturados em Colares de *P. scobina* e *P. orbignyi*, utilizando-se os dados morfométricos logaritimizados.

Componentes	Autovalores	% Variância total	Autovalores acumulados	% acumulada
1	24,27	86,69	24,27	86,69
2	0,64	2,31	24,92	89,01
3	0,54	1,93	25,46	90,94
4	0,40	1,45	25,87	92,40
5	0,34	1,22	26,21	93,63
6	0,27	0,96	26,48	94,60
7	0,22	0,81	26,71	95,41
8	0,20	0,72	26,91	96,13
9	0,17	0,61	27,08	96,74
10	0,16	0,60	27,25	97,34

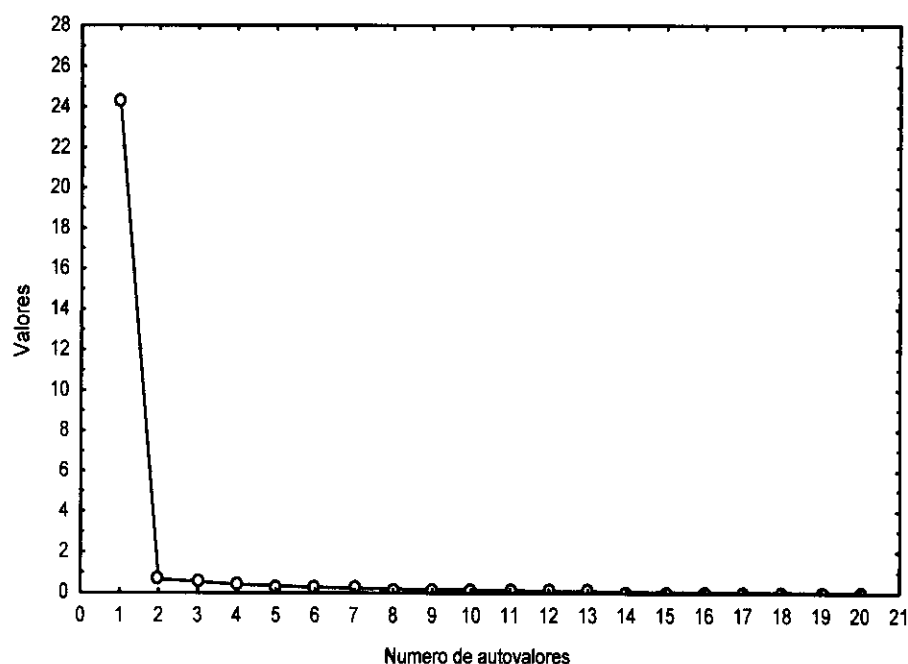


Figura 14 - Decaimento dos autovalores (Eigenvalues) utilizando os dados morfométricos logaritimizadas da amostra estudada analisando-se concomitante os machos capturados em Colares, de *P. scobina* e *P. orbigny*.

Pode-se verificar claramente que diferentemente dos gráficos anteriores quando considerados apenas os morfotipos de *P. scobina*, houve a formação de dois grupos diferenciados; o primeiro composto pelos três espécimes de *P. orbigny* e o segundo por todos os morfotipos de *P. scobina*, considerando os padrões de coloração dorsal identificados (Figura 15).

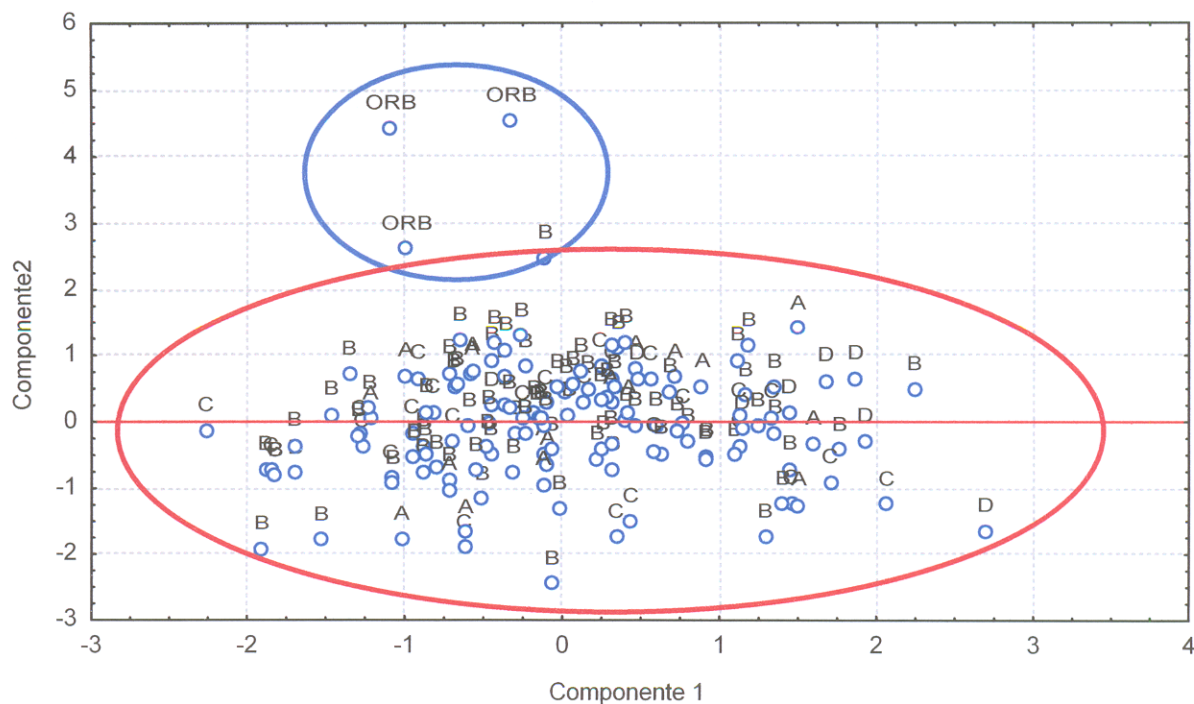


Figura 15 - Dispersão dos grupos a partir dos dois primeiros eixos de variação gerados pela análise de componentes principais para machos sub-adultos e adultos de *P. scobina*. (A- Spot / B – Roseta / C – Roseta modificada / D – Escuro) e *P. orbignyi* (ORB).

Verifica-se na Tabela 28 que todas as variáveis morfométricas dos cinco primeiros componentes não tiveram uma alta correlação com o respectivo componente.

Tabela 28 – Correlação entre as variáveis morfométricas analisadas em machos, utilizando os cinco primeiros componentes resultantes.

Logaritmo das Variáveis morfométricas	Componente 1	Componente 2	Componente 3	Componente 4	Componente 5
Largura do disco	0,040	-0,037	-0,019	0,021	-0,053
Comprimento do disco	0,040	0,019	0,005	0,010	-0,096
Preocular	0,039	-0,171	-0,230	0,110	-0,127
Interocular	0,039	-0,033	0,060	-0,147	0,097
Interorbital	0,038	-0,143	-0,262	0,281	-0,018
Diâmetro do olho	0,031	0,456	-0,637	-0,058	1,175
Interespiracular	0,038	0,068	0,044	0,461	-0,050
Comprimento do espiráculo	0,037	0,388	0,182	0,026	-0,078
Largura da cauda na base	0,036	-0,209	0,444	-0,187	0,471
Altura da cauda na base	0,037	-0,227	0,352	-0,358	0,162
Largura da cauda na inserção do ferrão	0,033	-0,464	-0,173	-0,998	-0,049
Comprimento do disco	0,040	0,010	0,022	0,026	-0,088
Boca a escapulocoracóide	0,040	0,146	0,143	-0,079	0,014
Boca a cloaca	0,040	0,086	0,158	-0,059	-0,053
Precloacal	0,040	-0,019	0,023	-0,009	-0,064
Cloaca a inserção do ferrão	0,038	-0,165	0,334	0,370	0,094
Margem posterior da nadadeira pélvica	0,037	-0,057	-0,092	-0,306	-0,019
Margem anterior da nadadeira pélvica	0,036	0,301	0,227	-0,318	-0,052
Clássper	0,033	0,501	-0,147	-0,101	-0,971
Preoral	0,038	-0,341	-0,373	0,259	-0,096
Prenasal	0,037	-0,341	-0,467	0,212	-0,174
Primeira a quintas fenda branquial	0,039	0,164	0,179	-0,192	-0,084
Primeiras fendas branquiais	0,040	0,024	-0,072	-0,033	-0,021
Quintas fendas branquiais	0,040	-0,060	-0,078	0,052	-0,049
Comprimento da narina	0,037	0,268	0,218	0,029	0,358
Internasal	0,039	0,086	-0,274	0,097	-0,090
Margem posterior do disco a inserção do ferrão	0,035	-0,246	0,397	0,665	0,196
Largura da boca	0,038	0,073	-0,034	0,085	-0,175

4.3.4.3.4.5.2 Função Discriminante de Machos

O modelo final considerou 28 variáveis, resultando em um valor Wilk's lambda de 0,3969 com $p < 0,000$.

A matriz de classificação apresentou padrões de coloração alocados com 100% de correção para *P.orbignyi*. A média de alocação foi de 78,5 %, e os de menores alocação foram *Spot*, *Roseta Modificada* e *Escuro* (55,5 % cada). Houve diferenças estatísticas significativas na realocação de *P.orbignyi* quando considerando $p < 0,05$ (Tabela 29).

Tabela 29 - Reclassificação dos machos utilizando padrões de coloração dorsal em exemplares sub-adultos / adultos de *P. scobina* e *P. orbignyi* capturados em Colares.

Padrão de Coloração dorsal	Porcentagem correta	<i>Roseta modificada</i> $p=0,19286$	<i>Roseta</i> $p=0,59286$	<i>Spot</i> $p=0,12857$	<i>Escuro</i> $p=0,06429$	ORB $p=0,02143$	Total
<i>Roseta modificada</i>	55,5%	15	11	1	0	0	27
<i>Roseta</i>	92,7%	2	77	3	1	0	83
<i>Spot</i>	55,5%	1	7	10	0	0	18
<i>Escuro</i>	55,5%	1	2	1	5	0	9
ORB	100%	0	0	0	0	3	3
Total	78,5%	19	97	15	6	3	140

O gráfico apresentado a seguir (Figura 16) demonstra ocorreu à formação de dois grupos diferenciados dentre os padrões de coloração dorsal na amostra de machos de *P. scobina* e *P. orbignyi* analisada, indicando assim tratar-se de espécies diferentes.

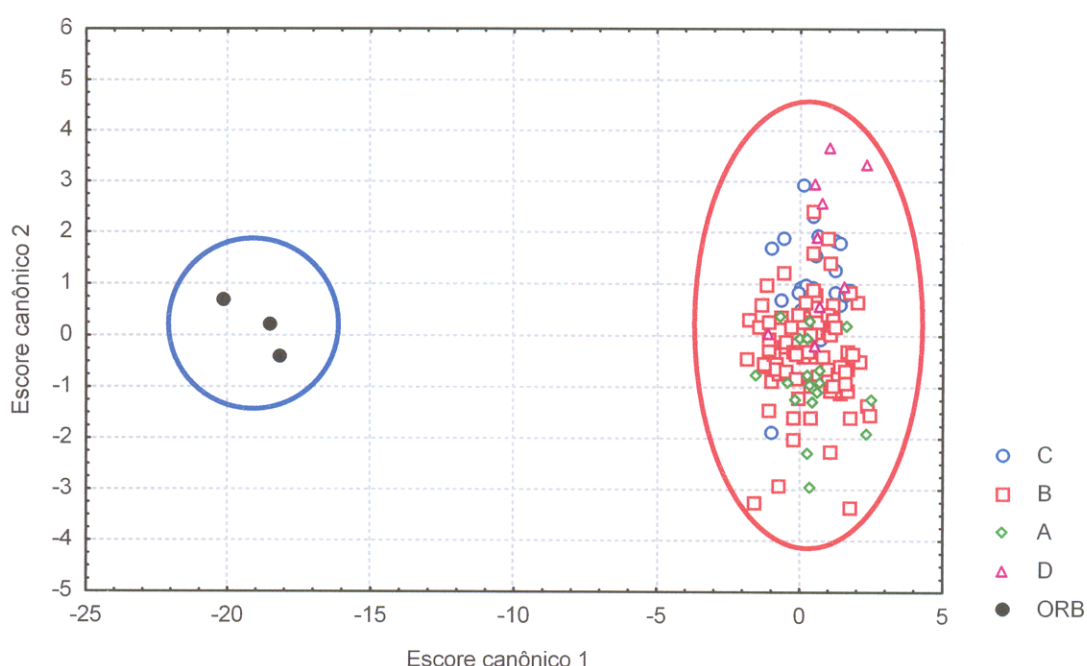


Figura 16 - Plotagem dos scores canônicos 1 e 2 para machos sub-adultos e adultos de *P. scobina*. (A- Spot / B – Roseta / C – Roseta modificada / D – Escuro) e *P. orbignyi* (ORB).

4.3.5 - Genética

Um total de 25 animais, capturados em Colares, sendo 20 identificados como *P. scobina* e cinco identificados como *P. orbignyi*, foram previamente selecionados para as análises genéticas. Destas, apenas 19 tiveram suas seqüências utilizadas nas análises. Este estudo utilizou ao todo 24 indivíduos na matriz genética final, sendo 14 *P. scobina* provenientes de Colares (Tabela 30), cinco *P. orbignyi* também capturadas em Colares e seqüências genéticas de cinco outros exemplares de quatro espécies distintas que foram

obtidos dos trabalhos de Marques (2000) e Araújo (2002) para comparação (Tabela 31). O presente estudo seqüenciou um total de 536 pares de bases dos animais provenientes de Colares. Os resultados foram alinhados com cinco espécimes obtidos de outras publicações.

Quando consideradas apenas as amostras de *P. scobina* do presente trabalho, foram observados 521 sítios conservados e apenas dois sítios variáveis (nas posições 183 e 524). A análise das amostras de *P. orbignyi* capturadas em Colares apresentaram 513 sítios conservados e apenas dois sítios variáveis (nas posições 416 e 522).

A maioria (n= 11) dos 14 espécimes de *P. scobina* analisados apresentou 100 % de similaridade e apenas três indivíduos (637D, 510D e 594C) apresentaram seqüências divergentes, sendo que a maior divergência nucleotídica encontrada foi de 0,3 %. Esses três espécimes de *P. scobina* são 100 % similares entre si e divergem dos demais por apresentar um G (guanina) na posição 169 do alinhamento, enquanto que os outros apresentaram um A (adenina) nesta mesma posição.

A diferença de 0,3 % não foi característica de nenhum padrão de coloração, entretanto, alguns animais identificados como *P. orbignyi* tiveram 100 % de similaridade com os identificados como *P. scobina*.

Na análise geral a menor divergência foi de 0,0 % e a maior de 2,5 %, incluindo todas as seqüências consideradas para comparação.

O alinhamento das seqüências dos animais analisados pelo programa Bio - Edit, consta no Anexo 8.

Tabela 30 - Exemplos amostrados de *Potamotrygon scobina* capturados em Colares para o estudo de genética molecular.

Número na matriz de divergência na Tabela 35	Número de campo do animal	Código do padrão de coloração dorsal	Padrão de Coloração dorsal
1	598	A	<i>Spot</i>
2	624	B	<i>Roseta</i>
3	596	D	<i>Escuro</i>
4	637	D	<i>Escuro</i>
5	803	C	<i>Roseta modificada</i>
6	507	A	<i>Spot</i>
7	542	C	<i>Roseta modificada</i>
8	811	B	<i>Roseta</i>
9	510	D	<i>Escuro</i>
10	498	A	<i>Spot</i>
11	730	D	<i>Escuro</i>
12	594	C	<i>Roseta modificada</i>
13	489	B	<i>Roseta</i>
14	400	B	<i>Roseta</i>

Tabela 31 – Comparação dos percentuais de divergências nucleotídicas para um segmento de gene mitocondrial rRNA 16 S, entre e os dados de Marques, 2000 (1); e Araújo, 2002 (2); animais identificados como *P. scobina* de Colares (3) e (4) animais identificados como *P. orbignyi* coletados em Colares (em amarelo os animais que quando comparados, obtiveram 100 % de similaridade).

