



Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro Biomédico
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

Iván Enrique Vázquez Jara

**Comparação filogeográfica de duas espécies de peixes com ampla
distribuição na América do Sul: problemas de delimitação de espécies**

Rio de Janeiro

2016

Iván Enrique Vázquez Jara

Comparação filogeográfica de duas espécies de peixes com ampla distribuição na América do Sul: problemas de delimitação de espécies

Tese apresentada como requisito parcial para a obtenção de título de Doutor em Biociências, ao programa de Pós-graduação em Biociências, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Marques Machado Brito

Rio de Janeiro

2016

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

V393 Vázquez Jara, Iván Enrique.
Comparação filogeográfica de duas espécies de peixes com ampla distribuição na América do Sul: problemas de delimitação de espécies / Iván Enrique Vázquez Jara. – 2016.
191 f.

Orientador: Paulo Marques Machado Brito.

Tese (Doutorado) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. Pós-graduação em Biociências.

1. Filogenia - Teses. 2. Peixe - América do Sul - Teses. 3. Filogeografia - Métodos. 4. Peixes - Distribuição geográfica - Teses. I. Brito, Paulo Marques Machado. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. III. Título.

CDU 575.8

Autorizo apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Iván Enrique Vázquez Jara

Comparação filogeográfica de duas espécies de peixes com ampla distribuição na América do Sul: problemas de delimitação de espécies

Tese apresentada como requisito parcial para a obtenção de título de Doutor em Biociências, ao programa de Pós-graduação em Biociências, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 27 de julho de 2016.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Marques Machado Brito - Orientador
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

Banca Examinadora:

Prof.^a Dra. Gisele Mendes Lessa del Giúdice
Universidade Federal de Viçosa

Prof. Dr. Heitor Evangelista da Silva
Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ

Prof. Dr. Leonardo Henrique Gil Azevedo
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Rio de Janeiro

2016

DEDICATÓRIA

A meus pais, Estela e Cornelio

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi feito com a ajuda de muita gente ao longo de todos estes anos que estive morando aqui no Brasil. Mas minha estadia aqui neste pais nao seria possivel sem ajuda dos meus pais, por isso esta tese é dedicado a eles, quem confiaram em mim sempre e incondicionalmente. Não tem palavras que expresse meu agradecimento eterno, muito obrigado por tudo e por todos esses anos .

Um agradecimento muito especial ao amigo e Professor Paulo Brito, quem se mostrou sempre uma pessoa disposta a ajudar até nos momentos mais difíceis que nada tinha que ver com sua função de orientador e sim a de um amigo, por isso muito obrigado.

Gostaria de agradecer aos companheiros do dia a dia do laboratório e que nesses últimos anos foram ainda mais intensos. Muito obrigado Camila por me aturar e pela hora do grito, muito obrigado Kleyton que a pesar da distancia ainda tem tempo de fazer um Skype comigo para discutir sobre questões evolutivas ou mesmo para falar o quanto é bom comer uma tortilha muito boa onde ele esta agora. Muito obrigado Giselle pela disposição de sempre ajudar e estar ali nos exactos momentos que a gente mais precisa. Um agradecimento muito especial a Bia e o Marcos que trabalharam bastante com amostras que nem eram deles e dessa forma fizeram o trabalho de maneira desinteressada e sempre dispostos a ajudar, sem vocês a metade deste trabalho não seria possível, muito obrigado mesmo.

Muito obrigado, Diogo, Leo, Andreia, Ney pelos momentos de alegria compartilhados fora e dentro do laboratório ao longo de todos estes anos. Obrigado Yuri por recebermos na casa da sua família durante uma estadia em Tocantins e apresentarnos frutas e especiarias únicas dessa região. Obrigado Bouziane por tirar um tempo para me mostrar um pouco do seu pais e compartilhar um bom chá no final de tarde.

Muito obrigado Lupa, por todas as discussões e sugestões para o trabalho. Também muito obrigado ao Thiago pela ajuda na realização da parte teórica e prática das análises moleculares.

Gostaria de agradecer também ao Professor Philippe Bearez do Museo de Historia Natural de Paris e a toda sua equipe por me receberem com as portas abertas do laboratório durante uma leve estadia na europa durante a análise de material.

Muito obrigado ao Professor Tomasso e a toda a sua equipe da Universidade Federal do Para pelo empréstimo de material importantíssimo para a elaboração deste trabalho e pela ajuda na participação de trabalho de campo nos rios da Amazonia.

Um especial agradecimento a um grupo de pessoas que viraram mais que amigos, pessoas que viraram família, nem vou ousar em falar nomes porque como são varias estaria pecando se esquecer de algum deles, obrigado a turma de Biologia 2005 da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Pessoas que começaram a se relacionar de maneira desinteressada e que hoje são pessoas importantes um para os outros, a pesar das diferenças de ideologias politicas atuais, ainda conseguem se sentar todos juntos para continuar a discussão com uma cerveja no meio. Muito obrigado por todos os momentos de alegria compartilhados e por me ter como um amigo entre vocês que fala com sutaque estranho. Obrigado galera da Bio 2005, nem consigo imaginar o que seria se eu não tivesse conhecido vocês, fizeram e faram parte da minha vida para sempre. A pesar de morar provavelmente longe, já deixo aqui mencionado que ficarei chateado se não for convidado para um Pré-Natal, mesmo morando muito longe.

Sempre acho difícil escrever os agradecimentos porque sempre esqueço de alguém, não porque não tenha essa pessoa em conta, mas sim porque sempre estamos na correria e acabamos esquecendo sem querer. Se você é um deles, e se estiver lendo isto, entra em contato comigo que a gente resolve essa magoa bebendo uma bem gelada no bar da sua preferencia que é por minha conta.

Muito obrigado a todas as pessoas que de uma u outra forma fizeram parte da minha vida neste capitulo intitulado Rio de Janeiro.

Finalmento posso falar que vou sentir muita saudade.

Muito obrigado.

Um homem se impõe a tarefa de retratar o mundo. Ao longo dos anos ele povoa um espaço com imagens de províncias, reinos, montanhas, bahias, navios, ilhas, peixes, salas, instrumentos, estrelas, cavalos e pessoas. Pouco antes da sua morte, ele descobre que aquele paciente labirinto de linhas traça a imagem de seu rosto.

Jorge Luis Borges

RESUMO

VAZQUEZ JARA, Iván Enrique. *Comparação filogeográfica de duas espécies de peixes com ampla distribuição na América do Sul: problemas de delimitação de espécies*. 2016. 191 f. Tese (Doutorado em Biociências) - Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2016.

A ictiofauna neotropical corresponde a, aproximadamente, 25% do número total de espécies de peixes no mundo. Essa diversidade se deve, principalmente, ao número de espécies endêmicas presentes nas diversas bacias hidrográficas. Dentro dessas espécies alguns táxons mostram uma ampla distribuição, sendo conhecidos tanto na Bacia Amazônica, como na Bacia Paraná-Paraguai. A validade destas espécies é de grande importância evolutiva, levando em conta o fato de que estas bacias têm pequeno ou nenhum contato desde o Mioceno superior, há aproximadamente 10 milhões de anos. O objetivo deste estudo foi analisar dois complexos de espécies neotropicais, pertencentes a diferentes famílias (e ordens), *Potamotrygon motoro* e *Synbranchus marmoratus*, ambas com distribuição nessas duas importantes bacias hidrográficas. Para este estudo, utilizamos tanto dados morfológicos quanto moleculares. Buscamos conduzir uma análise filogeográfica, visando compreender a evolução dos grupos, bem como a história evolutiva desses táxons nas drenagens às quais eles estão associados. Nossos resultados mostram que os complexos de ambas as espécies representam um grupo de espécies crípticas. As espécies da Bacia Amazônica são diferentes daquelas presentes na Bacia Paraná-Paraguai. Dentro da Bacia Paraná-Paraguai, o Rio Paraguai mostra mais afinidades filogenéticas com a Bacia Amazônica, indicando a existência de uma relação mais próxima e recente.

Palavras-chave: Ictiofauna neotropical. Morfologia. Filogeografia. Filogenia. COI

ABSTRACT

VAZQUEZ JARA, Ivan Enrique. *Phylogeographic Comparison of two freshwater fishes with large distribution in South America: problems with species delimitation*. 2016. 191 f. Tese (Doutorado em Biociências). Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2016.

The neotropical ichthyofauna corresponds to nearly 25% of the total number of fish species in the world. This diversity is mainly due to several endemic taxa in the various watersheds. Within these species a few nominal taxa show a large distribution being known in the Amazon Basin as well as in Paraná-Paraguai Basin. The validity of these species is of great evolutionary importance, in view of the fact that these watersheds have little or no contact since the upper Miocene, approximately 10 million years. The aim of this study is to analyze two complex of neotropical species, belonging to different families (and orders), *Potamotrygon motoro* and *Synbranchus marmoratus*, both with distribution in these two important basins. For this study we used both morphological and molecular data. Our purpose is to lead a phylogeographic analysis, to understand the evolution of the groups as well as the evolutionary history of these taxa within the drainages with which they are associated. Our results show that both species complexes represent a group of cryptic species. The species from the Amazon basin are different from those of the Paraná – Paraguai Basin. Within the Paraná-Paraguai Basin, the Paraguai River shows more phylogenetic affinities with the Amazon Basin indicating thus close and more recent relationship.

Keywords: Neotropical Ichthyofauna. Morphology. Phylogeography. Phylogeny. COI.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Paleomapa do Cretáceo Inferior.....	26
Figura 2 –	Mapa da América do Sul.....	28
Figura 3 –	Mapa da região do Noroeste Amazônico.....	29
Figura 4 –	Sistema hidrográfico da América do Sul no final do Mioceno.....	30
Figura 5 –	Transgressões marinhas na América do Sul durante o Cretáceo Superior.....	31
Figura 6 –	Transgressões marinhas na América do Sul durante o Mioceno tardio.....	32
Figura 7 –	Transgressões marinhas na América do Sul durante o Terciário.....	33
Figura 8 –	Ilustração científica da espécie <i>Potamotrygon motoro</i>	36
Figura 9 –	Ilustração científica da espécie <i>Synbranchus marmoratus</i>	37
Figura 10 –	Pontos de coleta realizados para este trabalho.....	40
Figura 11 –	Coleóptero <i>Dermestes maculatus</i> DeGeer, 1774.....	44
Figura 12a –	Complexo esquelético do exemplar <i>Potamotrygon motoro</i> LIA2018.....	46
Figura 12b –	Complexo esquelético do exemplar <i>Synbranchus marmoratus</i> PNT518.....	47
Figura 13 –	Variabilidade cromática de <i>Potamotrygon motoro</i>	61
Figura 14 –	Distribuição do complexo <i>Potamotrygon motoro</i>	62
Figura 15 –	Morfologia externa de <i>Potamotrygon motoro</i>	64
Figura 16 –	Vista dorsal do neurocrânio de <i>Potamotrygon motoro</i> 520.....	67
Figura 17 –	Neurocrânios de <i>P motoro</i> LIA2018 e <i>P motoro</i> PNT520.....	67
Figura 18 –	Superfície lateral de <i>P motoro</i> PNT520.....	69
Figura 19 –	Vista posterior do neurocrânio de <i>P motoro</i> PNT520.....	70
Figura 20 –	Vista ventral do neurocrânio de <i>P motoro</i> PNT520.....	70
Figura 21 –	Arco mandibular e hiomandibular de <i>P motoro</i> PNT520.....	71
Figura 22 –	Comparação de cartilagens angulares.....	72
Figura 23 –	Arco hioide e branquial de <i>P motoro</i> LIA2018 (Xingu).....	76
Figura 24 –	Arco hioide e branquial de <i>P motoro</i> PNT521 (Tocantins).....	76

Figura 25 –	Cintura peitoral de <i>P motoro</i> PNT520.....	78
Figura 26 –	Placas basais de <i>P motoro</i> LIA2018.....	80
Figura 27 –	Sinarcual de <i>P. motoro</i> LIA2018 (Xingu).....	82
Figura 28 –	Arcualia.....	82
Figura 29 –	Cintura pélvica de <i>P. motoro</i> PNT520.....	84
Figura 30 –	Clasper do espécimen <i>P. motoro</i> PNT519.....	86
Figura 31 –	Relações filogenéticas do complexo <i>Potamotrygon motoro</i>	95
Figura 32 –	Relações filogenéticas do complexo <i>Potamotrygon motoro</i>	99
Figura 33 –	Distribuição do complexo <i>Synbranchus marmoratus</i> na América do Sul.....	101
Figura 34 –	Morfologia externa de <i>Synbranchus marmoratus</i>	103
Figura 35 –	Spécimes de <i>S marmoratus</i> coletados em diferentes bacias da América do Sul.....	104
Figura 36 –	Superfície dorsal do neurocrânio de <i>Synbranchus marmoratus</i>	107
Figura 37 –	Superfície dorsal do neurocrânio de <i>Synbranchus marmoratus</i>	109
Figura 38 –	Superfície ventral do neurocrânio de <i>S marmoratus</i>	113
Figura 39 –	Superfície lateral do complexo mandibular.....	115
Figura 40 –	Ilustração do complexo esquelético anterior de <i>S marmoratus</i>	118
Figura 41 –	Ilustração da superfície lateral externa do arco hióide.....	120
Figura 42 –	Ilustração da superfície lateral de urohial.....	121
Figura 43 –	Ilustração do arco branquial dorsal de <i>S marmoratus</i>	123
Figura 44 –	Arco branquial ventral de <i>S marmoratus</i>	126
Figura 45 –	Comparação de três cinturas peitorais evidenciando morfotipos diferentes no supracleitro.....	128
Figura 46 –	Superfície lateral da coluna vertebral.....	130
Figura 47 –	Vertebras da nadadeira caudal.....	131
Figura 48 –	Relações filogenéticas do complexo <i>Synbranchus marmoratus</i>	136
Figura 49 –	Neurocrânios de espécies de Potamotrygonidae.....	140
Figura 50 –	Neurocrânios de espécimes da bacia Amazônica.....	141
Figura 51 –	Complexos mandibulares da família Potamotrygonidae.....	144
Figura 52 –	Arcos branquiais e ioides de espécimes do complexo <i>P motoro</i>	145
Figura 53 –	Diferenças no formato da cintura pélvica entre espécies da família Potamotrygonidae.....	150

Figura 54 –	Neurocrânios do complexo <i>Synbranchus marmoratus</i>	156
Figura 55 –	Relações filogenéticas para <i>Synbranchus</i> proposta por Rosen & Greenwod, 1976.....	160
Figura 56 –	Refúgios de água doce durante as ingressões marinhas do Mioceno-Plioceno.....	169

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Exemplares utilizados na análise molecular.....	51
Tabela 2 –	Primers utilizados para a reação de PCR.....	54
Tabela 3 –	Ciclos de temperatura do sequenciamento.....	55
Tabela 4 –	Sequências obtidas de Banco de dados públicos.....	56
Tabela 5 –	Matriz de estados de caracteres da análise filogenética.....	92
Tabela 6 –	Valores dos sítios de alinhamento das sequências de <i>Potamotrygon motoro</i>	96
Tabela 7 –	Valores de parâmetros para o modelo evolutivo GTR para as sequências do complexo <i>Potamotrygon motoro</i>	97
Tabela 8 –	Valores dos sítios de alinhamento das sequências de <i>Synbranchus marmoratus</i>	132
Tabela 9 –	Valores dos parâmetros do modelo evolutivo GTR para as sequências do complexo <i>Synbranchus marmoratus</i>	134

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

an	Canal angular
arn	Arco neural
art	Articular
bas	Basiesfenóide
bb	Basibranquiais
bb	Basibranquial
bb-1	Primeiro basibranquial
bb-2	Segundo basibranquial
bb-3	Terceiro basibranquial
bep	Barra epifisial
bh	Basihial
bh	Cartilagem basihial
boc	Basioccipital
bpd	Barra pseudohióide dorsal
bpi	Barra puboisquiática
bpv	Barra pseudohióide ventral
ca	Cartilagem angular
cac	Cartilagem acessória
cao	Cartilagem antorbital
cb	Ceratobranquiais
cb	Ceratobranquial
cb-1	Primeiro ceratobranquial
cb-2	Segundo ceratobranquial
cb-3	Terceiro ceratobranquial
cb-4	Quarto ceratobranquial
cb-5	Quinto ceratobranquial
cea	Ceratohial anterior
cep	Ceratohial posterior
cl	Comissura lateral
cl	Cleitro
cm	Crista medial

cme	Cartilagem de meckel
cn	Cápsula nasal
cne	Canais do nervo espinhal
co	Cápsulas óticas
coc	Côndilos occipitais
cor	Coracóidea
crl	Crista lateral
cs	Cresta supra-orbital
CT	Comprimento total
den	Dentário
eb	Epibrânquiais
eb	Epibrânquial
eb-1	Primeiro epibrânquial
eb-2	Segundo epibrânquial
eb-3	Terceiro epibrânquial
eb-4	Quarto epibrânquial
ecpt	Ectopterigóide
epc	Epicentral
epo	Epiótico
esn	Espinho neural
eso	Esfenótico
etl	Etmóide lateral
exo	Exoccipital
faci	Forâmen da artéria carótida interna
facp	Forâmen anterior do canal pré-orbital
fad	Fenestra anterodorsal
faee	Forâmen da artéria espiracular eferente
fav	Fenestra anteroventral
favc	Forâmen anterior da veia cerebral
fb	Faringobrânquiais
fb	Faringobrânquial
fb-2	Segundo faringobrânquial
fb-3	Terceiro faringobrânquial

fbpd	Faceta da barra pseudoioide dorsal
fc	Fontanela craniana
fel	Forâmen endolinfático
ffp	Fontanela frontoparietal
fhmd	Faceta hiomandibular
fm	Forâmen magno
fne	Foramens dos nervos espinhais
fo	Fissura orbital
fob	Forâmen obturador
fp	Fossa parietal
fpc	Fontanela pré-cerebral
fpcp ii	Forâmen posterior para o canal pré-orbital
fpd	Fenestra posterodorsal
fpl	Forâmen perilinfático
fpv	Fenestra posteroventral
fr	Frontal
fvi	Forâmen da veia interorbital
hb	Hipobranquiais
hb-1	Primeiro hipobranquial
hb-2	Segundo hipobranquial
hb-3	Terceiro hipobranquial
hh	Cartilagem hipohial
hm	Cartilagem hiomandibular
hm	Hiomandibular
hpd	Hipohial dorsal
hpv	Hipohial ventral
hupe	Hospital Universitario Pedro Ernesto
ia	Interarcual
ic	Intercalar
ih	Inter-hial
ii	Forâmen do nervo óptico
iop	Interopérculo
isi	Intersinarcual
iv	Forâmen do nervo troclear

ix	Forâmen do nervo glossofaríngeo
la	Lacrimonal
lhx	Forâmen do ramo lateral do nervo vago
ldf	Lâmina descendente do frontal
m	Canal mediano
mc	Mesocôndilo
mec	Metacôndilo
mes	Mesopterigio
met	Mesetmóide
met	Metapterigio
metp	Metapterigio pélvico
mpt	Metapterigóide
mx	Maxilar
n	Canal nasal
na	Nasal
on	Canal orbitonasal
op	Opérculo
pa	Parietal
pas	Paraesfenóide
pc	Procôndilo
pco	Processo coronóide
pdi	Placa dentígera inferior
pds-3	Terceira placa dentígera superior
pds-4	Quarta placa dentígera superior
pi	Processo ilíaco
pis	Processo isquial
pl	Canal pleural
pl	Palatino
pmx	Pré-maxilar
pn	Canal pré-nasal
pne	Processos neurais
PNT	Peixe neotropical (coleção temporaria)
po	Processo odontóide
pop	Pré-opérculo

pop	Pedículo óptico
poz	Pós-zigapófise
ppl	Processo pré-pélvico lateral
ppo	Processo pós-orbital
ppp	Processo pré-pélvico
pq	Palatoquadrado
pre	Processo escapular
prl	Processo lateral
pro	Processo pré-orbital
pro	Proótico
prop	Propterigio
prpp	Propterigio pélvico
prt	Processo transverso
prz	Pré-zigapófise
ps	Processo supra-orbital
pst	Pós-temporal
pto	Pterótico
ptp	Processo triangular posterior
pvl	Processo ventrolateral
qua	Quadrado
ra	Raios
rap	Raios pélvicos
rb r	Aios branquiostegais
ret	Retroarticular
ro	Rosto
sa	Superfície articular
scl	Supracleitro
se	Septo nasal
si	Simplético
sic	Sinarcual cervicotorácico
sit	Sinarcual toracolumbar
sob	Canal sub-orbital
soc	Supraoccipital
sop	Subopérculo

spe	Processo supraescapular
sr	Canal sub-rostral
uh	Urohial
vd	Vértebras diplospondílicas
vii	Ramo hiomandibular do nervo facial
vm	Vértebras monospondílicas
vo	Vômer
x	Forâmen do nervo vago
CHPA	Chaco Paraguaio
FMNH	Field National Museum of History
GURJ	Guapimirim, Rio de Janeiro
MARJ	Maricá, Rio de Janeiro
MIRJ	Miracema, Rio de Janeiro
MNRJ	Museu Nacional do Rio de Janeiro
MNHN	Museu de Historia Natural - França
MPEG	Museu Paraense Emilio Goeldi
SGRJ	São Gonçalo, Rio de Janeiro
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro
UFPA	Universidade Federal do Pará

LISTA DE SÍMBOLOS

°C	-	Grau <i>Celsius</i>
CH ₃ CH ₂ OH	-	Etanol
g	-	Grama
H ₂ O	-	Água
H ₂ O ₂	-	Peróxido de Hidrogênio
KOH	-	Hidróxido de Potássio
Ng	-	Nano grama
Nm	-	Nanômetros
V	-	Volts
μg	-	Micrograma
μl	-	Microlitro
ml	-	Mililitro
mm	-	Milímetros
%	-	Porcentagem

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO.....	24
1	OBJETIVOS.....	38
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	39
2.1	Análise morfológica.....	39
2.1.1	<u>Coleta de material.....</u>	39
2.1.2	<u>Espécimes analisados.....</u>	41
2.1.2.1	Potamotrygonidae.....	41
2.1.2.2	Synbranchidae.....	42
2.1.3	<u>Identificação e descrição morfológica.....</u>	43
2.1.4	<u>Métodos de preparação.....</u>	43
2.1.4.1	Escarnação com auxílio de coleópteros dermestíde.....	43
2.1.4.2	Diafanização.....	47
2.1.4.3	Fotografias e Ilustrações Científicas.....	49
2.1.5	<u>Análise Filogenética de Potamotrygon motoro.....</u>	49
2.2	Análise Molecular.....	50
2.2.1	<u>Material examinado.....</u>	50
2.2.2	<u>Remoção de tecido.....</u>	51
2.2.3	<u>Extração, purificação e quantificação de DNA.....</u>	52
2.2.4	<u>Marcador molecular.....</u>	53
2.2.5	<u>Reação em cadeia da polimerase - PCR.....</u>	53
2.2.6	<u>Sequenciamento.....</u>	54
2.2.7	<u>Edição e alinhamento das sequências.....</u>	55
2.2.8	<u>Análise de distância genética entre sequências.....</u>	57
2.2.9	<u>Modelo de substituição de nucleotídeos.....</u>	57
2.2.10	<u>Análise filogenética.....</u>	58
3	RESULTADOS.....	59
3.1	Análise morfológica de <i>Potamotrygon motoro</i>.....	59
3.1.1	<u>Sistemática.....</u>	59
3.1.2	<u>Sinonímia.....</u>	59
3.1.3	<u>Diagnose Genérica.....</u>	59
3.1.4	<u>Diagnose específica.....</u>	60

3.1.5	<u>Distribuição</u>	62
3.1.6	<u>Descrição da morfologia externa</u>	63
3.1.7	<u>Descrição da anatomia interna</u>	65
3.1.7.1	Neurocrânio.....	65
3.1.7.2	Arco mandibular e hiomandibular.....	71
3.1.7.3	Arco hioide.....	73
3.1.7.4	Arco Branquial.....	74
3.1.7.5	Cintura peitoral.....	77
3.1.7.6	Nadadeira peitoral.....	78
3.1.7.7	Sinarcual.....	80
3.1.7.8	Cintura pélvica.....	83
3.1.7.9	Nadadeira pélvica.....	83
3.1.7.10	Cláster.....	85
3.1.7.11	Vértebras e espinha caudal.....	86
3.1.8	<u>Análise filogenética</u>	87
3.1.8.1	Distribuição dos estados de caracteres.....	88
3.1.8.2	Matriz de dados.....	92
3.1.8.3	Relações filogenéticas.....	93
3.2	Análise molecular de <i>Potamotrygon motoro</i>	95
3.3	Análise morfológica de <i>Synbranchus marmoratus</i>	100
3.3.1	<u>Taxonomia do gênero <i>Synbranchus</i></u>	100
3.3.2	<u>Diagnose genérica</u>	100
3.3.3	<u>Diagnose específica</u>	100
3.3.4	<u>Distribuição</u>	101
3.3.5	<u>Descrição da morfologia externa</u>	102
3.3.6	<u>Descrição da anatomia interna</u>	105
3.3.6.1	Neurocrânio.....	105
3.3.6.2	Região Etmovomeriana.....	105
3.3.6.3	Região Orbital.....	107
3.3.6.4	Região Ótica.....	109
3.3.6.5	Complexo maxilar.....	113
3.3.6.6	Complexo mandibular.....	114
3.3.6.7	Arco hiopalatino.....	116

3.3.6.8	Série opercular.....	117
3.3.6.9	Arco hióide.....	119
3.3.6.10	Região branquial.....	121
3.3.6.11	Arco branquial dorsal.....	121
3.3.6.12	Arco branquial ventral.....	124
3.3.6.13	Cintura peitoral.....	127
3.3.6.14	Coluna vertebral.....	129
3.3.6.15	Esqueleto caudal.....	131
3.4	Análise molecular <i>Synbranchus marmoratus</i>	132
4	DISCUSSÃO	137
4.1	Discussão morfológica do complexo <i>Potamotrygon motoro</i>	137
4.2	Discussão morfológica do complexo <i>Synbranchus marmoratus</i>	153
4.3	Filogeografia	162
	CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS	169
	REFERÊNCIAS	172
	APÊNDICE A – Valores de distância genética entre as sequências de <i>Potamotrygon</i>	184
	APÊNDICE B – Cladograma da análise filogenética molecular do complexo de <i>Potamotrygon motoro</i> com o grupo externo incluído na análise e valores de Bootstrap	185
	APÊNDICE C – Valores de distância genética entre as sequências de <i>Synbranchus</i>	186
	APÊNDICE D – Cladograma da análise filogenética molecular do complexo de <i>Synbranchus marmoratus</i> com o grupo externo incluído e valores de Bootstrap	187
	ANEXO A – Chave de identificação do gênero <i>Potamotrygon</i> proposta por Rosa 1985	188
	ANEXO B – Chave de identificação para <i>Synbranchus</i> proposta por Rosen & Greenwood 1976.....	190

INTRODUÇÃO

Estudos abordando hipóteses que auxiliam a compreensão da evolução e radiação dos peixes neotropicais incrementam informações adicionais sobre a evolução dos vertebrados em geral (Albert & Reis, 2011).

A região neotropical é sem dúvida um dos locais mais interessantes para o estudo da ictiologia em todo o mundo devido a sua complexa história geológica, que possibilitou a origem de grande diversidade de ambientes (Brito *et al.*, 2007; Albert & Reis, 2011). Tal fato permitiu o surgimento de uma extraordinária diversidade da ictiofauna local, cujos resultados estão sendo amplamente difundidos em livros e artigos científicos. Todavia, mesmo com todos estes estudos, tanto a sistemática quanto a distribuição geográfica da maioria dos grupos de peixes da Bacia Amazônica continuam pouco conhecidas (Fink e Fink, 1973), o que também é válido para aqueles da Bacia Paraná - Paraguai.

Da mesma forma, a ictiofauna Neotropical não é abordada com frequência em discussões gerais sobre a biodiversidade tropical, apesar da quantidade de informações atualmente disponíveis. A maioria dos estudos dizem respeito a origem histórica das espécies e dos ecossistemas tropicais, principalmente focando táxons terrestres como aves, mamíferos e certos grupos de insetos (Albert & Reis, 2011). O estado da arte no conhecimento da ictiofauna Neotropical, salientando principalmente a diferenciação e diversidade de espécies, áreas geográficas, assim como uma tentativa de resolver as relações filogenéticas de grandes grupos estão resumidos em três obras: *The Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes* (Malabarba *et al.*, 1998); *Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America* (Reis *et al.*, 2003a) e *Historical Biogeography of Neotropical Freshwater Fishes* (Albert & Reis 2011). De maneira geral estes trabalhos abordam a relação entre história biogeográfica, diversidade e evolução de táxons aquáticos onde o modelo usado são os peixes neotropicais.

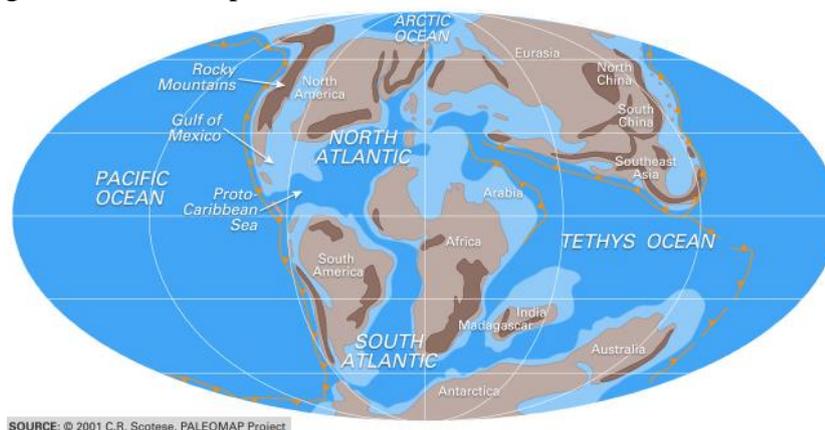
Os peixes neotropicais correspondem a aproximadamente mais de 5.600 espécies nominais representando assim a maioria dos peixes dulce-aquícolas do mundo e provavelmente 10% das espécies de vertebrados conhecidos (Vari & Malabarba, 1998; Lundberg *et al.*, 2000). Este número impressionante se deve principalmente ao endemismo de vários táxons nas diversas Bacias hidrográficas, resultado da evolução biológica no tempo e no espaço (Hubert, 2007). Desta forma, é quase impossível

compreender a biodiversidade, sem levar em consideração a história geológica que permitiu esta diversificação. Um bom exemplo disso é encontrado na comparação quantitativa entre as faunas de peixes atuais da América do Sul e África (Brito *et al.*, 2012) A biodiversidade na América do Sul é taxonomicamente muito mais rica do que a africana, apesar desses dois continentes terem formado no passado uma massa continental única, a parte oeste do Gondwana (Lundberg *et al.*, 1998; Maisey, 2000).

A história da biodiversidade neotropical começou imediatamente após a separação entre a América do Sul e a África, a cerca de 100 milhões de anos (MA). Durante este processo de separação, linhas magnéticas e zonas de falhas indicam uma complexidade extensa dos movimentos sofridos pelas placas tectônicas.

Após a fragmentação definitiva entre a parte oeste do Gondwana (Figura 1), a América do Sul continuou sua evolução tectônica tendo sido de grande importância os eventos ocorridos em sua costa oeste, onde o encontro entre a Placa de Nazca e a Placa Pacífica, resultou no processo de soerguimento da cordilheira dos Andes, entre o Cretáceo (90 Má) e o Mioceno (15 Má) (Lundberg *et al.*, 2000). A elevação desta cordilheira, iniciada na parte sul do continente, levou a formação de uma “calha” natural a leste dos Andes, a Bacia de Anti-país, permitindo assim a canalização de águas provenientes durante as muitas incursões de mares epicontinentais vindos do Caribe e/ou a formação de grandes lagos. O soerguimento dos Andes está diretamente ligado também à reversão gradual da direção do fluxo das principais Bacias hidrográficas que, originalmente, fluíam para oeste (Potter, 1997; Lundberg *et al.*, 1998; Brito *et al.*, 2007).

Figura 1 – Paleomapa do Cretáceo Inferior



Legenda: Separação da América do sul da África no Cretáceo Inferior (Albiano).

Fonte: Figura modificada de C.R. Scotese. 2001. Projeto Paleomapa.

Outro marco importante representa a posterior separação entre Pacífico e Caribe com o soerguimento do istmo do Panamá, aproximadamente entre 15 e 3.1 Ma. Este evento é o resultado da movimentação da placa tectónica da América do Sul em direção a Noroeste, colidindo com América Central (Duque, 1990b; Coates *et al.*, 2004). A posição atual assim como o surgimento do Istmo do Panamá estabeleceu uma barreira entre o Pacífico e o Caribe, permitindo a dispersão de formas continentais terrestres e aquáticas na região Noroeste da América do Sul e o Sul da América Central que é registrado para 2.5 Ma. (Marshall & Sempere, 1993). Essa dispersão pode ser evidenciada pela distribuição atual de algumas espécies e, principalmente de tetrápodes (Pitman *et al.*, 1993).

Outros fatores que têm desempenhado um papel importante na diversificação da fauna Neotropical são as oscilações do nível do mar associadas aos ciclos glaciais do final do período Terciário e do Quaternário. Estes ciclos têm tido um impacto significativo sobre a hidrologia principalmente na Bacia Amazônica, permitindo o isolamento de alguns rios e a formação de lagos na parte oeste desta bacia (Lundberg *et al.*, 1998).

Em decorrência destes processos e da vasta área hidrográfica, a América do Sul passou a apresentar inúmeros nichos ecológicos, nos quais os peixes de água doce puderam evoluir e diversificar. Conforme as últimas pesquisas realizadas, a região da ictiofauna Neotropical se estende ao longo de mais de 17 milhões de Km² de florestas tropicais húmidas de baixa altitude, pantanais sazonalmente inundados e savanas (Albert & Reis, 2011). Esta área inclui igualmente várias regiões áridas no noroeste da

Venezuela, nordeste do Brasil e do Gran Chaco da Bolívia e do Paraguai assim como o nordeste da Argentina. No centro deste sistema está a Amazônia, o maior sistema fluvial de água doce interligado no planeta (Albert & Reis, 2011).

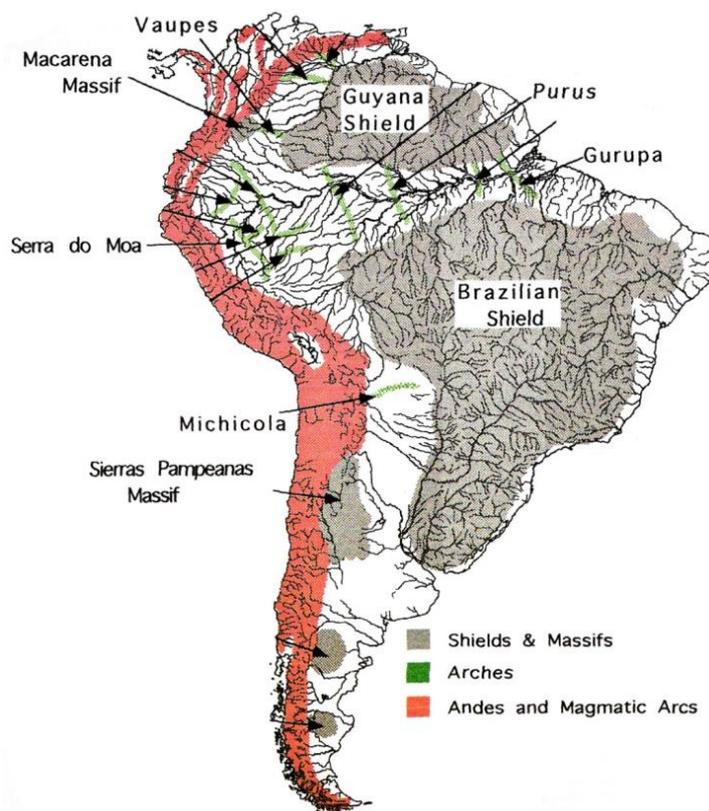
O COMPLEXO FLUVIAL AMAZÔNICO

Estudos considerando a história da origem e expansão do sistema hidrográfico da Amazônia e como emerge uma das maiores diversidades da fauna ictiológica nesse complexo fluvial, tem intrigado pesquisadores há muitos anos (Reis *et al.*, 2003a). Ao longo do tempo e desde o início da separação entre América e África, a forma e tamanho deste sistema hidrológico teve uma variação considerável e ao mesmo tempo constante (Albert & Reis, 2011).

Estudos aprofundados sobre o modelo evolutivo de drenagem desta Bacia elaborados por Lundberg *et al.*, (1998) indicam que, posterior a separação final da parte oeste do Gondwana, a região Amazônica era constituída por sistemas hidrográficos originados em áreas crônicas próximas à desembocadura atual do rio Amazonas (Arco Gurupa: Wanderley *et al.*, 2010) cuja principal drenagem era no sentido oeste.

Posteriormente durante o Terciário inferior, emerge o Arco de Purus próximo ao centro da região amazônica, servindo como uma das principais barreiras biogeográficas deste período. O Arco de Purus, provavelmente consequência do início da elevação do leste da cordilheira dos Andes, divide o principal sistema hidrográfico em duas drenagens: os rios com correntes no sentido Oeste e os rios no sentido Leste (Mapes, 2009) (Figura 2)

Figura 2 – Mapa da América do Sul



Legenda: Mapa indicando os principais paleoarcos da América do Sul, entre eles o Arco de Purus e Arco de Gurupa.

Fonte: Figura modificada de Lundberg *et al.*, 1998.

No período da transição do Oligoceno – Mioceno (~24 Ma) o Leste da região subandina foi alagada originando o Lago Pebas. Durante o Mioceno Médio o Lago Pebas cobre uma área de aproximadamente 1 milhão de Km² (Wesselingh *et al.*, 2002) gerando um sistema hidrográfico dominado por lagos, pântanos e zonas mais baixas do que o nível do mar (Hoorn, 1993, 1994b; Gingras *et al.*, 2002b; Wesselingh *et al.*, 2006). Este extenso sistema hidrográfico era alimentado no Oeste por águas provenientes dos rios que desciam dos Andes (Burgos, 2006); e ao Leste por meio de sistemas de rios cratônicos relativamente curtos. Ao Norte, este ecossistema aquático, único e interconectado (Hoorn *et al.*, 1995; Lundberg *et al.*, 1998; Gomez *et al.*, 2003, 2005) apresentava uma conexão com o ambiente marinho na região denominada Bacia do Llanos (Bayona *et al.*, 2007). A fase final do Lago Pebas, culmina com a inversão do curso desta Bacia em direção leste, há aproximadamente 11 Ma (Figueiredo *et al.*, 2009, 2010) (Figura 3)

Figura 3 – Mapa da região do Noroeste Amazônico



Legenda: Alagamento do leste da região subandina originando o Lago Pebas delimitado pelo Arco de Purus durante o Oligoceno – Mioceno (~24 Ma).

Fonte: Figura modificada de Gros *et al.*, 2015.

No final do Mioceno, o alagamento ao Leste da Amazônia (Bacia de Anti-país) resultou no transbordamento e subsequente quebra do Arco de Purus (Bemerguy & Sena Costa, 1991). Este evento estabeleceu a drenagem transcontinental atual do Amazonas (Lundberg *et al.*, 1998). A evolução da paisagem entre 7 e 11 Ma no Oeste da Amazônia ainda é pouco compreendida. Mas estudos indicam que grande parte da Amazônia ocidental foi ocupada por uma alternância de água doce e salobra nas zonas húmidas marginais ao nível do mar que experimentaram configurações de maré (Hovikoski *et al.*, 2007, 2010) (Figura 4). Igualmente próximo de 2.5 Ma oscilações glacio-eustáticas se intensificaram resultando em (40-100) Ka de ciclos curtos de oscilações do nível do mar em todo o planeta, afetando intensamente desta forma o sistema aquático da Amazônia (Lundberg *et al.*, 1998; Brito *et al.*, 2007). Esta complexa história da Bacia Amazônica, teve como decorrência inúmeras mudanças de cursos de rios assim como os limites das Bacias hidrográficas resultando em um complexo processo de vicariância/dispersão para a fauna aquática (Brito *et al.*, 2007).

Figura 4 – Sistema hidrográfico da América do Sul no final do Mioceno



Legenda: Mapa da América do Sul indicando o transbordamento Bacia de Anti-pais e subsequente quebra do Arco de Purus no final do Mioceno. Setas indicando o sentido dos principais rios.
 Fonte: Figura modificada de Hubert & Renno, 2006.

BACIA PARANÁ-PARAGUAI

Concomitantemente, a evolução da hidrografia da região sul da América do Sul, aqui denominado Bacia Paraná-Paraguai e toda a margem Leste da plataforma da América do Sul, é o resultado dos processos tectônicos ativos desde o Mesozoico, momento que representa a fase inicial da separação entre África e América do Sul (Ribeiro, 2006). No Cretáceo Inferior a formação da Serra Geral se estendia aproximadamente por mais de 1 milhão de km² na Bacia do Paraná, no centro e sul do Brasil, Paraguai e ao noroeste da Argentina (Teruggi, 1955; Mena & Vilas, 2005). No Cretáceo Superior, ocorre uma transgressão marinha na região Sul da parte baixa da Bacia do Paraná alagando todo o atual Rio da Prata. Essas incursões marinhas foram limitadas pela borda leste das Serras Pampeanas localizadas ao Norte da Argentina (Gayet *et al.*, 1993). Segundo Potter (1997), a regressão desse mar epicontinental não é

bem documentada, mas ressalta o aumento significativo do tamanho da Bacia do Paraná no início do Terciário, em decorrência das capturas de pequenas bacias hidrográficas do sul-oeste do sistema paleo-Amazônas-Orinoco (Figura 5).

Figura 5 – Transgressões marinhas na América do Sul durante o Cretáceo Superior



Legenda: Transgressão marinha no Cretáceo Superior na região Sul da parte baixa da Bacia do Paraná alagando todo o atual Rio da Prata. Setas indicam o lugar aproximado das ingressões no continente.

Fonte: Figura modificada de Hubert & Renno, 2006.

No Eoceno Médio e início do Oligoceno, dados geológicos do centro dos Andes sugerem um significativo evento no desenvolvimento da drenagem dos rios quando as fronteiras entre o Amazonas e o Paraná progride para o Norte. As serras Pampeanas perdem sua influência como uma barreira entre o Amazonas e o Paraná onde o Arco do Michicola começa a assumir uma influência como nova barreira entre estas (Lundberg *et al.*, 1998). No Mioceno tardio (11 – 10 Ma.) novas e extensas transgressões marinhas nas Bacias de baixas altitudes da América do Sul são corroboradas através de sedimentos marinhos, onde numerosos foraminíferos bentônicos indicam pouca profundidade destes ambientes litorais apontando uma ampla conexão do canal marítimo do Paraná com o Atlântico Sul (Boltovsky, 1991; Marshall *et al.*, 1993; Lundberg *et al.*, 1998) (Figura 6).

Figura 6 – Transgressões marinhas na América do Sul durante o Mioceno tardio



Legenda: No Mioceno tardio (11 – 10 Ma.) novas e extensas transgressões marinhas nas Bacias de baixas altitudes da América do Sul formam o Mar do Paraná.

Fonte: Figura modificada de Hubert & Renno, 2006.

Finalmente é relatada novamente uma transgressão marinha de aproximadamente 100m de altitude durante 5 e 4,2 Ma. no final do Terciário (Hubert & Renno 2006) (Figura 7).

Desde o final do Mioceno até o presente, os padrões atuais das divisões e fluxos dos rios da América do Sul foram estabelecidos (Albert & Reis, 2011). Atualmente, a hidrografia da Bacia do Paraná – Paraguai é composta por diversas e distintas fontes, incluindo montanhas desertas a mais de 6000 metros na Cordilheira dos Andes provenientes da Argentina e Bolívia, o extenso Pantanal do Paraguai, cerrados e florestas tropicais do Centro e Sul do Brasil assim como os Pampas do Norte do Uruguai (Albert & Reis, 2011). A evolução dos principais rios desta Bacia Paraná – Paraguai é o resultado da complexa história geológica da região Sul do continente e que permitiu a formação de depósitos de águas subterrâneas, atualmente denominado Aquífero Guarani, sendo o mesmo um dos maiores reservatórios de água subterrânea continentais do mundo (Lundberg *et al.*, 1998; Albert & Reis, 2011).

Figura 7 – Transgressões marinhas na América do Sul durante o Terciário



Legenda: Transgressões marinhas de 100m isolando áreas elevadas no final do Terciário (5 – 4.2 Ma).
 Fonte: Figura modificada de Hubert & Renno, 2006.

A ICTIOFAUNA NEOTROPICAL

De acordo com Brito *et al.* (2007) parte dos táxons representantes da ictiofauna Neotropical tiveram sua origem no final do Cretáceo, antes da separação da África e América do Sul. Táxons já estabelecidos em seus respectivos nichos ecológicos, mantem vantagens estruturais sobre os recém-chegados em potencial (ou seja, potenciais invasores marinhos ou formas dispersadas). Segundo estes autores, especiações decorrentes da alta vicariância, geradas pela evolução física somadas às formas de água doce secundárias, culminaram com esta diversidade Neotropical.

Entretanto, apesar da riqueza excepcional de espécies, a ictiofauna Neotropical é relativamente pobre em níveis taxonômicos superiores, com apenas 17 ordens, em comparação com 26 ordens na Bacia do Mississippi e drenagens adjacentes. Tal distribuição desproporcional de categorias taxonômicas, com muitos táxons inferiores

e alguns táxons superiores, é única entre as faunas de água doce do mundo (Lundberg *et al.*, 2000; Berra, 2001).

Na classificação proposta por Linneus (1758), a ictiofauna Neotropical incluía 43 famílias ou subfamílias endêmicas, quase todas presentes na Amazônia (Reis *et al.*, 2003a). Os peixes Neotropicais atuais podem ser divididos em três grupos principais; 1) os peixes primários, ou que sobreviveram à separação da América do Sul e África e atualmente se encontram representados nos dois continentes (c.f., Lepidosirenidae, Osteoglossidae, Characiformes, Siluriformes, e alguns Cyprinodontiformes); 2) peixes secundários, que tem sua origem marinha e que invadiram as águas continentais, ou por eventos vicariantes como as transgressões marinhas entre o Cretáceo e o final do Terciário ou por dispersão a partir do ambiente marinho (c.f., Potamotrygonidae, Sciaenidae, Engraulididae, Belonidae, Percichthyidae, Synbranchidae e Cichlidae); e 3) além dos táxons, também primários, aqueles que se desenvolveram a partir de ancestrais dulceaquícolas (como os Gymnotiformes e inúmeras famílias de Siluriformes e Characiformes) (Brito *et al.*, 2007).

Pouco é sabido realmente sobre a origem de vários grupos de peixes atuais e quais foram os eventos principais que originaram a maioria dos peixes neotropicais. Várias hipóteses são apresentadas, como as de mares epicontinentais corroboradas por Lovejoy (1996) e Brito *et al.*, (2007), com estudos de táxons que se originaram a partir de peixes de origem marinha invadindo as águas continentais como por exemplo a família Potamotrygonidae assim como provavelmente a família Synbranchidae. Mas ainda existe a questão sobre a origem e distribuição destes peixes Neotropicais amplamente distribuídos nas maiores bacias hidrográficas da América do Sul.

Por tanto, o presente trabalho tratará filogeograficamente de dois prováveis complexos de espécies: *Potamotrygon motoro* da família Potamotrygonidae e *Synbranchus marmoratus* da família Synbranchidae. A finalidade principal do estudo é discutir a influência da evolução hidrográfica sul-americana na distribuição e evolução destes grupos, através de análises moleculares e morfológicas. Concomitantemente, o trabalho pretende discutir a delimitação genética de cada população, na tentativa de verificar se estas são unidades diferenciadas ou um complexo de espécies.

A família Potamotrygonidae (Garman, 1877) engloba grupos relevantes entre os peixes de origem marinha que invadiram as águas continentais (entre eles *Potamotrygon motoro*; figura 8). Esta família abrange aproximadamente 20 espécies divididas em quatro gêneros, com grande variabilidade morfológica (Rosa, 1985a,

1985b, 1990; Rosa, Castello & Thorson, 1987). Os quatro gêneros deste clado são; *Potamotrygon* (Garman, 1877), *Paratrygon* (Duméril, 1865), *Plesiotrygon* (Rosa, Castello & Thorson, 1987) e *Heliotrygon* (Carvalho, 2011). Representantes da família Potamotrygonidae são encontrados em quase todos os sistemas fluviais sul-americanos, com exceção do rio São Francisco, rios costeiros brasileiros e rios que desembocam na parte oeste da Cordilheira dos Andes (Castello 1978, Deynat & Brito 1994) sendo assim endêmicos da América do Sul. Os fósseis deste clado são raros embora tenham sido descritos nos terrenos de idade Eocênica da Amazônia Peruana (Adnet *et al.*, 2014) e Miocênica da Formação Solimões no Acre (Frailey, 1986; Deynat e Brito, 1994) e da Formação Paraná, na Argentina (Deynat e Brito, 1994; Brito e Deynat, 2004; Brito *et al.*, 2007; Lundberg, 1997). Estes fósseis fornecem uma idade mínima de aproximadamente 47 Ma para o gênero *Potamotrygon*, indicando uma origem e diversificação dos Potamotrygonidae anterior ao Eoceno Médio.

O padrão evolutivo descrito para a família Potamotrygonidae desde o aprisionamento do táxon ancestral, sua adaptação e posterior origem das raias de água doce parece ter sido semelhante ao apresentado por vários outros grupos de vertebrados Neotropicais, como anchovas (Engraulidae), arenques (Clupeidae) e golfinhos do gênero *Inia*, (Nelson, 1985; Lovejoy, 1996), mas as relações filogenéticas da família Potamotrygonidae são ainda questionáveis.

Figura 8 – Ilustração científica da espécie *Potamotrygon motoro*



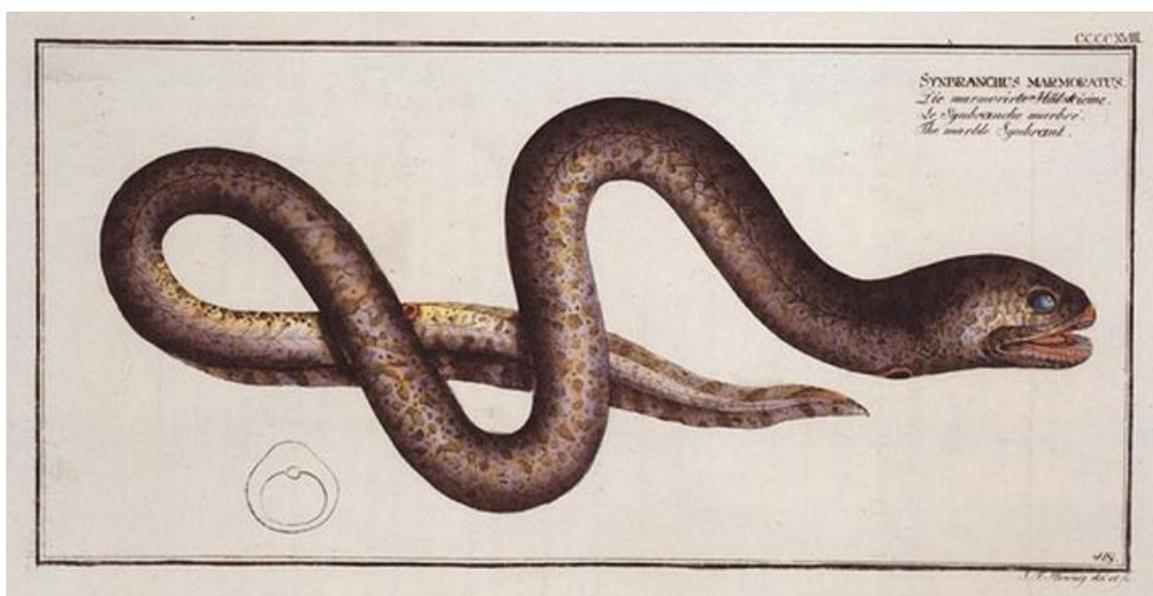
Legenda: Ilustração digital.

Fonte: Modificação da prancha *Freshwater stinrays from Colombia* realizada pelo ilustrador OniKaizer (2015 – 2016).

Synbranchus marmoratus da família Synbranchidae, também faz parte do grupo de peixes Neotropicais destacável por sua possível origem marinha (Figura 9). Esta família inclui 23 espécies distribuídas em quatro gêneros organizados em duas subfamílias: Macrotreminae e Synbranchinae (Rosen e Greenwood, 1976). A subfamília Synbranchinae, composta pelos gêneros *Ophisternon*, *Synbranchus* e *Monopterus*, se distingue por apresentar: abertura branquial reduzida e restrita à região ventral; nadadeira caudal, quando presente, reduzida e contínua às nadadeiras dorsal e anal; narina posterior com abertura em posição dorso-medial em relação ao olho (Rosen e Greenwood, 1976). O gênero *Synbranchus* é, atualmente, composto por três espécies: *Synbranchus marmoratus* Bloch, 1795, com distribuição do México até o Norte da Argentina; *Synbranchus madeirae* (Rosen e Rumney, 1972), encontrado no Rio Madeira, Bacia Amazônica; e *Synbranchus lampreia* (Favorito *et al.*, 2005)

encontrada no Rio Goiapi, Ilha de Marajó. O grupo é amplamente distribuído nos trópicos e subtropicais, podendo ocupar habitats de água doce, salobra e, ocasionalmente, marinha. Atualmente pouca informação é conhecida sobre a origem deste grupo para as Bacias Neotropicais. No entanto, Pardiñas *et al.*, (1996) registram o primeiro fóssil para este grupo na região sul da Argentina que data do início do Pleistoceno Superior. Por outro lado, Bogan *et al.*, (2012) publicam o segundo registro fóssil de Synbranchidae para a região norte da Argentina que data do início do Holoceno. Por tanto, a família Synbranchidae ainda apresenta uma grande problemática atual sobre sua filogenia e origem histórica.

Figura 9 – Ilustração científica da espécie *Synbranchus marmoratus*



Fonte: Ilustração científica – Bloch, 1795.

1 OBJETIVOS

A presente tese de doutorado tem como principais objetivos:

- a) Redescrever as espécies *Potamotrygon motoro* e *Synbranchus marmoratus*.
- b) Comparar a morfologia de espécimes das duas espécies nas diferentes bacias hidrográficas (Amazônica e Paraná-Paraguai). A comparação anatômica mais detalhada permitirá discutir a validade da taxonomia utilizada atualmente.
- c) Propor uma hipótese filogenética para os Potamotrygonidae testando assim a validade do complexo *Potamotrygon motoro*.
- d) Apresentar um estudo filogeográfico de dois complexos de espécies neotropicais, *Potamotrygon motoro* Muller & Henle, 1841 e *Synbranchus marmoratus* Bloch, 1795 a partir de uma análise filogenética molecular e da comparação com dados de geografia histórica, procurando testar a coerência destas espécies.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Análise morfológica

2.1.1 Coleta de material.

Os espécimes analisados para a viabilização do estudo foram obtidos a partir de: coletas realizadas pela equipe do laboratório; visita a coleções ictiológicas do Brasil, Paraguai e da França, fotografias concedidas com finalidade de estudo pelo Field Museum of Natural History – FMNH assim como espécimes previamente depositados na coleção ictiológica da Faculdade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ.

A seleção dos locais de coleta teve como base os dados das localidades citadas na literatura ou relacionados aos espécimes depositados em coleções científicas, onde as espécies foram reportadas. Foram realizadas coletas nas duas grandes bacias da América do Sul. Na bacia Amazônica tivemos a oportunidade de realizar uma coleta no rio Tocantins assim como no rio Xingu. Já na bacia do Prata efetuei coletas nos rios Paraná assim como no Rio Paraguai (Figura 10). Foram utilizados como materiais de coleta redes de espera assim como a utilização de vara de pescar e muita sorte em alguns momentos. Os espécimes coletados pela equipe do laboratório encontram-se depositados na Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Visitas a coleções ictiológicas possibilitaram a análise de espécimes pertencentes ao Laboratório de Ecologia de Peixes da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Museu Nacional do Rio de Janeiro – MNRJ, Museu Paraense Eduardo Goeldi – MPEG, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, Laboratório de Ictiologia da Universidade Federal do Pará – UFPA sede Belém do Pará e assim como na sede da cidade de Altamira. Por outro lado, espécimes relevantes como holótipos foram observadas e analisadas durante uma estadia curta na Europa no Museum de Histoire Naturelle de Paris – MNHN. Do mesmo modo, durante a estadia tive a oportunidade de ter acesso a material emprestado do The Natural History Museum – NHM.