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
1	1 <i>P.leopoldi</i>																								
	2 <i>P.henlei</i>	2,0																							
	3 <i>P.motoro</i> 1	1,4	2,3																						
	4 <i>P.orbignyi</i>	1,4	0,6	1,7																					
2	5 <i>P.motoro</i> 2	0,8	1,1	1,1	0,6																				
3	6 598A	1,1	0,8	1,4	0,3	0,3																			
	7 624B	1,1	0,8	1,4	0,3	0,3	0,0																		
	8 596D	1,1	0,8	1,4	0,3	0,3	0,0	0,0																	
	9 637D	1,4	1,1	1,7	0,6	0,6	0,3	0,3	0,3																
	10 803C	1,1	0,8	1,4	0,3	0,3	0,0	0,0	0,0	0,3															
	11 507A	1,1	0,8	1,4	0,3	0,3	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0														
	12 542C	1,1	0,8	1,4	0,3	0,3	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0													
	13 811B	1,1	0,8	1,4	0,3	0,3	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0												
	14 510D	1,4	1,1	1,7	0,6	0,6	0,3	0,3	0,3	0,0	0,3	0,3	0,3	0,0											
	15 498A	1,1	0,8	1,4	0,3	0,3	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,3									
	16 730D	1,1	0,8	1,4	0,3	0,3	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3								
	17 594C	1,4	1,1	1,7	0,6	0,6	0,3	0,3	0,3	0,0	0,3	0,3	0,3	0,0	0,0	0,3	0,0								
	18 489B	1,1	0,8	1,4	0,3	0,3	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,3	0,0							
	19 400B	1,1	0,8	1,4	0,3	0,3	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0						
4	20 ORB 437	1,1	0,8	1,4	0,3	0,3	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,3	0,0					
	21 ORB696	1,1	0,8	1,4	0,3	0,3	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0				
	22 ORB 475	1,1	0,8	1,4	0,3	0,3	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0			
	23 ORB443	1,1	0,8	1,4	0,3	0,3	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0		
	24 ORB 439	0,8	1,1	1,1	0,6	0,0	0,3	0,3	0,3	0,6	0,3	0,3	0,3	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

4.4 - Discussão

A sistemática de raias de água doce tem mostrado ser bastante difícil e confusa, pelo fato de que muitas das características utilizadas e consideradas essenciais para diferenciação genérica ou intraespecífica aparentemente não são únicas para as espécies que as possuem (Castex, 1964). A descrição original, a chave dicotômica e as publicações encontradas sobre *P. scobina* não foram satisfatoriamente suficientes para identificar o grupo de animais coletados em Colares. Estas raias apresentavam características morfológicas semelhantes, mas possuíam também pelo menos quatro padrões de coloração dorsal distintos. Foi observado que os padrões de coloração entre mães e embriões não eram correspondentes, havendo mães de um padrão que geravam embriões de outro. Além disso, os embriões apresentavam padrões similares entre si independentemente dos padrões encontrados em adultos. Este fato permitiu formular a hipótese de que todos os padrões de coloração dorsal correspondiam a uma única espécie. Considerando que um dos padrões de coloração identificados (tanto para mães como para embriões) era reconhecidamente característico de *P. scobina*, adotou-se este nome para este grupo de raias e testou-se a hipótese que diferentes padrões de coloração dorsal em adultos pertenciam a uma única espécie ou formavam um único grupo animal.

As raias capturadas em Colares e identificadas como *P. scobina* apresentaram tamanho variando entre 115 e 700 mm de largura de disco. Algumas possuíam embriões nos úteros, o que permitiu comparar o tamanho destes com os neonato-juvenis capturados. No entanto, indivíduos da classe de tamanho entre 200 - 300 mm foram pouco frequentes e a moda de tamanho destas raias esteve na classe de 350 - 400 mm, indicando que uma possível classe de tamanho intermediário, entre 150 - 200 mm, não

foi encontrada nos ambientes amostrados em Colares. Esta região é seguramente uma das áreas de reprodução desta espécie, mas a ausência de classes de tamanho imediatamente superiores a dos recém-nascidos impede de afirmar que esta seja também sua área de berçário. Provavelmente, os neonatos se deslocam para outras áreas ou habitats, não tendo sido assim amostrados no presente estudo.

De uma maneira geral, não houve diferença significativa na razão sexual das raías identificadas como *P. scobina* em Colares, mas em 2000 houve predominância de machos no mês de maio e de fêmeas em agosto de 2000, sugerindo que possam existir períodos em que ocorra segregação sexual para esta espécie nesta região.

Os principais caracteres utilizados para identificar a espécie *P. scobina* foram definidos por Rosa (1985), como sendo: a) superfície dorsal do disco sem grandes ocelos, apresentando pequenos spots circulares ou ocelos submarginalmente no disco ou acima das órbitas; b) superfície dorsal do disco sem um padrão regular de reticulado; c) superfície dorsal do disco com spots brancos ou amarelos espalhados; d) espinhos dorsais da cauda em duas ou três séries paralelas; e) spots dorsais circulares brancos ou amarelo-claros no disco, isolados uns dos outros, não formando vermiculações ou rosetas.

Comparando estas informações com as características dos animais aqui considerados como *P. scobina*, verificou-se que muitos não apresentaram todas estas características. Em alguns casos, os spots eram maiores que o diâmetro do olho e, em outros, os espinhos caudais dificilmente apresentavam duas ou três séries (geralmente apenas série única). O caráter coloração da superfície dorsal do disco e suas variações encontradas destacou no presente estudo pelo menos quatro grupos distintos de padrões de coloração, o descrito originalmente para espécie (*Spot*) e mais três que são descritos

e encontrados em outras espécies (*Roseta*, *Roseta Modificada* e *Escuro*). Além disso, algumas raias apresentavam linhas escuras (padrão reticulado), que é uma característica considerada excludente de *P. scobina* e na chave inclui as espécies *P. brachyura*, *P. humerosa* e *P. orbignyi*. Entretanto, o reticulado encontrado em *P. scobina* apresentou-se muito menos denso, com linhas mais estreitas e não formando figuras completas, bem diferentes das encontradas nas outras espécies citadas.

A análise de caracteres externos mostrou que a série de espinhos no dorso da cauda apresentou disparidade com a chave dicotômica utilizada, seja considerando neonatos / juvenis ou sub-adultos / adultos. Aparentemente, Rosa (1985) utilizou apenas animais juvenis para fornecer as informações de séries duplas ou triplas utilizadas na chave. Por outro lado, utilizando os resultados dos juvenis capturados em Colares, verificou-se que 52 % da amostra apresentou a cauda lisa sem espinhos, 20 % apresentou uma leve aspereza, sensível apenas ao toque, 6 % apresentou espinhos esparsos pela cauda distribuídos aleatoriamente e 22 % apresentou apenas uma série de espinhos, em fileira única e bem definida. Portanto, nenhum animal juvenil apresentou características sequer próximas a dos resultados encontrados por este autor.

Cabe destacar que, considerando os animais sub-adultos e adultos e com largura superior a 280 mm, houve uma grande variabilidade no estado deste caráter, sendo que 74 % dos animais analisados apresentaram conjuntamente os padrões: (i) apenas uma série de espinhos, em fileira única bem definida, (ii) uma série com espinhos acessórios. Considerou-se espinho acessório aquela estrutura de formato similar ao dos espinhos caudais presentes e que estivesse localizada imediatamente ao lado da série principal (série mais evidente). Quando esta situação estava presente, em geral os animais

apresentavam entre 3 e 5 espinhos acessórios, distribuídos aleatoriamente nos dois lados da série considerada principal, nunca formando séries paralelas a esta.

A situação de duas ou três séries de espinhos no dorso da cauda (séries paralelas) foi evidente em apenas 3 % (n= 8) da amostra total analisada. Um outro estado deste caráter foi à presença de séries paralelas duplas ou triplas até a porção mediana da cauda; a partir deste ponto, apresentava-se até o final da série uma fileira simples e bem definida. Esta situação esteve presente em 30 animais analisados e representou 10 % da amostra total capturada.

Os sulcos labiais em *P. scobina* estiveram presentes em praticamente toda amostra, independentemente do tamanho do animal. Estes sulcos estão localizados geralmente ao lado da boca, mas na sua porção posterior podem, expandir-se em direção ao centro do disco. Importante comentar que estes sulcos são discretos, e em algumas situações bem pouco evidentes; contudo, sempre bem diferentes daqueles encontrados em *P. orbignyi*.

Além dos caracteres externos (anatomia e coloração), os parâmetros morfométricos definidos por Rosa (1985) não corresponderam àqueles obtidos neste trabalho (Anexo 9). Esta diferença pode ser explicada por eventuais divergências de ancoragem dos pontos para tomada das medidas, uma vez que a metodologia seguiu as medidas-padrão sugeridas por esse mesmo autor. O maior tamanho e número de exemplares amostrados provavelmente contribuíram também para estas diferenças. Ao compararmos as oito proporções das medidas morfométricas de Rosa (1985), considerando todas as espécies válidas, com as obtidas dos animais identificados como *P. scobina* de Colares (utilizando somente aqueles com largura de disco aproximada), constatou-se que apenas em três medidas ocorria a ampliação dos limites para *P.*

scobina definidos por Rosa (1985). No entanto, ao consideramos a amostra total dos animais identificados como *P. scobina*, os limites das proporções de todas as medidas morfométricas foram ampliados. A ampliação destes limites dificultou ainda mais a identificação das espécies deste gênero, pois as proporções morfométricas passaram a apresentar sobreposições e a não separar mais tão claramente as espécies. A situação é agravada quando foram comparadas às medidas do presente estudo com as de *P. orbignyi* (Rosa, 1985), pois as mesmas se sobrepuseram plenamente aos limites de proporcionalidades morfométricas.

Entretanto, cabe ressaltar que existem características morfológicas e de coloração externa que continuam diferenciando claramente estas duas espécies, encontradas exclusivamente em *P. orbignyi*, sendo: (i) presença de trabéculas brancas e pretas de maneira alternada na parte mediana ventral da cauda; (ii) sulco labial bem profundo ao lado da boca e na parte posterior da maxila, observado em embriões, neonatos, juvenis e adultos desta espécie e (iii) presença na região dorsal do disco de figuras retilíneas bem características formadas por linhas escuras geralmente isoladas e com as extremidades arredondadas, (denominadas popularmente de “domitos”).

Os padrões de coloração têm sido empregados como caracteres diagnósticos para identificação de espécies do gênero *Potamotrygon*. As raias de Colares identificadas como *P. scobina* apresentavam pelo menos quatro padrões de coloração: o padrão *Spot*, que foi o descrito para a espécie, e outros três padrões que também podem ser associados a outras espécies, principalmente *P. castexi*. Entretanto, o padrão *Spot* foi o que apresentou menor representatividade na amostra de Colares (apenas 12 %), sendo os padrões *Roseta* e *Roseta modificada* os mais frequentes (76 % da amostra). Os resultados das análises de caracteres externos e de coloração indicaram que: (i) a

utilização do caráter *Spot* (não formando vermiculações ou rosetas) como critério separador nas chaves dicotômicas para *P. scobina*, deve ser feita com cautela, uma vez que aparentemente existem outros padrões de coloração dorsal, inclusive rosetas e escuro, para esta espécie; (ii) o uso de duas ou três séries de espinhos na cauda como critério separador nas chaves dicotômicas para *P. scobina* também merece cautela e maiores estudos, já que aparentemente não é uma característica presente em todos os exemplares e ao longo de todo desenvolvimento ontogênico ; (iii) seja evitado ou utilizado com precaução a característica presença ou não de reticulado nas chaves dicotômicas, pois aparentemente não demonstra ser características exclusivas das espécies finais identificadas por Rosa (1985); (iv) a cor dos spots em material fixado não é uma boa característica diagnóstica, pois sua coloração pode ser influenciada pelos métodos de fixação e armazenagem dos espécimes, considerando que 10 % da amostra total, que permaneceram conservados em álcool 80 %, tiveram a coloração dos seus spots modificada (ficaram mais claros), em comparação com o padrão apresentado nas fotos a fresco.

A análise multivariada tem sido utilizadas como ferramenta para separação de espécies ou populações com características morfológicas diferentes (McEachran & Mattheson, 1985; McEachran *et al.*, 1989; Calderón, 1994), tendo sido empregada anteriormente em vários grupos de peixes ósseos e cartilagosos (Rincón, 1997; Cavalcanti *et al.*, 1996; Cavalcanti *et al.*, 1997). As análises de componentes principais para formar os grupos (Sokal & Rohlf, 1981; Straney, 1978) e de função discriminante (Blackith & Reyment, 1971; Sneath & Sokal, 1973; James, 1985; Morrison, 1990) para testar estes grupos são as ferramentas mais utilizadas para separação de espécies ou populações.

A análise de componentes principais e de função discriminante, utilizando o padrão de coloração dorsal como grupo categórico, indicou que a maior parte da variância é explicada pela diferenças em tamanho dos exemplares, e que os grupos formados apresentaram uma grande sobreposição. Desse modo, o padrão de coloração dorsal não apresentou uma correlação com as medidas morfométricas.

O sequenciamento de partes do DNA mitocondrial, especificamente da porção do gene ribossomal 16 S, foi utilizado para verificar as taxas de divergência genética entre animais de diferentes padrões de coloração dorsal e entre as espécies do gênero *Potamotrygon* capturadas em Colares. Este marcador molecular é amplamente citado na literatura como eficiente para separação de espécies do mesmo gênero, e gêneros da mesma família, em diversos grupos animais (Machado *et al.*, 1993; Levinton *et al.*, 1996; Ortí & Meyer, 1997; Farias *et al.*, 1998), inclusive raias de água doce (Marques 2000; C. P. Araújo, 2002).

Os resultados obtidos indicam que as divergências nucleotídicas encontradas nas raias de Colares também não têm correspondência com os padrões de coloração dorsal. Esta conclusão corrobora com aquela obtida através da análise multivariada (morfometria).

A maior divergência gênica entre os animais identificados como *P. scobina* foi de 0,3 % e vários animais de diferentes padrões apresentaram 100 % de similaridade. Apenas dois sítios (183 e 524) apresentaram-se variáveis (mutação do tipo transição entre A e G). No entanto, evidenciou-se uma sobreposição de valores de divergência nucleotídicas em alguns animais de espécies diferentes (*P. scobina*, *P. orbignyi* e *P. motoro* 2). Esta situação pode ser explicada pelo fato de o exemplar identificado como *P. motoro* 2 do trabalho de Araújo (2002), muito provavelmente ter sido erroneamente

determinado. Esta afirmação considera o fato de que *P. motoro 2* apresentou taxas de divergência gênica menores, quando comparadas a outras espécies, do que quando comparada a animais da mesma espécie (*P. motoro 1* de Marques, 2000). Este mesmo exemplar *P. motoro 2* apresentou ainda 100 % de similaridade quando comparada a *P. orbignyi* de Colares (animal 439). Claramente existe um problema com *P. motoro 2* de Araújo e parece estar relacionado à sua identificação.

Diversas espécies de elasmobrânquios têm apresentado taxas muito pequenas de polimorfismo e heterozigose, sendo utilizados diferentes marcadores moleculares, (Smith, 1986; MacDonald, 1988; Lavery & Shaklee, 1989; Martin & Palumbi, 1993; Feldheim *et al.*, 2001). Apenas para ilustrar esta afirmação, Kitamura *et al.*, (1996), estudando o tubarão *Carcharhinus leucas* e usando citocromo b como marcador molecular, encontrou apenas um sítio polimórfico entre populações residentes na Austrália e na Nicarágua. Por sua vez, a população da Nicarágua, quando foi comparada com as populações do México, apresentou a mesma seqüência gênica.

As taxas de divergência nucleotídica encontradas na comparação de *P. scobina* e *P. orbignyi* foram baixas (0,3 %) ou nulas (indicando 100 % de similaridade). Em geral, a taxa de divergência nucleotídica para separação de espécies utilizando-se o 16 S é de 1 % (Iracilda Sampaio - comunicação pessoal). Taxas menores que este valor são teoricamente subentendidas como uma mesma espécie.

Dentro do grupo *P. scobina*, foi considerada a existência de 2 sub-grupos: (i) animais com 0,0 % de divergência nucleotídica; (ii) animais com 0,3 % de divergência nucleotídica, apresentando portanto taxas bem menores que as do limite de separação entre espécies (que é de 1 %). Entretanto a divergência nucleotídica encontrada dentro

do grupo *P. scobina* se sobrepõe também quando comparada com outras espécies analisadas.

As baixas taxas de divergência encontradas entre espécies diferentes podem ser causadas pelo fato de os elasmobrânquios apresentarem reconhecidamente baixa variabilidade genética e conseqüentemente baixas taxas de divergência gênica (Heist *et al.*, 1995; Martin *et al.*, 1992). Nesse caso, o seqüenciamento de partes do DNA mitocondrial, especificamente da porção 16 S por ser um marcador bastante conservado, poderia eventualmente não captar a pequena variação presente e descrita no grupo. A ocorrência desta baixa variação entre espécies diferentes hipoteticamente poderia ser interpretada como causada por um pequeno tempo de divergência entre as mesmas (espécies evolutivamente muito próximas).

Toda problemática poderia ser direcionada para as duas espécies do gênero *Potamotrygon* ocorrentes em Colares. Quando comparadas isoladamente as espécies *P. scobina* e *P. orbignyi* (que apresentaram sobreposição com valor de 0,3 %), verificou-se um aumento na taxa de divergência dos animais do primeiro grupo ($n = 3$) para 0,6 %. Este aumento denotou claramente que estas espécies não possuíam os mesmos sítios de variação compartilhados, pois se os possuísem, todos os animais *P. scobina* quando comparados com *P. orbignyi* apresentariam taxas de divergência de 0,3 %. Portanto, aparentemente seriam espécies diferentes, apesar de terem apresentado divergências gênicas muito similares, provavelmente produto de eventos evolutivos bastante recentes.

Entretanto, o maior problema relaciona-se a aqueles animais que apresentaram divergência nucleotídica de 0,0 % entre indivíduos de *P. scobina* e *P. orbignyi*. Para este fato não existe explicação lógica e, neste caso, podemos considerar então apenas

duas hipóteses: (i) o marcador molecular 16 S poderia não estar separando satisfatoriamente algumas espécies de raias de água doce e, portanto, os resultados deveriam ser desconsiderados ou analisados com muita cautela; (ii) o marcador foi eficiente para este gênero, separando e / ou agrupando as espécies. Caso a segunda possibilidade fosse a correta, dever-se-ia considerar os animais identificados como *P. scobina* e *P. orbignyi* pertencentes à mesma espécie e conseqüentemente invalidariam-se todas as considerações anteriores sobre as baixas taxas de variação.

A sobreposição de taxas de divergência nucleotídica entre todas as espécies analisadas na Tabela 30, envolveu valores entre 0,3 % e 0,8 %. Desta forma, todos aqueles exemplares que apresentaram divergências menores que 1% pertenceriam a uma só espécie, mesmo que identificadas como espécies sistematicamente distintas. Assim sendo, verifica-se pelos resultados encontrados que exemplares de *P. scobina* e *P. orbignyi*; *P. motoro 2* e *P. orbignyi*; *P. leopoldi* e *P. motoro 2*; *P. henlei* e *P. orbignyi*; *P. henlei* e *P. scobina*; *P. leopoldi* e *P. orbignyi* apresentaram taxas inferiores a 1 % e que deveriam então, isoladamente ou em conjunto, ser consideradas da mesma espécie. Apenas *P. motoro 1* apresentou taxa de divergência superior a 1 % em relação a todas as outras espécies analisadas.