Figura 10 – Pontos de coleta realizados para este trabalho



Legenda: Mapa da América do Sul indicando os pontos de coleta realizados para este trabalho. 1- Rio Paraguai e pequenos lagos da região Chaco, Concepción – Paraguai; 2- Lago Ypacarai , Ypacarai – Paraguai; 3- Rio Paraná, Ayolas – Paraguai; 4- Rio Miracema, Rio de Janeiro – Brasil; 5- Rio Tocantins, Palmas – Brasil; 6- Rio Xingu, Altamira – Brasil.

Fonte: Mapa modificado de Schweizerweltatlas *Blank Maps* e posterior plotagem pelo autor, 2016.

2.1.2 Espécimes analisados

2.1.2.1 Potamotrygonidae

Potamotrygon motoro: MNHN-IC-0000-2354 – Holótipo; PNT519, PNT520, Rio Paraguai – Concepción – Paraguai; FMNH108171, Rio Paraguai – Concepción – Paraguai; LIA2018, Rio Xingu – Altamira – Brasil; PNT521, Rio Caiapó – Tocantins – Brasil; FMNH84658, Rio Paraná – Argentina; FMNH94503, Rio Yasuni – Equador; FMNH106065, Rio Madeira – Bolívia; UFPA1407789, Rio Amazônia – Trombetas – Brasil; UFPA780 Rio Amazônia – Trombetas – Brasil; MPEG3766, Rio Amazônia – Tapajós – Brasil; MPEG3767, Rio Amazônia – Tapajós – Brasil; MPEG3768, Rio Amazônia – Furos (estuário) – Brasil; MPEG7592, Rio Amazônia – Furos (estuário) – Brasil; MPEG3766; MPEG3767; MPEG3768; MPEG7592.

Potamotrygon orbigny: MNHN-IC-0000-2333 – Holótipo; FMNH53271 – Guiana Francesa, LIA2017 – Rio Xingu – Altamira – Brasil; MPEG1332; MPEG1809; MPEG7591; MPEG24219; INPA 36813.

Potamotrygon marinae deynat, 2006: MNHN-IC-2003-0020 – Parátipo.

Potamotrygon falkneri: PNT 310, PNT309, Rio Paraná – Ayolas – Paraguai;

Potamotrygon hystrix: MNHN-IC-0000-2449 – Holótipo; FMNH59256.

Potamotrygon yepezi Castex & Castello, 1970: MNHN-IC-0000-2433.

Potamotrygon leopoldi: PNT 308; 02PEM2012070402; 06PEM2012092103.

Potamotrygon tigrinus: PNT 304 – Rio Amazônia – Iquito – Perú.

Potamotrygon constellata: MPEG11711.

Potamotrygon schroederi: INPA 35614.

Potamotrygon henlei: INPA 1767; INPA 1761; INPA 24023; INPA 1749; INPA 1749-2; INPA 1762; INPA 1762-3; INPA 28893.

Potamotrygon scobina: INPA 1773

Potamotrygon sp.: PNT 307 – Lago Ypacarai – Patiño – Paraguai; FMNH 84686; MPEG2166; MPEG9872; MPEG26917; MPEG26918; INPA 15109; INPA 15108; INPA 39010; INPA 37082; INPA 34960; INPA 37447; INPA 8480.

Plesiotrygon iwamae: PNT303, PNT306 – Rio Amazônia – Iquito – Perú, FMNH 94500; INPA 8481.

Paratrygon aiereba: FMNH 84092, FMNH 108797, PNT264, PNT265 – Rio Amazônia – Manaus – Brasil; PNT266, PNT302 – Rio Amazônia – Iquito – Perú; LIA2049 – Rio Xingu – Altamira – Brasil; INPA 1751; INPA 37084.

Paratrygon sp.: LIA2052, LIA2050 - Rio Xingu – Altamira – Brasil.

Heliotrygon gomesi: PNT268, PNT 269 – Rio Amazônia – Iquito – Peru.

Heliotrygon sp.: INPA 37462.

2.1.2.2 Synbranchidae

Synbranchus marmoratus: PTN271, PNT272, PNT273, PNT459, PNT457, PNT458, PNT460, PNT461, Rio Paraguai – Concepción – Paraguai; PNT462, PNT463, PNT464, PNT466, PNT467, PNT484, Rio Miracema – Rio de Janeiro – Brasil; PNT468, Marica – Rio de Janeiro – Brasil; PNT469, Guapimirim – Rio de Janeiro – Brasil; PNT413, PNT414, PNT485, Ilha Grande (estuário) – Rio de Janeiro – Brasil; MPEG 13440; MPEG 17588; MPEG 10192; MPEG 28065; MPEG 2094; MPEG 2090; MPEG 11385; MPEG 15141; MPEG 019109; MNHN 00649; MNHN00651; MNHN00652 – Guiana Francesa; MNHN-IC-0000-7551; MNHN-IC-0000-7558, MNHN-IC-1994-0782 – Buenos Aires – Argentina; MNHN-IC-1988-1999 – Trinidad – Bolívia; MNHN-IC-1875-0528 – Rio de Janeiro – Brasil; MNHN-IC-0000-7550 – Santa Marta - Colômbia; MNHN-IC-1875-0449 - Guatemala; MNHN-IC-0000-5410 - Guiana; MNHN-IC-1981-0439, MNHN-IC-1903-0216 - Guyane Francesa; MNHN-IC-A-4905 – México; MNHN-IC-0000-7569 – Uruguai.

Synbranchus madeirae: MPEG 11559; MPEG 10068; MPEG 24541; MPEG 15143; MPEG 10071.

Synbranchus lampreia: MPEG 3863 ; MPEG 3863.

Synbranchus pardalis c.f.: MNHN00648 – Bolívia.

Synbranchus sp.: MPEG 3463; MPEG 18067; MNHN-IC-1994-0779 – Buenos Aires – Argentina; MNHN-IC-1988-2017; MNHN-IC-1988-2002 – Trinidad – Bolívia.

2.1.3 Identificação e descrição morfológica

As observações dos exemplares foram realizadas com o auxílio de microscópio estereoscópio. Uma vez o material obtido, foi realizado a preparação dos mesmos utilizando varias metodologias dependendo da informação a ser observada nos exemplares.

Para a identificação dos espécimenes de *Potamotrygon motoro* observados no presente trabalho foi feita, inicialmente a partir da chave proposta por Rosa (1985a). A terminologia anatômica está baseada em autores como Castex (1969), Lovejoy (1996), Carvalho (2004). Terminologias da morfologia esquelética estão baseadas em Nishida (1990).

Para a identificação de *Synbranchus marmoratus* foi utilizada a chave Rosen & Greenwod, 1976. A descrição das estruturas anatômicas é semelhante em organização e nomenclatura utilizadas para os teleósteos modernos tendo em conta determinadas modificações referentes às características morfológicas específicas do grupo. A nomenclatura utilizada teve como base os trabalhos de referência para o grupo (Rosen & Greenwod, 1976; Travers, 1984a, 1984b; e Britz e Kottelat 2003).

2.1.4 Métodos de preparação

2.1.4.1 Escarnação com auxílio de coleópteros dermestídeos

Para a preparação de esqueletos inteiros e articulados, foi utilizada a técnica de preparação a seco, através do uso de colônias de coleópteros dermestídeos (Figura 11).

Figura 11 – Coleóptero *Dermestes maculatus* DeGeer, 1774

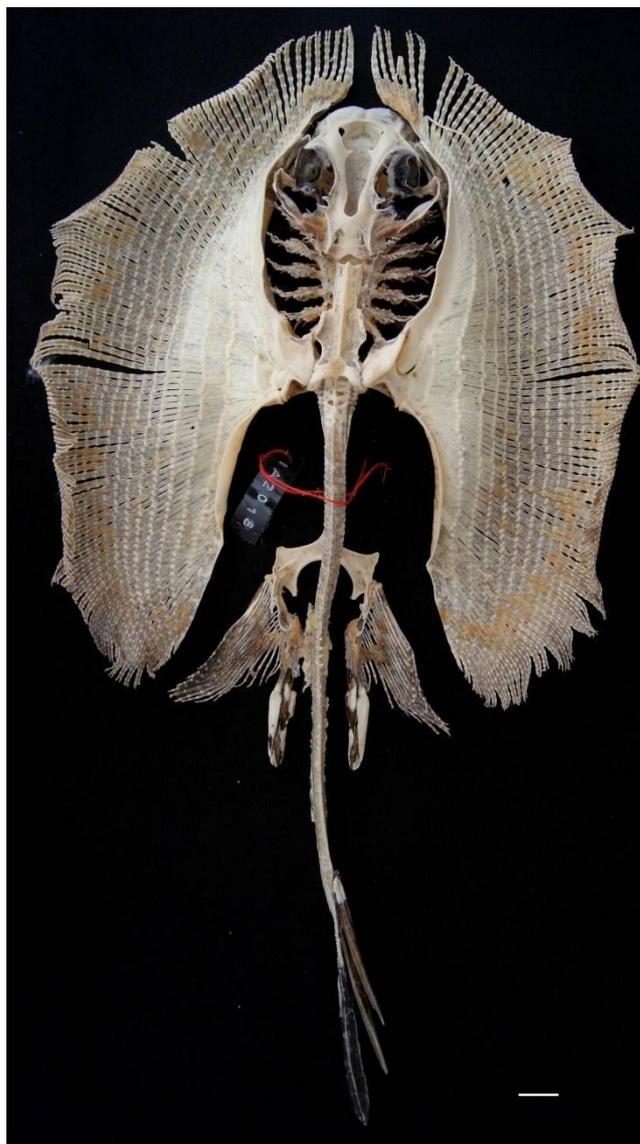
Legenda: Larva em vista lateral (a), espécime adulto em vista dorsal (b); espécime adulto em vista ventral (c). Escala 5 mm
Fonte: O Autor, 2016.

Os exemplares coletados foram fixados e conservados somente com a utilização de solução alcoólica a 70%. Antes dos espécimes serem colocados nas colônias de dermestídeos, a pele e o excesso de carne foram retirados manualmente com o auxílio de material cirúrgico (pinças, tesouras e bisturi) e os espécimes lavados em água corrente. Esta etapa é bastante importante para acelerar a preparação e para diminuir o risco de desarticulação do esqueleto (quanto maior o tempo de exposição da carcaça aos coleópteros, maior a possibilidade de desarticulação). Uma vez retirado o excesso de pele e tecido, a carcaça deve ser levada à estufa para secar. O tempo de secagem é proporcional ao tamanho do espécime. Este passo é necessário para que o material a ser colocado na colônia de dermestídeos esteja sempre seco, evitando o aparecimento de larvas de moscas no material. Para evitar a desarticulação de porções já limpas, deve-se impedir que os coleópteros continuem tendo acesso a estas regiões. Isto pode ser feito, basicamente, de três formas: criando barreiras físicas para a ação dos dermestídeos, aplicando-se uma solução de formaldeído a 4% nas partes já preparadas (Sommer & Anderson, 1974), ou aplicando cola PLEXIGUM nos pontos propícios a desarticulação. A maior parte do tempo da preparação foi aplicada gordura animal, com o intuito de acelerar o processo de alimentação e, por consequência, a remoção do

tecido muscular. Ao fim do processo da preparação, com auxílio de um pincel é removido, ainda na caixa, todo o excesso de insetos e larvas. Em seguida, os exemplares são colocados em recipiente com tampa, onde, posteriormente é adicionado algodão embebido em clorofórmio. Por ultimo, os exemplares são colocados no freezer à -5°C por 12 horas, exterminado, desta forma, a possibilidade de sobrevivência de larvas ou adultos de coleópteros dermestídeos que ainda permaneceram nos esqueletos obtidos. Em alguns exemplares foi realizado o processo de clareamento, o mesmo é um processo opcional devido a que em alguns casos, os esqueletos adquirem uma coloração amarelada escura, dificultando a visualização de certas estruturas, como por exemplo, canais e suturas. Com objetivo de clarear as estruturas ósseas, alguns exemplares foram colocados em solução composta de 90% de álcool 10% de peróxido de hidrogênio, por aproximadamente 30 minutos. Em seguida os esqueletos foram colocados sobre papel absorvente e mantidos em temperatura ambiente para secar. Por ultimo, os esqueletos foram então catalogados e, em seguida, armazenados em caixas de plástico transparente ou caixas de papelão devidamente identificadas. Todo o material esquelético obtido foi depositado na coleção de esqueletos de peixes Neotropicais da Universidade do estado do Rio de Janeiro (PNT. UERJ).

Tal procedimento permitiu à obtenção de esqueletos completos e articulados, onde puderam ser estudados os complexos anatômicos por inteiro (ex.: complexo do neurocrânio, nadadeiras e cinturas, coluna vertebral, etc.) possibilitando a observação de variações intraespecíficas (Figura 12 a; b).

Figura 12.a – Complexo esquelético do exemplar *Potamotrygon motoro* LIA2018



Legenda: Vista dorsal. Escala 10mm.

Fonte: O Autor, 2016.

Figura 12.b – Complexo esquelético do exemplar *Synbranchus marmoratus* PNT518



Legenda: Vista dorsal. Escala 10mm.

Fonte: O Autor, 2016.

2.1.4.2 Diafanização

Este processo envolve o clareamento da musculatura a partir de processos enzimáticos e coloração dos tecidos ósseos e cartilagosos com corantes específicos. Para este processo foram priorizados os exemplares de menor tamanho, este que aprestam resultados mais satisfatórios neste tipo de técnica (Song & Parenti, 1995).

Fixação – O material fresco foi fixado em formalina a 10% por, no mínimo, três dias, dependendo do tamanho do material. Em exemplares que já se encontravam fixados, em formol ou álcool, não foi necessária a realização de uma nova fixação.

Lavagem – Em seguida, os exemplares passaram por diversas trocas de água destilada, durante dois dias, para a remoção do excesso de material fixante. Nesta etapa, a pele do animal foi removida para facilitar os processos seguintes.

Coloração cartilaginosa – Após a lavagem, os exemplares foram colocados em solução de *alcian* blue 8GX por um ou dois dias. Para preparar 100 ml de solução

de *alcian blue* foi necessário 10mg de corante em pó *alcian blue* 8GX; 80ml de etanol a 95%; e 25ml de ácido acético glacial.

Reidratação – Passado o tempo de coloração do tecido cartilaginoso, os exemplares foram transferidos para soluções com diversas concentrações de etanol (95%; 75%; 50%; 30%) seguido por duas passagens em água destilada pura, permanecendo três horas em cada solução.

Digestão muscular – Para a digestão do tecido muscular os exemplares foram colocados em solução de pancreatina durante, aproximadamente oito dias, contudo, a cada dois dias a solução foi trocada para que não houvesse proliferação de fungos ou deterioração dos exemplares. Para a preparação de 100ml de solução de pancreatina foi utilizado 50ml de solução de bórax supersaturado, anteriormente preparada; 50ml de solução de KOH a 0,5% (um *drops* de KOH para 50ml de água destilada); e um grama de pancreatina suína em pó.

Remoção de enzima – Após a musculatura dos exemplares se tornarem translúcidas, estes foram colocados em solução de KOH a 0,5% por cerca de uma hora para a remoção do excesso de enzima e auxílio da penetração de corante nas estruturas ósseas.

Coloração óssea – Após a remoção de pancreatina, os exemplares foram transferidos em solução de alizarina *red S* por aproximadamente 24 horas ou até os exemplares apresentarem os ossos completamente corados de vermelho ou rosa. Nesta etapa é necessário o acompanhamento para que não ocorra supercoloração dos ossos. A solução de alizarina foi preparada adicionando gradualmente o corante alizarina *red S* em pó a 100ml de KOH 0,5% até a solução atingir uma coloração rosa escuro.

Remoção do excesso de corante – Após devidamente corado, os exemplares foram colocados em uma solução de KOH a 0,5% para remoção do excesso de corante. Nesta etapa alguns exemplares também passaram por uma solução de clareamento preparada com KOH 0,5% e peróxido de hidrogênio, contudo, devido à formação excessiva de bolhas, esta etapa não foi realizada em todos os espécimes diafanizados.

Armazenamento – Para a etapa final de armazenamento os exemplares foram transferidos para uma solução composta por 30% de glicerina e 70% KOH 0,5%, em seguida para uma solução de 50% glicerina e 50% KOH 0,5% e uma solução de 70% glicerina e 30% KOH 0,5%. Para cada solução, os exemplares permaneceram aproximadamente oito horas. Por fim, todos os exemplares foram devidamente catalogados e depositados separadamente em solução de glicerina a 100%.

2.1.4.3 Fotografias e Ilustrações Científicas.

Além das técnicas de preparação citadas acima, sempre que possível os exemplares e principais caracteres esqueléticos foram fotografados. As fotografias foram todas realizadas em formato digital com a utilização das seguintes câmeras fotográficas; Sony modelo A100, Sony ADSL Alfa 580 e Canon Powershot G14.

Ilustrações foram elaboradas empregando técnicas básicas de desenho sobre mesas translúcidas assim como desenhos de observação utilizando lápis grafito, plumas, nanquim entre outros materiais básicos de desenho. A técnica de ilustração mais utilizada foi a técnica do pontilhismo. A obtenção das imagens foi elaborada em base as fotografias dos exemplares inteiros e desarticulados, peças esqueléticas e imagens de radiografias e mamografias previamente obtidas em trabalhos anteriores. As ilustrações obtidas foram posteriormente tratadas com auxílio do *software* Photoshop CS6 e Adobe Illustrator CS6.

2.1.5 Análise Filogenética de *Potamotrygon motoro*

A partir da descrição da morfologia externa e do complexo esquelético de *Potamotrygon motoro*, foi elaborado uma listagem da distribuição dos estados de caracteres. Posteriormente estes caracteres foram dispostos numa matriz de dados (tabela 5) com o auxílio do *software* NDE (*Nexus Data Editor*) v.0.5.0 (Page, 2001).

Finalmente, foi realizada uma análise cladística de *Potamotrygon motoro* baseada nos estados dos caracteres polarizados na matriz para determinar as possíveis relações filogenéticas desta espécie. As análises foram realizadas com o auxílio do *software* Paup (*Phylogenetic Analysis Using Parsimony*) v.4.0a147 (Swofford 2015). O método de otimização de caracteres selecionado foi ACCTRAN (*Accelerated Transformations*), tratando todos os estados dos caracteres como não ordenados. Caracteres polimórficos que apresentaram mais de dois estados possíveis foram codificados com (*). Caracteres não aplicáveis foram codificados com traço (-).

2.2 Análise Molecular

2.2.1 Material examinado

Para a elaboração da análise molecular foi amostrado um total de 16 exemplares, coletados previamente por nosso grupo de trabalho e pessoalmente. Deste total, 2 amostras tratam-se de exemplares de *Potamotrygon motoro* distribuídos na bacia do Amazônia, 2 amostras de exemplares da bacia Paraná-Paraguai e 1 amostra do exemplar *Potamotrygon sp* também da bacia do Paraná-Paraguai. Do mesmo modo, 11 amostras referem-se a exemplares de *Synbranchus marmoratus* onde, 8 amostras são exemplares da bacia do Paraná-Paraguai, 2 amostras pertencentes à bacia do Amazônia e um exemplar da bacia do Leste Brasileiro. As espécies amostradas estão disponibilizadas na tabela 1 discriminadas por família e localidade para cada exemplar. Infelizmente, em decorrência ao alto custo de realizar uma saída de campo e, a própria dificuldade de coleta de algumas espécies especificamente, não foi possível obter uma maior quantidade de exemplares das espécies relevantes deste estudo.

Tabela 1 – Exemplos utilizados na análise molecular

Voucher	Família	Espécie	Bacia	Localidade
PNT519	Potamotrygonidae	<i>Potamotrygon motoro</i>	Paraná-Paraguai	Concepción – Paraguai
PNT520	Potamotrygonidae	<i>Potamotrygon motoro</i>	Paraná-Paraguai	Concepción – Paraguai
PNT307	Potamotrygonidae	<i>Potamotrygon</i> sp.	Paraná-Paraguai	Ypacarai – Paraguai
PNT521	Potamotrygonidae	<i>Potamotrygon motoro</i>	Amazônia	Tocantins – Brasil
LIA2018	Potamotrygonidae	<i>Potamotrygon motoro</i>	Amazônia	Xingu – Brasil
PNT457	Synbranchidae	<i>Synbranchus marmoratus</i>	Paraná-Paraguai	Chaco – Paraguai
PNT458	Synbranchidae	<i>Synbranchus marmoratus</i>	Paraná-Paraguai	Chaco – Paraguai
PNT460	Synbranchidae	<i>Synbranchus marmoratus</i>	Paraná-Paraguai	Chaco – Paraguai
PNT461	Synbranchidae	<i>Synbranchus marmoratus</i>	Paraná-Paraguai	Chaco – Paraguai
CHPA07	Synbranchidae	<i>Synbranchus marmoratus</i>	Paraná-Paraguai	Chaco – Paraguai
CHPA11	Synbranchidae	<i>Synbranchus marmoratus</i>	Paraná-Paraguai	Chaco – Paraguai
PNT517	Synbranchidae	<i>Synbranchus marmoratus</i>	Paraná-Paraguai	Concepción – Paraguai
PNT518	Synbranchidae	<i>Synbranchus marmoratus</i>	Paraná-Paraguai	Concepción – Paraguai
PNT484	Synbranchidae	<i>Synbranchus marmoratus</i>	Leste Brasileiro	Miracema – Brasil
LIA2020	Synbranchidae	<i>Synbranchus marmoratus</i>	Amazônia	Xingu – Brasil
LIA2026	Synbranchidae	<i>Synbranchus marmoratus</i>	Amazônia	Xingu – Brasil

Fonte: O Autor, 2016.

2.2.2 Remoção de tecido

Pequenas quantidades de amostras de tecido muscular foram retiradas da região ventral das nadadeiras peitorais nos espécimes de *Potamotrygon motoro*. Nos espécimes de *Synbranchus marmoratus* o tecido muscular foi retirado da região lateral. O procedimento de remoção de tecido é realizado com a ajuda de pinças e bisturi. Estes materiais atravessam por um processo de lavagem numa sequência de três tipos de soluções diferentes Hipoclorito de sódio (NaClO), Água (H₂O) destilada e Etanol (CH₃CH₂OH) à 95%) com objetivo de desnaturar todo resíduo de DNA remanescente das amostras anteriores. Todas as amostras são depositadas em tubos criogênicos contendo álcool 95% e posteriormente refrigeradas para análises futuras.

2.2.3 Extração, purificação e quantificação de DNA

O processo de extração de DNA, das amostras de tecido coletados dos diferentes espécimes, tem início com a retirada de uma pequena porção do tecido coletado, o tamanho do material a ser utilizado para extração deve ser equivalente a cabeça de um fósforo aproximadamente. Os cortes deste tamanho são realizados manualmente com a ajuda de pinças e bisturi sobre uma placa de petri descartável. A placa é dividida em quatro porções com o propósito de utilizar uma placa para quatro cortes. Para evitar a contaminação das amostras, o material utilizado para o corte, bisturi e pinças, são lavados primeiramente num copo de soda caustica e posteriormente em água, antes e depois de cada corte.

Para a extração e purificação de DNA neste trabalho, foi utilizado o protocolo de extração com Tampão de lise contendo Hidroclorato de Guanidina (GuHCL). Uma vez obtida a pequena quantidade de tecido muscular, a amostra de aproximadamente 10mm³ é transferido para um microtubo de 1,5 mL. Em seguida, é adicionado 700µL de tampão de Lise. Para homogeneizar a solução, a amostra é macerada com pistilo de polipropileno aplicando movimentos circulares contra o fundo do tubo. O homogeneizado é encubado em banho maria a 56°C por no mínimo 2 horas (se *overnight*, diminuir a temperatura para 36°C). Posteriormente a solução é centrifugada a 6000 RPM por 3 minutos á temperatura ambiente em microcentrífuga e 600µL do sobrenadante é transferido para um microtubo de 1,5 mL limpo. Uma vez obtido o sobrenadante é adicionado 600µL de clorofórmio misturando a solução por inversão e novamente centrifugado á 6000 RPM por 3 minutos a temperatura ambiente em microcentrífuga. Em seguida é transferido 550µL do sobrenadante para um microtubo de 1,5 mL limpo e adicionado 550µL de clorofórmio e misturado por inversão. A solução é novamente centrifugada a 6000 RPM por 3 minutos a temperatura ambiente em microcentrífuga. Posteriormente é transferido 500µL do sobrenadante para um microtubo de 1,5 mL limpo e adicionado 500µL de isopropanol 100% e misturado por inversão. Em seguida, a solução é incubada á -20°C por no mínimo 15 minutos ou *overnight*. Para o seguinte passo a solução é descongelada em banho maria e logo em seguida é centrifugada á 10000 RPM por 30 minutos á 4°C ambiente em microcentrífuga refrigerada. Neste passo o sobrenadante é descartado e em seguida é adicionado 1 mL de etanol 70% gelado e misturado por inversão. A solução é

centrifugada á 10000 RPM por 5 minutos a temperatura ambiente em microcentrífuga. Posteriormente o sobrenadante é descartado e o precipitado é deixado para secar completamente em fluxo laminar, concentradores a vácuo ou bancada sobre papel toalha tendo em conta cuidados extra ao deixar os microtubos abertos para evitar contaminações. Por ultimo, o precipitado seco é resuspendido em 100µL de solução RNase e incubado a 37°C por no mínimo 1 hora (Caso o precipitado não dissolver, foi adicionado mais volume conforme o necessário e deixado a amostra por mais tempo – até 3 dias).

Os produtos de extração foram quantificados por leitura da densidade óptica (OD) dos espectros de 260 nm, 280 nm e 230 nm em espectrofotômetro Nanodrop™ 2000c (Thermo Scientific). As OD's foram obtidas automaticamente.

2.2.4 Marcador molecular

O gene citocromo c oxidase subunidade 1 (COI) foi escolhido como marcador molecular em virtude a alta utilização na atualidade deste gene que, tem sido considerado como uma ferramenta útil na identificação de espécies animais. Sequências de nucleotídeos deste gene, disponíveis em base de dados genéticos públicos como o GenBank e Bold Systems, auxiliam na comparação das amostras do presente trabalho com uma maior diversidade de exemplares distribuídos em outras localidades e até mesmo em localidades próximas as coletadas para este estudo.

2.2.5 Reação em cadeia da polimerase - PCR.

A amplificação da região genica escolhida do citocromo oxidase subunidade 1(COI) foi realizada por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR, *Polymerase Chain Reaction*) utilizando amostras de DNA normalizadas para aproximadamente 15ng/ul. Para a amplificação foi utilizado um coquetel universal de *primers* para peixes assim como a modificação de um dos *primers* por este trabalho. Os *primers* utilizados foram recuperados de dados disponíveis na literatura descritos na tabela 2

Tabela 2 – Primers utilizados para a reação de PCR

Primers	Sequências	Referencias
VF2_t1	TGTA AACGACGGCCAGTCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC	Ward et al. 2005
VF2_t1mod	TGTA AACGACGGCCAGTCTACYAAYCACAAAGAYATTGGTAC	Presente estudo
FishF2_t1	TGTA AACGACGGCCAGTCGACTAATCATAAAGATATCGGCAC	Ward et al. 2005
FishR2_t1	CAGGAAACAGCTATGACACTTCAGGGTGACCGAAGAATCAGAA	Ward et al. 2005
FR1d_t1	CAGGAAACAGCTATGACACCTCAGGGTGTCCGAARAAYCARAA	Ivanova et al. 2007
FF2d	TTCTCCACCAACCACAARGAYATYGG	Ivanova et al. 2007
FR1d	CACCTCAGGGTGTCCGAARAAYCARAA	Ivanova et al. 2007
M13F(-21)	TGTA AACGACGGCCAGT	Messing (1983)
M13R(-27)	CAGGAAACAGCTATGAC	Messing (1983)

Fonte: O Autor, 2016.

As reações de PCRs foram realizadas em um volume total de reação de 25 µl, dadas as seguintes concentrações dos reagentes: 14 µl de H₂O; 1,3µl de dNTPs (2 mM); 5µl de tampão 5X; mix COI 1,3 µl (2µM), *primer* VF2_t1 mod 1,3 µl (2 µM) 2µl de DNA e 1U da DNA polimerase Taq.

As amostras foram amplificadas no termociclador com ciclos de amplificação seguindo um programa de ciclagem de 94°C por dois minutos; 35 ciclos à 94° C por 30 segundos; 52°C por 40 segundos e 72°C por um minuto; e um ciclo à 72°C por dez minutos. A visualização dos produtos de PCR foram feitas por eletroforese em gel de agarose a 1%.

2.2.6 Sequenciamento

Para o sequenciamento, 15 µl de produto de PCR não purificado foi enviado por meio de envio postal SEDEX, seguindo todas as normas nacionais de envio de material biológico, à prestadora de serviços de biotecnologia HELIXXA. A citada empresa realiza o sequenciamento através de sequenciamento por eletroforese capilar. Segundo o protocolo da empresa, os sequenciamentos foram realizados utilizando-se o kit BigDye Terminator V3.1 (Life Technologies), de acordo com protocolo standard do fabricante com volume final da reação de 10uL. A termociclagem da reação de

sequenciamento foi realizada no equipamento Veriti Thermo Cyclor (Life Technologies), de acordo com o protocolo ilustrado na tabela 3.

Tabela 3 – Ciclos de temperatura do sequenciamento

Incub.	Denat. Inic	Denat.	Anel.	Ext.	Hold
		35 ciclos			
	96 °C 1 min	96 °C 15 s	50 °C 15 s	60 °C 4 min	4 °C ∞
Rampa	100%	-	1 °C/s*	-	-

Fonte: Serviço de Biotecnologia HELIXXA.

A corrida de sequenciamento foi realizada no equipamento ABI 3500 Genetic Analyzer (Life Technologies), utilizando-se o polímero POP-7 (Life Technologies) de acordo com protocolo standard do fabricante.

Por motivos de custo, foi realizado primeiramente o sequenciamento de três amostras (uma de cada espécie) das duas fitas (*forward* e *reverse*). Uma vez recebido os resultados destas três sequências, posterior a uma análise determinando a qualidade de cada fita, optou-se pelo sequenciamento da fita *forward* do restante das amostras.

2.2.7 Edição e alinhamento das sequências

Uma vez recebidos os resultados das sequências restantes, cada amostra foi visualizada, assim como o eletroferograma, com o auxílio do *software* Bioedit v.7.2.5 (Hall, 1999) para determinar a qualidade das mesmas e a edição das sequências caso necessário. Posterior a análise e edição de cada sequência, foi gerado um arquivo FASTA para cada uma das amostras e subsequentemente agrupadas por família.

Com a finalidade de complementar as análises ampliando a representatividade dos grupos estudados, foram incluídas sequências de nucleotídeos de banco de dados públicos como o GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) e Bold System (<http://www.boldsystems.org/>). Foram obtidas sequências de espécies da família

Potamotrygonidae e Synbranchidae, todas estas distribuídas nas principais bacias da América do Sul. Estas sequências nucleotídicas, assim como as de espécies a serem utilizadas como grupo externo para cada gênero, estão listadas na tabela 4.

Tabela 4 – Sequências obtidas de Banco de dados públicos

Nro. Acesso	Família	Espécie	Bacia	Localidade
JN989158	Potamotrygonidae	<i>Potamotrygon motoro</i>	Pr – Pi	Paraná - Brasil
KU288990	Potamotrygonidae	<i>Potamotrygon motoro</i>	Pr – Pi	Bxo Paraná - Brasil
JN989145	Potamotrygonidae	<i>Potamotrygon falknery</i>	Pr – Pi	Alto Paraná - Brasil
JN989157	Potamotrygonidae	<i>Potamotrygon motoro</i>	Pr – Pi	Alto Paraná - Brasil
JN989155	Potamotrygonidae	<i>Potamotrygon motoro</i>	Pr – Pi	Alto Paraná - Brasil
JN184083	Urolophidae	<i>Urobatis halleri</i>		*
KF899500	Dasyatidae	<i>Himantura leoparda</i>		*
GU701491	Synbranchidae	<i>Synbranchus marmoratus</i>	Pr – Pi	Alto Paraná - Brasil
GU701492	Synbranchidae	<i>Synbranchus marmoratus</i>	Pr – Pi	Alto Paraná - Brasil
GU701493	Synbranchidae	<i>Synbranchus marmoratus</i>	Pr – Pi	Alto Paraná - Brasil
GU701494	Synbranchidae	<i>Synbranchus marmoratus</i>	Pr – Pi	Alto Paraná - Brasil
GU701496	Synbranchidae	<i>Synbranchus marmoratus</i>	Pr – Pi	Alto Paraná - Brasil
GU701497	Synbranchidae	<i>Synbranchus marmoratus</i>	Pr – Pi	Alto Paraná - Brasil
GL30062182	Synbranchidae	<i>Synbranchus</i>	Amazônia	Maranhão - Brasil
GL30062183	Synbranchidae	<i>Synbranchus</i>	Amazônia	Maranhão - Brasil
GL30062184	Synbranchidae	<i>Synbranchus</i>	Amazônia	Maranhão - Brasil
GL30062181	Synbranchidae	<i>Synbranchus</i>	Amazônia	Maranhão - Brasil
HM404979	Synbranchidae	<i>Synbranchus marmoratus</i>	Pr – Pi	Alto Paraná - Brasil
HM405240	Synbranchidae	<i>Synbranchus marmoratus</i>	Pr – Pi	Alto Paraná - Brasil
HM405241	Synbranchidae	<i>Synbranchus marmoratus</i>	Pr – Pi	Alto Paraná - Brasil
JX111854	Synbranchidae	<i>Synbranchus marmoratus</i>	Pr – Pi	Argentina
HM902742	Synbranchidae	<i>Synbranchus marmoratus</i>	Pr – Pi	Alto Paraná - Brasil
NC003192	Synbranchidae	<i>Monopterus albus</i>		*

Legenda: (*) Sequências utilizadas como grupo externo. Pr – Pi: Paraná – Paraguai.

Fonte: O Autor, 2016.

Após a obtenção de todas as sequências do banco de dados genéticos públicos, as sequências foram agrupadas por representantes de cada família em arquivos FASTA. No total, foram agrupados 10 representantes da família Potamotrygonidae com mais 2 espécies que serão utilizadas como grupo externo (*Urobatis halleri* e *Himantura leoparda*) na posterior análise filogenética. Do mesmo modo, para a família

Synbranchidae foram agrupadas 27 espécies sendo a espécie *Monopterus albus* a ser utilizada como grupo externo.

Finalmente, as sequências de cada grupo, foram alinhadas utilizando o método de alinhamento múltiplo, MUSCLE (*MU*ltiple *S*equences *C*omparison *b*y *L*og-*E*xpectation), implementado no *software* MEGA 6 (Tamura *et al.*, 2013). Posterior ao alinhamento, o resultado de cada grupo gerou um arquivo FASTA com as sequências nucleotídicas alinhadas prestes a seguinte análise.

2.2.8 Análise de distância genética entre sequências

Foi gerada uma matriz de distância genética entre pares de sequências para cada grupo de dados analisados correspondente as espécies alvo de estudo. Os valores divergentes inter e intra-específicos foram calculados utilizando o modelo de distância Kimura 2-parâmetros (K2P; Kimura,1980) empregando para esta análise o *software* MEGA 6 (Tamura *et al.*, 2013). O modelo utilizado contempla taxas de substituição de transições e transversões, assumindo a mesma frequência para os quatro nucleotídeos e taxas de substituição invariáveis entre os sítios (Tamura *et al.*, 2013). A variação entre os sítios foi modelada com uma distribuição gama (+G) de parâmetro de forma = 1. Em todas as análises foram incluídos as posições dos códons 1° + 2° + 3° e não sítios não codificantes. Todas as posições contendo lacunas e dados em falta foram eliminados.

2.2.9 Modelo de substituição de nucleotídeos

Apesar do papel relevante dos modelos de substituição de nucleotídeos em reconstruções de filogenia, a escolha entre diferentes modelos continua a ser um problema. Ao longo do tempo, vários métodos estatísticos para selecionar o modelo que melhor se ajusta aos dados a serem analisados têm sido propostas, mas o seu desempenho absoluto e relativo ainda não foi caracterizada (Posada & Crandall 2000).

Sabendo que cada modelo trabalha os dados de maneira específica, assumindo características do processo de evolução de um conjunto de dados a serem analisados, assim como a existência de uma convenção no uso de modelos específicos selecionados a priori por modelagem para análises de ML, este trabalho escolhe o modelo do GTR (*Generalised time-reversible*; Tavaré, 1986) por ser um modelo que abarca os demais modelos de substituição.

Desta forma, para cada um dos grupos, com suas respectivas sequências alinhadas, foi utilizado o modelo GTR (*Generalised time-reversible*; Tavaré, 1986) como modelo de substituição de nucleotídeos. Este modelo, GTR, contempla todos os seis tipos de substituições prováveis (transições e transversões) com taxas diferentes e assumindo frequências desiguais para os quatro nucleotídeos. A modelagem da heterogeneidade das taxas evolutivas foi realizada usando uma distribuição Gamma (+G) discreta com cinco categorias.

2.2.10 Análise filogenética

O método de reconstrução filogenética aplicado neste trabalho para as espécies foi o método probabilístico de Máxima Verossimilhança (ML, *Maximum Likelihood*) com ao auxílio do *software* MEGA 6 (Tamura *et al.*, 2013). O modelo de substituição de nucleotídeos implementado foi o GTR (*Generalised time-reversible*; Tavaré, 1986). Para o método avaliado, a filogenia foi testada utilizando o algoritmo de *bootstrap* (Felsenstein, 1985) com 1000 replicações. A modelagem da heterogeneidade das taxas evolutivas entre os sítios foi realizada usando uma distribuição Gamma (+G) discreta com cinco categorias. Espaços não informativos como *gap* e *missing data* foram tratados na opção padrão do programa de completa deleção e do mesmo modo, foram analisadas todas as posições do códon incluindo as regiões não codificantes.

3 RESULTADOS

3.1 Análise morfológica de *Potamotrygon motoro*

3.1.1 Sistemática

Potamotrygonidae Garman, 1913

Potamotrygon Garman, 1877

Potamotrygon motoro Müller y Henle, 1841

3.1.2 Sinonímia

Trygon mulleri Castelnau 1855,

Potamotrygon laticeps Garman 1913,

Potamotrygon circularis Garman 1913.

3.1.3 Diagnose Genérica

O gênero *Potamotrygon* diferencia-se dos outros gêneros da família por possuir uma coloração na região dorsal do disco, com elevado nível de policromatismo, cuja amplitude da variação pode incluir padrões de coloração com combinação de desenhos poligonais circulares, ovais e vermiculares coloridos (nas cores marrom escuro, branco, amarelo laranja sempre sobre fundo preto ou cinza); presença de uma ou três fileiras irregulares, alinhadas ou não, de espinhos dérmicos na superfície dorsal da cauda em sua porção proximal; presença de dentículos dérmicos com formato estrelado, concentrados no centro da região dorsal do disco.

3.1.4 Diagnose específica

Potamotrygon motoro possui seu padrão de coloração formado por anéis concêntricos de tamanhos variados distribuídos por todo o disco (Figura 13). Os anéis concêntricos em geral possuem três cores, coloração preta para o círculo mais externo, laranja para o círculo intermediário e amarela no centro. A coloração do corpo em geral é de marrom escuro. A cauda apresenta manchas pequenas de coloração escura distribuídas desde a base até o espinho caudal. O padrão de coloração dorsal de *Potamotrygon motoro* apresenta uma variabilidade cromática e diferenciação na distribuição dos anéis concêntricos ao longo do corpo quando capturadas em bacias diferentes (Figura 13).

Apresenta maior comprimento da cauda e coloração cinza mais escura na sua superfície ventral.

Figura 13 – Variabilidade cromática de *Potamotrygon motoro*



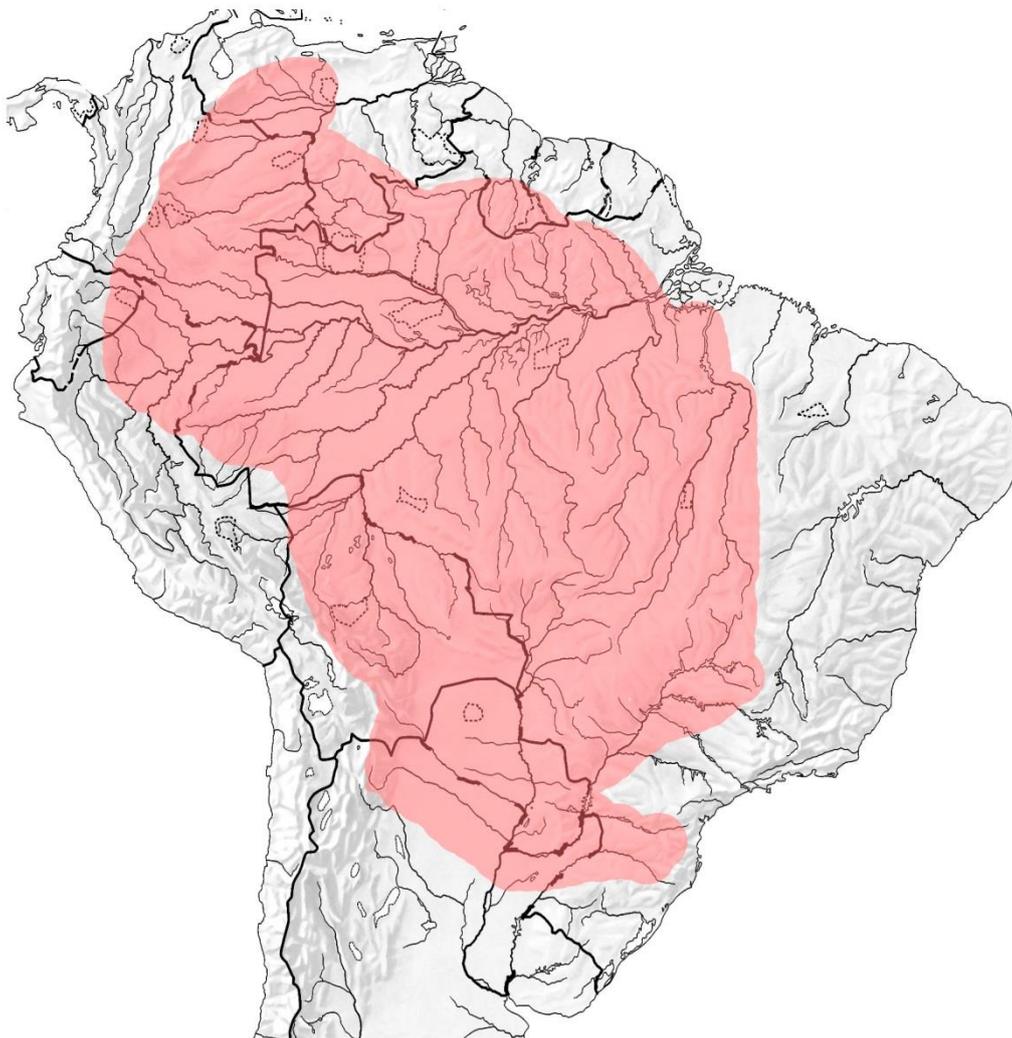
Legenda: Exemplos de *Potamotrygon motoro* apresentando variação no padrão de coloração dorsal. a – *P. motoro* FMNH108171; b – *P. motoro* FMNH106065; c – *P. motoro* FMNH84658; d – *P. motoro* UFPA1407789; e – *P. motoro* UFPA780; f – denticulo dérmico de *P. Motoro* MNHN-IC- 0000-2354. Escala 10mm.

Fonte: a – b – c : FMNH; d – e – f : o autor, 2016.

3.1.5 Distribuição

A distribuição do complexo *Potamotrygon motoro* vai desde a bacia De la Plata até o alto da bacia Amazônica distribuídas nos países de Paraguai, Argentina, Brasil, Bolívia, Perú, Ecuador e Colombia (Figura 14)

Figura 14 – Distribuição do complexo *Potamotrygon motoro*



Legenda: Mapa da América do Sul indicando a distribuição do complexo *Potamotrygon motoro* desde a bacia De la Plata até o alto da bacia Amazônica distribuídas nos países de Paraguai, Argentina, Brasil, Bolívia, Perú, Ecuador e Colombia.

Fonte: Informação sobre a distribuição Rosa 1985. Figura, o autor, 2016.

3.1.6 Descrição da morfologia externa

Potamotrygon motoro possui um disco levemente mais longo do que largo (largura aproximada de 9/10 do comprimento do disco), de formato oval e achatado dorsoventralmente. A sua margem anterior apresenta um ápice cartilaginoso pequeno bem reduzido. Na região anterior da superfície dorsal do disco observamos olhos pedunculados e de formato oval (comprimento horizontal aproximado do olho de 4/10 da distância interorbital). Posterior e contíguo ao olho situa-se o espiráculo (comprimento aproximando do espiráculo maior que 3/10 do interespiráculo), de formato romboide e de bordas lisas. As distâncias interorbital e interespiracular são muito próximas, sendo a distância interorbital 7/10 da distância interespiracular (Figura 15 –a). Dentículos dérmicos de tamanhos variados, apresentando uma cúspide maior e rodeado por pequenas cúspides menores são observados espalhados por toda a região dorsal do disco (Figura 13 – f).

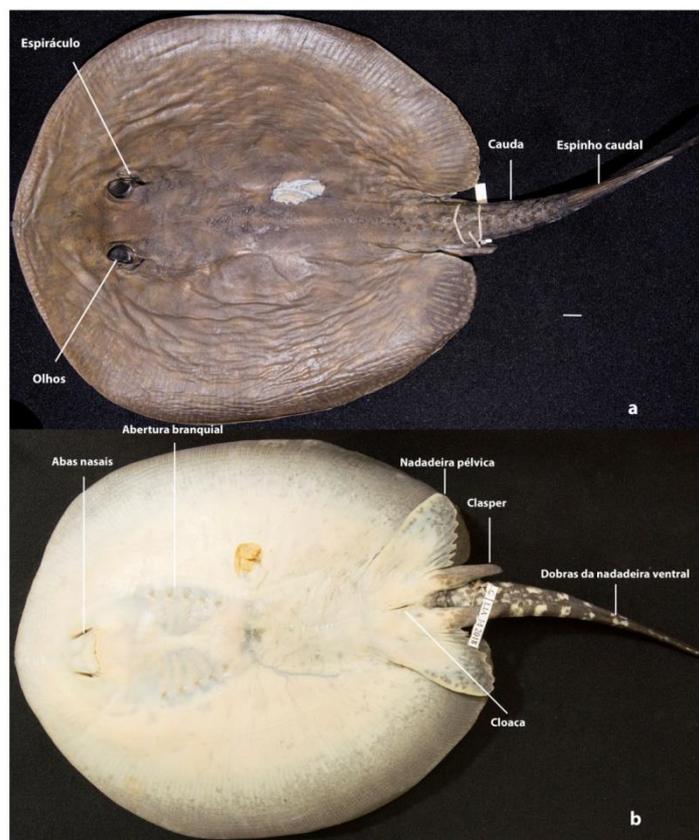
Na região anterior da superfície ventral observamos as abas nasais (distância das abas nasais 2/5 da Distância pré-nasal) (Figura 15 – b). As fossas nasais estão cobertas por um véu estendido anteroposteriormente até a borda anterior da boca. O véu apresenta na sua porção média um entalhe perpendicular o qual separa as duas fossas nasais, e na sua borda posterior, pequenas franjas podem ser observadas cobrindo a região mais anterior da boca. A boca, aproximadamente da mesma largura que as abas nasais, apresenta um lábio posterior com um pequeno entalhe na sua porção media. Posterior a boca observamos a caixa branquial (distância da primeira a quinta fenda branquial igual a 3/5 da distância interbranquial). Na porção mais posterior da superfície ventral do disco observamos as nadadeiras pélvicas (largura maior que o comprimento por uma diferença mínima) não cobertas totalmente pelo disco e com pequenas ondulações na sua borda posterior. As nadadeiras pélvicas apresentam um padrão de coloração cinza com as bordas anteriores esbranquiçadas. No meio das nadadeiras pélvicas situa-se a cloaca ou fenda anal. Nos exemplares machos observamos os mixopterígios nas margens internas das nadadeiras pélvicas. O padrão de coloração ventral é levemente esbranquiçado na sua porção anterior e vai escurecendo em um tom cinza em direção à porção posterior do disco.

A cauda é ligeiramente mais curta que o disco (comprimento da cauda 9/10 do comprimento do disco), sendo levemente achatada dorsoventralmente na sua porção

proximal. A cauda apresenta uma base larga, se afunila anteroposteriormente e termina pouco depois da porção distal do espinho caudal. Observa-se uma dobra caudal ventral e outra dorsal. A dobra caudal dorsal estende-se desde pouco depois da porção distal do espinho caudal até a extremidade distal da cauda; a dobra caudal ventral estende-se desde a região da base do espinho caudal até a extremidade distal da cauda (Figura 15).

Em vista dorsal, a região proximal da cauda, apresenta dentículos dérmicos em formato de espinhos atrofiados, distribuídos aleatoriamente desde o pedúnculo caudal até a região da base do espinho caudal. O espinho caudal (largura do comprimento do espinho caudal) pode ser único ou múltiplo em alguns exemplares. O padrão de coloração dorsal da cauda, na sua porção anterior, é semelhante á coloração do disco, já a porção distal da cauda, aproximadamente desde a base do espinho caudal, apresenta uma coloração mais escura sendo, a mesma preta com pequenas manchas marrom escuro (Figura15).

Figura 15 – Morfologia externa de *Potamotrygon motoro*



Legenda: Morfologia externa de *Potamotrygon motoro* LIA2018 (Rio Xingu). a) Vista dorsal – b) vista ventral. Escala 10mm.

Fonte: O Autor, 2016.

3.1.7 Descrição da anatomia interna

3.1.7.1 Neurocrânio

O formato do neurocrânio de *Potamotrygon motoro* é de um cone alongado, mais longo do que largo, onde a maior largura está representada na sua região anterior pelas fossas nasais. A estrutura inteiriça e achatada dorsoventralmente contém os órgãos auditivos, visuais e olfatórios (Figura 16).

Na porção mais anterior do neurocrânio situam-se as cápsulas nasais (cn) contendo o órgão olfatório. As mesmas são ovaladas, mais largas do que longas, orientadas ventrolateralmente e constituídas por paredes finas. As cápsulas nasais estão separadas por um septo nasal (se) interno delgado (Figura 16). A parede anterolateral está em contato direto com a porção distal da região interna do propterígio e a parede posterolateral possui uma faceta articular para articulação com a cartilagem antorbital.

Exemplares de *Potamotrygon motoro*, pertencentes à bacia da Amazônia (LIA2018, PNT521, FMNH94503, FMNH106065), apresentam as capsulas nasais, orientadas levemente em sentido posterolateral. Por outro lado, exemplares da bacia do Paraná – Paraguai (PNT519, PNT520, FMNH 84658, FMNH 108171) apresentam a disposição em linha reta das cápsulas nasais (Figura 16).

A cartilagem antorbital (cao), é semelhante ao formato de um cone, cuja porção anterior é mais comprida do que a posterior. A margem lateral externa da estrutura laminar articula-se a porção anterior do propterígio e a margem lateral interna está voltada para o neurocrânio. A porção mais anterior da cartilagem antorbital, articula-se com a superfície pósterolateral do neurocrânio por meio de uma faceta articular oval (mais longo do que largo).

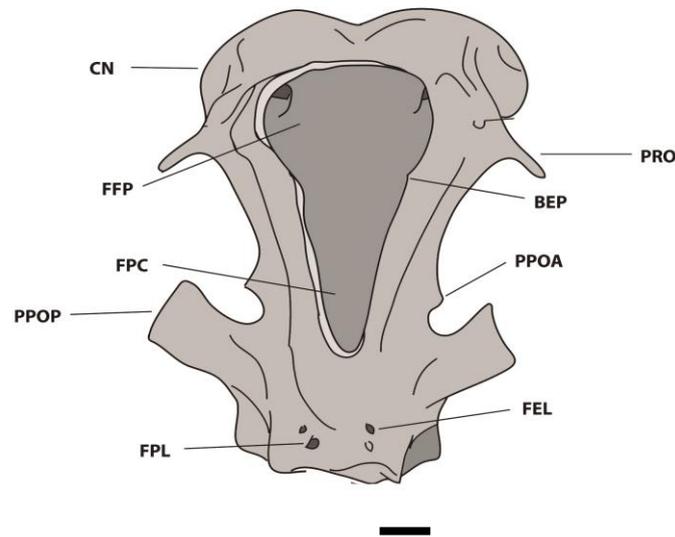
O Processo pré-orbital (pro) está situado na superfície dorsal sobre a região posterior das cápsulas nasais. Esta projeção lateral orientada anterolateralmente, sustenta a caixa orbital ao longo da sua face posterior. A estrutura é afunilada na sua extremidade distal e larga na sua porção proximal. Anterior à base deste processo observamos o forame anterior para o canal pré-orbital (facp). Próximo desse forame anterior e da porção medial do processo orbital encontra-se o forame posterior para o canal pré-orbital (fpcp II). Estes forames presentes na superfície dorsal do neurocrânio atravessam anteroposteriormente o processo pré-orbital (Figura 16).

A crista supraorbital (cs) estende-se anteroposteriormente desde a base posterior do processo pré-orbital até a base do processo pós-orbital. O processo pós-orbital (ppo) é a projeção mais desenvolvida presente no neurocrânio. Segundo as descrições do Nishida (1990), este processo é dividido em duas porções, uma anterior triangular e menor e uma de formato laminar bem mais desenvolvida. Este processo bem desenvolvido possui o formato de uma lâmina retangular orientada anterolateralmente. A separação em duas porções deste processo é consequência da passagem do canal infraorbital da linha lateral (Nishida, 1990; Lovejoy, 1996). Neste trabalho, o pequeno processo triangular presente anteriormente ao processo pós-orbital posterior será denominado de processo pós-orbital anterior (ppoa). Nos exemplares de *Potamotrygon motoro* da Bacia da Amazônia, este processo situa-se próximo ao processo pós-orbital posterior. Nos exemplares de *Potamotrygon motoro* da Bacia do Paraná-Paraguai, este processo anterior é observado de maneira mais afastada anteriormente ao processo pós-orbital posterior (Figura 16)

Na superfície dorsal observamos a fontanela craniana (fc), semelhante ao formato de uma fechadura. A fontanela é mais larga na sua porção anterior e vai se afunilando posteriormente. Esta abertura na cavidade craniana é dividida em duas regiões por meio da barra epifisial (bep). A barra epifisial dos exemplares da Bacia do Paraná-Paraguai (PNT519, PNT520) apresenta um formato triangular de ponta simple (Figura 17). Nos exemplares da Bacia da Amazônia (LIA2018, PNT521) a barra epifisial apresenta um formato triangular de ponta dupla, uma anterior e outra posterior e menor. Assim, esta constrição situada na porção mais anterior desta fontanela, delimita a fontanela Pré-cerebral (fpc) da fontanela frontoparietal (ffp). A fontanela pré-cerebral é ovalada, enquanto a fontanela frontoparietal é mais longa e estreita, aproximadamente duas vezes mais comprida que a anterior em todos os exemplares examinados. Os exemplares da Bacia Amazônica (LIA2018, PNT521) apresentam uma fontanela craniana muito mais estreita. Tanto a fontanela pré-cerebral como a frontoparietal, são mais estreitas em relação às fontanelas observadas nos exemplares da Bacias Paraná-Paraguai (PNT519, PNT520) (Figura 17).

Na região mais posterior da superfície dorsal do neurocrânio, posterior ao processo pós-orbital, observamos a fossa parietal (fp). A fossa alberga os pares de forame endolinfático (fel) e forame perilinfático (fpl), dorsalmente à região ótica (Figura 16).