Esta sobreposição indica que: (i) praticamente todas as espécies diferentes analisadas teriam correlações, no sentido de serem a mesma espécie e, conseqüentemente, a identificação dos animais seria incorreta; (ii) o marcador molecular 16 S (apesar de ser comprovadamente eficiente na separação de espécies de um mesmo gênero em outros táxons) eventualmente não conseguiu isoladamente separar estas espécies de raias de água doce e (iii) as espécies seriam realmente diferentes, e possivelmente teriam divergido a muito pouco tempo na escala evolutiva.

Pelas considerações realizadas, os resultados do presente estudo poderiam levar a três hipóteses:

1. Uma só espécie: a diferença gênica e morfológica entre *P. orbignyi* e *P. scobina* é baixa ou nula, o que sustentaria a hipótese de formarem uma só espécie. Esta hipótese explicaria a ausência de jovens de *P. scobina* e a de adultos de *P. orbignyi* na região, pois, uma forma seria a jovem da outra, e vice-versa;
2. Duas espécies: o caráter sulco labial, excetuando outras características envolvendo coloração além dos resultados da análise morfométrica, seriam suficientes para separar as espécies *P. orbignyi* de *P. scobina*. Os diferentes padrões de coloração dorsal de *P. scobina* não refletiriam diferenças específicas. O marcador 16 S, utilizado isoladamente, não deveria ser utilizado como critério único para separação das espécies em raias de água doce e as divergências nucleotídicas nulas, ou pequenas, entre estas duas espécies não deveriam ser consideradas;

De qualquer forma, somente um estudo ainda mais amplo envolvendo uma análise morfométrica combinada com o seqüenciamento de DNA mitocondrial das espécies do gênero *Potamotrygon* ou com diferentes marcadores, poderá esclarecer qual das hipóteses acima seria a mais provável. Inicialmente a segunda hipótese parece ser a mais próxima da realidade, considerando aspectos sistemáticos e morfométricos.

4.5 - Conclusões

Segundo os dados analisados neste capítulo sobre considerações sistemáticas de *P. scobina*, pode-se concluir que:

Poucos trabalhos oferecem subsídios confiáveis para comparação e a correta identificação dos exemplares capturados desta espécie nominal.

A análise das características externas das classes de tamanho estipuladas indicou que existe uma ampla variação em forma, número, tamanho e disposição das estruturas e caracteres analisados, sendo esta variação mais evidente em animais sub-adultos / adultos.

Considerando independentemente as características externas analisadas, as com maior freqüências de ocorrência foram, em sua grande maioria, diferentes daquelas indicadas para *P. scobina* na chave dicotômica utilizada.

Três padrões básicos de coloração dorsal para neonatos / juvenis foram identificados (*Spots*, *Reticulado* e *Reticulado com spots*), sendo que os dois últimos ainda não haviam sido descritos.

Sub-adultos e adultos apresentaram quatro padrões (*Spot*, *Roseta*, *Roseta modificada* e *Escuro*), sendo os três últimos anteriormente não verificados para *P. scobina*. O padrão de coloração dorsal mais encontrado foi o *Roseta*.

Os caracteres sulco labial, coloração dorsal e coloração da região ventral posterior da cauda foram as principais características diagnósticas na separação de *P. scobina* da outra espécie do mesmo gênero (*P. orbigny*) presente em Colares.

A análise de caracteres morfométricos da série coletada contribuiu para ampliar os intervalos de proporção de medidas em relação à largura do disco indicados na

descrição desta espécie e identificar diferenças morfométricas significativas entre os sexos.

Verificou-se a ocorrência de uma elevada porcentagem de fêmeas com largura de disco superior a 500 mm (grandes e adultas) em todas as fases de captura. Machos com cláspes rígidos, aptos para reprodução, representaram 52,1 % da amostra total capturada.

As larguras de disco 200 - 300 mm e 650 - 700 mm foram as menos capturadas. A largura de disco mais presente foi a de 350 - 400 mm.

As análises de componentes principais e função discriminante não formaram padrões diferenciados para os morfotipos de sub-adultos e adultos.

A maior divergência gênica encontrada, utilizando a porção rRNA 16 S foi de 0,3 %.

As análises de genética molecular não identificaram a formação de grupos distintos que fossem relacionados aos quatro padrões de coloração de sub-adultos e adultos.

5 - Conclusões Finais

O presente estudo indicou que na região de Colares foram capturadas raias de água doce pertencentes aos três gêneros já descritos pela literatura, além de um novo gênero em descrição.

Os espécimes amostrados foram identificados como sendo pertencentes as espécies: *Plesiotrygon iwamae*, *Paratrygon aiereba*, *Potamotrygon orbignyi* e *Potamotrygon scobina*. A espécie *P. scobina* foi considerada a mais abundante delas.

A espécie considerada com sendo *P. scobina* apresentou três novos padrões de coloração dorsal para indivíduos sub-adultos / adultos e dois novos padrões para juvenis.

Os caracteres externos analisados para *P. scobina* apresentaram ampla variação, sendo este fato mais evidente em indivíduos sub-adultos / adultos e relacionados ao tamanho e distribuição.

As análises morfométricas e testes de análise estatística multivariada para *P. scobina* indicaram que os quatro padrões de coloração dorsal encontrados em sub-adultos e adultos não formaram grupos separados.

As análises envolvendo genética molecular tampouco indicaram a formação de grupos distintos ao serem considerados os quatro padrões de coloração de *P. scobina*. Entretanto, foi observado que outras espécies pertencentes ao gênero *Potamotrygon* apresentaram resultados extremamente próximos, e até mesmo idênticos, aos obtidos com o marcador molecular 16 S para *P. scobina*.

Maiores estudos abrangendo análises de policromatismo, morfometria e de genética molecular são evidentemente necessários para esclarecer aspectos sistemáticos de gênero *Potamotrygon*.

6 - Referências Bibliográficas

- ACHENBACH, G. M. & ACHENBACH, S. V. M. 1976. Notas acerca de algunas especies de raya fluvial (Batoidei, Potamotrygonidae) que frecuentan el sistema hidrográfico del Paraná medio en el Departamento La Capital (Santa Fe-Argentina). **Comunicaciones del Museo Provincial de Ciencias Naturales Florentino Ameghino**, 8:1-34.
- ARAÚJO, M. L. G. 1998. **Biologia Reprodutiva e Pesca de *Potamotrygon* sp. C (Chondrichthyes - Potamotrygonidae), no Médio Rio Negro, Amazonas**. Dissertação de Mestrado. Manaus, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia & Universidade do Amazonas. 171 p.
- ARAÚJO, M. L. G. 1999. **Primeiro Relatório Parcial da Situação dos estoques de Arraias da Família Potamotrygonidae Utilizadas como Peixe Ornamental**. Universidade do Amazonas - Instituto de Ciências Biológicas. Manaus. 25 p.
- ARAÚJO, M. L. G. 2000. Efeito de El Niño sobre o ciclo reprodutivo de *Potamotrygon thorsoni* (sp nov) (Chondrichthyes - Potamotrygonidae). **Resumos da II Reunião da Sociedade Brasileira para o Estudo de Elasmobrânquios**, Santos. 38 p.
- ARAÚJO, C. P. 2002. **DNA Mitocondrial como Ferramenta para Identificar Arraias e Tubarões da Costa Nordeste do Pará: Implicações Filogenéticas**. Monografia de Conclusão de Curso de Licenciatura Plena em Biologia. Universidade Federal do Pará / Campus Universitário de Bragança. 32 p.
- AYRES, M.; AYRES, M. JR.; AYRES, D.L.; SANTOS, A. S. 2000. **BioStat 2.0 - Aplicações estatísticas nas Áreas das Ciências Biológicas e Médicas**. Sociedade Civil Mamirauá. 259 p.

- BARTHEM, R. B. & SCHWASSMANN, H. O. 1994. Amazon river influence on the seasonal displacement of the salt wedge in the Tocantins river estuary, Brazil, 1983-1985. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, série Zoologia**, 10 (1):119-130.
- BARTHEM, R. B. 1985. Ocorrência, distribuição e biologia dos peixes da baía de Marajó, estuário amazônico. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, série Zoologia**, 2 (1):49-69.
- BATISTA, V. S. 1998. **Distribuição Dinâmica da Frota e dos Recursos Pesqueiros da Amazônia Central**. Tese de Doutorado em Ciências Biológicas – Biologia de Água Doce e Pesca Interior - INPA. Manaus. 291 p.
- BLACKITH, R & REYMENT, R. A. 1971. **Multivariate Morphometrics**. Academic Press, London, 412 p.
- BRAGANÇA, A. J. M. 2002. **Observações Sobre a Alimentação de Raias de água Doce *Potamotrygon orbignyi*, *Potamotrygon scobina* e *Plesiotrygon iwamae* (Chondrichthyes : Potamotrygonidae) na Baía de Marajó - Pará - Brasil**. Monografia de Conclusão de Curso de Ciências Biológicas. Universidade Federal do Pará. 33 p.
- BRASIL. 1974. Parte das Folhas SA 22 Belém. Departamento Nacional de Produção Mineral. **Projeto RADAM** (Levantamento dos Recursos Naturais), vol. 5, 480 p.
- BROOKS, D. R. 1995. Neotropical freshwater stingrays and their parasites: a tale of an ocean and a river long ago. In: The Biology of Freshwater Elasmobranchs. Oetinger, M. I. & Zorzi, G. D. (eds.). **Journal of Aquariculture & Aquatic Sciences**, 7: 52-61.
- BROOKS, D. R.; THORSON, T. B. & MAYES, M. A. 1981. Freshwater stingrays

- (Potamotrygonidae) and their helminth parasites: testing hypotheses of evolution and coevolution. In: **Advances in Cladistics**. Funk, V. A. & Brooks, D. R. (eds.). Proceedings of the First Meeting of the Willi Hennig Society, New York. p. 147-175.
- CALDERÓN, J. J. D. 1994. **Morfología, distribuição, abundância e reprodução de duas espécies do gênero *Squalus* no sul do Brasil**. Tese de Mestrado, Fundação Universidade de Rio Grande - FURG: 104 p.
- CASTELLO, H. P. 1975. Hunting for freshwater stingrays. **Tropical Fish Hobbist**, 2 (12): 19-34.
- CASTEX, M. N. 1963. **La Raya Fluvial: notas histórico-geográficas**. Santa Fé, Librería y Editorial Castellví. 119 p.
- CASTEX, M. N. 1964. Estado actual de los estudios sobre la raya fluvial neotropical. **Revista del Museo Provincial de Ciencias Naturales Florentino Ameghino**, número extraordinario del cincuentenario: 9 - 49.
- CASTEX, M. N. & MACIEL, I. 1965. **Notas Sobre la Familia Potamotrygonidae Garman 1913**. Santa Fé, Dirección General de Recursos Naturales, Publicación Técnica 14:1-23.
- CASTEX, M. N. 1967. Bases para el estudio de las rayas de agua dulce del sistema amazónico. Nuevas sinonímias de "*P. motoro*" (M.H. 1941). **Atas do Simpósio sobre a Biota Amazônica**, Rio de Janeiro, Vol. 3 (Limnologia): 89-92.
- CAVALCANTI, M. J.; GOMES, U. L. & TOMÁS, A. R. G. (1996). Discriminação morfológica entre *Rhizoprionodon porosus* (Poey, 1861) e *Rhizoprionodon lalandii* (Valenciennes, 1839) (Elasmobranchii, Carcharhiniformes, Carcharhinidae): um estudo multivariado. **Acta Biologica Leopoldensia**, 18 (2): 103-108.

- CAVALCANTI, M.J.; V. GALLO-DA-SILVA & A.F. AFONSO. (1997). Identificação de *Rhinoptera bonasus* (Mitchill, 1815) e *R. brasiliensis* Müller & Henle, 1841 (Chondrichthyes, Myliobatiformes, Rhinopteridae) pela análise de funções discriminantes. **Acta Biologica Leopoldensia**, 19 (2): 205-215.
- CERDEIRA, R. G. P.; RUFFINO, M. L.; ISAAC, V. J. 1997. Consumo de Pescado e Outros Alimentos Pela População Ribeirinha do Lago Grande de Monte Alegre, PA - Brasil. **Acta Amazônica** 27(3): 212-228.
- CHARVET-ALMEIDA. 2001. **Ocorrência, Biologia e Uso das Raias de Água Doce na baía de Marajó (Pará-Brasil), com ênfase na biologia de *Plesiotrygon iwamae* (Chondrichthyes: Potamotrygonidae)**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Pará & Museu Paraense Emílio Goeldi. 213 p.
- COMPAGNO, L. J. V. & COOK, S. F. 1995. The exploitation and conservation of freshwater elasmobranchs: status of taxa and prospects for the future. In: *The Biology of Freshwater Elasmobranchs*. Oetinger, M. I. & Zorzi, G. D. (eds.). **Journal of Aquaculture & Aquatic Sciences**, 7:62-90.
- COMPAGNO, L. J. V. 1990. Shark exploration and conservation. In: **Elasmobranch as Living Resources: advances in biology, ecology and systematics, and the status of fisheries**. Pratt, H. L., Gruber, S. H. & Taniuchi, T (eds.). NOAA Technical Report NMFS: 391-414.
- EGLER, W. A. & SCHWASSMANN, H. O. 1962. Limnological studies in the Amazon estuary. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi**, nova série Geologia, 1: 2-25.
- FARIAS, I.P.; SCHNEIDER, H. & SAMPAIO, M.I. 1998. Molecular Phylogeny of Neotropical Cichlids: The Relationships of Cichlasomines and Heroine. In

- Malabarba L. & Reis R (eds). Preceding: **Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes**, Porto Alegre: EDIPUCRS. p 499-508.
- FELDDHEIM, K. A.; GRUBER, S. H.; ASHLEY, M.V. 2001. Population genetic structure of the lemon shark (*Negaprion brevirostris*) in the western Atlantic: DNA microsatellite variation. **Molecular Ecology**. 10, 295-303.
- FERREIRA, E. J. G.; ZUANON, J. A. S. & SANTOS, G. M. dos. 1998. **Peixes Comerciais do Médio Amazonas: região de Santarém, Pará**. IBAMA, Brasília, p. 17-22.
- FOWLER, H. W. 1948. Os peixes de água doce do Brasil. **Arqos. Zool.** São Paulo, 6: 1-204.
- FOWLER, H. W. 1970. A catalog of world fishes (XII). **Quart. J.Taiwan Mus.** 23 (1/2): 39- 126.
- GADIG, O. B. F. 1998. **Tubarões**. Editora Ática. São Paulo. 51 p.
- GARMAN, S. 1913. **The Plagiostomia (sharks, skates and rays)**. Mem. Mus. Comp. Zool., 36: I-xiii + 1-575, 75 pls. (reprint 1997)
- HEIST E. J.; GRAVES, J.E.; MUSICK J. A. 1995. Population genetics of the sandbar shark (*Carcharhinus plumbeus*) in the Gulf of Mexico and Mid-Atlantic Bight. **Copeia**, 1995, 555-562.
- HOLDEN, M. J. 1974. Problems in the rational exploitation of elasmobranch populations and some suggested solutions. In: **Sea Fisheries Research**. Harden-Jones, F. R. (ed.). New York, John Wiley & Sons, p. 117-137.
- HUBBS, C. L. & ISHIYAMA, R. 1968. Methods for the taxonomic study and description of skates (Rajidae). **Copeia**, 3: 483-491.