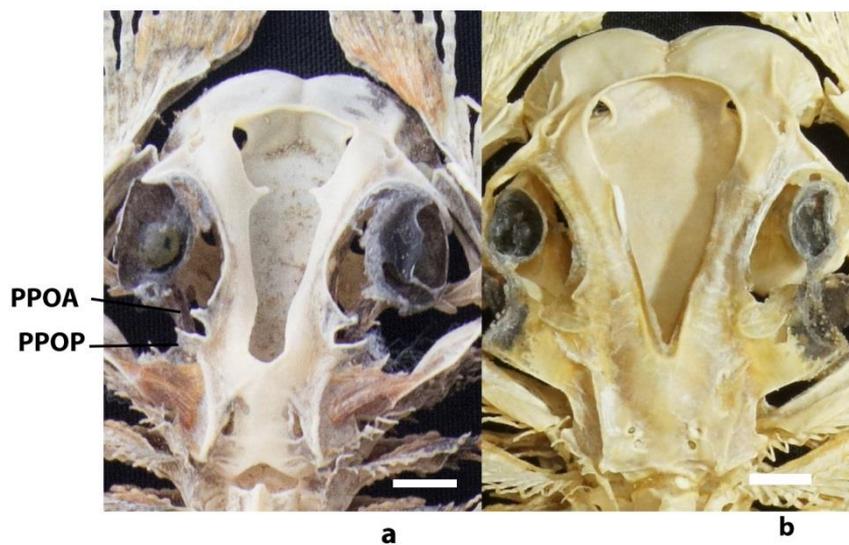
Figura 16 - Vista dorsal do neurocrânio de *Potamotrygon motoro* PNT520



Legenda: Superfície dorsal do neurocrânio de *Potamotrygon motoro* PNT520. Cápsula nasal – CN; Fontanela frontoparietal – FFP; Processo pré-orbital – PRO; Barra epifisial – BEP; processo supra-orbital – OS; Fontanela frontoparietal – FFP; Fontanela perilinfático – FPL; Fontanela endolinfático – FEL; processo pós-orbital – PPO; Crista supra-orbital; Forâmen anterior canal pré-orbital – FACP; Forâmen posterior canal pré-orbital – FPCP II. Escala 10 mm.

Fonte: O Autor, 2016.

Figura 17 – Neurocrânios de *P motoro* LIA2018 e *P motoro* PNT520



Legenda: Vista dorsal dos neurocrânios de a) *P motoro* LIA2018 e b) *P motoro* PNT520. Escala 10mm.
Fonte: O Autor, 2016.

A região orbital é delimitada anteriormente pela parede posterior das fossas nasais, dorsalmente pela crista supraorbital, posteriormente pela região ótica e ventralmente pelo assoalho do neurocrânio. Esta região é aproximadamente a metade do comprimento do neurocrânio, além de ser a região que alberga o maior número de forames ao longo da superfície lateral do neurocrânio.

O primeiro forame observado é o forame anterior para veia cerebral (favc) (Figura 18). O mesmo está situado na porção mais anterior da superfície lateral do neurocrânio.

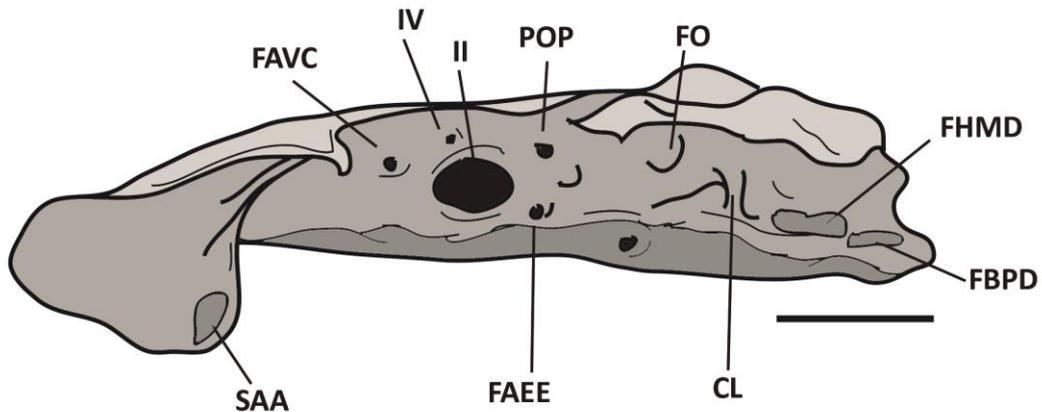
O forame seguinte é o forame para o nervo óptico (II). Este encontra-se situado posteriormente ao forame anterior para veia cerebral e possui a maior largura entre os presentes nesta região. Os exemplares da Bacia Amazônica (LIA2018, PNT521) apresentam o forame para o nervo óptico mais largo do que àqueles exemplares da Bacia Paraná-Paraguai (PNT519, PNT520). Dorsalmente ao forame para o nervo óptico, encontra-se o forame para o nervo troclear (IV) representado por dois orifícios muito próximos um do outro e de larguras semelhantes e bem reduzidas em comparação com o forame para o nervo óptico. Posteriormente ao forame para o nervo óptico localiza-se o pedículo óptico (pop) e ventralmente ao pedículo óptico situa-se o forame para artéria espiracular eferente (faee). Posteriormente a pedículo óptico encontra-se o forame para veia interorbital (fvi) (Figura 18).

Na porção mais posterior da região orbital, mais precisamente na porção ventral do processo pós-orbital, encontra-se a fissura orbital (fo). Em todos os exemplares examinados, essa fissura corresponde ao segundo forame de maior dimensão entre os presentes na região orbital.

Na porção ventral da fissura orbital observa-se o forame para o ramo hiomandibular do nervo facial (fvIIhm). Dorsalmente a este forame há a comissura lateral (cl) (Figura 18). A estrutura possui o formato de uma ponte orientada dorsoventralmente e está situada próxima a região anterior da região ótica. A estrutura é semelhante entre todos os exemplares examinados a exceção do exemplar LIA2018, no qual a ponte tem uma conexão com a parede ótica no meio da estrutura.

A porção posterior do neurocrânio é constituída pelas cápsulas óticas. Na região ventrolateral desta porção observa-se fossetas articulares as quais servem para articulação do neurocrânio com a mandíbula e o arco hioide. A fosseta hiomandibular (fhmd) e a fosseta da barra pseudo-hioide dorsal (fbpd) possuem formato oval e estão dispostas horizontalmente na superfície ventrolateral da região ótica (Figura 18).

Figura 18 – Superfície lateral de *P motoro* PNT520



Legenda: Superfície lateral de *Potamotrygon motoro* PNT520 Forâmen anterior da veia cerebral – FAVC; Forâmen do nervo óptico – II; Pedículo óptico – POP; Forâmen da artéria espiracular eferente – FAEE; Fissura orbital – FO; Comissura lateral – CL; Faceta hiomandibular – FHMD; Faceta da barra pseudoioide dorsal – FBPD; Superfície articular do neurocrânio com a cartilagem antorbital – SAA; Forâmen do nervo troclear - IV. Escala 10 mm.

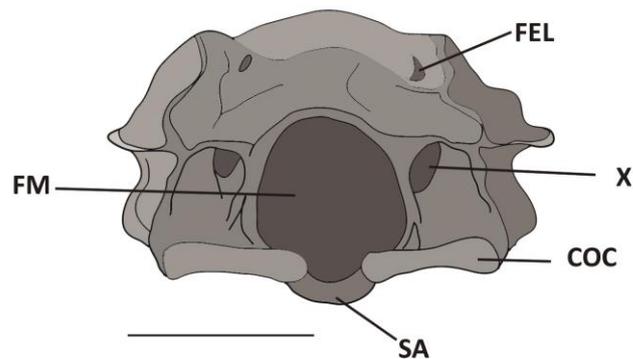
Fonte: O Autor, 2016.

Dorsalmente à fosseta da barra pseudo-hioide dorsal observamos o forame para o nervo glossofaríngeo (IX).

A porção mais posterior do neurocrânio está representada pela região occipital. Nesta região o forame magno (fm) situa-se exatamente no centro da superfície posterior desta região. Nas laterais do mesmo está situado o forame para o nervo vago (X) de diâmetro bem mais reduzido.

Exatamente no centro e ventralmente ao forame magno encontra-se a superfície articular (sa). Este entalhe na parede pósteroventral do neurocrânio serve de articulação para o processo odontóide da sinarcual. Nas laterais da superfície articular estão presentes côndilos occipitais (coc) que reforçam esta articulação entre o neurocrânio e a região mais anterior da sinarcual (Figura 19).

Figura 19 – Vista posterior do neurocrânio de *P motoro* PNT520

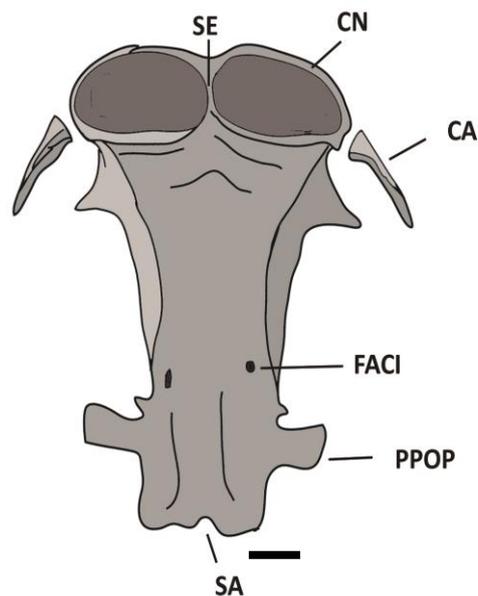


Legenda: Superfície posterior do neurocrânio de *P motoro* PNT520. Forâmen magno – FM; Superfície articular – SA; Côndilos occipitais – COC; Forâmen do nervo vago – X; Forâmen endolinfático – FEL. Escala 10 mm.

Fonte: O Autor, 2016.

superfície ventral do neurocrânio é plana e larga na sua porção anterior, delgada e convexa longitudinalmente na sua porção posterior. O assoalho apresenta o forame para carótida interna (faci) localizada ventralmente ao forâmen para a veia interorbital (Figura 20).

Figura 20 - Vista ventral do neurocrânio de *P motoro* PNT520



Legenda: Superfície ventral do neurocrânio de *P motoro* PNT520. Forâmen da artéria carótida interna – FACI; Superfície articular – SA; Septo nasal – SE; Cápsula nasal – CN; Cartilagem antorbital – CA; Processo pos-orbital posterior – PPOP. Escala 10 mm.

Fonte: O Autor, 2016.

3.1.7.2 Arco mandibular e hiomandibular.

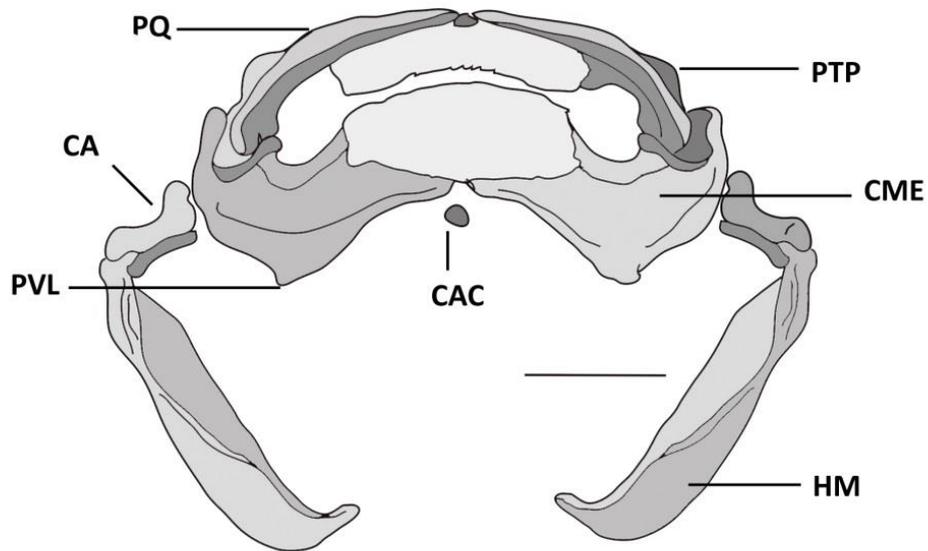
O Arco mandibular é composto pelo Palatoquadrado (pq), cartilagem de Meckel (cm), cartilagem angular (ca) e hiomandibular (hm) (Figura 21).

O arco mandibular propriamente dito é formado pelo palatoquadrado e a cartilagem de Meckel. Estas estruturas são constituídas por cartilagens pares espelhadas. Tanto o palatoquadrado como a cartilagem de Meckel são semelhantes a barras retangulares, achatadas dorsoventralmente e arqueadas ventralmente.

O palatoquadrado é semelhante a uma barra delgada situada anteriormente à cartilagem de Meckel. A estrutura par não está ligada diretamente na sua região sinfisiana, mas apresenta fortes ligamentos cartilagosos e um ligamento calcificado representado por uma pequena estrutura triangular que mantém a integridade da estrutura. Este ligamento calcificado de formato triangular está presente em todos os esqueletos analisados de *Potamotrygon motoro*. Nas suas extremidades externas apresentam cêndilos que servem para articulação com a cartilagem de Meckel. Anterior a estes cêndilos, observamos uma projeção ventral e de formato triangular bem desenvolvida orientada ventralmente.

A cartilagem de Meckel, assim como a estrutura citada acima, é semelhante a uma barra. A cartilagem de Meckel é bem mais robusta que o palatoquadrado e apresenta uma curvatura bem definida anteriormente. Na sua região sinfisiana apresenta fortes ligamentos cartilagosos para garantir a ligação entre elas. Em alguns exemplares da Bacia do Paraná – Paraguai (PNT519) e do Rio Caiapó (PNT521) é observado uma pequena cartilagem triangular calcificada situada inferiormente à região sinfisiana das cartilagens de Meckel. A margem anterior da extremidade externa apresenta uma fosseta côncava na qual o palatoquadrado articula-se e na sua margem posterior apresenta a fosseta para a cartilagem angular. O processo ventrolateral é uma projeção posicionada aproximadamente na metade da estrutura, a mesma é direcionada ventralmente (Fig 21).

Figura 21 – Arco mandibular e hiomandibular de *P motoro* PNT520

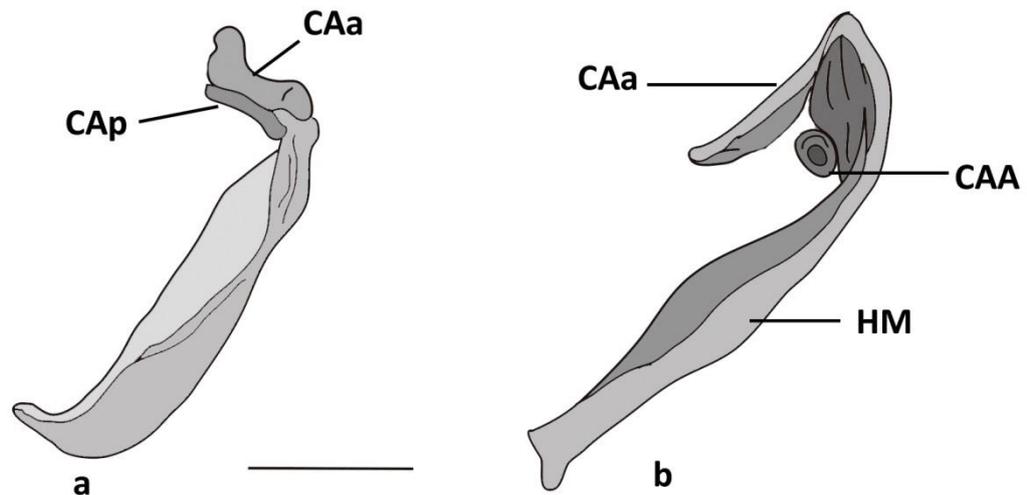


Legenda: Superfície dorsal do arco mandibular de *P motoro* PNT520. Palatoquadrado – PQ; Processo ventrolateral – PVL; Processo triangular posterior – PTP; Cartilagem de Meckel – CME; Cartilagem angular – CA; Cartilagem hiomandibular – HM; Cartilagem acessória - CAC. Escala 10 mm.
Fonte: O Autor, 2016.

A cartilagem angular é uma estrutura par constituída por pequenas barras, uma anterior e outra posterior, de tamanhos reduzidos e achatados. Nos exemplares pertencentes à Bacia Paraná-Paraguai (PNT519, PNT520) a cartilagem angular anterior é aproximadamente do mesmo tamanho que a posterior e as mesmas articulam-se na face interna da parede pósterolateral da cartilagem de Meckel e com a cartilagem hiomandibular nas suas extremidades distais (Fig 22).

Por outro lado, exemplares da Bacia Amazônica apresentam uma cartilagem angular anterior maior que a posterior. Desta forma, só a cartilagem angular anterior se articula na face interna da parede pósterolateral da cartilagem de Meckel, e com a cartilagem hiomandibular na sua extremidade distal. Já a cartilagem angular anterior articula-se unicamente na sua extremidade distal com a cartilagem hiomandibular. *P motoro* LIA2018 apresenta unicamente uma estrutura única para sua cartilagem angular. (Figura 22).

Figura 22 – Comparação de cartilagens angulares



Legenda: Vista dorsal das cartilagens Dorsais de a) *P motoro* PNT520 e, b) *P motoro* LIA2018. Cartilagem angular anterior – CAa; Cartilagem angular posterior – CAp; Cartilagem angular acessoria – CAA. Escala 10mm.

Fonte: O Autor, 2016.

A cartilagem hiomandibular é semelhante a uma barra retangular robusta e achatada dorsoventralmente. A estrutura está direcionada anterolateralmente e a sua extremidade distal é mais larga do que sua extremidade proximal. Articula-se na sua porção distal com a cartilagem angular e na sua porção proximal com a fosseta hiomandibular da região ótica do neurocrânio (Figura 21).

3.1.7.3 Arco hioide

O arco hioide é formado pelas cartilagens pares da barra pseudo-hioide (bp) (ventral e dorsal), um par de 1ra hipobranquial (hyp) e uma cartilagem basihial (bh) (Figura 23).

As cartilagens pares da barra pseudo-hioide ventral e dorsal são semelhantes estruturalmente ao ceratobranquial e epibrânquial (estruturas do arco branquial descritos a seguir) respectivamente.

A cartilagem da barra pseudo-hioide dorsal é uma barra delgada e plana direcionada em sentido anterolateral. Está situada posterior a cartilagem hiomandibular e ao longo de sua

estrutura inserem-se de dez a nove raios branquiais em todos os exemplares examinados. Na sua porção proximal articula-se na fosseta da barra pseudo-hioide dorsal da região ótica do neurocrânio e distalmente articula-se com a barra pseudoioide ventral.

A barra pseudo-hioide ventral é semelhante ao seu par dorsal. Sustenta nove raios branquiais ventrais ao longo da sua estrutura em todos os exemplares examinados. A margem posterior da extremidade proximal da barra pseudo-hioide ventral é fusionada ao primeiro ceratobranquial e na margem anterior articula-se com o primeiro hipobranquial. Na sua porção distal articula-se com a porção distal da barra pseudoioide dorsal.

O primeiro hipobranquial consiste em uma cartilagem par posteroanterior,—situada entre o arco mandibular e o arco branquial. As cartilagens são barras delgadas e achatadas dorsoventralmente, com a forma de um martelo na quais a extremidade anterior é mais larga que a posterior. Posteriormente estão articulados a porção proximal da barra pseudo-hioide ventral e anteriormente a cartilagem basihial.

A cartilagem basihial é constituída por duas pequenas placas achatadas dorsoventralmente, dispostas uma do lado da outra e articuladas na região anterior da 1ª hypobranquial (Figura 23).

3.1.7.4 Arco Branquial

O arco branquial é constituído pelas cartilagens basibranquial (bb), ceratobranquial (cb), epibranquial (eb) e faringobranquial (fb) (Figura 23).

A cartilagem basibranquial é uma placa achatada dorsoventralmente, alongada anteroposteriormente e pontiaguda na sua porção anterior e posterior. A superfície ventral apresenta várias rugosidades e na sua região mais anterior observa-se dois pequenos orifícios circulares dispostos um atrás do outro como no caso do exemplar LIA2018 e PNT520. Por outro lado, o exemplar PNT521 apresenta um orifício de formato oval do tamanho de um terço da cartilagem basibranquial (Figura 24) A superfície dorsal é lisa e as bordas laterais da estrutura articulam-se com a porção proximal da cartilagem ceratobranquial.

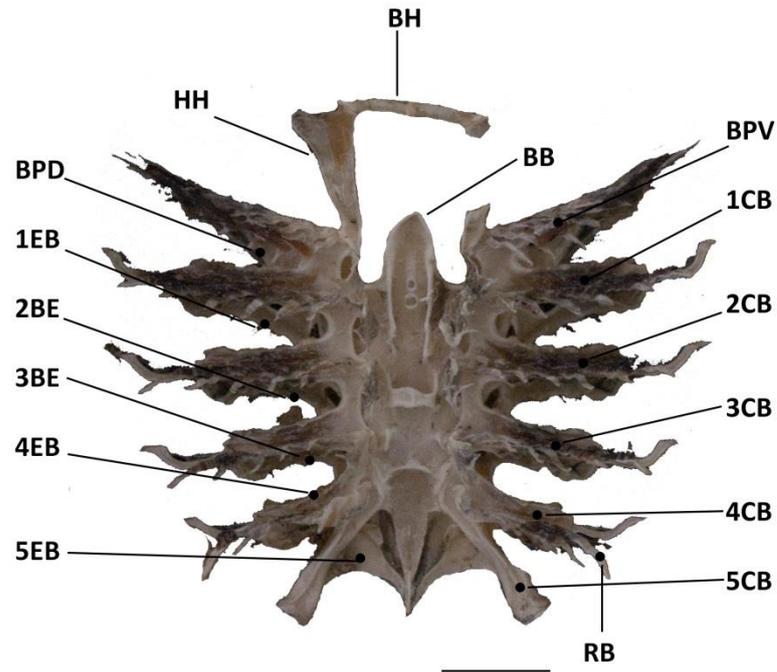
A cartilagem ceratobranquial possui um formato laminar alongado e achatado dorsoventralmente. A mesma é constituída por cinco pares de cartilagens ventrais dispostas de cada lado. Em todos os exemplares examinados, o primeiro ceratobranquial é fusionado com a cartilagem pseudo-hioide, assim como os primeiros quatro ceratobranquiais são fusionados

entre eles nas suas extremidades proximais. Cada estrutura é orientada lateralmente e suporta ao longo do seu eixo os raios branquiais ventrais a exceção do quinto ceratobranquial que não suporta nenhum raio branquial. O número de raios suportados por cada ceratobranquial diminui posteriormente devido a redução gradual do tamanho das cartilagens ceratobranquiais quando mais próximas da cintura peitoral. A cartilagem ceratobranquial articula-se na sua região proximal com a margem lateral da barra basibranquial e na porção distal com a porção distal dos respectivos epibranquiais, com exceção do quinto ceratobranquial que se articula com a parede interna do coracóide e apresenta comprimento e robustez maior que os outros.

Do mesmo modo, a cartilagem epibranquial é formada por cinco pares de barras dispostas de cada lado. Possui um formato laminar achatado dorsoventralmente e sustenta os raios branquiais dorsais, com exceção do quinta epibranquial que não sustenta nenhum raio. Articula-se na sua porção proximal à cartilagem faringobranquial e na sua porção distal à cartilagem ceratobranquial correspondente, com exceção do quinto epibranquial que se articula à parede interna do coracóide.

A cartilagem faringobranquial consiste em cinco pares de pequenas barras delgadas e direcionadas anterolateralmente em todos os espécimes analisados. A extremidade proximal da primeira, segunda e terceira cartilagem faringobranquial articula-se com a parede ventrolateral do sinarcual, e na sua extremidade distal com a extremidade proximal da cartilagem epibranquial. O quarto e quinto faringobranquial são fusionados entre si formando uma lâmina triangular. Esta lâmina triangular ao mesmo tempo encontra-se fusionada a extremidade proximal do quinto epibranquial e articulada na face ventral da primeira sinarcual. (Figura 23).

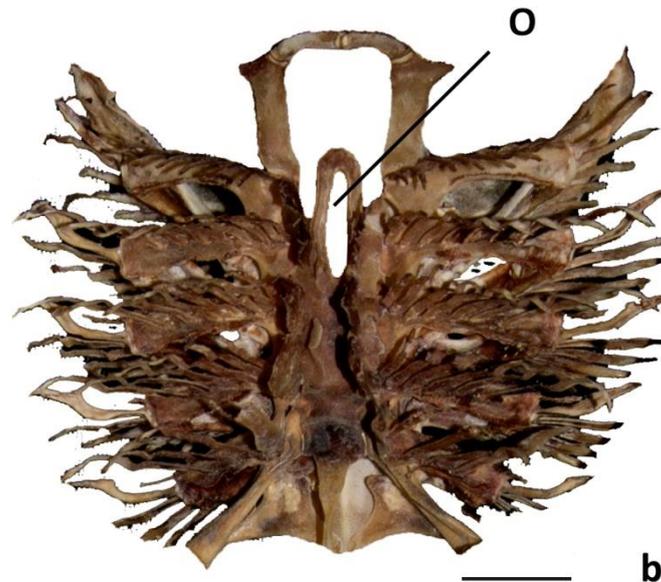
Figura 23 – Arco ioide e branquial de *P motoro* LIA2018 (Xingu)



Legenda: Superfície ventra do arco branquial e arco hióide de *P motoro* LIA2018. Cartilagem basibranquial – BB; Barra pseudohióide ventral – BPV; Barra pseudohióide dorsal – BPD; Cartilagem hipohial – HH; Raios branquiais – RB; Cartilagem epibrâncial – EB; Cartilagem ceratobrâncial – CB; Cartilagem faringobrâncial – FB; Cartilagem basihial - BH. Escala 10 mm.

Fonte: O Autor, 2016.

Figura 24 – Arco ioide e branquial de *P motoro* PNT521 (Tocantins)



Legenda: Superfície ventral do arco branquial indicando o orifício de formato oval na região anterior do basibrânquio. Escala 10mm

Fonte: O Autor, 2016.

3.1.7.5 Cintura peitoral.

A cintura peitoral é formada pela fusão da cartilagem coracóidea (co), processo escapular (pre) e supraescapular (spe) disposto no meio do disco, posterior ao arco branquial.

A cartilagem coracóidea é uma estrutura delgada, tubular cuja superfície dorsal é convexa e a ventral é plana. A mesma é mais larga nas extremidades que na porção média. A cartilagem está disposta transversalmente à região mais posterior do sinarcual anterior. As extremidades da cartilagem coracóidea sustentam o processo escapular (Figura 25).

O processo escapular sustenta na sua margem lateral externa as placas basais das nadadeiras peitorais. A cartilagem é uma projeção dorsal com fenestras, onde se inserem músculos e nervos, assim como cêndilos articulares ao longo da sua margem lateral externa. Os cêndilos estão dispostos horizontalmente um atrás do outro ao longo da linha media da projeção (Figura 25). O primeiro cêndilo observado é o procêndilo (pc), ponto onde o propterígio da nadadeira peitoral articula-se. Este cêndilo possui duas regiões; uma anterior, direcionada verticalmente e pequena com uma borda arredondada convexa. Concomitante à anterior, a segunda região é côncava e alongada anteroposteriormente, tendo uma superfície duas vezes mais extensa que a anterior.

Dorsalmente à segunda região do procêndilo observa-se a fenestra anterodorsal (fad), e inferior à mesma região do procêndilo, a fenestra anteroventral (fav), ambas fenestras possuem um aspecto triangular e aproximadamente a mesma largura em todos os exemplares analisados (Figura 25).

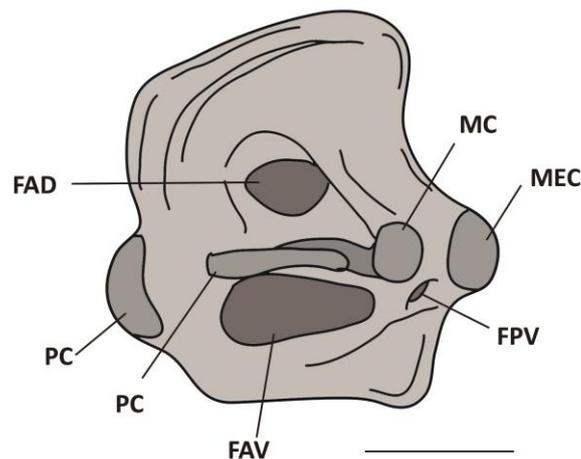
O segundo cêndilo, posterior às regiões do procêndilo, é o mesocêndilo (mc). A estrutura possui o aspecto de uma pequena protuberância oval e convexa disposta horizontalmente em todos os exemplares de *P. motoro* analisados. No mesocêndilo articula-se o mesopterígio da nadadeira peitoral. Dorsal ao mesocêndilo observa-se a fenestra posterodorsal (fpd) de diâmetro bastante reduzido, e inferior ao mesmo cêndilo a fenestra posteroventral (fpv) de diâmetro aproximadamente cinco vezes maior que a fenestra anteriormente citada.

O último cêndilo situado na margem lateral do processo escapular é o metacêndilo (mec), ponto onde o metapterígio articula-se. Este cêndilo convexo e ovalado está disposto verticalmente em relação ao mesocêndilo.