- ISSAC, V. J.; MILSTEIN, A.; RUFFINO, M. L. 1996. A Pesca Artesanal no baixo Amazonas: Análise Multivariada da Captura por espécie. **Acta Amazonica** 26(3): 185-208.
- JAMES, M. 1985. **Classification Algorithms**. John Wiley & Sons, New York. 209 p.
- JOLICOEUR, P. 1963. The multivariate generalization of the allometry equation. **Biometrics**, 19: 497-499.
- KIMURA M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. **J. Mol. Evol.** 16: 111-120.
- KITAMURA T.; TAKEMURA, A.; WATABE, S., Taniuchi, T. Shimizu, M. 1996. Mitochondrial DNA Analysis for the Cytochrome c Gene and D-loop Region from the Bull Shark *Carcharhinus leucas*. **Fisheries Science** 62(1), 21-27.
- KUMAR, S.; TAMURA, K.; JAKOBSEN, I. & NEI, M. 2001. **Molecular Evolutionary Genetics Analysis Versión 2.0**. The Pennsylvania State University.
- LASSO, C. A. 1985. Las rayas de agua dulce. **Natura**, 77:6-9.
- LASSO, C. A., RIAL A. B. & LASSO-ALCALÁ. 1996. Notes on the biology of the freshwater stingrays *Paratrygon aiereba* (Müller & Henle, 1841) and *Potamotrygon orbignyi* (Castelnau, 1855) (Chondrichthyes: Potamotrygonidae) in the Venezuelan llanos. **Aqua Journal of Ichthyology and Aquatic Biology**, 2(3): 39-52.
- LAVERY S. & SHAKLEE J. B. 1989. Population genetics of two tropical sharks, *Carcharinus tilstoni* and *C. sorrah*, in Northern Australia. **Australian Journal of Marine and Freshwater Research**, 40, 541-547.
- LEIBLE, M. D. & STEHMANN, M. 1987. First record of *Raja* (*Dipturus trachyderma*) Krefft and Stehmann, 1975 from the Southeastern Pacific of Chile, with first

- descriptions of its claspers and additional skeletal and morphological details (Pisces, Rajiformes, Rajidae). **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, 4(22): 169-188.
- LEIBLE, M. D. 1988. Revision de metodos para estudios taxonomicos de rayas (Rajiformes, Rajidae). **Gayana, Zoologia**, 52(1-2): 15-93.
- LESSA, R., SANTANA, F. M., RINCÓN, G., GADIG, O. B. F. & EL-DEIR, A. C. A. 1999. Biodiversidade de Elasmobrânquios no Brasil. In: **Relatório e Ações Prioritárias para Conservação da Biodiversidade da Zona Costeira e Marinha**. (<http://www.bdt.org.br/workshop/costa>).
- LEVINGTON, J.; STURMBAUER, C. & CHRISTY, J. 1996. Molecular data and biogeography: resolution of a controversy history of a pan-tropical group of invertebrates. **Journal of Experimental Marine biology and Ecology**, 203: 117-131.
- LOWE-McCONNELL, R. H. 1998. **Estudos Ecológicos de Comunidades de Peixes Tropicais**. São Paulo, Edusp, 536 p.
- MACDONALD C.M. 1988. Genetic variation, breeding structure and taxonomic status of the gummy shark, *Mustelus antarcticus* in southern Australia waters. **Australian Journal of Marine and Feshwater Research**, 39, 641-648.
- MACHADO, E. G.; DENNEBUY, N.; SUARES, M. O.; MOUNOLOU, J. & MONNEROT, M. 1993. Mitochondrial 16 S-rRNA Gene of two Species of Shrimps: Sequence Variability and secondary Structure. **Crustaceana** 65 (3): 279-286.
- MARTIN A. P. & PALUMBI S. R. 1993. Protein evolution in different cellular environments: cytochrome b in sharks and mammals. **Mol. Biol. Evol.** 10: 873-891.

- MARTIN A. P.; NAYLOR, G.J.P.; PALUMBI, S.R. 1992. Rates of mitochondrial DNA are slow in sharks compared to mammals. **Nature**, 357, 153-155.
- MARQUES, F. P. L. 2000. **Evolution od Neotropical Freshwater Stingrays and their Parasites: Taking Into Account Space and Time**. Tese de doutorado. Department of Zoology, University of Toronto, 325 p.
- McEACHRAN, J. D. & MATHESON, E. R. JR. 1985. Polycromatim and polymorfism in *Breviraja spinosa* (Elasmobranchii, Rajiformes), with description of three new species. **Copeia** (4). 1035-1052.
- McEACHRAN, J.D.; SERET, B. & MYIAKE, T. 1989. Morphological variation within *Raja miraleus* and status of *R. ocellifera* (Chondrichthyes: Rajoidei). **Copeia** 1989. 629-641.
- MORRISON, D. F. 1990. **Multivariate Statistical Methods**. 3rd ed. McGraw-Hill, New York, 495 p.
- MOULD, B. 1997. **Classification of the Recent Elasmobranchii: a classification of the living sharks and rays of the world**. (<http://ibis.nott.ac.uk/elasmobranch.html>)
- NELSON, J. S. 1994. **Fishes of the World**. 3rd ed. New York, John Wiley & Sons, Inc. p. 57-58.
- ORTÍ, G. & MEYER, A. 1997. The radiation of characiform fishes and the limits of resolution of mitochondrial ribossomal DNA sequences. **Syst. Biol.**, 46: 75-100.
- PALUMBI, S.; MARTIN, A.; ROMANO, S.; MCMILLIAN, W.O.; STICE, L. GRABOWSKI, G. 1991. **The simple Fool's guide to PCR**, University of Hawaii, Honolulu.
- PERES-NETO, P. R. 1995. Introdução a análises morfométricas. p. 57-89; *In*: PERES-NETO, P. R.; VALENTIN, J. L. & FERNANDEZ, F. A. S. (eds). **Tópicos em**

- Tratamento de Dados Biológicos, vol II. de Oecologia brasiliensis.** Rio de Janeiro.
- PINTO, J. A. 1987. **Biologia de *Potamotrygon motoro* (Pisces; Rajiformes) do complexo lagunar de Viana - Maranhão.** Monografia de Conclusão de Curso de Ciências Biológicas. São Luís, Universidade Federal do Maranhão. 45 p.
- PINTO, G. S. 2002. **Análise Morfométrica em cinco Espécies do Gênero *Mabuya* Fitzinger, 1825 (Squamata: Scincidae).** Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Pará & Museu Paraense Emílio Goeldi. 29 p.
- PRATT, H. L. & CASEY, J. G. 1990. Shark reproductive strategies as limiting factor in directed fisheries, with a review of Holden's method of estimating growth-parameters. In: **Elasmobranch as Living Resources: advances in biology, ecology and systematics, and the status of fisheries.** Pratt, H. L., Gruber, S. H. & Taniuchi, T. (eds.). NOAA Technical Report NMFS: 97-109.
- RINCÓN, G. F. 1997. **Taxonomia, Alimentação e Reprodução da Raia Elétrica *Benthobatis* sp. (Torpediniformes: Narcinidae) no Sul do Brasil.** Dissertação de mestrado. Universidade do Rio Grande. 95 p.
- ROSA, R. S. & MENEZES, N. A. 1996. Relação preliminar das espécies de peixes (Pisces, Elasmobranchii, Actinopterygii) ameaçadas no Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, 13(3):647-667.
- ROSA, R. S. 1985. **A Systematic Revision of the South American Freshwater Stingrays (Chondrichthyes: Potamotrygonidae).** Tese de Doutorado. Williamsburg, College of William and Mary. 523 p.

- ROSA, R. S., CASTELLO, H. P. & THORSON, T. B. 1987. *Plesiotrygon iwamae*, a new genus and species of Neotropical freshwater stingray (Chondrichthyes: Potamotrygonidae). *Copeia*, 2: 447-458
- ROSA, R. S. 1997. Espécies de elasmobrânquios ameaçadas no Brasil. **Resumos da I Reunião da Sociedade Brasileira para Estudo dos Elasmobrânquios**, Ilhéus, p. 111-113.
- ROSS, R. A. & SCHÄFER, F. 2000. **Aqualog Süßwasser Rochen - Freshwater Rays**. Mörfelden-Walldorf, Verlag ACS. 192 p.
- 30SANGER, F., NICHLEN, S. & COULSON, A.R. 1977. DNA sequencing with chain-termination inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 74 : 5463-5468.
- SMITH, P. J. 1986. Low genetic variation in sharks (Chondrichthyes). *Copeia*, 202-207.
- SNEATH, P. H. A. & SOKAL, R. R. **Numerical Taxonomy: the Principles and Practice of Numerical Classification**. W.H. Freeman, San Francisco, 573 p.
- SOKAL, R. R. & ROHLF, F. J. 1981. **Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research**. 2nd. Ed. W.H. Freeman, San Francisco, 859 p.
- STRANEY, D. O. 1978. **Variance partitioning and nongeographic variation**. *J. Mann*. 59: 1-11.
- SUDAM. 1984. **Atlas Climatológico da Amazônia Brasileira: projeto de hidrologia e climatologia da Amazônia**. Belém, 125 p.
- TANIUCHI, T. 1982. **Studies on the adaptability and phylogenetic evolution of freshwater elasmobranchs**. Scientific Research Team on freshwater Elasmobranchs. University of Tokio (em japonês). 125 p.
- THORSON, T. B., LANGHAMMER, J. K. & OETINGER, M. I. 1983. Reproduction

and development of the South American freshwater stingrays, *Potamotrygon circularis* and *P. motoro*. **Environmental Biology of Fishes**, 9(1): 3-24.

WOURMS, J. P. 1981. Viviparity: the maternal-fetal relationship in fishes. **American Zoologist**, 21:473-515.

WOURMS, J. P.; GROVE, B. D. & LOMBARDI, J. 1988. The maternal-embryonic relationship in viviparous fishes. In: **Fish Physiology**. Hoar, W. S. & Randall, D. J. (eds.). San Diego, Academic Press, p. 1-134.

ZORZI, G. 1995. The biology of freshwater elasmobranchs: an historical perspective. In OETINGER, M.I. & ZORZI g. (eds). **The Biology of freshwater Elasmobranchs**. Journal of Aquariculture & Aquatic Sciences. 7: 10-31.

7 - Anexos

ANEXO 1 - Informações Gerais ao Campo

Número do exemplar	_____	Data	_____
Nome vulgar	_____	Localidade	_____
Espécie	_____	Hora	_____
Peso Total	_____	Coletor	_____
Peso Eviscerado	_____	Substrato	_____
Sexo	_____	Temperatura	_____
Coloração	_____	Condutividade	_____
Maré	_____	Salinidade	_____
OBS:	_____		

Número do exemplar	_____	Data	_____
Nome vulgar	_____	Localidade	_____
Espécie	_____	Hora	_____
Peso Total	_____	Coletor	_____
Peso Eviscerado	_____	Substrato	_____
Sexo	_____	Temperatura	_____
Coloração	_____	Condutividade	_____
Maré	_____	Salinidade	_____
OBS:	_____		

Número do exemplar	_____	Data	_____
Nome vulgar	_____	Localidade	_____
Espécie	_____	Hora	_____
Peso Total	_____	Coletor	_____
Peso Eviscerado	_____	Substrato	_____
Sexo	_____	Temperatura	_____
Coloração	_____	Condutividade	_____
Maré	_____	Salinidade	_____
OBS:	_____		

ANEXO 2 - Ficha de Análise de Características Externas

FICHA DE ANÁLISE COMPLEMENTAR DE EXEMPLARES

NÚMERO DO
EXEMPLAR

--

Coloração da superfície dorsal

F	B

marrom claro

marrom escuro

preto

F	B

spots soltos

spots em roseta

sem spots

spots em roseta alterada

F	B

com reticulado

sem reticulado

Cor dos spots da superfície dorsal

F	B

amarelo escuro

amarelo

branco

sem spots

Cor da superfície ventral

F	B

Branca sem margem evidente

Branca com margem escura evidente

Branca com margem escura evidente e pintas escuras

Predominantemente marrom

Spot escuro central

presente

ausente

O que é branco?:

Coloração das nadadeiras pélvicas

F	B

DORSAL

a mesma do disco

outra

F	B

VENTRAL

predominantemente branca

branca com bordas escuras

branca com bordas escuras e pintas

predominantemente escura

Coloração da superfície ventral da cauda

F B

		predominantemente branca
		rajada
		predominantemente escura
		com trabéculas
		predominantemente escura com região mais clara próxima a inserção caudal

Presença de denticulos no disco

	aspero no meio do corpo		margens		mais desenvolvidos
	aspero em outra região além do meio do corpo		só na região anterior		menos desenvolvidos
					similar

Número de ferrões na cauda

Distribuição dos spots

	denso no corpo todo
	esparso no corpo todo
	sem spots na região medio dorsal
	ausencia de spots

Espinhos latero-caudais

	nenhum		Prox. Inserção caudal
	poucos		Prox. Inserção do ferrão
	muitos		Ao longo da cauda

Séries de espinhos da cauda

	Ausentes
	Presentes

Número de série de espinhos:

Presença de sulcos labiais

☐	SIM
☐	NÃO

Quantos:

Prega labial

☐	presente
☐	ausente

Calcificação do clasper

☐	não calcificado
☐	medianamente calcificado
☐	bem calcificado
☐	fêmea

Finfolds

Dorsal

☐	Presentes
☐	Ausentes

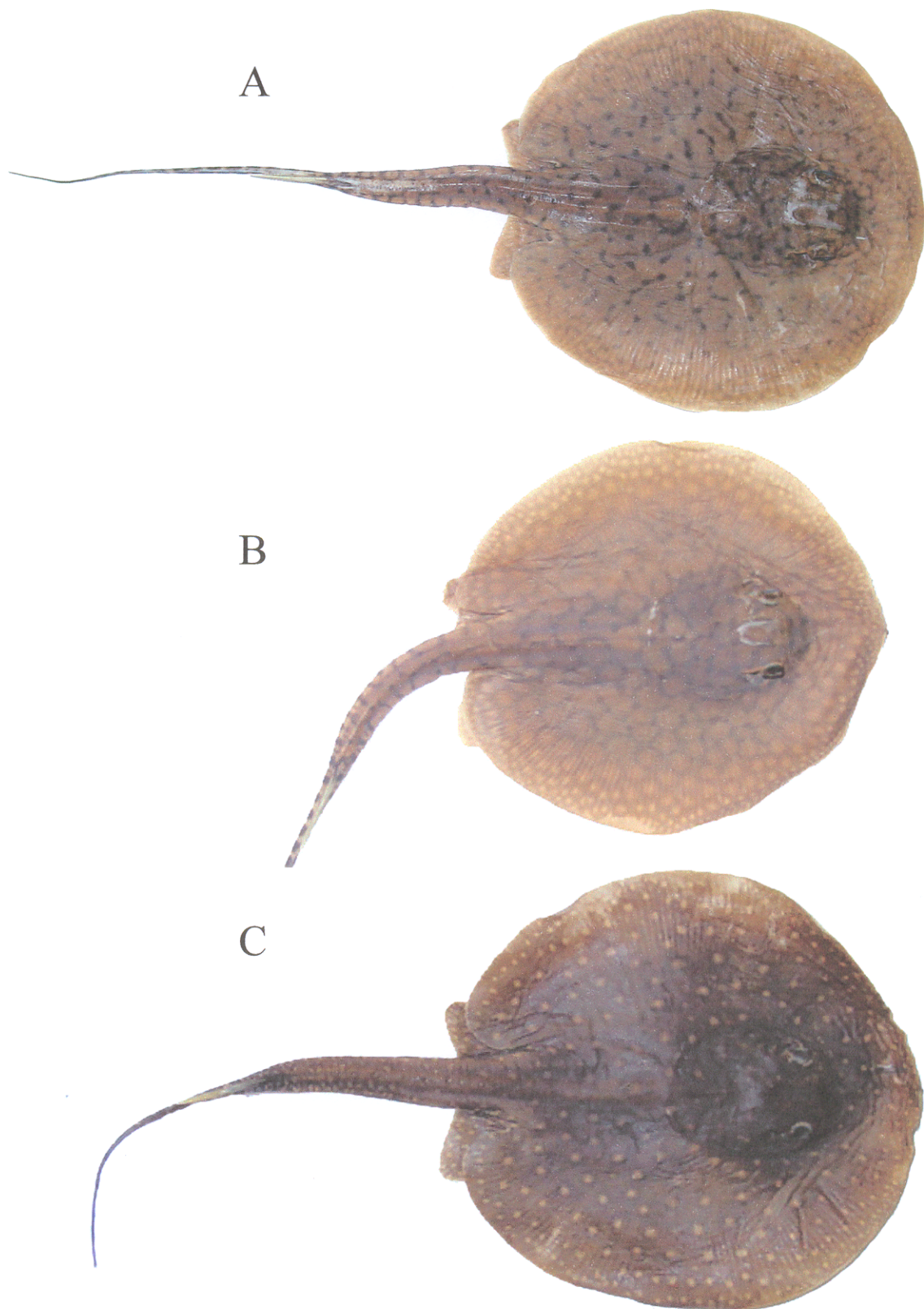
Ventral

☐	Presentes
☐	Ausentes

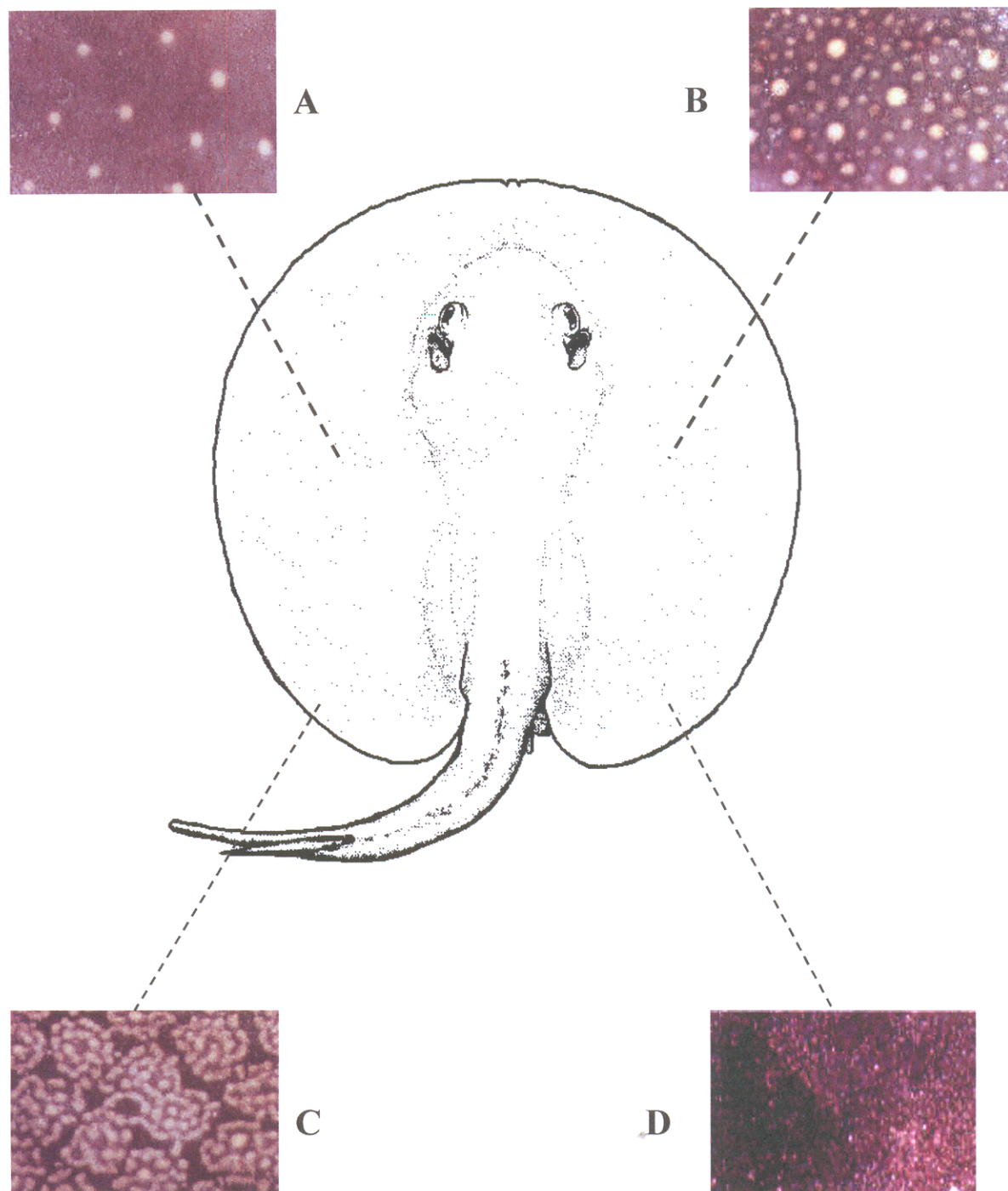
ANEXO 3 - Ficha de Obtenção de Medidas Morfométricas

<i>Potamotrygon scobina</i>						
1	comp. total					
2	larg. disco					
3	comp. disco					
4	altura da cauda na base					
5	comp. maior espinho					
6	preocular					
7	interocular					
8	interorbital					
9	interespiracular					
10	comp. espiraculo (diam. horiz.)					
11	diam. olho (diam. horiz. orb.)					
12	comp. disc. até axil. nad. peit.					
13	boca a escapulocorac.					
14	boca a cloaca					
15	cloaca a inserc. esp.					
16	cloaca a ponta da cauda					
17	larg. da cauda na base					
18	larg. cauda na inserc. esp.					
19	margem post nad. pelv.					
20	margem ant. da nad. pelv.					
21	comp. clasp. desde a cloac.					
22	preoral					
23	prenasal					
24	precloacal					
25	dist. entre 1a e 5a abert. branq.					
26	dist. entre 1as fendas branq.					
27	dist. entre 5as fendas branq.					
28	larg. boca					
29	comp. da narina					
30	internasal					
31	comp. caud. desde marg. post. disc. a ins. esp.					
OBS.						

Anexo 4 - Coloração dorsal de exemplares neonatos / juvenis de *Potamotrygon scobina* capturados em Colares (A - somente apresentando reticulado; B - apresentando reticulado com spots nas margens; C - somente apresentando spots).



Anexo 5A - Detalhe dos quatro padrões de coloração dorsal de exemplares sub-adultos / adultos de *Potamotrygon scobina* capturados em Colares (A - padrão *Spot*; B - padrão *Roseta*; C - padrão *Roseta modificada*; D - padrão *Escuro*).



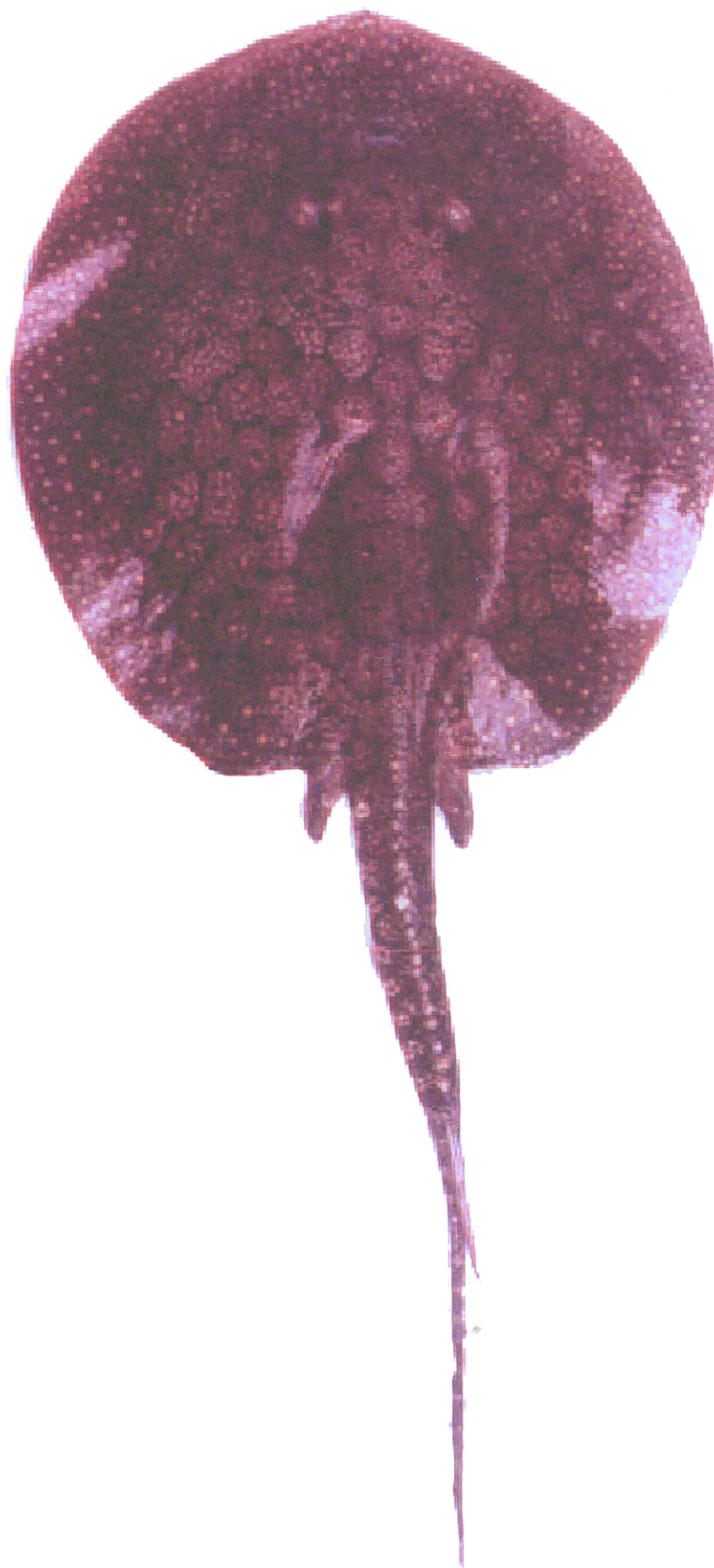
Anexo 5B – Exemplar sub-adulto / adulto de *Potamotrygon scobina* apresentando o padrão *Spot*.



Anexo 5C - Exemplar sub-adulto / adulto de *Potamotrygon scobina* apresentando o padrão *Roseta*.



Anexo 5D – Exemplar sub-adulto / adulto de *Potamotrygon scobina* apresentando o padrão *Roseta modificada*.



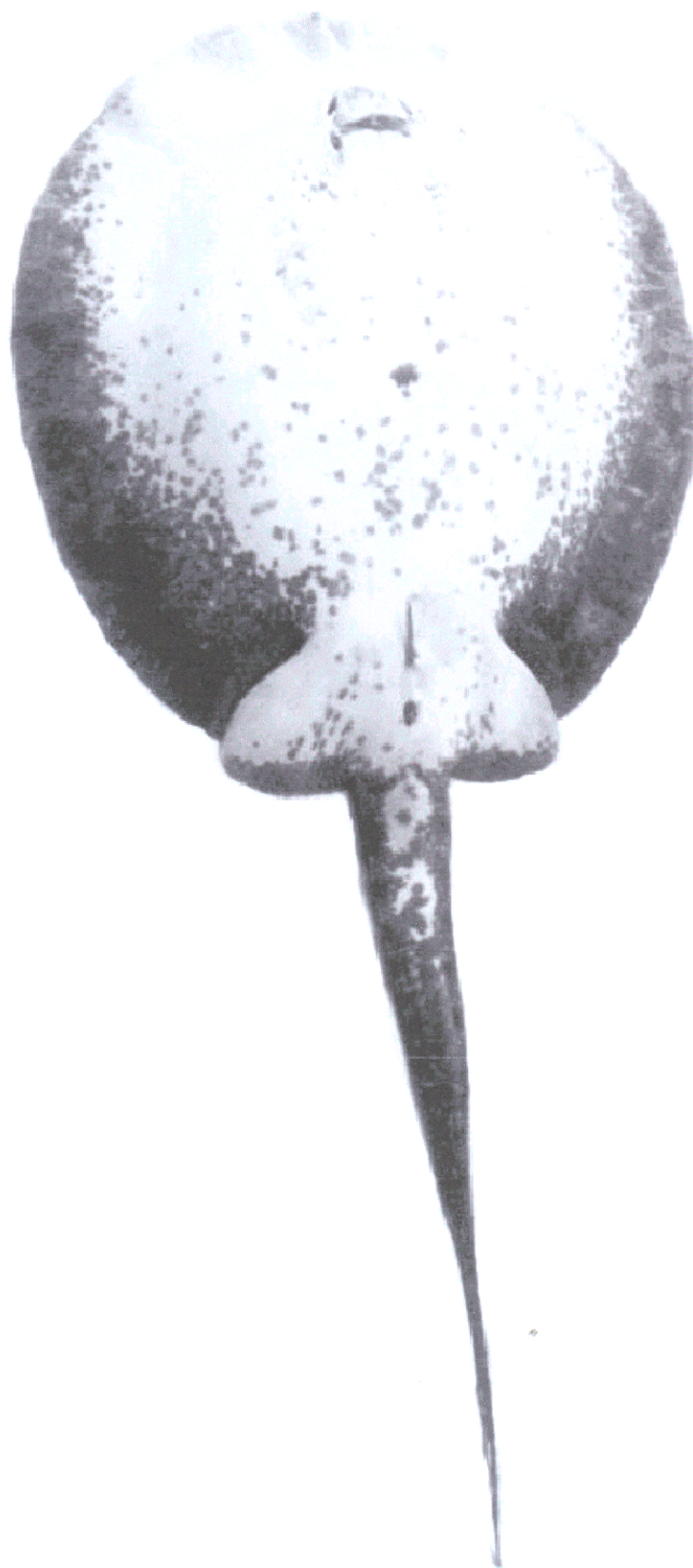
Anexo 5E - Exemplar sub-adulto / adulto de *Potamotrygon scobina* apresentando o padrão *Escuro*.



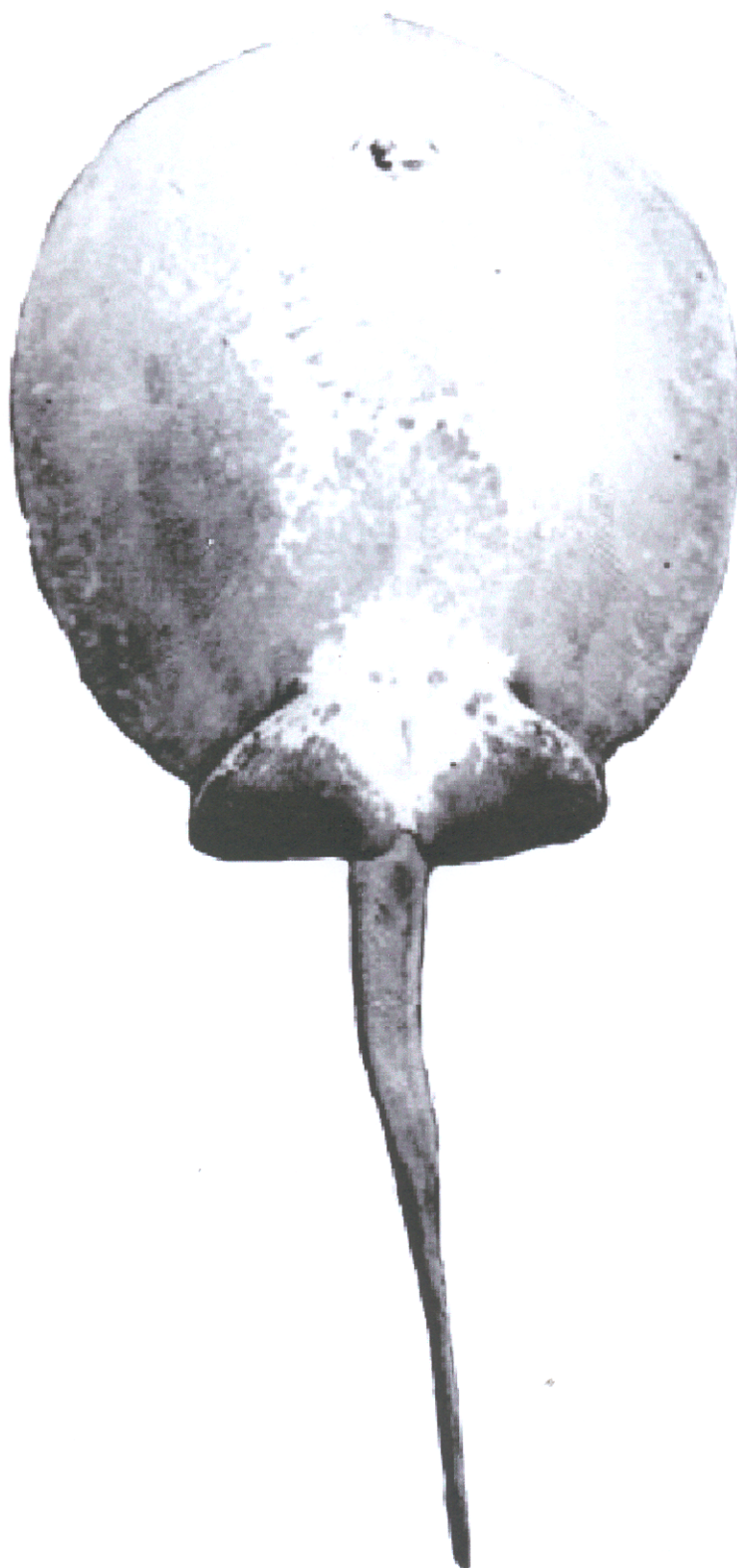
Anexo 6A – Exemplar sub-adulto / adulto de *Potamotrygon scobina* apresentando o padrão de coloração ventral branco sem margens escuras evidentes.



Anexo 6B – Exemplar sub-adulto / adulto de *Potamotrygon scobina* apresentando o padrão de coloração ventral branco com margens escuras evidentes e pintas escuras.



Anexo 6C – Exemplar sub-adulto / adulto de *Potamotrygon scobina* apresentando o padrão de coloração ventral predominantemente escuro.



ANEXO 7 A - Estatísticas de medidas morfométricas (porcentagem em relação à largura do disco) do tipo (MCZ 602-S, Rosa, 1985) e da amostra de *Potamotrygon scobina* estudada por Rosa (1985).

Variáveis morfométricas		Tipo	min~máx	média	S.D.	n
1	Comprimento total	--- (mm)	191,3~194,4	192,9	---	2
2	Largura do disco	230,0 (mm)	205~270	---	---	--
3	Comprimento do disco	253 (mm)	212~290	---	---	--
Variáveis morfométricas		%				
4	Preocular	30,2 mm	26,3~30,2	28,0	1,9	4
5/ 6	Interocular / Interorbital	18,9 mm	16,5~18,9	17,7	0,9	4
7	Diâmetro do olho (diam. horiz. orb.)	3,6 mm	3,6~4,3	3,9	0,3	4
8	Interespiracular	16,8 mm	16,2~18,7	17,4	1,1	4
9	Comprimento do espiráculo (diam. horiz.)	6,5 mm	5,8~6,8	6,3	0,4	4
10	Largura da cauda na base	---	11,8~12,0	11,9	0,1	3
11	Altura da cauda na base	6,7 mm	5,8~6,7	6,4	0,4	4
12	Comprimento do maior espinho	---	---	24,2	---	1
13	Largura da cauda na inserção do ferrão	---	---	5,6	---	2
14	Comprimento do disco até a axila da nadadeira peitoral	98,2 mm	91,7~98,2	94,6	2,8	4
15	Boca a escapulocoracóide	31,5 mm	28,9~31,5	30,0	1,1	4
16	Boca a cloaca	65,2 mm	63,1~65,5	64,3	1,2	4
17	Precloacal	91,7 mm	86,3~91,7	88,8	2,6	4
18	Cloaca a inserção do ferrão	---	53,7~54,3	54,0	---	2
19	cloaca a ponta da cauda	---	100,0~102,7	101,3	---	2
20	Margem posterior da nadadeira pélvica	23,8 mm	23,0~27,0	24,8	1,7	4
21	Margem anterior da nadadeira pélvica.	20,7 mm	20,3~25,3	22,7	2,5	4
22	Comprimento do cláasper desde a cloaca	11,6 mm	10,8~11,9	11,4	0,5	3
23	Preoral	26,5 mm	22,6~26,5	24,5	1,7	4
24	Prenasal	21,0 mm	8,1-8,9 *	18,6	2,1	4
25	Distância entre 1ª e 5ª abertura branquial	---	14,4~14,7	14,6	0,1	3
26	Distância entre as 1as fendas branquiais	---	24,9~25,7	25,2	0,4	3
27	Distância entre as 5as fendas branquiais	---	---	---	---	--
28	Comprimento da narina	---	4,7~5,9	5,1	0,6	3
29	Internasal	8,9 mm	8,1~8,9	8,4	0,3	4
30	Comprimento da cauda desde a margem posterior do disco até a inserção do ferrão	---	---	---	---	--
31	Largura da boca	9,9 mm	8,3~9,9	8,9	0,6	4

ANEXO 7 B - Medidas morfométricas de neonatos/juvenis de *Potamotrygon scobina* obtidas no presente estudo.