Nas paredes anteriores do processo escapular, observamos duas facetas articulares em sobreposição, correspondendo à quinta cartilagem epibranquial e a quinta cartilagem ceratobranquial, respectivamente.

O processo supraescapular é uma projeção situada na face dorsal do processo escapular e direcionada internamente, articulando-se às margens laterais da porção mais posterior da cartilagem sinarcual (Figura 26). Este processo possui um formato triangular onde as pontas que articulam-se a cada lado do sinarcual, apresentam uma articulação complexa de encaixe e côneilo na face lateral da região posterior do sinarcual.

Figura 25 – Cintura peitoral de *P motoro* PNT520



Legenda: Superfície lateral do processo escapular de *P motoro* PNT520. Fenestra anterodorsal – FAD; Fenestra anteroventral – FAV; Fenestra posteroventral – FPV; Procôndilo – PC; Mesocôndilo – MC; Metacôndilo – MEC. Escala 10 mm.

Fonte: O Autor, 2016.

3.1.7.6 Nadadeira peitoral

As placas basais são denominadas propterígio (prop), mesopterígio (mes) e metapterígio (met) as quais sustentam os raios (ra) (Figura 26).

O propterígio é uma cartilagem semelhante a uma barra achatada nas laterais e projetada anteriormente até a parede anterior das fossas nasais. A estrutura apresenta uma porção mais anterior à qual é fragmentada numa porção mais reduzida sustentando os

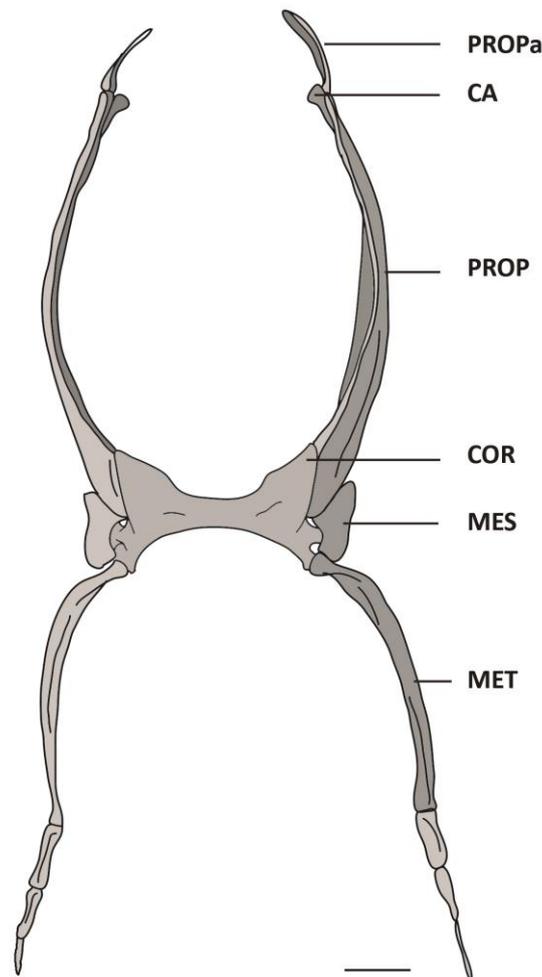
primeiros raios peitorais. Esta primeira placa basal apresenta uma leve curvatura interna ao longo da sua estrutura e sulcos para inserção de músculos e nervos na sua margem lateral externa. Ventral a este sulco, raios peitorais se articulam ao longo de todo o propterígio. Estes raios se projetam lateralmente para formar a metade da nadadeira peitoral. Na margem lateral interna da porção mais anterior do propterígio, articula-se a cartilagem antorbital. Na margem lateral interna da região mais posterior do propterígio, articula-se no procôndilo do processo escapular da cintura pélvica (Figura 26).

O mesopterígio é a placa basal de menor tamanho formado por uma estrutura única achatada dorsoventralmente possui um formato retangular situado no meio do propterígio e o metapterígio. Na sua margem anterior apoia-se a região mais posterior do propterígio e sua margem posterior a uma pequena porção da região mais anterior do metapterígio. Na sua borda lateral externa sustenta os raios peitorais e sua margem lateral interna articula-se com mesocôndilo do processo escapular da cintura peitoral.

O metapterígio possui formato semelhante a uma barra delgada e achatada nas laterais e projetada posteriormente. Possui uma leve curvatura em direção à coluna vertebral ao longo do seu comprimento e apresenta sulcos na sua margem lateral externa para inserção de músculos e nervos. Na sua extremidade proximal, a estrutura articula-se ao metacôndilo do processo escapular da cintura peitoral. A sua margem lateral externa sustenta raios peitorais ao longo da sua extensão. A estrutura apresenta uma extremidade distal afunilada e fragmentada até chegar ao formato de um raio peitoral (Figura 26).

As placas basais e a cintura escapular suportam os raios da nadadeira peitoral. Os raios peitorais apresentam uma segmentação ao longo do seu comprimento. Os mesmos são delgados, alongados e achatados dorsoventralmente que se afunilam e bifurcam na sua extremidade distal (figura 26).

Figura 26 – Placas basais de *P motoro* LIA2018



Legenda: Superfície ventral das placas basais de *P motoro* LIA2018. Propterigio anterior – PROPa; Cartilagem antorbital – CA; Propterigio – PROP; Cartilagem coracoidea – COR; Mesopterigio – MÊS; Metapterigio – MET. Escala 10 mm.

Fonte: O Autor, 2016.

3.1.7.7 Sinarcual

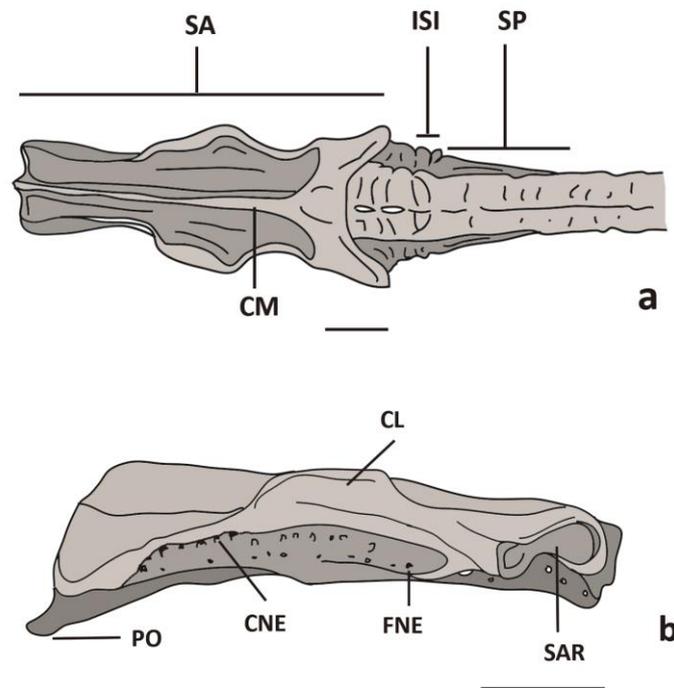
O sinarcual, disposto imediatamente na região posterior do neurocrânio, é constituído por um complexo cartilaginoso em decorrência da fusão de múltiplas vertebra anteriores (Garman, 1913; Nishida, 1990). A estrutura é formada por uma cartilagem sinarcual anterior (sa), cartilagem intersinarcual (isi) e uma cartilagem sinarcual posterior (sp) (Compagno, 1977; Nishida, 1990) (Figura 27 - a).

A sinarcual anterior é uma estrutura tubular alongada posteriormente. Anteriormente a estrutura é articulada ao neurocrânio por meio do processo odontóide (po) e dois côndilos occipitais. O processo odontóide é uma projeção pequena e projetada anteriormente desde a região anteroventral da sinarcual e serve para articulação na superfície articular do neurocrânio. A face dorsal desta região de articulação entre o neurocrânio e a sinarcual anterior, não apresenta uma articulação direta entre as estruturas, formando desta forma um espaço entre ambos, preenchido por ligamentos. Nesta região, no meio destes ligamentos, somente os exemplares de *Potamotrygon motoro* da Bacia Paraná-Paraguai (PNT519 e PNT520) apresentam uma pequena cartilagem ímpar denominada arcúlia dorsal segundo Brito *et. al.*, (2013) (Figura 28). Na sua porção mais posterior apresenta a fosseta de articulação com o processo supraescapular da cintura peitoral. A sinarcual apresenta várias cristas projetadas ao longo da estrutura. Uma das principais cristas observadas é a crista medial (cm), a mesma é projetada anteroposteriormente diminuindo de altura no mesmo sentido (Figura 27 - b). Cristas laterais (crl) de menor comprimento, situados na região mediana da sinarcual, são projetados dorsalmente das paredes laterodorsais. Ao longo da parede lateral da sinarcual, observa-se uma quantidade de forames situados em fileiras que correspondem aos forames para os nervos espinhais (fne) de onde emergem e se distribuem através dos canais para nervo espinhal (cne) (Figura 27 - b).

A cartilagem intersinarcual é formada pela fusão de duas vértebras da coluna vertebral em todos os exemplares analisados, esta fusão vertebral separa a primeira a sinarcual anterior da sinarcual posterior (Figura 27).

A sinarcual posterior é a fusão das faces ventrolaterais das vértebras situadas logo em seguida da intersinarcual (Figura 27 - a). Esta fusão forma uma crista ventrolateral direcionada e diminuindo de largura posteriormente. Os exemplares de *Potamotrygon motoro* PNT519, PNT520 (Bacia Paraná – Paraguai) e PNT521 (Rio Caiapó) apresentam doze vértebras fusionadas lateralmente, por outro lado o exemplar LIA2018 (Rio Xingu) apresenta só oito vértebras fusionadas.

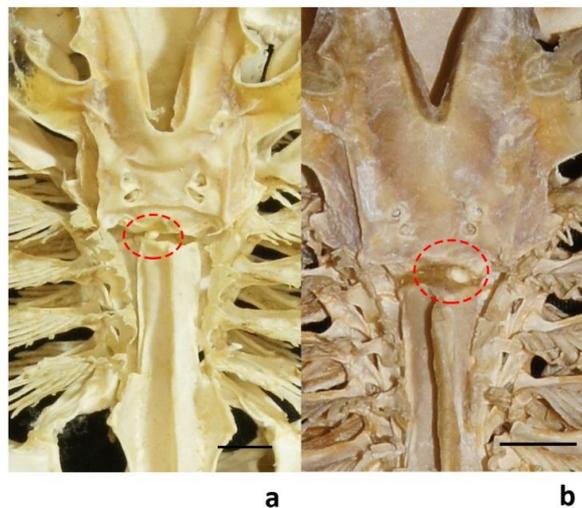
Figura 27 – Sinarcual de *P motoro* LIA2018 (Xingu)



Legenda: a) Superfície dorsal da sinarcual de *P motoro* LIA2018. (b); superfície lateral da sinarcual de *P motoro* LIA2018. Sinarcual anterior – SA; Intersinarcual – ISI; Sinarcual posterior – SP; Superfície articular entre a sinarcual e o processo supraescapular da cintura peitoral - SA; Canais do nervo espinhal – CNE; Forâm do nervo espinhal – FNE; Crista média – CM; Processo odontoide – PO; Crista lateral – CL. Escala 10 mm.

Fonte: O Autor, 2016.

Figura 28 – Arcualia



Legenda: Indicação em vermelho da cartilagem arcualia dos espécimes *P motoro* (a) PNT519 e (b) PNT520 (Rio Paraguai). Escalas 10mm.

Fonte: O Autor, 2016.

3.1.7.8 Cintura pélvica

A cintura pélvica é constituída por uma única estrutura, a barra puboisquiática (bpi). A mesma apresenta várias projeções como o processo pré-pélvico (PPP), processo ilíaco (pi), processo pré-pélvico lateral (ppl), processo isquial (pis) e sustenta a nadadeira pélvica nas suas laterais. (Figura 29).

A barra puboisquiática possui o formato de uma barra comprimida dorsoventralmente similar a uma ferradura. A cartilagem apresenta vários processos e está disposta transversalmente à coluna vertebral, com as extremidades direcionadas posteriormente. A margem anterior da estrutura apresenta uma projeção anteromedial comprida e bem afilada denominada processo pré-pélvico (ppp) (Figura 29).

Na margem lateral externa da barra puboisquiática, projeta-se o processo pré-pélvico lateral (ppl), o mesmo é bem desenvolvido e orientado anterolateralmente. Posterior ao processo pré-pélvico lateral, já na extremidade da barra puboisquiática, projeta-se dorsalmente o processo ilíaco, o mesmo é uma estrutura laminar bem desenvolvida e direcionada dorsalmente. Na superfície lateral externa do processo ilíaco situa-se a fosseta faceta articular para o metapterígio pélvico. Ventralmente ao processo ilíaco projeta-se o processo isquial, de formato triangular e pontiagudo.

Em todos os exemplares de *Potamotrygon motoro* analisados, as três projeções estão presentes na extremidade da barra puboisquiática, tendo assim por tanto a mesma base de origem, mas direcionadas em sentidos diferentes e de diversos tamanhos. Exatamente na base destes três processos está presente o forame obturador (fo) representado por três orifícios de tamanhos bem reduzidos (Figura 29).

3.1.7.9 Nadadeira pélvica

A estrutura da nadadeira pélvica, articulada na face lateral da barra puboisquiática, é constituída pelo propterígio pélvico (prpp), metapterígio pélvico (metp) e os raios pélvicos (rap) (Figura 29).

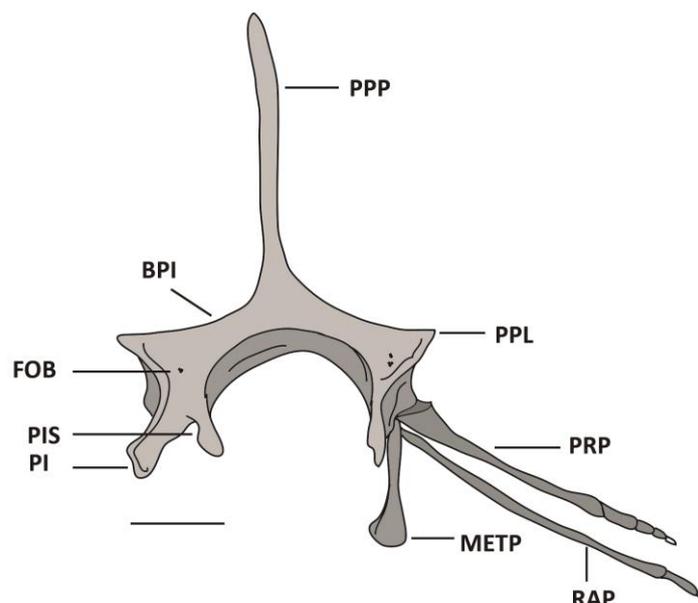
O propterígio pélvico é semelhante a uma barra laminar achatada lateralmente e com a extremidade distal afunilada. Na sua extremidade proximal articula-se com a parede lateral

externa do processo ilíaco da cintura pélvica e a uma pequena porção da extremidade proximal do metapterígio pélvico. Distalmente o propterígio é segmentado variando em número de acordo com a maturidade dos espécimes. O contorno geral da estrutura é semelhante em todas as amostras analisadas para o estudo.

O metapterígio pélvico é uma barra achatada lateralmente apresentando uma estrutura mais robusta que o propterígio. Em sua região proximal o metapterígio articula-se na base da parede lateral externa do processo ilíaco. Ao longo da sua parede lateral externa, o metapterígio pélvico sustenta os raios pélvicos. A parede lateral interna apresenta uma crista que se estende ao longo da estrutura para a inserção de nervos e músculos. A extremidade distal dos exemplares PNT519 (Bacia Paraná – Parguai) e PNT521 (Rio Caiapó) é afunilada e segmentada até se diferenciar num raio pélvico. Por outro lado, os exemplares LIA2018 (Rio Xingu) e PNT520 (Bacia Paraná – Parguai) apresentam uma largura maior e bem desenvolvida na sua extremidade distal. Esta estrutura é mais larga nos exemplares machos uma vez que a mesma serve como base de sustentação para o clássper.

Os raios da nadadeira pélvica são barras alongadas e segmentadas. Estas barras delgadas e achatadas dorsoventralmente proporcionam o formato triangular a nadadeira pélvica. Cada raio tem pelo menos três segmentos que diminuem em tamanho distalmente onde o segmento mais é bifurcado.

Figura 29 – Cintura pélvica de *P motoro* PNT520



Legenda: Superfície dorsal da cintura e nadadeira pélvica de *P motoro* PNT520. Processo pré-pélvico – PPP; Processo pré-pélvico lateral – PPL; Barra puboisquiática – BPI; Processo ilíaco – PI; Forâmen obturador – FOB; Processo isquial – PIS; Metapterígio pélvico – METP; Propterígio pélvico – PRPP; Raios pélvicos – RAP. Escala 10 mm.

Fonte: O autor, 2016

3.1.7.10 Cláspes

O cláspes é constituído por pequenos pedaços de cartilagens derivados da diferenciação dos últimos raios pélvicos nos machos, que articulados e ligados um ao outro formam o sistema reprodutivo das raias. A estrutura é composta por dois segmentos basais (b1, b2), a cartilagem β (be), cartilagem axial (ax), cartilagem marginal ventral (mv), cartilagem marginal dorsal (md), cartilagem terminal ventral (tv), cartilagem terminal dorsal 2 (td2), cartilagem terminal acessória (ta) (Figura 30)

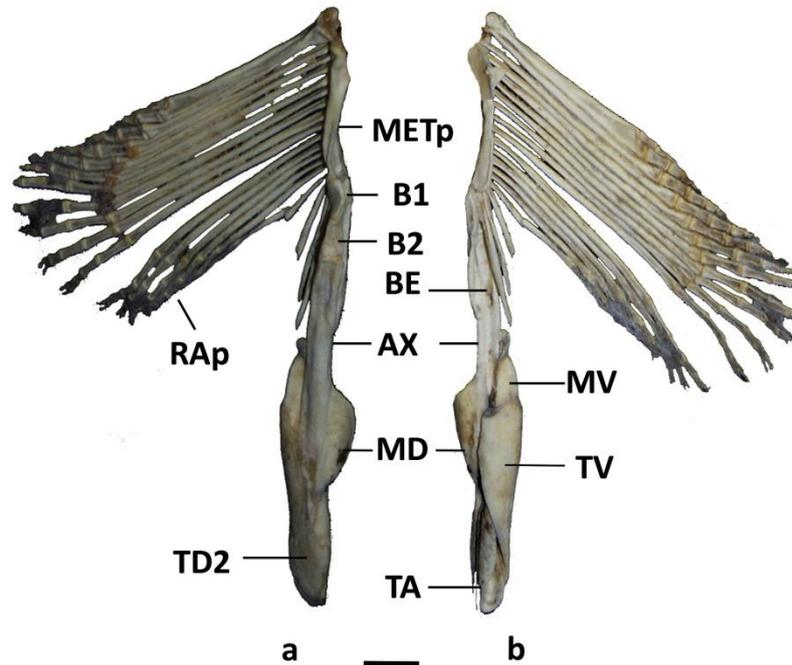
O cláspes de *Potamotrygon motoro* LIA2018 e PNT519 compreendem dois segmentos basais; o primeiro segmento é triangular, articulado na sua extremidade proximal ao metapterígio pélvico; o segundo segmento possui o formato de uma pequena barra delgada ligada à cartilagem axial. A cartilagem beta é constituída por uma única peça que se origina na borda dorsal do primeiro segmento e se afunila distalmente até metade da cartilagem axial.

A cartilagem axial é delgada sendo a cartilagem mais cumprida em relação as outras nesta estrutura. A estrutura reta estende-se posteriormente e possui uma extremidade distal arredondada.

A cartilagem marginal dorsal é uma placa de formato trapezoidal ligada à cartilagem axial, assim como a cartilagem marginal ventral. A cartilagem marginal ventral é menor e coberta pela cartilagem terminal ventral na sua porção distal.

A extremidade distal do cláspes compreende três elementos: a cartilagem terminal acessória apresenta uma dobra sobre seu próprio eixo formando um pequeno tubo alongado; a cartilagem terminal dorsal 2 é alongada, de formato oval retangular e com a borda externa sobrepondo-se a cartilagem terminal acessória. O exemplar da Bacia Amazônica LIA2018 apresenta a extremidade distal da cartilagem terminal dorsal 2 afunilada, já no exemplar da Bacia Paraná-Paraguai (PNT519) a extremidade distal desta cartilagem é retangular. Por último, a cartilagem terminal ventral é a mais ampla das cartilagens nesta estrutura, possui o formato de escudo cobrindo a extremidade distal ventral do cláspes sobrepondo-se sobre a extremidade proximal da cartilagem acessória e a extremidade distal da cartilagem dorsal e ventral (Figura 30).

Figura 30 – Clasper do espécimen *P motoro* PNT519



Legenda: a) Superfície dorsal do cláspes do espécimen *P motoro* PNT519. (b) Superfície ventral. Segmentos basais - B1, B2; Cartilagem β - BE; Cartilagem axial - AX; Cartilagem marginal ventral - MV, Cartilagem marginal dorsal - MD, Cartilagem terminal ventral - TV, Cartilagem terminal dorsal 2 - TD2; Cartilagem terminal acessória - TA. Escala 10mm.

Fonte: O Autor, 2016.

3.1.7.11 Vértex e espinha caudal

A coluna propriamente dita é constituída por vértebras monospondílicas e diplospondílicas. As vértebras monospondílicas estão dispostas logo em seguida da sinarcual posterior até pouco depois da cintura pélvica. Em seguida, vértebras diplospondílicas estendem-se posteriormente, as quais vão diminuindo de tamanho até formar uma cartilagem não segmentada na região pouco depois do espinho caudal nos exemplares LIA2018 e PNT521. Nos exemplares de *Potamotrygon motoro* PNT519 e PNT520, não foi possível realizar a análise das vértebras diplospondílicas e o espinho caudal devido à perda da porção terminal da cauda na hora da coleta.

O arco neural (an) é constituído pela projeção da região dorsal de cada vértebra, as mesmas estão dispostas próximas umas das outras formando um tubo único ao longo da face dorsal das vértebras. Os espinhos neurais (en) são projeções dorsais de cada vértebra do arco

hemal. Estes espinhos são bem desenvolvidos, comprimidos lateralmente e diminuem de tamanho consideravelmente antes de atingir a região anterior da espinha caudal.

O arco hemal é constituído por projeções das paredes ventrolaterais das vértebras. Estas projeções se fusionam ventralmente formando um tubo menos desenvolvido que o arco neural. A fusão destas projeções ocorre a partir da vértebra quarenta e dois no exemplar PNT521 e a vértebra quarenta nos exemplares LIA2018, PNT520 e PNT521.

O espinho caudal é considerado uma modificação ou hipertrofia de um dentículo dérmico (Daniel, 1934). O espinho caudal dos exemplares LIA2018 e PNT521 é constituído por uma estrutura alongada em sentido posterior, comprimida dorsoventralmente e afunilada na sua extremidade distal. As bordas laterais do espinho estão cobertas por pequenas pontas curvadas anteriormente desenvolvendo uma estrutura serrilhada. A face dorsal do espinho apresenta uma concavidade longitudinal que se estende desde a base até dois terços da sua longitude. Ventralmente, o espinho é percorrido em toda sua estrutura por uma proeminência longitudinal.

3.1.8 Análise filogenética

A descrição e comparação morfológica entre os espécimes de *Potamotrygon motoro* e, outras espécies de Potamotrygonidae decorreram na obtenção de caracteres morfológicos. Tais caracteres foram retirados do neurocrânio, arco mandibular, arco hioideo, arco branquial, sinarcual, cintura escapular e pélvica assim como as placas basais. Foi observada uma variação intraespecífica na quantidade de vértebras entre as espécies assim como na dentição. Por esta razão, estes elementos do complexo esquelético não foram utilizados na análise. Tanto caracteres externos como esqueléticos foram obtidos no intuito de entender a relação entre a espécie de *Potamotrygon motoro* distribuída na Bacia Amazônica e a *Potamotrygon motoro* distribuída na Bacia Paraná-Paraguai.

3.1.8.1 Distribuição dos estados de caracteres

1. Ornamentação do disco:
 - (0) ornamentado
 - (1) não ornamentado
2. Distribuição da ornamentação:
 - (0) aleatório
 - (1) acúmulos em rosetas
3. Formato da ornamentação:
 - (0) mancha redonda única
 - (1) ocelos concêntricos
 - (2) manchas de formato não definido
4. Diâmetro da figura poligonal da ornamentação:
 - (0) menor que o diâmetro espiracular
 - (1) maior que o diâmetro espiracular
5. Formato do disco:
 - (0) oval
 - (1) redondo
 - (2) formato de maçã
6. Borda anterior do disco, ápice cartilaginosa:
 - (0) presente
 - (1) ausente
7. Posição do olho em relação ao disco:
 - (0) por cima do nível em relação ao disco
 - (1) no mesmo nível em relação ao disco
8. Nadadeira peitoral:
 - (0) projetado anterolateralmente
 - (1) não projetado
9. Nadadeira pélvica:
 - (0) parcialmente recoberta pela nadadeira peitoral
 - (1) totalmente recoberta pela nadadeira peitoral
10. Cauda:
 - (0) robusta, sem uma extremidade cartilaginosa

- (1) fina e cumprida, seguida por uma extremidade cartilaginosa
- 11. Nadadeira caudal, raios cartilagosos:
 - (0) presente
 - (1) ausente
- 12. Glândula retal:
 - (0) não atrofiada
 - (1) atrofiada
- 13. Linha lateral, canal sub-orbital:
 - (0) não reticulado
 - (1) reticulado
- 14. Linha lateral, canal pleural:
 - (0) curvado na sua região posterior
 - (1) não curvado na sua região posterior
- 15. Linha lateral, canal pleural, finalização da trajetória na sua porção anterior:
 - (0) atravessando só o canal sub-orbital
 - (1) atravessando os canais subrostral e sub-orbital
 - (2) não atravessando os canais subrostral e sub-orbital
- 16. Cartilagem rostral:
 - (0) ausente
 - (1) presente
- 17. Fontanela craniana, barra epifisial
 - (0) não desenvolvido
 - (1) desenvolvido
- 18. Barra epifisial, formato da ponta
 - (0) ponta dupla
 - (1) ponta simples
- 19. Septo nasal:
 - (0) largo
 - (1) delgado
- 21. Processo pré-orbital:
 - (0) não desenvolvido
 - (1) desenvolvido
- 21. Processo pós-orbital anterior, formato triangular:
 - (0) não desenvolvido

- (1) desenvolvido
22. Processo pós-orbital anterior, proximidade em relação ao processo pós-orbital posterior:
- (0) separado
- (1) próximo
23. Superfície articular:
- (0) larga
- (1) delgada
24. Cartilagem antorbital, comprimento:
- (0) comprido
- (1) curto
25. Cartilagem acessória mandibular:
- (0) ausente
- (1) presente
26. Cartilagem angular:
- (0) ausente
- (1) presente
27. Cartilagem angular, estrutura:
- (0) vestigial
- (1) estrutura única
- (2) estrutura par
28. Cartilagem angular acessória:
- (0) presente
- (1) ausente
29. Cartilagem basihial:
- (0) ausente
- (1) presente
30. Barra pseudoioide ventral em relação à primeira ceratobranquial:
- (0) fusionada
- (1) não fusionada
31. Porção anterior da cartilagem basibranquial, orifício:
- (0) presente
- (1) ausente
32. Barra coracóidea:

- (0) não expandida anteriormente
 - (1) expandida anteriormente
33. Largura da borda anterior da sinarcual anterior:
- (0) menor que a metade da longitude total da sinarcual anterior
 - (1) maior ou igual à metade da longitude total da sinarcual anterior
34. Base anterior da crista lateral da sinarcual anterior:
- (0) ligada à região ventral
 - (1) ligada à região dorsal
35. Borda posterior da sinarcual anterior:
- (0) não expandido lateralmente
 - (1) expandido lateralmente
36. Arcuália dorsal:
- (0) ausente
 - (1) presente
37. Propterígio, expansão do segmento anterior:
- (0) não expandido até as paredes anteriores da cápsula nasal
 - (1) expandido até as paredes anteriores da cápsula nasal
38. Propterígio, porção posterior:
- (0) articulado a região anteromedial do mesopterígio
 - (1) não articulado a região anteromedial do mesopterígio
39. Largura dos raios peitorais anteriores:
- (0) delgado
 - (1) largo
40. Processo pré-pélvico:
- (0) ausente
 - (1) presente
41. Barra puboisquiática, processo pré-pélvico lateral:
- (0) presente
 - (1) ausente

3.1.8.2 Matriz de dados

Foi elaborada uma matriz de dados com o auxílio do *software* NDE (*Nexus Data Editor*) v.0.5.0 (Page, 2001) constituída por 41 caracteres e 15 táxons (Tabela 5). Os exemplares de *Potamotrygon motoro* da bacia do Paraná-Paraguai são representados na análise como equivalentes taxonômicos. Dois equivalentes taxonômicos das espécies *Urotrygon chilensis* e *Himantura schmardae*, (baseados em radiografias destas espécies cedidas pelo FMNH e dados de literatura como Nishida 1990 Lovejoy 1996, Compagno 1973 e McEachran *et. al.*, 2004) foram considerados como grupos externos para análise. A escolha destas espécies baseou-se nos resultados do trabalho de Lovejoy 1996, no qual estes táxons são apresentados como grupos mais basais em relação à família *Potamotrygonidae*. Desta forma, 13 táxons restantes foram considerados como grupo interno, sendo todas as espécies da família *Potamotrygonidae*.