<i>Potamotrygon scobina</i> (neonatos/juvenis machos e fêmeas)						
Variáveis morfométricas		min. (%)	máx. (%)	média (%)	S.D.	n
1	Comprimento total	218,79	253,62	236,88	8,45	41
2	Largura do disco	---	---	---	---	51
3	Comprimento do disco	101,28	110,00	106,05	1,96	51
4	Preocular	27,43	33,02	30,53	1,13	51
5	Interocular	17,72	23,08	20,29	1,39	51
6	Interorbital	0,0006	0,0009	0,0008	0,000067	51
7	Diâmetro do olho (diam. horiz. orb.)	4,13	5,76	4,87	0,42	51
8	Interespiracular	16,70	20,57	19,14	0,99	51
9	Comprimento do espiráculo (diam. horiz.)	6,77	9,88	8,18	0,54	51
10	Largura da cauda na base	8,81	12,27	10,57	0,77	51
11	Altura da cauda na base	4,81	6,82	5,71	0,42	51
12	Comprimento do maior espinho	13,70	25,96	17,83	2,47	51
13	Largura da cauda na inserção do ferrão	4,59	6,80	5,58	0,52	51
14	Comprimento do disco até a axila da nadadeira peitoral	90,47	100,05	94,85	1,87	51
15	Boca a escapulocoracóide	28,90	32,41	30,78	0,86	51
16	Boca a cloaca	59,47	68,84	63,53	1,85	51
17	Precloacal	84,94	93,55	88,45	1,92	51
18	Cloaca a inserção do ferrão	45,29	54,50	49,97	2,50	51
19	cloaca a ponta da cauda	124,61	157,22	140,48	7,37	41
20	Margem posterior da nadadeira pélvica	19,77	31,50	25,19	2,59	51
21	Margem anterior da nadadeira pélvica.	20,68	28,27	24,94	1,88	51
22	Comprimento do cláasper desde a cloaca	8,65	11,66	10,25	0,79	24
23	Preoral	23,70	27,96	26,11	0,87	51
24	Prenasal	16,72	21,46	19,68	0,92	51
25	Distância entre 1a e 5a abertura branquial	13,17	16,27	14,61	0,66	51
26	Distância entre as 1as fendas branquiais	22,97	26,10	24,28	0,70	51
27	Distância entre as 5as fendas branquiais	15,81	18,44	16,97	0,63	51
28	Comprimento da narina	4,89	6,82	5,68	0,33	51
29	Internasal	7,67	9,38	8,60	0,41	51
30	Comprimento da cauda desde a margem posterior do disco até a inserção do ferrão	35,31	46,37	41,35	2,74	51
31	Largura da boca	8,35	10,83	9,67	0,59	51

ANEXO 7 C- Medidas morfométricas de exemplares machos sub-adultos e adultos de *Potamotrygon scobina* obtidas no presente estudo.

<i>Potamotrygon scobina</i> (machos)						
Variáveis morfométricas	min. ~máx. (mm)	min. (%)	max. (%)	média (%)	S.D.	n
1 Comprimento total	667~1093 (n=51)	202,71	250,00	222,63	8,97	51
2 Largura do disco	286~570 (n= 164)	---	---	---	---	164
3 Comprimento do disco	303~616 (n=163)	102,45	111,53	107,29	1,79	163
4 Preocular		25,30	30,93	28,00	1,01	163
5 Interocular		13,84	17,70	15,63	0,68	163
6 Interorbital		8,29	10,77	9,24	0,42	163
7 Diâmetro do olho (diam. horiz. orb.)		2,16	3,57	2,29	0,25	163
8 Interespiracular		16,07	20,23	18,22	0,91	162
9 Comprimento do espiráculo (diam. horiz.)		7,01	9,26	7,99	0,44	164
10 Largura da cauda na base		8,66	13,27	10,97	0,77	164
11 Altura da cauda na base		5,68	7,76	6,65	0,43	164
12 Comprimento do maior espinho		13,65	25,25	19,63	2,51	158
13 Largura da cauda na inserção do ferrão		4,31	6,64	5,59	0,47	161
14 Comprimento do disco até a axila da nadadeira peitoral		90,98	101,13	95,54	2,08	164
15 Boca a escapulocoracóide		27,68	31,83	29,84	0,89	161
16 Boca a cloaca		60,17	69,64	64,72	1,75	162
17 Precloacal		84,13	94,17	89,12	1,89	162
18 Cloaca a inserção do ferrão		45,34	60,45	53,44	2,83	162
19 cloaca a ponta da cauda		109,71	158,55	128,76	9,37	49
20 Margem posterior da nadadeira pélvica		23,53	32,12	27,12	1,76	162
21 Margem anterior da nadadeira pélvica.		21,37	28,23	24,51	1,46	163
22 Comprimento do cláasper desde a cloaca		12,43	24,84	21,29	3,08	164
23 Preoral		22,03	26,65	24,35	0,84	160
24 Prenasal		16,71	20,29	18,26	0,74	162
25 Distância entre 1a e 5a abertura branquial		13,33	15,78	14,50	0,48	162
26 Distância entre as 1as fendas branquiais		22,90	25,77	24,26	0,65	161
27 Distância entre as 5as fendas branquiais		15,65	18,98	17,34	0,60	162
28 Comprimento da narina		4,13	6,28	5,30	0,34	162
29 Internasal		7,06	9,01	8,12	0,39	162
30 Comprimento da cauda desde a margem posterior do disco até a inserção do ferrão		35,16	55,62	45,38	3,74	162
31 Largura da boca		7,66	11,39	9,47	0,65	164

ANEXO 7 D - Medidas morfométricas de exemplares fêmeas sub-adultas e adultas de *Potamotrygon scobina* obtidas no presente estudo.

Potamotrygon scobina (fêmeas)							
Variáveis morfométricas		min. ~máx. (mm)	min. (%)	máx. (%)	média (%)	S.D.	n
1	Comprimento total	733~1325 (n=35)	209,63	250,92	226,56	10,01	35
2	Largura do disco	249~691 (n=142)	---	---	---	---	142
3	Comprimento do disco	271~757 (n=141)	101,97	112,76	107,55	1,96	141
4	Preocular		25,51	30,19	27,82	0,94	140
5	Interocular		14,41	18,23	16,15	0,70	140
6	Interorbital		7,93	10,55	9,31	0,46	142
7	Diâmetro do olho (diam. horiz. orb.)		2,06	4,00	2,81	0,37	141
8	Interespiracular		16,37	20,71	18,47	0,90	139
9	Comprimento do espiráculo (diam. horiz.)		7,09	9,26	8,19	0,43	142
10	Largura da cauda na base		9,19	13,54	11,34	0,77	138
11	Altura da cauda na base		5,93	8,06	6,88	0,44	141
12	Comprimento do maior espinho		10,87	24,38	17,65	2,99	138
13	Largura da cauda na inserção do ferrão		4,22	6,65	5,53	0,54	140
14	Comprimento do disco até a axila da nadadeira peitoral		90,67	102,97	97,35	2,39	141
15	Boca a escapulocoracóide		27,23	32,72	29,56	0,94	141
16	Boca a cloaca		61,03	73,81	66,90	2,48	140
17	Preloacal		85,95	96,54	90,87	2,19	141
18	Cloaca a inserção do ferrão		44,57	59,44	51,86	2,76	137
19	cloaca a ponta da cauda		108,60	154,01	129,89	9,97	35
20	Margem posterior da nadadeira pélvica		22,75	32,24	27,66	1,96	140
21	Margem anterior da nadadeira pélvica.		18,93	28,45	23,79	1,97	141
22	Comprimento do cláasper desde a cloaca		---	---	---	---	---
23	Preoral		21,32	26,07	23,80	0,99	141
24	Prenasal		15,50	20,13	17,81	0,87	141
25	Distância entre 1ª e 5ª abertura branquial		13,52	15,73	14,51	0,49	142
26	Distância entre as 1as fendas branquiais		22,98	27,74	24,67	1,79	137
27	Distância entre as 5as fendas branquiais		16,22	19,95	17,95	0,85	140
28	Comprimento da narina		4,54	6,26	5,25	0,32	142
29	Internasal		6,95	8,93	7,79	0,37	139
30	Comprimento da cauda desde a margem posterior do disco até a inserção do ferrão		36,92	57,11	46,07	3,98	138
31	Largura da boca		7,62	11,12	9,38	0,64	141

ANEXO 7 E - Medidas morfométricas de exemplares sub-adultos e adultos, machos e fêmeas, de *Potamotrygon scobina* obtidas no presente estudo.

Potamotrygon scobina (machos e fêmeas)						
Variáveis morfométricas	min. ~máx. (mm)	min. (%)	máx. (%)	média (%)	S.D.	n
1 Comprimento total	667~1325	202,71	250,92	224,23	9,55	86
2 Largura do disco	249~691	---	---	---	---	306
3 Comprimento do disco	271~757	101,97	112,76	107,41	1,87	304
4 Preocular		25,30	30,93	27,91	0,98	303
5 Interocular		13,84	18,23	15,87	0,73	303
6 Interorbital		7,93	10,77	9,27	0,44	305
7 Diâmetro do olho (diam. horiz. orb.)		2,06	4,00	2,89	0,32	304
8 Interespiracular		16,07	20,71	18,34	0,91	301
9 Comprimento do espiráculo (diam. horiz.)		7,01	9,26	8,08	0,44	306
10 Largura da cauda na base		8,66	13,54	11,14	0,79	302
11 Altura da cauda na base		5,68	8,06	6,76	0,45	305
12 Comprimento do maior espinho		10,87	25,25	18,71	2,91	296
13 Largura da cauda na inserção do ferrão		4,22	6,65	5,56	0,50	301
14 Comprimento do disco até a axila da nadadeira peitoral		90,67	102,97	96,38	2,40	305
15 Boca a escapulocoracóide		27,23	32,72	29,71	0,92	302
16 Boca a cloaca		60,17	73,81	65,73	2,38	302
17 Precloacal		84,13	96,54	89,83	2,21	303
18 Cloaca a inserção do ferrão		44,57	60,45	52,71	2,90	299
19 cloaca a ponta da cauda		108,60	158,55	129,23	9,58	84
20 Margem posterior da nadadeira pélvica		22,75	32,24	27,37	1,87	302
21 Margem anterior da nadadeira pélvica.		18,93	28,45	24,18	1,75	304
22 Comprimento do cláasper desde a cloaca		12,43	24,84	21,29	3,08	164
23 Preoral		21,32	26,65	24,10	0,95	301
24 Prenasal		15,50	20,29	18,05	0,84	303
25 Distância entre 1a e 5a abertura branquial		13,33	15,78	14,51	0,48	304
26 Distância entre as 1as fendas branquiais		22,90	27,74	24,45	0,75	298
27 Distância entre as 5as fendas branquiais		15,65	19,95	17,62	0,79	302
28 Comprimento da narina		4,13	6,28	5,28	0,33	304
29 Internasal		6,95	9,01	7,97	0,41	301
30 Comprimento da cauda desde a margem posterior do disco até a inserção do ferrão		35,16	57,11	45,70	3,86	300
31 Largura da boca		7,62	11,39	9,43	0,65	305

					
	10	20	30	40	50
P.leopoldi	??????????	??????????	??????????	??????????	??????????
P.henlei	??????????	??????????	??????????	??????????	??????????
P.motoro 1	??????????	??????????	??????????	??????????	??????????
P.orbigny	??????????	??????????	??????????	??????????	??????????
P.motoro 2	GAGSTTTCGC	CTGCCCTGTG	ACTCATTCAA	CGGCCGCGGT	ATCTTGACCG
P.orbi439	GAGSTCTCGC	CTGCCCTGTG	ACTCATTCAA	CGGCCGCGGT	ATCTTGACCG
P.orbi437	GAGSTCTCGC	CTGCCCTGTG	ACTCATTCAA	CGGCCGCGGT	ATCTTGACCG
P.orbi696	GAGSTCTCGC	CTGCCCTGTG	ACTCATTCAA	CGGCCGCGGT	ATCTTGACCG
P.orbi475	GAGSTCTCGC	CTGCCCTGTG	ACTCATTCAA	CGGCCGCGGT	ATCTTGACCG
P.orbi443	GAGSTCTCGC	CTGCCCTGTG	ACTCATTCAA	CGGCCGCGGT	ATCTTGACCG
P.scob598A	GAGSTCTCGC	CTGCCCTGTG	ACTCATTCAA	CGGCCGCGGT	ATCTTGACCG
P.scob624B	GAGSTCTCGC	CTGCCCTGTG	ACTCATTCAA	CGGCCGCGGT	ATCTTGACCG
P.scob596D	GAGSTCTCGC	CTGCCCTGTG	ACTCATTCAA	CGGCCGCGGT	ATCTTGACCG
P.scob637D	GAGSTCTCGC	CTGCCCTGTG	ACTCATTCAA	CGGCCGCGGT	ATCTTGACCG
P.scob803C	GAGSTCTCGC	CTGCCCTGTG	ACTCATTCAA	CGGCCGCGGT	ATCTTGACCG
P.scob507A	GAGSTCTCGC	CTGCCCTGTG	ACTCATTCAA	CGGCCGCGGT	ATCTTGACCG
P.scob542C	GAGSTCTCGC	CTGCCCTGTG	ACTCATTCAA	CGGCCGCGGT	ATCTTGACCG
P.scob811B	GAGSTCTCGC	CTGCCCTGTG	ACTCATTCAA	CGGCCGCGGT	ATCTTGACCG
P.scob510D	GAGSTCTCGC	CTGCCCTGTG	ACTCATTCAA	CGGCCGCGGT	ATCTTGACCG
P.scob498A	GAGSTCTCGC	CTGCCCTGTG	ACTCATTCAA	CGGCCGCGGT	ATCTTGACCG
P.scob730D	GAGG-CTCGC	CTGCCCTGTG	ACTCATTCAA	CGGCCGCGGT	ATCTTGACCG
P.scob594C	GAGSTCTCGC	CTGCCCTGTG	ACTCATTCAA	CGGCCGCGGT	ATCTTGACCG
P.scob489B	GAGSTCTCGC	CTGCCCTGTG	ACTCATTCAA	CGGCCGCGGT	ATCTTGACCG
P.scob400B	GAGSTCTCGC	CTGCCCTGTG	ACTCATTCAA	CGGCCGCGGT	ATCTTGACCG

					
	60	70	80	90	100
P.leopoldi	?????AGGTA	GCGTAATCAC	TCGTCTTTTA	ATTGAAGGCT	CGTATGAACG
P.henlei	?????AGGTA	GCGTA-TCAC	TCGTCTTTTA	ATTGAAGGCT	CGTATGAACG
P.motoro 1	?????AGGTA	GCGTAATCAC	TCGTCTTTTA	ATTGAAGGCT	CGTATGAACG
P.orbigny	?????GGTA	GCGTAATCAC	TCGTCTTTTA	ATTGAAGGCT	CGTATGAACG
P.motoro 2	TGCGAAGGTA	GCGTAATCAC	TCGTCTTTTA	ATTGAAGGCT	CGTATGAACG
P.orbi439	TGCGAAGGTA	GCGTAATCAC	TCGTCTTTTA	ATTGAAGGCT	CGTATGAACG
P.orbi437	TGCGAAGGTA	GCGTAATCAC	TCGTCTTTTA	ATTGAAGGCT	CGTATGAACG
P.orbi696	TGCGAAGGTA	GCGTAATCAC	TCGTCTTTTA	ATTGAAGGCT	CGTATGAACG
P.orbi475	TGCGAAGGTA	GCGTAATCAC	TCGTCTTTTA	ATTGAAGGCT	CGTATGAACG
P.orbi443	TGCGAAGGTA	GCGTAATCAC	TCGTCTTTTA	ATTGAAGGCT	CGTATGAACG
P.scob598A	TGCGAAGGTA	GCGTAATCAC	TCGTCTTTTA	ATTGAAGGCT	CGTATGAACG
P.scob624B	TGCGAAGGTA	GCGTAATCAC	TCGTCTTTTA	ATTGAAGGCT	CGTATGAACG
P.scob596D	TGCGAAGGTA	GCGTAATCAC	TCGTCTTTTA	ATTGAAGGCT	CGTATGAACG
P.scob637D	TGCGAAGGTA	GCGTAATCAC	TCGTCTTTTA	ATTGAAGGCT	CGTATGAACG
P.scob803C	TGCGAAGGTA	GCGTAATCAC	TCGTCTTTTA	ATTGAAGGCT	CGTATGAACG
P.scob507A	TGCGAAGGTA	GCGTAATCAC	TCGTCTTTTA	ATTGAAGGCT	CGTATGAACG
P.scob542C	TGCGAAGGTA	GCGTAATCAC	TCGTCTTTTA	ATTGAAGGCT	CGTATGAACG
P.scob811B	TGCGAAGGTA	GCGTAATCAC	TCGTCTTTTA	ATTGAAGGCT	CGTATGAACG
P.scob510D	TGCGAAGGTA	GCGTAATCAC	TCGTCTTTTA	ATTGAAGGCT	CGTATGAACG
P.scob498A	TGCGAAGGTA	GCGTAATCAC	TCGTCTTTTA	ATTGAAGGCT	CGTATGAACG
P.scob730D	TGCGAAGGTA	GCGTAATCAC	TCGTCTTTTA	ATTGAAGGCT	CGTATGAACG
P.scob594C	TGCGAAGGTA	GCGTAATCAC	TCGTCTTTTA	ATTGAAGGCT	CGTATGAACG
P.scob489B	TGCGAAGGTA	GCGTAATCAC	TCGTCTTTTA	ATTGAAGGCT	CGTATGAACG
P.scob400B	TGCGAAGGTA	GCGTAATCAC	TCGTCTTTTA	ATTGAAGGCT	CGTATGAACG

					
	110	120	130	140	150
P.leopoldi	GCATAACGAG	AGTTTACCTG	TCTCTATTTT	TCCAATCAAT	GAAATTGATC
P.henlei	GCATAACGAG	AGTTTACCTG	TCTCTATTTT	-CTAATCAAT	GAAATTGATC
P.motoro 1	GCATAACGAG	AGTTTATCTG	TCTCTATTTT	-CCAATCAAT	GAAATTGATC

P.orbigny	GCATAACGAG	AGTTTACCTG	TCTCTATTTT	-CCAATCAAT	GAAATTGATC
P.motoro 2	GCATAACGAG	AGTTTACCTG	TCTCTATTTT	-CCAATCAAT	GAAATTGATC
P.orbi439	GCATAACGAG	AGTTTACCTG	TCTCTATTTT	-CCAATCAAT	GAAATTGATC
P.orbi437	GCATAACGAG	AGTTTACCTG	TCTCTATTTT	-CCAATCAAT	GAAATTGATC
P.orbi696	GCATAACGAG	AGTTTACCTG	TCTCTATTTT	-CCAATCAAT	GAAATTGATC
P.orbi475	GCATAACGAG	AGTTTACCTG	TCTCTATTTT	-CCAATCAAT	GAAATTGATC
P.orbi443	GCATAACGAG	AGTTTACCTG	TCTCTATTTT	-CCAATCAAT	GAAATTGATC
P.scob598A	GCATAACGAG	AGTTTACCTG	TCTCTATTTT	-CCAATCAAT	GAAATTGATC
P.scob624B	GCATAACGAG	AGTTTACCTG	TCTCTATTTT	-CCAATCAAT	GAAATTGATC
P.scob596D	GCATAACGAG	AGTTTACCTG	TCTCTATTTT	-CCAATCAAT	GAAATTGATC
P.scob637D	GCATAACGAG	AGTTTACCTG	TCTCTATTTT	-CCAATCAAT	GAAATTGATC
P.scob803C	GCATAACGAG	AGTTTACCTG	TCTCTATTTT	-CCAATCAAT	GAAATTGATC
P.scob507A	GCATAACGAG	AGTTTACCTG	TCTCTATTTT	-CCAATCAAT	GAAATTGATC
P.scob542C	GCATAACGAG	AGTTTACCTG	TCTCTATTTT	-CCAATCAAT	GAAATTGATC
P.scob811B	GCATAACGAG	AGTTTACCTG	TCTCTATTTT	-CCAATCAAT	GAAATTGATC
P.scob510D	GCATAACGAG	AGTTTACCTG	TCTCTATTTT	-CCAATCAAT	GAAATTGATC
P.scob498A	GCATAACGAG	AGTTTACCTG	TCTCTATTTT	-CCAATCAAT	GAAATTGATC
P.scob730D	GCATAACGAG	AGTTTACCTG	TCTCTATTTT	-CCAATCAAT	GAAATTGATC
P.scob594C	GCATAACGAG	AGTTTACCTG	TCTCTATTTT	-CCAATCAAT	GAAATTGATC
P.scob489B	GCATAACGAG	AGTTTACCTG	TCTCTATTTT	-CCAATCAAT	GAAATTGATC
P.scob400B	GCATAACGAG	AGTTTACCTG	TCTCTATTTT	-CCAATCAAT	GAAATTGATC

					
	160	170	180	190	200
P.leopoldi	TCCTCGTGCA	GAAGCGAGAA	T-AAAAACAT	-AAGAC-GAG	AAGACCCTAT
P.henlei	TCCTCGTGCA	GAAGCGAGAA	T-AAAAACAT	-AAGAC-GAG	AAGACCCTAT
P.motoro 1	TCCTCGTGCA	GAAGCGAGAA	T-AAAAACAT	T-AGAC-GAG	AAGACCCTAT
P.orbigny	TCCTCGTGCA	GAAGCGAGAA	TAAAAACAT	TAAGACCGAG	AAGACCCTAT
P.motoro 2	TCCTCGTGCA	GAAGCGAGAA	T-AAAAACAT	-AAGAC-GAG	AAGACCCTAT
P.orbi439	TCCTCGTGCA	GAAGCGAGAA	T-AAAAACAT	-AAGAC-GAG	AAGACCCTAT
P.orbi437	TCCTCGTGCA	GAAGCGAGAA	T-AAAAACAT	-AAGAC-GAG	AAGACCCTAT
P.orbi696	TCCTCGTGCA	GAAGCGAGAA	T-AAAAACAT	-AAGAC-GAG	AAGACCCTAT
P.orbi475	TCCTCGTGCA	GAAGCGAGAA	T-AAAAACAT	-AAGAC-GAG	AAGACCCTAT
P.orbi443	TCCTCGTGCA	GAAGCGAGAA	T-AAAAACAT	-AAGAC-GAG	AAGACCCTAT
P.scob598A	TCCTCGTGCA	GAAGCGAGAA	T-AAAAACAT	-AAGAC-GAG	AAGACCCTAT
P.scob624B	TCCTCGTGCA	GAAGCGAGAA	T-AAAAACAT	-AAGAC-GAG	AAGACCCTAT
P.scob596D	TCCTCGTGCA	GAAGCGAGAA	T-AAAAACAT	-AAGAC-GAG	AAGACCCTAT
P.scob637D	TCCTCGTGCA	GAAGCGAGAA	T-AAAAACAT	-AAGAC-GAG	AAGACCCTAT
P.scob803C	TCCTCGTGCA	GAAGCGAGAA	T-AAAAACAT	-AAGAC-GAG	AAGACCCTAT
P.scob507A	TCCTCGTGCA	GAAGCGAGAA	T-AAAAACAT	-AAGAC-GAG	AAGACCCTAT
P.scob542C	TCCTCGTGCA	GAAGCGAGAA	T-AAAAACAT	-AAGAC-GAG	AAGACCCTAT
P.scob811B	TCCTCGTGCA	GAAGCGAGAA	T-AAAAACAT	-AAGAC-GAG	AAGACCCTAT
P.scob510D	TCCTCGTGCA	GAAGCGAGAA	T-AAAAACAT	-AAGAC-GAG	AAGACCCTAT
P.scob498A	TCCTCGTGCA	GAAGCGAGAA	T-AAAAACAT	-AAGAC-GAG	AAGACCCTAT
P.scob730D	TCCTCGTGCA	GAAGCGAGAA	T-AAAAACAT	-AAGAC-GAG	AAGACCCTAT
P.scob594C	TCCTCGTGCA	GAAGCGAGAA	T-AAAAACAT	-AAGAC-GAG	AAGACCCTAT
P.scob489B	TCCTCGTGCA	GAAGCGAGAA	T-AAAAACAT	-AAGAC-GAG	AAGACCCTAT
P.scob400B	TCCTCGTGCA	GAAGCGAGAA	T-AAAAACAT	-AAGAC-GAG	AAGACCCTAT

					
	210	220	230	240	250
P.leopoldi	GGAGCTTTAA	A-CACTTAAG	TTACCCTTAA	ACA-?CCCAC	AAACACCTCT
P.henlei	GGAGCTTTAA	AACACTTAAG	TTACCCTTAA	ACA-?CCCAC	AAATACCTCT
P.motoro 1	GGAGCTTTAA	A-CACTTAAG	TTACCCTTAA	ACA-?CCCAC	AAACACCTCT
P.orbigny	GGAGCTTTAA	A-CACTTAAG	TTACCCTTAA	ACA-?CCCAC	AAATACCTCT
P.motoro 2	GGAGCTTTAA	A-CACTTAAG	TTACCCTTAA	ACACACCCAC	AAATACCTCT
P.orbi439	GGAGCTTTAA	A-CACTTAAG	TTACCCTTAA	ACACACCCAC	AAATACCTCT
P.orbi437	GGAGCTTTAA	A-CACTTAAG	TTACCCTTAA	ACA-?CCCAC	AAATACCTCT
P.orbi696	GGAGCTTTAA	A-CACTTAAG	TTACCCTTAA	ACA-?CCCAC	AAATACCTCT
P.orbi475	GGAGCTTTAA	A-CACTTAAG	TTACCCTTAA	ACA-?CCCAC	AAATACCTCT

P.orbi443	GGAGCTTTAA	A-CACTTAAG	TTACCCTTAA	ACA-?CCCCAC	AAATACCTCT
P.scob598A	GGAGCTTTAA	A-CACTTAAG	TTACCCTTAA	ACA-?CCCCAC	AAATACCTCT
P.scob624B	GGAGCTTTAA	A-CACTTAAG	TTACCCTTAA	ACA-?CCCCAC	AAATACCTCT
P.scob596D	GGAGCTTTAA	A-CACTTAAG	TTACCCTTAA	ACA-?CCCCAC	AAATACCTCT
P.scob637D	GGAGCTTTAA	A-CACTTAAG	TTACCCTTAA	ACA-?CCCCAC	AAATACCTCT
P.scob803C	GGAGCTTTAA	A-CACTTAAG	TTACCCTTAA	ACA-?CCCCAC	AAATACCTCT
P.scob507A	GGAGCTTTAA	A-CACTTAAG	TTACCCTTAA	ACA-?CCCCAC	AAATACCTCT
P.scob542C	GGAGCTTTAA	A-CACTTAAG	TTACCCTTAA	ACA-?CCCCAC	AAATACCTCT
P.scob811B	GGAGCTTTAA	A-CACTTAAG	TTACCCTTAA	ACA-?CCCCAC	AAATACCTCT
P.scob510D	GGAGCTTTAA	A-CACTTAAG	TTACCCTTAA	ACA-?CCCCAC	AAATACCTCT
P.scob498A	GGAGCTTTAA	A-CACTTAAG	TTACCCTTAA	ACA-?CCCCAC	AAATACCTCT
P.scob730D	GGAGCTTTAA	A-CACTTAAG	TTACCCTTAA	ACA-?CCCCAC	AAATACCTCT
P.scob594C	GGAGCTTTAA	A-CACTTAAG	TTACCCTTAA	ACA-?CCCCAC	AAATACCTCT
P.scob489B	GGAGCTTTAA	A-CACTTAAG	TTACCCTTAA	ACA-?CCCCAC	AAATACCTCT
P.scob400B	GGAGCTTTAA	A-CACTTAAG	TTACCCTTAA	ACA-?CCCCAC	AAATACCTCT

					
	260	270	280	290	300
P.leopoldi	ACGGACCTAA	ACCCACAA?-	TTAA-CCCCT	AA-CTTAA-C	CTGTTTTTTG
P.henlei	ACGGACCTAA	ACCCACAA?-	TTAA-CCCCT	AA-CTTAA-C	CTGTTTTTT-G
P.motoro 1	ACGGACCTAA	ACCCACAA?-	TTAA-CCCCT	AA-CTTAA-C	TTGTTTTTT-G
P.orbigny	ACGGACCTAA	ACCCACAA?-	TTAA-CCCCT	AA-CTTAA-C	CTGTTTTTT-G
P.motoro 2	ACGGACCTAA	ACCCACAA?-	TTAA-CCCCT	AA-CTTAA-C	CTGTTTTTT-G
P.orbi439	ACGGACCTAA	ACCCACAA?-	TTAA-CCCCT	AA-CTTAA-C	CTGTTTTTT-G
P.orbi437	ACGGACCTAA	ACCCACAA?-	TTAA-CCCCT	AA-CTTAA-C	CTGTTTTTT-G
P.orbi696	ACGGACCTAA	ACCCACAA?-	TTAA-CCCCT	AA-CTTAA-C	CTGTTTTTT-G
P.orbi475	ACGGACCTAA	ACCCACAA?-	TTAA-CCCCT	AA-CTTAA-C	CTGTTTTTT-G
P.orbi443	ACGGACCTAA	ACCCACAA?-	TTAA-CCCCT	AA-CTTAA-C	CTGTTTTTT-G
P.scob598A	ACGGACCTAA	ACCCACAA?-	TTAA-CCCCT	AA-CTTAA-C	CTGTTTTTT-G
P.scob624B	ACGGACCTAA	ACCCACAA?-	TTAA-CCCCT	AA-CTTAA-C	CTGTTTTTT-G
P.scob596D	ACGGACCTAA	ACCCACAA?-	TTAA-CCCCT	AA-CTTAA-C	CTGTTTTTT-G
P.scob637D	ACGGACCTAA	ACCCACAA?-	TTAA-CCCCT	AA-CTTAA-C	CTGTTTTTT-G
P.scob803C	ACGGACCTAA	ACCCACAA?-	TTAA-CCCCT	AA-CTTAA-C	CTGTTTTTT-G
P.scob507A	ACGGACCTAA	ACCCACAA?-	TTAA-CCCCT	AA-CTTAA-C	CTGTTTTTT-G
P.scob542C	ACGGACCTAA	ACCCACAA?-	TTAA-CCCCT	AA-CTTAA-C	CTGTTTTTT-G
P.scob811B	ACGGACCTAA	ACCCACAA?-	TTAA-CCCCT	AA-CTTAA-C	CTGTTTTTT-G
P.scob510D	ACGGACCTAA	ACCCACAA?-	TTAA-CCCCT	AA-CTTAA-C	CTGTTTTTT-G
P.scob498A	ACGGACCTAA	ACCCACAA?-	TTAA-CCCCT	AA-CTTAA-C	CTGTTTTTT-G
P.scob730D	ACGGACCTAA	ACCCACAA?-	TTAA-CCCCT	AA-CTTAA-C	CTGTTTTTT-G
P.scob594C	ACGGACCTAA	ACCCACAA?-	TTAA-CCCCT	AA-CTTAA-C	CTGTTTTTT-G
P.scob489B	ACGGACCTAA	ACCCACAA?-	TTAA-CCCCT	AA-CTTAA-C	CTGTTTTTT-G
P.scob400B	ACGGACCTAA	ACCCACAA?-	TTAA-CCCCT	AA-CTTAA-C	CTGTTTTTT-G

					
	310	320	330	340	350
P.leopoldi	GTTGGGGCGA	?????-????	?AAAACAAAA	CCCCCCCATC	GAATCC-GTG
P.henlei	GTTGGGGCGA	-CCGACGGGA	AAAACAAAA	CCCCCTCATC	GAATCC-GTG
P.motoro 1	GTTGGGGCGA	-CCGA-GGGG	AAAACAAAA	CCCCCTCATC	GAATCC-GCG
P.orbigny	GTTGGGGCGA	-CCGA-GGGG	AAAACAAAA	CCCCCTCATC	GAATCC-GTG
P.motoro 2	GTTGGGGCGA	-CCGA-GGGG	AAAACAAAA	CCCCCTCATC	GAATCC-GTG
P.orbi439	GTTGGGGCGA	-CCGA-gGGG	AAAACAAAA	CCCCCTCATC	GAATCC-GTG
P.orbi437	GTTGGGGCGA	-CCGA-GGGG	AAAACAAAA	CCCCCTCATC	GAATCC-GTG
P.orbi696	GTTGGGGCGA	-CCGA-GGGG	AAAACAAAA	CCCCCTCATC	GAATCC-GTG
P.orbi475	GTTGGGGCGA	-CCGA-GGGG	AAAACAAAA	CCCCCTCATC	GAATCC-GTG
P.orbi443	GTTGGGGCGA	-CCGA-GGGG	AAAACAAAA	CCCCCTCATC	GAATCC-GTG
P.scob598A	GTTGGGGCGA	-CCGA-GGGG	AAAACAAAA	CCCCCTCATC	GAATCC-GTG
P.scob624B	GTTGGGGCGA	-CCGA-GGGG	AAAACAAAA	CCCCCTCATC	GAATCC-GTG
P.scob596D	GTTGGGGCGA	-CCGA-GGGG	AAAACAAAA	CCCCCTCATC	GAATCC-GTG
P.scob637D	GTTGGGGCGA	-CCGA-GGGG	AAAACAAAA	CCCCCTCATC	GAATCC-GTG

P.scob803C	GTTGGGGCGA	-CCGA-GGGG	AAAAACAAAA	CCCCCTCATC	GAATCC-GTG
P.scob507A	GTTGGGGCGA	-CCGA-GGGG	AAAAACAAAA	CCCCCTCATC	GAATCC-GTG
P.scob542C	GTTGGGGCGA	-CCGA-GGGG	AAAAACAAAA	CCCCCTCATC	GAATCC-GTG
P.scob811B	GTTGGGGCGA	-CCGA-GGGG	AAAAACAAAA	CCCCCTCATC	GAATCC-GTG
P.scob510D	GTTGGGGCGA	-CCGA-GGGG	AAAAACAAAA	CCCCCTCATC	GAATCC-GTG
P.scob498A	GTTGGGGCGA	-CCGA-GGGG	AAAAACAAAA	CCCCCTCATC	GAATCC-GTG
P.scob730D	GTTGGGGCGA	-CCGA-GGGG	AAAAACAAAA	CCCCCTCATC	GAATCC-GTG
P.scob594C	GTTGGGGCGA	-CCGA-GGGG	AAAAACAAAA	CCCCCTCATC	GAATCC-GTG
P.scob489B	GTTGGGGCGA	-CCGA-GGGG	AAAAACAAAA	CCCCCTCATC	GAATCC-GTG
P.scob400B	GTTGGGGCGA	-CCGA-GGGG	AAAAACAAAA	CCCCCTCATC	GAATCC-GTG