Tabela 5 – Matriz de estados de caracteres

Táxon	1-10	11-20	21-30	31-41
<i>Heliotrygon gomesi</i>	1 - -101111	1110200100	0001010100	11101010111
<i>Paratrygon aiereba</i>	002 -211111	1110210100	0001010110	11101010110
<i>Plesiotrygon iwamae</i>	0100001101	1101101111	0110111110	10010001010
<i>Potamotrygon leopoldi</i>	0001000100	0101101011	1111012110	00010001010
<i>Potamotrygon</i> sp.	1 - -000100	0101101011	1110011010	00010001010
<i>P. tigrinus</i>	002 -000100	0101101111	1010111010	00010001010
<i>P motoro</i> Paraná-Paraguai	0011000100	0101101111	1010012110	*0010101010
<i>P motoro</i> Tocantins PNT521	0011000100	0101101011	1110112110	00010001010
<i>P motoro</i> Xingu LIA2018	0011000100	0101101011	1111011010	00010001010
<i>P. falkneri</i>	0010000100	0101101111	1110012010	00010001010
<i>P. hystrix</i>	0001000100	0101101111	1010011110	00010001010
<i>P. orbigny</i> Xingu	0101000100	0101101111	1011111110	10010001010
<i>P orbigny</i> Guianas	0001000100	0101101111	1010011110	00010001010
<i>Himantura schmardae</i>	1 - -000001	1000000 -01	0010010110	1000000*000
<i>Urotrygon chilensis</i>	0000000000	0000000 -*0	000000 -100	00000000000

Legenda: Matriz de estados de caracteres da análise filogenética morfológica. (*) = polimórfico 0/1; (-) estado não aplicável.

Fonte: O Autor, 2016.

3.1.8.3 Relações filogenéticas

A partir da análise de parcimônia da família Potamotrygonidae baseada nos estados dos caracteres polarizados na matriz, foram obtidas 6 árvores mais parcimoniosas com um total de 66 passos. Valores de parâmetros como o de índice de consistência obtido foi de 0,6667, índice de homoplasia 0,3333, índice de retenção de 0,7179 e o índice de consistência rescalonado de 0,4786.

A partir destas 6 árvores foi realizado o computo de árvore de consenso estrito (Figura 31) onde a topologia recuperada corrobora a monofilia da família Potamotrygonidae sustentado pelos seguintes caracteres: posição do olho por cima do nível do disco (7) (CI 0,5); nadadeira peitoral não projetado em sentido anterolateral (8), glândula retal atrofiada (12), finalização da trajetória da linha lateral, canal pleural, atravessando os canais subrostral e sub-orbital (15), e presença de processo pré-pélvico (40).

As relações entre os 4 gêneros atuais da família Potamotrygonidae apresenta o clado mais basal constituído por *Heliotrygon gomesi* e *Paratrygon aiereba*. Este clado é sustentado pelo formato da ornamentação do disco (3), formato do disco (5), nadadeira totalmente recoberta pela nadadeira peitoral (9), canal sub-orbital reticulado da linha lateral (13), canal pleural da linha lateral não atravessando os canais subrostral e sub-orbital (15), e cartilagem antorbital curto (24), barra coracóidea expandida anteriormente (32), largura da borda anterior da sinarcual anterior maior ou igual a metade da longitude total da sinarcual (33), borda posterior da sinarcual anterior expandida lateralmente (35), segmento anterior do propterígio expandido até as paredes anteriores da cápsula nasal (37) e raios peitorais anteriores largos (39).

O grupo monofilético formado por *Plesiotrygon iwamae* e o clado A (Figura 31), subgrupo constituído exclusivamente por espécies do gênero *Potamotrygon*, é sustentado pelo padrão de ornamentação (2), região posterior do canal pleural da linha lateral não curvado (14), formato da barra epifisial pronunciada (17), septo nasal delgado (19), processo pré-orbital desenvolvido (20), superfície articular delgada (23), cartilagem acessória mandibular (25), conformação da cartilagem angular (27), base anterior da crista lateral da sinarcual anterior ligada à região dorsal (34), porção posterior do propterígio não articulado a região anteromedial do mesopterígio (38).

O equivalente taxonômico de *Plesiotrygon iwamae*, representante do gênero *Plesiotrygon* nesta análise, é suportado unicamente por possuir o processo pós-orbital anterior

próximo ao processo pós-orbital posterior (22). No entanto, o estado apomórfico apresentado por *Plesiotrygon* para tal caráter também é observado dentro do gênero *Potamotrygon*.

O clado A (figura 31), composto pelas espécies *Potamotrygon orbigny* LIA2017, *Potamotrygon orbigny* FMNH53271, *Potamotrygon tigrinus* PNT304, *Potamotrygon histrix* FMNH59256, *Potamotrygon* sp. PNT307, *Potamotrygon leopoldi* PNT308, *Potamotrygon falknery* (equivalente taxonômico), *Potamotrygon motoro* PNT521 de Tocantins, *Potamotrygon motoro* LIA2018 do rio Xingu e *Potamotrygon motoro* Paraná-Paraguai (equivalente taxonômico de *Potamotrygon motoro* PNT519 e PNT520), é sustentado pelo diâmetro da figura poligonal da ornamentação maior que o diâmetro espiracular (4), posição do olho por cima do nível em relação ao disco (7), cauda robusta sem uma extremidade cartilaginosa (10), presença de nadadeira caudal (11), formato triangular desenvolvido do processo pós-orbital anterior (21).

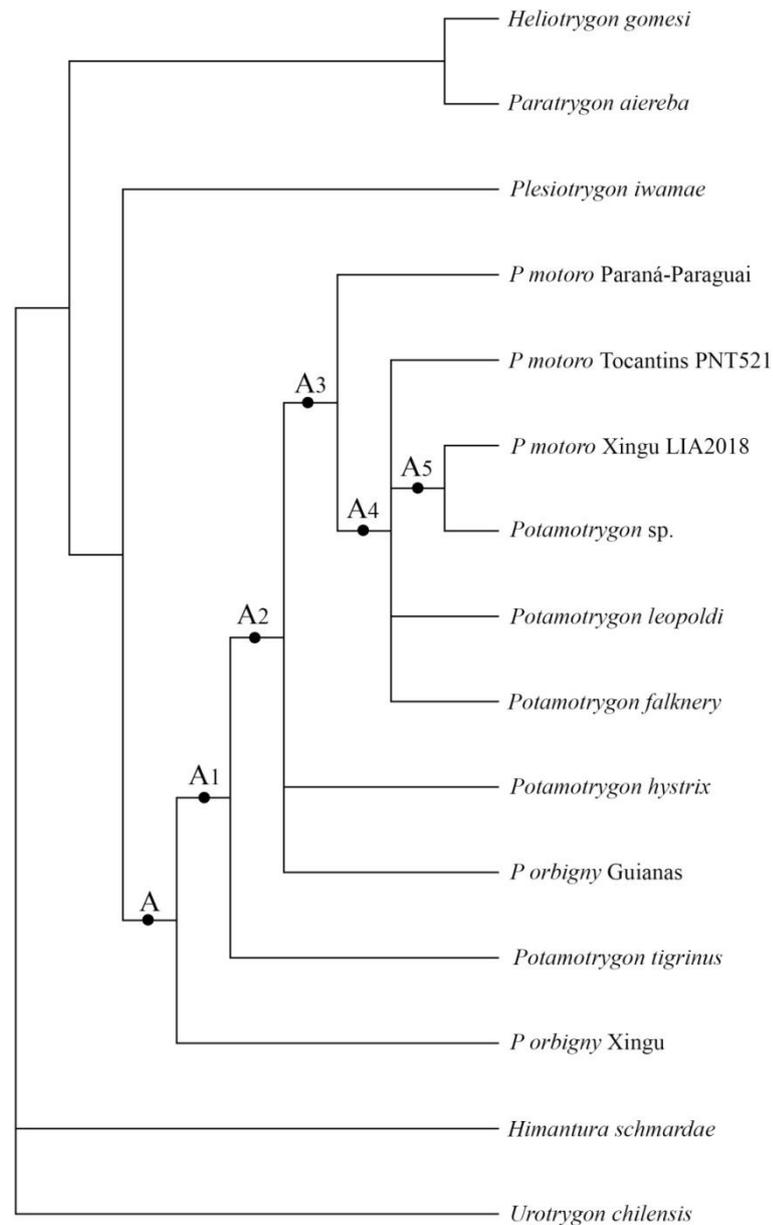
A espécie *Potamotrygon orbigny* coletado no Xingu, que forma um grupo monofilético com o clado A1e este táxon é sustentado por apresentar uma cartilagem antorbital curta (24) (CI 0,250). O clado A1 é constituído pelo táxon *Potamotrygon tigrinus* e o clado A2. Em seguida, o clado A2 é composto por uma politomia entre o clado A3, o táxon *Potamotrygon histrix* e o táxon *Potamotrygon orbigny* da Guiana.

Seguidamente, o clado A3 é constituído pelo táxon *Potamotrygon motoro* do Paraná – Paraguai e o clado A4. O clado A3 é sustentado pelo formato da ornamentação (3) e pela conformação da cartilagem angular (27). Sendo assim, o táxon *Potamotrygon motoro* do Paraná – Paraguai é sustentado pela presença de arcuália dorsal (36).

O clado A4 é sustentado por um processo pós-orbital anterior próximo ao processo pós-orbital posterior (22). O clado A4, da topologia da árvore de consenso estrito, é constituída por uma politomia entre os táxons *Potamotrygon motoro* PNT521 do Tocantins, *Potamotrygon leopoldi*, *Potamotrygon falknery* e o clado A5.

O clado A5, constituído por os táxons *Potamotrygon motoro* LIA2018 do Xingu e *Potamotrygon* sp. da bacia do Paraná-Paraguai (Figura 31), é sustentado pela conformação de uma estrutura única da cartilagem angular (27). A relação deste clado monofilético é recuperado para as 6 árvores possíveis sustentado pelo caráter citado sendo assim como o clado mais derivado em todas as árvores recuperadas.

Figura 31 – Relações filogenéticas do complexo *Potamotrygon motoro*.



Legenda: Síntese do consenso estrito das 6 árvores mais parcimoniosas do complexo *Potamotrygon motoro*.
 Fonte: O Autor, 2016.

3.2 Análise molecular de *Potamotrygon motoro*

Foram analisadas no total 12 seq ncias nucleotídicas do gene COI para a reconstru o filogenética de *Potamotrygon motoro*. Do total destas seq ncias analisadas, 10

sequências do gene COI pertencem a espécies do gênero *Potamotrygon*. Quatro destas foram geradas por este trabalho, enquanto o restante, foram recuperados a partir de banco de dados genéticos públicos. Adicionalmente, foram recuperadas sequências do gene COI da espécie *Urobatis halleri* e da espécie *Himantura leoparda* para serem utilizadas como grupo externo na reconstrução filogenética. As identificações das sequências recuperadas do banco de dados genéticos públicos estão disponíveis na tabela 4.

Desta forma, a partir do resultado do alinhamento das 12 sequências foram gerados dois bancos de dados distintos. Um alinhamento com a sequência das espécies incluindo a sequência do grupo externo e, outro conjunto de sequências exclusivamente com as espécies de *Potamotrygon*. Os valores que concernem às informações sobre os sítios do alinhamento estão esquematizados na seguinte tabela 6:

Tabela 6 – Valores dos sítios de alinhamento

Alinhm.	Nro. Seq.	P	lnL	(+G)	R	f(A)	f(T)	f(C)	f(G)
Seq. Com gr. ex	12	30	-1709.611	0.25	4.91	0.278	0.265	0.291	0.167
Seq. Sem gr. ex	10	26	-1106.928	0.22	4.39	0.283	0.257	0.297	0.164

Legenda: Alinhm.: alinhamento; Seq. Com gr. ex.: Sequência com grupo externo; Seq. Sem gr. ex.: Sequência sem grupo externo; Nro. Seq.: Número de sequências; P.: Parâmetros; lnL.: Verossimilhança Máxima dada em logaritmo neperiano; (+G): modelo de distribuição Gamma; R.: transição/transversão; f(A): frequência da base nitrogenada Adenina; f(T): frequência do nucleotídeo Timina; f(C): frequência do nucleotídeo Citosina; f(G): frequência do nucleotídeo Guanina.

Fonte: O Autor, 2016.

O resultado da análise de distância genética, utilizando o parâmetro K2P, apresenta uma média de 10,3% de distância genética entre todas as sequências analisadas. Por outro lado, o valor diminui drasticamente com a retirada das duas sequências utilizadas como grupo externo. Sendo assim, o valor da distância média entre as 10 sequências dos exemplares da família Potamotrygonidae decresce para 3,5%.

Os valores detalhados da análise de distância genética entre as sequências de nucleotídeos das amostras analisadas para este grupo através da metodologia previamente descrita na metodologia estão disponíveis no Apêndice A.

Com base na matriz gerada entre todas as sequências observa-se que as distâncias mais próximas apresentam um valor de 0,2% como as observadas entre as sequências do exemplar

JN989155 *P. motoro* da bacia do alto Paraná e o exemplar JN989158 *P. motoro* da mesma bacia. Por outro lado, as sequências mais distantes, apresentam um valor de 7,8% como as observadas entre os exemplares de PNT521 *P. motoro* do rio Caiapó – Tocantins da bacia do Amazonas e PNT519 *P. motoro* do rio Paraguai da bacia do Paraná Paraguai.

Destacando, uma vez mais, a escolha do modelo GTR como modelo de substituição utilizado na análise de reconstrução filogenética para este e para os outros grupos, observou-se uma variação nos parâmetros estimados pelo modelo de substituição em decorrência da divergência das sequências dos grupos externos. Conseqüentemente, esta variação foi minimizada com a remoção dos grupos externos. A remoção das duas espécies utilizadas como grupo externo, para à análise das relações filogenéticas de *Potamotrygon motoro*, foi realizada com o intuito de atingir relações mais robustas e de uma maior resolução para os grupos internos. Desta forma, os valores dos parâmetros de modelo GTR para as sequências com grupo externo e para as sequências sem grupo externo são resumidos na seguinte tabela 7:

Tabela 7 – Valores de parâmetros para o modelo evolutivo GTR

Alinhm.	Nro. Seq.	P	lnL	(+G)	R	f(A)	f(T)	f(C)	f(G)
Seq. Com gr. ex	12	30	-1709.611	0.25	4.91	0.278	0.265	0.291	0.167
Seq. Sem gr. ex	10	26	-1106.928	0.22	4.39	0.283	0.257	0.297	0.164

Legenda: Alinhm.: alinhamento; Seq. Com gr. ex.: Sequência com grupo externo; Seq. Sem gr. ex.: Sequência sem grupo externo; Nro. Seq.: Número de sequências; P.: Parâmetros; lnL.: Verossimilhança Máxima dada em logaritmo neperiano; (+G): modelo de distribuição Gamma; R.: transição/transversão; f(A): frequência da base nitrogenada Adenina; f(T): frequência do nucleotídeo Timina; f(C): frequência do nucleotídeo Citosina; f(G): frequência do nucleotídeo Guanina.

Fonte: O Autor, 2016.

A reconstrução filogenética realizada com o marcador molecular para as duas bases de dados, por meio da metodologia de Máxima verossimilhança, apresentam como resultado um dendograma indicando uma relação de exemplares da mesma espécie conforme as bacias as quais pertencem, sustentadas por valores de suporte relativamente altos. Uma vez confirmado que as topologias das duas árvores são semelhantes (Apêndice B), será descrita unicamente a árvore sem o grupo externo. Figura 32.

O clado A apresenta um valor de suporte de 99% e está formado por três sequências de espécimes de *P. motoro* do alto Paraná, e uma sequência do espécime PNT307 *Potamotrygon sp* coletado no lago Ypacarai do rio Paraguai. Os representantes deste clado

apresentam uma estreita relação entre eles, sendo o valor da média da distância genética de 0,3% entre estas sequências.

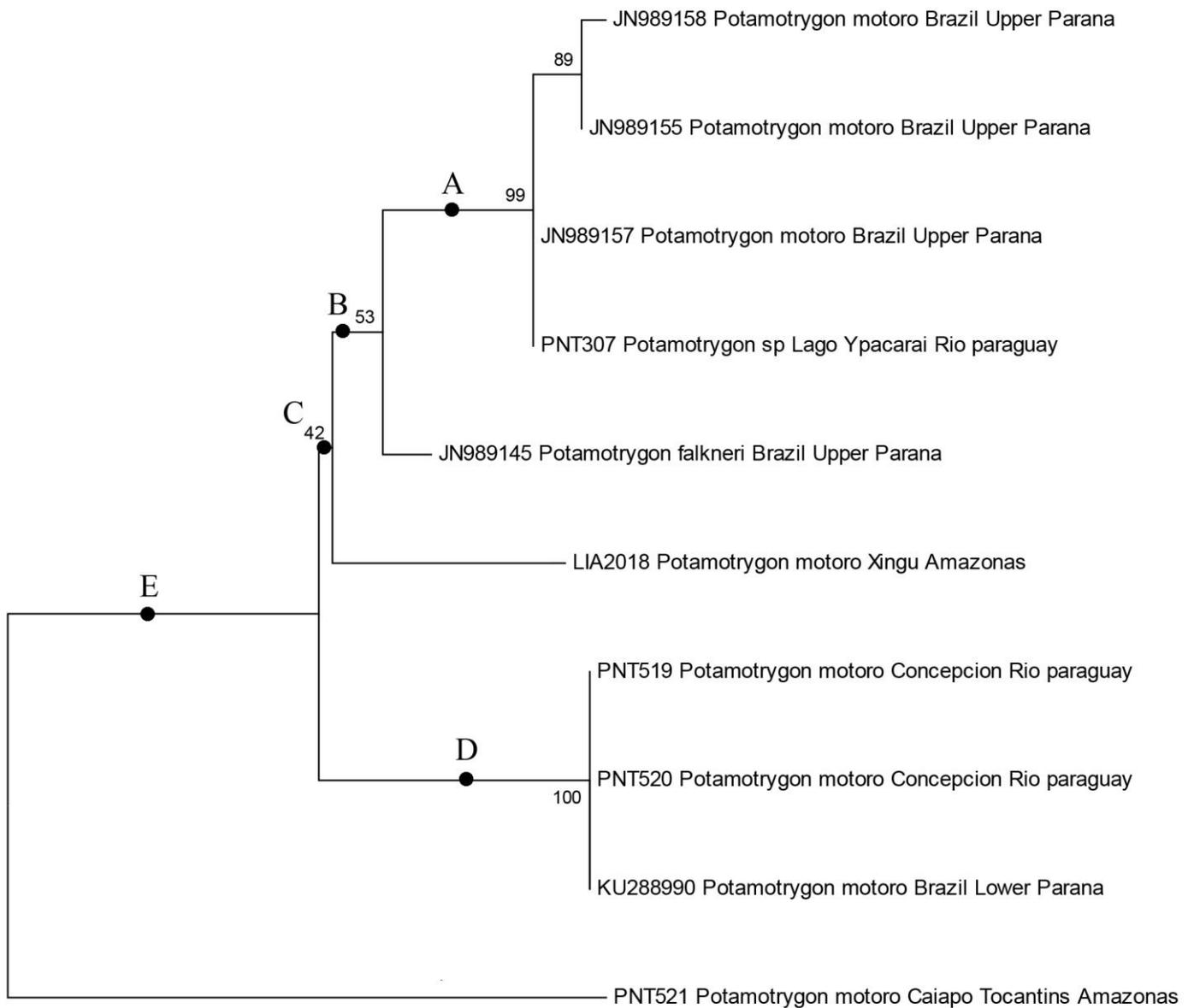
Assim, o dendograma recupera uma relação do clado A com o táxon *P. falknery* do Alto Paraná constituindo assim o clado B com um suporte de 53% (Figura 32).

Seguidamente, o clado C forma um grupo monofilético formado pelo clado B e o táxon o táxon LIA2018 *P. motoro* coletado no rio Xingu, sustentado por um suporte de 42%. A distância entre as sequências do táxon *P. falknery* e LIA2018 *P. motoro* apresenta um valor de 2,4%.

O clado D, com um valor de suporte de 100%, está conformado por duas sequências de exemplares de *P. motoro* coletados no rio Paraguai e uma sequência de *P. motoro* da bacia do baixo Paraná. Tudo indica que os representantes deste clado tratam-se da mesma espécie devido a o valor da média da distância genética de 0% entre as sequências de este clado. O valor da distância genética entre o clado D e o táxon LIA2018 *P. motoro* apresenta um valor de 3.8% (Apêndice A).

Por último, o clado E, apresenta uma relação filogenética com a sequência do táxon PNT521 *P. motoro* coletado no rio Caiapó de Tocantins da bacia do Amazonas (Figura 32). Este táxon apresenta uma distância genética de 7,8% com o clado D.

Figura 32 – Relações filogenéticas do complexo *Potamotrygon motoro*



0.01

Legenda: Resultado da análise de Máxima verossimilhança do gene mitocondrial citocromo oxidase I (COI) indicando as relações filogenéticas do complexo *Potamotrygon motoro* com valores de *Bootstrap* incluídos para cada clado.

Fonte: O Autor, 2016.

3.3 Análise morfológico de *Synbranchus marmoratus*

3.3.1 Taxonomia do gênero *Synbranchus*

Ordem Synbranchiformes Berg, 1940

Família Synbranchidae Swainson, 1938

Gênero *Synbranchus* Bloch, 1795

3.3.2 Diagnose genérica

O gênero *Synbranchus* é composto atualmente por três espécies neotropicais: *S. marmoratus*, *S. madeirae* e *S. lampreia*. O gênero apresenta uma abertura branquial única e ventral, que encontra-se reduzida a uma pequena aba cercada à esquerda e à direita por dobras de tecido contínuas à membrana branquiostegal. Apresenta cintura pélvica deslocada posteriormente na altura da quinta ou sexta vértebra abdominal; osso pós-temporal reduzido a uma haste simples não articulada com o supracleitro; dobra do lábio superior robusta; segundo e terceiro basibranquial presentes e bem desenvolvidos; primeiro ceratobranquial no mesmo plano como uma articulação com o primeiro hipobranquial; segundo pharingobranquial, quando presente (na maioria das vezes), direcionado anteromedialmente e não paralelo ao longo do eixo do segundo epibranquial; porção posterior dos raios branquiostegais pouco ou nada ossificados; primeiro epibranquial sem um entalhe profundo para a articulação do interarcual ossificado (Rosen & Greenwood, 1976).

3.3.3 Diagnose específica

Synbranchus marmoratus diferencia-se das outras espécies do gênero *Synbranchus* principalmente pelo padrão de coloração manchado ou maculado, sobre tons de coloração escuros (preto e marrom escuro) na região dorsal e tons mais claros (cinzas) na região ventral;

pedúnculo caudal entre 23 a 34 % da longitude total; espinhos neurais da região abdominal curtos e robustos e de comprimento não maior que a distancia entre dois espinhos; osso parietal retangular ou quadrado anteriormente em exemplares maiores que 200 mm (Rosen & Greenwood, 1976).

3.3.4 Distribuição

A distribuição do complexo *Synbranchus marmoratus* vai desde a bacia De la Plata até o alto da bacia Amazônia (Figura 33).

Figura 33 – Distribuição do complexo *Synbranchus marmoratus* na América do Sul



Legenda: Mapa da América do Sul indicando a distribuição do complexo *Synbranchus marmoratus*.

Fonte: Ilustração elaborada pelo autor com as principais hidrografias citadas por Rosen & Greenwood utilizando um mapa modificado de SAM_Gewaesser_Relief_Staatsgrenzen – Blank maps online.

Os exemplares analisados durante o presente trabalho foram agrupados conforme as bacias hidrográficas onde foram coletados, uma vez que todos os exemplares foram identificados como *Synbranchus marmoratus*. Considerando que as espécies *S. madeirae* e *S. lampreia* realmente não foram identificados entre os exemplares coletados, a presente tese assume que todos os espécimes tratam-se em teoria de *Synbranchus marmoratus*. Desta maneira, o complexo esquelético dos exemplares GF00649, GF00651 e GF00652, serão assumidos e posteriormente descritos como exemplares válidos de *S. marmoratus*, já que estes espécimes pertencem à mesma bacia hidrográfica (Guiana Francesa) onde foi descrito o holótipo desta espécie.

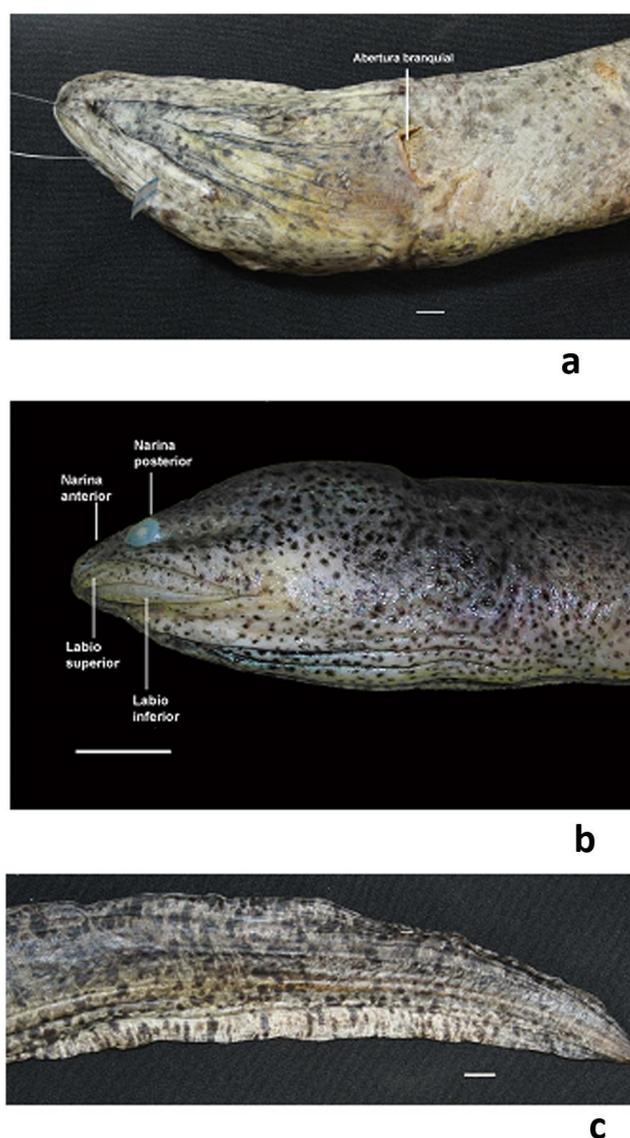
3.3.5 Descrição da morfologia externa

Synbranchus marmoratus apresenta corpo alongado, delgado, tubular, liso e sem escamas (Figura 34). A cabeça possui formato semelhante a um cone arredondado anteriormente e um perfil antero-dorsal ligeiramente convexo, quase em linha reta, características também observadas em todos os exemplares restantes observados e analisados. Focinho curto e arredondado. A porção posterior da cabeça é delimitada por uma corcunda nugal, proeminência formada por tecido gorduroso que é moderadamente desenvolvida em espécimes de pequeno porte. Em contrapartida, esta corcunda nugal é bem desenvolvida em espécimes de porte maior como observado no exemplar em descrição (Figura 34). Olhos desenvolvidos e visíveis através de uma camada translúcida de pele-alinhados verticalmente com a narina posterior. As narinas anteriores são posicionadas anteriormente na ponta do focinho. Abertura branquial ventral única e reduzida a um pequeno orifício delimitado por dobras de tecido (Figura 34 - a).