	
	360 370 380 390 400
P.leopoldi	ATCATCACTA AAATT-AGAA CTACTATTCT AATTAATAGA ACATCTAACG
P.henlei	ATCACCCTA AAATT-AGAA CTACCATTCT AATTAATAGA ACATCTAACG
P.motoro 1	ATCACCCTA AAATT-AGAA CTACTATTCT AATTAATAGA ACATCTAACG
P.orbignyi	ATCACCCTA AAATT-AGAA CTACCATTCT AATTAATAGA ACATCTAACG
P.motoro 2	ATCACCCTA AAATT-AGAA CTACTATTCT AATTAATAGA ACATCTAACG
P.orbi439	ATCACCCTA AAATT-AGAA CTACTATTCT AATTAATAGA ACATCTAACG
P.orbi437	ATCACCCTA AAATT-AGAA CTACTATTCT AATTAATAGA ACATCTAACG
P.orbi696	ATCACCCTA AAATT-AGAA CTACTATTCT AATTAATAGA ACATCTAACG
P.orbi475	ATCACCCTA AAATT-AGAA CTACTATTCT AATTAATAGA ACATCTAACG
P.orbi443	ATCACCCTA AAATT-AGAA CTACTATTCT AATTAATAGA ACATCTAACG
P.scob598A	ATCACCCTA AAATT-AGAA CTACTATTCT AATTAATAGA ACATCTAACG
P.scob624B	ATCACCCTA AAATT-AGAA CTACTATTCT AATTAATAGA ACATCTAACG
P.scob596D	ATCACCCTA AAATT-AGAA CTACTATTCT AATTAATAGA ACATCTAACG
P.scob637D	ATCACCCTA AAATT-AGAA CTACTATTCT AATTAATAGA ACATCTAACG
P.scob803C	ATCACCCTA AAATT-AGAA CTACTATTCT AATTAATAGA ACATCTAACG
P.scob507A	ATCACCCTA AAATT-AGAA CTACTATTCT AATTAATAGA ACATCTAACG
P.scob542C	ATCACCCTA AAATT-AGAA CTACTATTCT AATTAATAGA ACATCTAACG
P.scob811B	ATCACCCTA AAATT-AGAA CTACTATTCT AATTAATAGA ACATCTAACG
P.scob510D	ATCACCCTA AAATT-AGAA CTACTATTCT AATTAATAGA ACATCTAACG
P.scob498A	ATCACCCTA AAATT-AGAA CTACTATTCT AATTAATAGA ACATCTAACG
P.scob730D	ATCACCCTA AAATT-AGAA CTACTATTCT AATTAATAGA ACATCTAACG
P.scob594C	ATCACCCTA AAATT-AGAA CTACTATTCT AATTAATAGA ACATCTAACG
P.scob489B	ATCACCCTA AAATT-AGAA CTACTATTCT AATTAATAGA ACATCTAACG
P.scob400B	ATCACCCTA AAATT-AGAA CTACTATTCT AATTAATAGA ACATCTAACG

	
	410 420 430 440 450
P.leopoldi	AACAATGACC CAGAAGA-AC CCTTC-TGAT CAAT-GGACC -AAGTTACCC
P.henlei	AACAATGACC CAGAAAA-?C CCTTC-TGAT CAAT-GGACC -AAGTTACCC
P.motoro 1	AACAATGACC CAGAAGA-AC CCTTC-TGAT CAAT-GGACC -AAGTTACCC
P.orbignyi	AACAATGACC CAGAAAA-?C CCTTC-TGAT CAAT-GGACC -AAGTTACCC
P.motoro 2	AACAATGACC CAGAAGA-AC CCTTC-TGAT CAAT-GGACC -AAGTTACCC
P.orbi439	AACAATGACC CAGAAGA-AC CCTTC-TGAT CAAT-GGACC -AAGTTACCC
P.orbi437	AACAATGACC CAGAAAA-AC CCTTC-TGAT CAAT-GGACC -AAGTTACCC
P.orbi696	AACAATGACC CAGAAAA-AC CCTTC-TGAT CAAT-GGACC -AAGTTACCC
P.orbi475	AACAATGACC CAGAAAA-AC CCTTC-TGAT CAAT-GGACC -AAGTTACCC
P.orbi443	AACAATGACC CAGAAAA-AC CCTTC-TGAT CAAT-GGACC -AAGTTACCC
P.scob598A	AACAATGACC CAGAAAA-AC CCTTC-TGAT CAAT-GGACC -AAGTTACCC
P.scob624B	AACAATGACC CAGAAAA-AC CCTTC-TGAT CAAT-GGACC -AAGTTACCC
P.scob596D	AACAATGACC CAGAAAA-AC CCTTC-TGAT CAAT-GGACC -AAGTTACCC
P.scob637D	AACAATGACC CAGAAAA-AC CCTTC-TGAT CAAT-GGACC -AAGTTACCC
P.scob803C	AACAATGACC CAGAAAA-AC CCTTC-TGAT CAAT-GGACC -AAGTTACCC
P.scob507A	AACAATGACC CAGAAAA-AC CCTTC-TGAT CAAT-GGACC -AAGTTACCC
P.scob542C	AACAATGACC CAGAAAA-AC CCTTC-TGAT CAAT-GGACC -AAGTTACCC
P.scob811B	AACAATGACC CAGAAAA-AC CCTTC-TGAT CAAT-GGACC -AAGTTACCC

P.scob510D	AACAATGACC	CAGAAAA-AC	CCTTC-TGAT	CAAT-GGACC	-AAGTTACCC
P.scob498A	AACAATGACC	CAGAAAA-AC	CCTTC-TGAT	CAAT-GGACC	-AAGTTACCC
P.scob730D	AACAATGACC	CAGAAAA-AC	CCTTC-TGAT	CAAT-GGACC	-AAGTTACCC
P.scob594C	AACAATGACC	CAGAAAA-AC	CCTTC-TGAT	CAAT-GGACC	-AAGTTACCC
P.scob489B	AACAATGACC	CAGAAAA-AC	CCTTC-TGAT	CAAT-GGACC	-AAGTTACCC
P.scob400B	AACAATGACC	CAGAAAA-AC	CCTTC-TGAT	CAAT-GGACC	-AAGTTACCC

					
	460	470	480	490	500
P.leopoldi	??????????	??????????	??????????	??????????	??????????
P.henlei	T?????????	??????????	??????????	??????????	??????????
P.motoro 1	T?????????	??????????	??????????	??????????	??????????
P.orbigny	T?????????	??????????	??????????	??????????	??????????
P.motoro 2	TAGGGATAAC	AGCGCAATCC	TTTCCAAGA?	??????????	??????????
P.orbi439	TAGGGATAAC	AGCGCAATCC	TTTCCAAGAG	CCCTAATcAC	CGAAaGGGtT
P.orbi437	TAGGGATAAC	AGCGCAATCC	TTTCCAAGAG	CCCTAATCAC	CGAAAGGGTT
P.orbi696	TAGGGATAAC	AGCGCAATCC	TTTcCAAGAG	CCCTAATCAC	CGAAAGGGTT
P.orbi475	TAGGGATAAC	AGCGCAATCC	TTTcCAAGAG	CCCTAATCAC	CGAAAGGGTT
P.orbi443	TAGGGATAAC	AGCGCAATCC	TTTcCAAGAG	CCCTAATCAC	CGAAAGGGtT
P.scob598A	TAGGGATAAC	AGCGCAATCC	TTTCCAAGAG	CCCTAATCAC	CGAAAGGGTT
P.scob624B	TAGGGATAAC	AGCGCAATCC	TTTCCAAGAG	CCCTAATCAC	CGAAAGGGTT
P.scob596D	TAGGGATAAC	AGCGCAATCC	TTTCCAAGAG	CCCTAATCAC	CGAAAGGGTT
P.scob637D	TAGGGATAAC	AGCGCAATCC	TTTCCAAGAG	CCCTAATCAC	CGAAAGGGTT
P.scob803C	TAGGGATAAC	AGCGCAATCC	TTTCCAAGAG	CCCTAATCAC	C?????????
P.scob507A	TAGGGATAAC	AGCGCAATCC	TTTCCAAGAG	CCCTAATCAC	CGAAAGGGTT
P.scob542C	TAGGGATAAC	AGCGCAATCC	TTTCCAAGAG	CCCTAATCAC	CGAAAGGGTT
P.scob811B	TAGGGATAAC	AGCGCAATCC	TTTCCAAGAG	CCCTAATCAC	CGAAAGGGTT
P.scob510D	TAGGGATAAC	AGCGCAATCC	TTTCCAAGAG	CCCTAATCAC	CGAAAGGGTT
P.scob498A	TAGGGATAAC	AGCGCAATCC	TTTCCAAGAG	CCCTAATCAC	CGAAAGGGTT
P.scob730D	TAGGGATAAC	AGCGCAATCC	TTTCCAAGAG	CCCTAATCAC	CGAAAGGGTT
P.scob594C	TAGGGATAAC	AGCGCAATCC	TTTCCAAGAG	CCCTAATCAC	CGAAAGGGTT
P.scob489B	TAGGGATAAC	AGCGCAATCC	TTTCCAAGAG	CCCTAATCAC	CGAAAGGGTT
P.scob400B	TAGGGATAAC	AGCGCAATCC	TTTCCAAGAG	CCCTAATCAC	CGAAAGGGTT

				
	510	520	530	
P.leopoldi	??????????	??????????	??????????	??????
P.henlei	??????????	??????????	??????????	??????
P.motoro 1	??????????	??????????	??????????	??????
P.orbigny	??????????	??????????	??????????	??????
P.motoro 2	??????????	??????????	??????????	??????
P.orbi439	TACGACCTCg	ATGTTGGATC	AGG-ACATcC	TAATGG
P.orbi437	TACgACCTCG	ATGTTGGATC	AAGGACATCC	TAaTGG
P.orbi696	TACGACCTCG	ATGTTGGATC	AAGGACATcC	TAATGG
P.orbi475	TACGACCTCg	ATGTTGGATC	AAGGACATCC	TAATGG
P.orbi443	TACgACCTCg	ATGTTGGATC	AaGGACATCc	TAATGG
P.scob598A	TACGACCTCG	ATGTTGGATC	AGG-ACATCC	TAATGG
P.scob624B	-ACGACCTCG	ATGTTGGATC	AGG-ACATCC	TAATGG
P.scob596D	TACGACCTCG	ATGTTGGATC	AGGG-CATCC	TAATGG
P.scob637D	TACGACCTCG	ATGTTGGATC	AGG-ACATCC	TAATGG
P.scob803C	??????????	??????????	??????????	??????
P.scob507A	TACGACCTCG	ATGTTGGATC	AGGG-CATCC	TAATGG
P.scob542C	TACGACCTCG	ATGTTGGATC	AGG-ACATCC	TAATGG
P.scob811B	TACGACCTCG	ATGTTGGATC	AGGG-CATCC	TAATGG
P.scob510D	TACGACCTCG	ATGTTGGATC	AGGG-CATCC	TAATGG
P.scob498A	TACGACCTCG	ATGTTGGATC	AGGG-CATCC	TAATGG
P.scob730D	TACGACCTCG	ATGTTGGATC	AGGG-CATCC	TAATGG

P.scob594C TACGACCTCG ATGTTGGATC AGGG-CATCC TAATGG
P.scob489B TACGACCTCG ATGTTGGATC AGGG-CATCC TAATGG
P.scob400B TACGACCTCG ATGTTGGATC AGGG-CATCC TAATGG

ANEXO 9 – Comparação dos dados apresentados na diagnose das espécies Rosa (1985) do gênero *Potamotrygon*, tomando como base as características apresentadas para a espécie *Potamotrygon scobina* (onde n significa o número de indivíduos amostrados, DW é largura do disco dos animais – mínima e máxima, e o nome das localidades abaixo da espécie é a localidade tipo). As duas últimas células (na coloração azul) referem-se a informações para comparação resultantes do presente estudo.

ESPÉCIE	Proporção das medidas morfométricas (mínimo e máximo)							
	Comprimento do olho	Comprimento do olho	Comprimento do espiráculo	Comprimento do espiráculo	Distância preoral	Comprimento da narina	Primeiras fendas branquiais	Primeira quinta
	Distância interorbital	Distância interocular	Comprimento do olho	Distância interespiracular	Largura de Disco	Distância internasal	Largura de Disco	Largura de Disco
<i>P. brachyura</i> (n=11 DW 297 - 858) Buenos Aires - Argentina	2.5 - 5.3	4.8 - 8.0	1.8 - 4.0	2.7 - 3.8	20.5 - 22.8	1.3 - 2.0	4.4 - 5.0	7.2 - 8.5
<i>P. castexi</i> (n=17 DW 150 - 630) Rosário - Rio Paraná - Argentina	2.0 - 3.9	3.7 - 7.2	1.0 - 2.6	2.2 - 4.6	sem info	1.0 - 1.2	5.4 - 7.6	3.6 - 4.2
<i>P. constellata</i> (n=7 DW 281 - 432) Calderão - Amazonas	2.2 - 3.1	5.4 - 7.3	2.6 - 3.8	1.8 - 2.2	sem info	1.1 - 1.5	3.3 - 4.5	4.8 - 6.0
<i>P. dumerilli</i> (n=2 DW 285 - 307) Rio Araguaia - Brasil	2.4 - 2.9	5.6 - 5.9	2.1 - 2.5	2.1 - 2.5	sem info	1.3	3.6 - 4.0	5.7
<i>P. falkneri</i> (n=16 DW 127.2 - 465) Entre Rios - Rio Paraná - Argentina	2.3 - 3.9	4.1 - 7.2	1.2 - 2.4	2.9 - 3.6	sem info	1.3 - 2.3	3.8 - 4.5	6.4 - 7.7
<i>P. henlei</i> (n=5 DW 178.7 - 198.6) Rio Tocantins - Brasil	2.0 - 2.5	3.5 - 4.6	1.2 - 1.6	2.5 - 3.7	18.8 - 23.8	0.9 - 1.6	4.0 - 4.2	6.4 - 7.2
<i>P. histrix</i> (n=7 DW 254 - 465) Buenos Aires - Argentina	2.3 - 4.0	4.7 - 8.7	2.1 - 4.4	1.7 - 2.5	17.6 - 19.5	1.1 - 1.4	3.5 - 3.8	5.1 - 5.8
<i>P. humerosa</i> (n=20 DW 86 - 264) Monte Alegre - Pará	0.8 - 1.9	2.7 - 4.3	1.1 - 2.0	2.0 - 2.4	17.3 - 23.3	0.9 - 1.4	3.7 - 4.6	5.5 - 6.5
<i>P. leopoldi</i> (n=2 DW 214 e 371) Rio Xingu - Mato Grosso - Brasil	2.0 - 2.9	4.2 - 5.3	sem info	sem info	21.6 - 22.0	1.2 - 1.4	3.7 - 4.2	6.6 - 7.3
<i>P. magdalenae</i> (n=36 DW 64.3 - 230) Rio Magdalena - Colômbia	2.1 - 3.8	6.5 - 8.1	1.3 - 2.5	2.3 - 3.6	18.4 - 24.5	1.1 - 2.3	3.4 - 3.6	5.1 - 6.0
<i>P. motoro</i> (n= 60 DW 60 - 545) Rio Cuiabá - Mato Grosso - Brasil	1.4 - 4.8	3.2 - 8.9	1.0 - 2.5	2.0 - 4.9	20.0 - 26.3	1.1 - 1.8	3.1 - 4.0	5.0 - 7.1
<i>P. ocellata</i> (n=1 DW 190) Ilha Mexiana - Pará - Brasil	2.6	4.5	1.8	2.8	22.6	1.1	3.6	6.6
<i>P. orbignyi</i> (n=51 DW 110 - 285) Rio Tocantins - Brasil	1.4 - 2.8	3.5 - 6.9	1.0 - 2.3	1.6 - 3.2	17.6 - 25.5	0.9 - 1.6	3.6 - 4.5	5.3 - 7.5
<i>P. schroederi</i> (n=7 DW 134 - 385) Boca Apurito - Venezuela	1.5 - 2.2	3.7 - 5.1	1.5 - 2.4	1.9 - 3.0	18.0 - 20.7	sem info	3.9 - 4.4	5.9 - 6.8
<i>P. scobina</i> (n=4 DW 212 - 290) Cametá - Rio Tocantins - Brasil	2.1 - 2.5	3.9 - 5.2	1.5 - 1.8	2.3 - 3.2	22.6 - 26.5	1.4 - 1.7	3.9 - 4.0	6.8 - 6.9
<i>P. schuemacheri</i> (n=1 DW 193) Rio Colastiné - Argentina	2.2	4.5	sem info	sem info	sem info	1.3	4	5.8
<i>P. signata</i> (n=5 DW 145 - 274) São Gonçalo - Rio Parnaíba - Piauí - Brasil	1.8 - 3.0	3.4 - 5.2	1.4 - 1.9	2.1 - 3.0	26.2 - 31.3	1.2 - 2.0	3.7 - 4.0	5.5 - 5.9
<i>P. yepezi</i> (n= 29 DW 69.6 - 349) Rio Palmar - drenagem do Maracaibo - Venezuela	1.8 - 2.9	3.6 - 6.0	1.0 - 2.0	2.4 - 3.4	20.9 - 26.4	1.0 - 1.4	3.4 - 4.1	5.5 - 6.7
<i>P. scobina</i> , presente estudo (DW próxima) (n=2 DW - 249 e 265)	2.1 - 2.3	4.23 - 4.26	1.9 - 2.4	1.8 - 2.4	24.7 - 25.7	1.4 - 1.5	3.9 - 4.2	6.6 - 7.3
<i>P. scobina</i> , presente estudo (amostra total) (n=294 DW - 249 - 691)	2.1 - 4.6	4.2 - 7.7	1.9 - 4.2	1.8 - 2.6	21.3 - 26.6	1.4 - 7.5	5.0 - 6.3	6.3 - 7.4