Nadadeiras peitorais e pélvicas ausentes. A porção pós-anal é comprimida lateralmente e de longitude relativamente curta, sendo $\frac{1}{3}$ ou $\frac{1}{4}$ do comprimento total, dependendo do estágio de maturação em que se encontra o peixe. A nadadeira dorsal origina-se na porção posterior sendo aproximadamente $\frac{1}{3}$ do comprimento total do corpo. A mesma é formada por uma dobra de pele sustentada internamente por um tecido adiposo, não possuindo raios ou espinhos assim como a nadadeira caudal e anal (Figura 34). A dobra da nadadeira dorsal, ausente no terço anterior do corpo, é estreita pela maior parte de sua extensão e mais desenvolvida na porção situada posterior ao nível do ânus. A dobra da

nadadeira anal é menor do que a dobra da nadadeira dorsal, tem sua origem posterior ao ânus estendendo-se até o final do corpo. A nadadeira caudal é ausente, mas, quando presente como no caso do exemplar SGRJ01, apresenta-se extremamente simplificada, não possuindo raios ou espinhos e a mesma é contígua a dobra da nadadeira dorsal e anal, dando a impressão de ser uma dobra de pele única limitando a região posterior do corpo afunilado.

Figura 34 – Morfologia externa de *Synbranchus marmoratus*



Legenda: Fotografia de *Synbranchus marmoratus* PNT518 esquematizando a) Superfície ventral; b) Superfície lateral da região anterior; c) Superfície lateral da cauda. Escala 10mm.
Fonte: O Autor, 2016.

O exemplar de *Synbranchus marmoratus* PNT518, assim como todos os exemplares de tamanho maior do que 20 mm, apresentou um padrão de coloração caracterizado por manchas amorfas e escuras, em tons de preto ou cinza, distribuídas ao longo do corpo variando somente na densidade das manchas (Figura 35).

Durante a análise dos exemplares estudados, o padrão de coloração apresentou uma ampla variação em relação ao tamanho do exemplar e a característica do rio em que foi coletado. Exemplares menores de 20 mm de comprimento apresentam uma coloração de tons de pardo e cinza na região dorsal e branco e creme na região ventral (Figura 35). No entanto, na maioria dos exemplares de porte pequeno, coletados em águas mais claras e cristalinas, as manchas características para a espécie eram escassas ou até ausentes (Figura 35).

Exemplares maiores apresentam um padrão de coloração com tons escuros de cinza, preto e marrom escuro na região dorsal e tons claros de cinza na região ventral (Figura 35).

Figura 35 – Spécimes de *S marmoratus* coletados em diferentes bacias da América do Sul



Legenda: Spécimes de *S marmoratus* a) Representantes da espécie *S marmoratus*. Exemplares menores de 20 cm de a) *S marmoratus* PNT273; b) *S marmoratus* PNT413; c) *S marmoratus* PNT462 – Rio Miracema Rio de Janeiro; d) *S marmoratus* PNT518 – Rio Paraguai. Escala 10mm.

Fonte: O Autor, 2016.

3.3.6 Descrição da anatomia interna

A descrição osteológica utilizada na presente tese segue a nomenclatura de Rosen & Greenwood, (1976), Travers (1984a) e Britz e Kottelat (2003).

3.3.6.1 Neurocrânio

O neurocrânio apresenta formato semelhante a um cone. Tanto em vista dorsal, como em vista lateral, é estreito anteriormente e se alarga posteriormente, sendo a região ótica mais larga (Figura 36).

Na seguinte descrição, o complexo esquelético do neurocrânio será descrito em três regiões: região etmovomeriana, região orbital e região ótica.

3.3.6.2 Região Etmovomeriana

Esta região é constituída pelos ossos mesetmóide (met), vômer (vo), etmóide lateral (etl) e nasal (na).

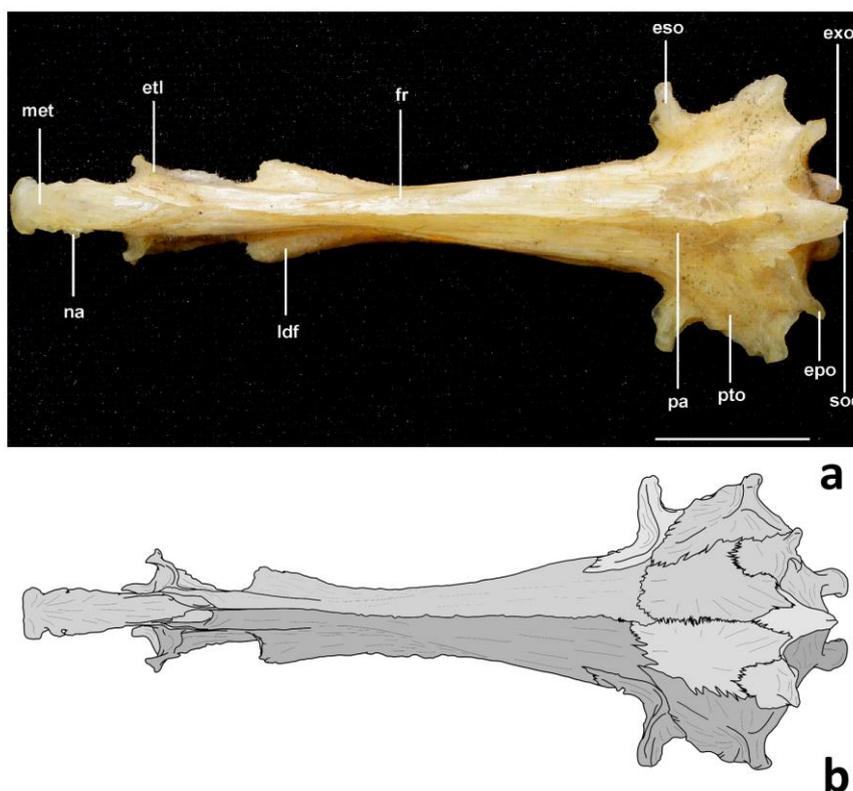
O mesetmóide é um osso ímpar, localizado na linha média dorsal da porção anterior do neurocrânio sendo alongado e afunilado posteriormente. A porção anterior e ventral do mesetmóide articula-se à extremidade anterior dorsal do vômer. A porção mais anterior apresenta uma curvatura ventral, sendo alargada e triangular, com pontas proeminentes ventralmente e formando entre elas superfícies côncavas de articulação para os pré-maxilares (Figura 36). Durante a análise e comparação dos exemplares, foram observadas três variações no formato da região anterior do mesetmóide. O mesetmóide articula-se antero-ventralmente com os pré-maxilares, ventralmente com o vômer, lateralmente com os nasais e pósterodorsalmente com os frontais. O mesetmóide se conecta postero-ventralmente à porção anterior do etmóide lateral através de uma estreita lâmina de ossificação membranosa, conformando assim o septo nasal.

O vômer é um osso ímpar articulado dorsalmente na superfície ventral do mesetmóide. A porção mais anterior é lobular, ventralmente convexa, de bordas arredondadas e com duas facetas de articulação para os maxilares. Sua porção posterior é constituída por uma haste delgada que se afunila posteriormente de maneira drástica, e que termina numa fina lamina óssea alongada articulada à quilha ventral do paraesfenóide. O vômer articula-se antero-ventralmente com os maxilares, dorsolateralmente com os etmóides laterais e posteriormente com o paraesfenóide. Ventralmente, em cada face lateral, o vômer sutura-se a um palatino (Figura 37).

O etmóide lateral é um osso par que delimita as cavidades nasal e orbital e apresenta um braço anterior que se estende até o segmento posterior do septo nasal ossificado. Na mesma região, uma crista projetada lateroanteriormente forma a parede posterior da capsula nasal e a parede anterior da órbita. A porção posterior do osso é triangular e se estende até a borda posterior da cavidade orbital. Articula-se anteriormente com o mesetmóide e com o lacrimal, dorsalmente com o frontal e ventralmente com o vômer, paraesfenóide e pteroesfenóide (Figura 36).

O nasal é um osso par, articulado às laterais da região anterior do mesetmóide. O mesmo possui o tamanho reduzido e formato alongado e irregular. O osso é constituído por um segmento tubular em torno do canal supraorbital e uma expansão lateral irregular em forma de asa. Os nasais separam a narina anterior, localizada acima dos olhos, e a narina posterior, justaposta ao lábio superior (Figura 37).

Figura 36 – Superfície dorsal do neurocrânio de *Synbranchus marmoratus*



Legenda: a) Fotografia da superfície dorsal do neurocrânio de *S marmoratus* PNT467e; desenho da superfícies dorsal do neurocrânio de *S marmoratus* MNHN00652. met – mesetmóide; etl – etmóide lateral; fr – frontal; eso – esfenótico; exo – exoccipital; soc – supraoccipital; epo – epiótico; pto – pterótico; pa – parietal; ldf – lamina descendente do frontal; na – nasal. Escala 10mm.

Fonte: O Autor, 2016.

3.3.6.3 Região Orbital

A região orbital compreende os ossos lacrimal (la), pteroesfenóide (pts), paraesfenóide (pas) e o basiesfenóide (bas).

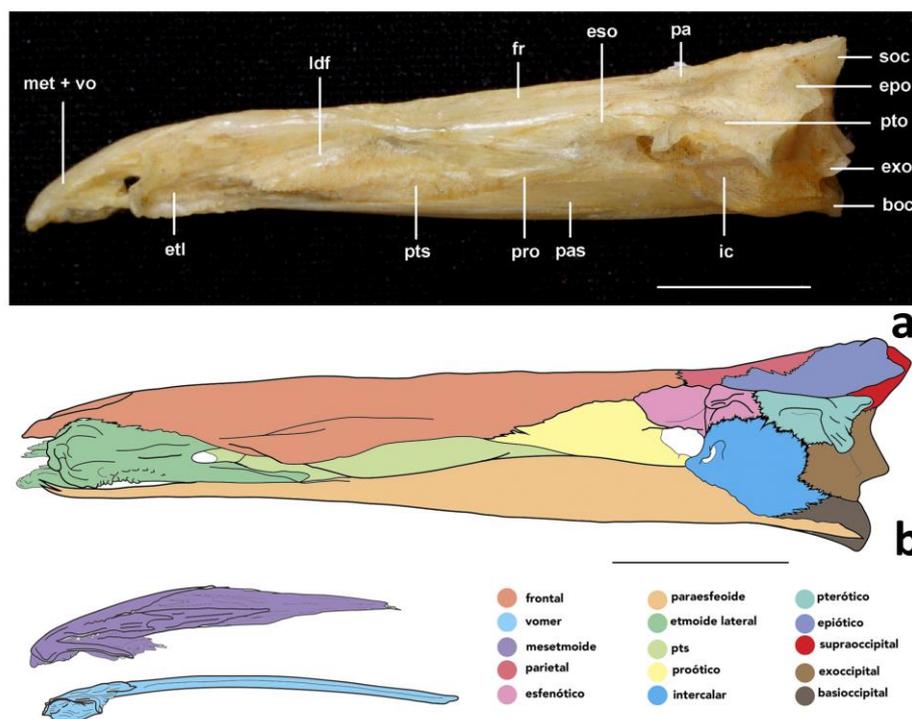
O lacrimal, ou pré-orbital, é um osso par e forma a parede lateral externa da cápsula nasal. O mesmo apresenta o formato triangular anteriormente e é alongado na sua porção posterior. O poro do canal sensorial infraorbital situa-se no centro da região anterior triangular do lacrimal. Cada lacrimal articula-se dorsalmente com o etmóide lateral e conecta-se ventralmente com o maxilar. Durante a análise desta estrutura e posterior comparação com os outros exemplares, não foi observada uma variação característica entre os mesmos (Figura 37).

O pteroesfenóide é um osso par localizado na região ventral da lâmina descendente do frontal. Esse osso possui formato alongado posicionado anteriormente ao proótico. O pteroesfenóide se articula dorsalmente com o frontal, ventralmente com o basiesfenóide e posteriormente com o proótico (Figura 37).

O paraesfenóide é um osso ímpar de formato triangular, localizado na linha média ventral, compondo assim a base do neurocrânio (Figura 38). O osso é alongado e se estende desde a região etmoideana até a região basicraniana. A região anterior é estreita e posteriormente o osso se expande formando assim de cada lado abas laterais. A porção anterior da superfície ventral do paraesfenóide apresenta uma quilha central onde o vômer se articula formando assim uma estrutura contínua. A região mais posterior do paraesfenóide apresenta uma bifurcação formando duas pontas triangulares posteriores. Durante a análise deste osso e a posterior comparação com os outros exemplares, foram observadas variações na margem posterior das pontas triangulares. Os dois morfotipos encontrados são descritos e analisados na discussão. O paraesfenóide se articula anteriormente com o vômer, dorsalmente com o etmóide lateral, o basiesfenóide e o proótico. Posteriormente, o paraesfenóide se articula com o basioccipital (Figura 38).

O basiesfenóide é um osso ímpar, localizado na porção ventral da região orbital. Esse osso se apresenta alongado e comprimido no eixo dorsoventral pela face ventral do pteroesfenóide e pela superfície dorsal do paraesfenóide. O basiesfenóide se articula dorsalmente com o pteroesfenóide, ventralmente com o paraesfenóide e o ectopterigóide e posteriormente com o proótico (Figura 38).

Figura 37 – Superfície lateral do neurocrânio



Legenda: a) Fotografia da superfície lateral do neurocrânio de *S marmoratus* PNT467 e b) ilustração da superfície lateral do neurocrânio baseado no specimen de MNHN00652 destacando o mesetmoide e o vomer. met + vo – mesetmoide + vomer; ldf – lamina descendente do frontal; fr – frontal; eso – esfenótico; pa – parietal; soc – supraoccipital; epo – epiótico; pto – pterótico; exo – exoccipital; boc – basioccipital; ic – intercalar; pas – paraesfenóide; pro – prótico; pts – pteroesfenóide; etl – etmoide lateral. Escala 10mm.

Fonte: O Autor, 2016.

3.3.6.4 Região Ótica

A região posterior do neurocrânio é constituída pelo osso frontal (fr), prótico (pro), parietal (pa), esfenótico (eso), pterótico (pto), epiótico (epo), supraoccipital (soc), intercalar (ic), basioccipital (boc) e exoccipital (exo).

O frontal é um osso par que compreende aproximadamente 4/5 da superfície dorsal do neurocrânio (Figura 36). É o maior osso do complexo esquelético do neurocrânio, sendo estreito e alongado. O osso frontal possui uma lâmina ventral ou descendente (ldf) que forma, junto com o ectopterigóide, a parede posterior da órbita. A lâmina descendente do frontal se sobrepõe à superfície lateral do pteroesfenóide, cobre o segmento anterior do prótico e se

estende ventralmente até o basiesfenóide, delimitando toda a região lateral posterior da região orbital. Durante a análise e comparação dos exemplares observaram-se variações no formato da borda anterior da lâmina descendente do frontal. Cada frontal se articula, anteriormente com o mesetmóide e com o etmóide lateral e, posteriormente, com o parietal, o pterótico e com o esfenótico. Ventralmente, o frontal se articula com o pteroesfenóide, ectopterigóide e com o proótico. Dorsalmente cada frontal se une a sua contraparte na linha média do neurocrânio. As bordas da extremidade posterior do exemplar GF00652 apresentam-se alinhadas, formando uma superfície reta irregular. Durante a análise e comparação dos exemplares, foram observadas variações na borda da extremidade posterior dos frontais.

O proótico é um osso de formato semelhante a um triângulo irregular formando as paredes do forame magno, por onde saem os ramos dos nervos trigêmeo-facial e da veia jugular, e compõe a comissura lateral (Travers, 1984a; Britz e Kottelat, 2003). A porção anterior do proótico é alongada e se articula com o pteroesfenóide. A margem dorso-posterior do proótico forma, junto com a margem antero-ventral do esfenótico, a fossa anterior onde se encaixa o côndilo anterior do hiomandibular. O proótico se articula dorsalmente com a lâmina ventral do frontal, que cobre parte da sua porção anterior, com o pteroesfenóide e com o esfenótico (Figura 37). A região ventral se articula com o paraesfenóide e, posteriormente, com o intercalar.

O parietal é um osso par que forma o teto craniano (Figura 36). O osso apresenta uma estrutura plana e de formato trapezoidal. Cada parietal articula-se anteriormente com o frontal, lateralmente com o pterótico e posteriormente com o epiótico e com o supraoccipital. O formato da margem anterior possui uma variação entre os exemplares em decorrência da articulação com a borda posterior do frontal. Desta forma, classificar esta variação seria duplicar a informação de variação anteriormente apresentada para a superfície posterior do frontal.

O esfenótico é um osso par localizado na região dorsolateral do neurocrânio e de formato aproximado a um tetraedro disposto horizontalmente (Figura 37). Nos Synbranchidae, esse osso é excluído da órbita pela lâmina descendente do frontal. O esfenótico possui o processo pós-orbital, proeminente localizado dorsalmente à comissura lateral. O processo se estende em direção anterolateral e não apresenta variações relevantes quando comparados com os exemplares representantes das outras bacias. Posterior ao processo pós-orbital, está localizada a fossa hiomandibular anterior, onde se encaixa o processo antero-dorsal do hiomandibular. O esfenótico se articula anterodorsalmente com o

frontal e antero-ventralmente com o proótico. Posteriormente, esse osso articula-se com o pterótico e com o intercalar.

O pterótico forma o teto lateral e pósterolateral do neurocrânio (Figura 37). Sua superfície dorsal apresenta um formato triangular ligeiramente côncava. Posterolateralmente, o pterótico apresenta o processo posterior que possui, em sua extremidade, um forame lateral, através do qual o canal pré-opercular se comunica com o canal supratemporal. Os exemplares de *Synbranchus marmoratus* da bacia da Guiana apresentam uma projeção bem desenvolvida representada por um processo direcionado em sentido posterolateral. Durante a análise e comparação foi observada uma variação no formato do processo. O canal supratemporal percorre diagonalmente o pterótico até o frontal, onde encontra o canal supraorbital, formando a comissura supratemporal. Na região anterior à crista lateral, entre a face lateral externa do pterótico e do esfenótico, está presente a fossa hiomandibular, onde se encaixa o processo posterior do hiomandibular. Esse osso se articula anteriormente com o esfenótico e, uma pequena extremidade anterior, com o frontal; antero-dorsalmente com o parietal; e pósterodorsalmente com a porção dorsal do epiótico. Ventralmente, o pterótico limita-se com o intercalar e, posteriormente, se articula com o epiótico e com o exoccipital.

O epiótico forma junto com o pterótico, o teto posterolateral do neurocrânio (Figura 37). Sua superfície dorsal possui um formato quadrangular, sendo a mesma levemente côncava e apresentando um processo triangular direcionado posterolateralmente. A parede posterior do processo presente na região mais posterior do epiótico possui uma faceta de articulação onde o pós-temporal se articula. O formato deste processo é bem desenvolvido no espécime GF00652. Por outro lado, o exemplar GF00651 apresenta um processo pouco desenvolvido. Estes dois tipos de processos foram observados em outros exemplares representantes das diferentes bacias. O osso se articula anteriormente com o parietal e na lateral externa com o pterótico. Na linha média, o epiótico se articula com o supraoccipital e, posteriormente, com o exoccipital e com o pós-temporal.

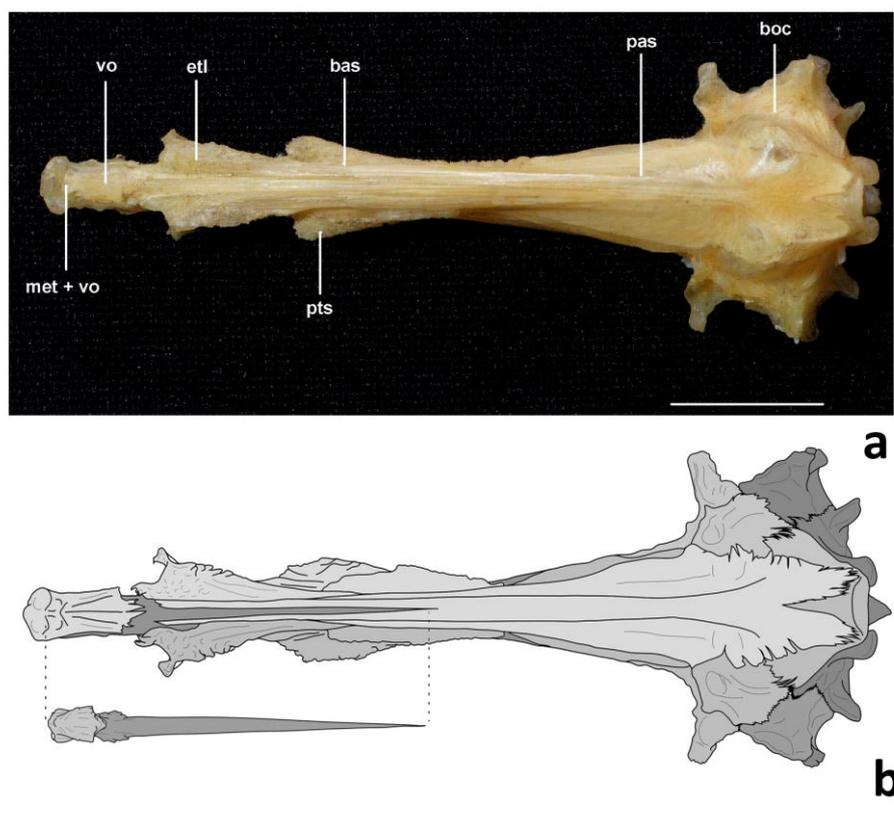
O supraoccipital é um osso ímpar localizado na linha média da região pósterodorsal do neurocrânio (Figura 37). A extremidade posterior do exemplar GF00652, não articulada com nenhum osso, apresenta o formato da sua borda posterior semelhante à ponta de uma lança, limitada por uma extremidade extremamente aguda. Em contrapartida, o BO00648 apresenta o formato da borda posterior arredondada. Estes dois formatos da região posterior do supraoccipital estão distribuídos em outros representantes das diferentes bacias estudadas. O osso se articula anteriormente com os parietais, nas laterais com cada epiótico e, posteroventralmente, com cada exoccipital.

O intercalar forma a parede posterolateral da cápsula ótica, adjacente à fossa hiomandibular. Esta estrutura possui o formato irregular e uma pequena ponte formada pela junção de dois pequenos processos presentes na sua porção anterior. O intercalar articula-se anteriormente com o proótico, ventralmente com o basioccipital, posteriormente—com o exoccipital e dorsalmente com o esfenótico e o pterótico (Figura 37).

O basioccipital é um osso ímpar situado posteriormente ao paraesfenóide e formando a região póstero-ventral do neurocrânio (Figura 38). Sua região mais posterior apresenta o côndilo de articulação com a primeira vértebra (“hemispherical condyle” de Britz e Kottelat, 2003): superfície côncava que estabelece uma articulação do tipo *plugue* com a extremidade anterior convexa da primeira vértebra (articulação “*pluglike*” de Rosen e Greenwood, 1976). Antero-ventralmente, articula-se com o paraesfenóide. Sua região dorsal articula-se com o intercalar e com o exoccipital. Posteriormente, o basioccipital articula-se com a primeira vértebra da coluna vertebral.

O exoccipital é um osso par da parede posterior do neurocrânio que, na região anterior apresenta uma lâmina expandida que forma parte da parede posterolateral do neurocrânio (Figura 37). O exoccipital possui três forames principais referentes aos nervos glossofaríngeo, occipitovertebral e vagal. Sua região posterior forma as paredes do forame magno e sua região ventral apresenta duas projeções com facetas de articulação para a primeira vértebra. Anteriormente, o exoccipital articula-se com o pterótico e com o intercalar. Dorsalmente ao epiótico e ao supraoccipital. Ainda na região dorsal, foi observada uma variação individual em alguns espécimes, onde, em alguns casos, os exoccipitais estão separados pelo supraoccipital ou, em outros espécimes, cada exoccipital se conecta com a sua contraparte através de uma pequena comunicação. Ventralmente, esse osso articula-se com o basioccipital.

Figura 38 – Superfície ventral do neurocrânio de *S marmoratus*



Legenda: a) Superfície ventral do neurocrânio de *S marmoratus* PNT467 e; b) Ilustração da superfície ventral do espécimen MNHN00652 destacando o vomer do neurocrânio. vo – vomer; met + vo – mesetmóide + vomer; etl – etmóide lateral; bas – basiesfenóide; pas – paraesfenóide; boc – basioccipital; pts – pteroesfenóide. Escala 10mm.

Fonte: O Autor, 2016.

3.3.6.5 Complexo maxilar

O complexo maxilar é composto por os dois ossos pares: o maxilar (mx) e o pré-maxilar.

O maxilar é um osso alongado, de formato laminar e localizado na porção superior do complexo maxilar (Figura 39). Esse osso não possui dentes e se apresenta estreito e comprimido dorsoventralmente na região anterior. A extremidade mais anterior apresenta uma bifurcação formando uma sínfise reduzida de articulação entre os maxilares e, após a sínfise, um processo dorsal através do qual o maxilar se liga ao nasal e ao lacrimal. Posteriormente, a estrutura laminar é curvada ventralmente, dando a impressão de ser uma estrutura achatada

lateralmente. A extremidade posterior é alargada, região na qual se articula com o processo coronóide do dentário. Anteriormente, acima da sínfise, os maxilares conectam-se à extremidade anterior do neurocrânio formada pelo vômer e pelo mesetmóide. A borda ventral do maxilar sutura-se ao pré-maxilar ao longo de quase toda a sua extensão.

O pré-maxilar apresenta um formato estreito e alongado, suturado à borda ventral do maxilar por tecido conectivo, ao longo de quase toda a sua extensão (Figura 39). Ventralmente esse osso apresenta dentes cônicos ao longo de toda sua extensão. A região anterior é dilatada abrangendo um pequeno sulco onde se localiza o órgão olfatório. Os pré-maxilares se juntam na linha média, formando um processo sinfisial articulado à face ventral da extremidade anterior do vômer e do mesetmóide.

3.3.6.6 Complexo mandibular

O complexo mandibular é formado por três ossos pares: dentário (den), articular (art) e retroarticular (ret).

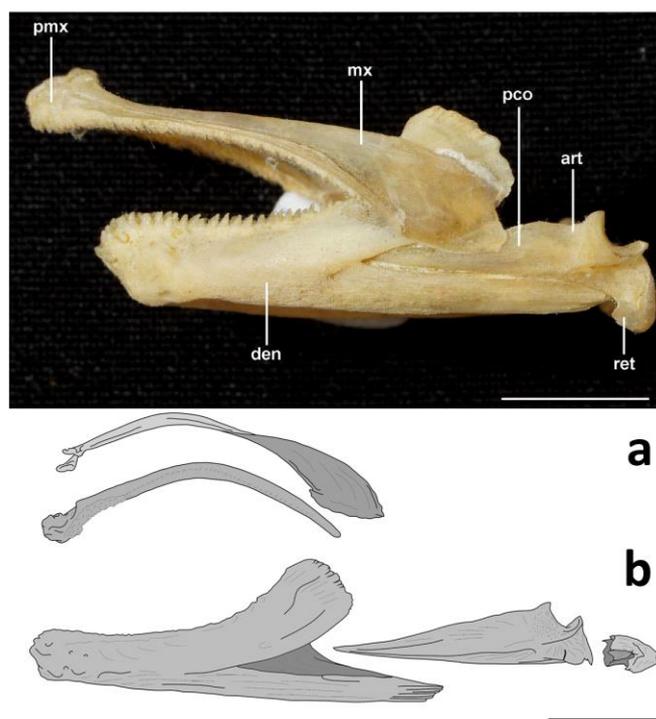
O dentário é um osso robusto constituído por uma estrutura comprimida lateralmente e apresentando uma leve curvatura interna da sua porção anterior (Figura 39). O mesmo possui dentes cônicos em toda a sua superfície dorsal e comporta o canal mandibular. O dentário apresenta o formato de uma estrutura delgada e alongada como observado no espécime GF00652. Por outro lado, PNT466 apresenta uma estrutura mais robusta e curta em relação ao exemplar anteriormente citado. A região posterior do dentário bifurca-se formando dois processos: o processo coronóide e o processo ventral. O processo coronóide é direcionado póstero-dorsalmente e se articula com o maxilar na sua porção mais posterior. Este processo coronóide possui uma fileira de dentes largos e de extremidade arredondada na sua porção mais posterior em todos os exemplares examinados. O processo ventral se apresenta mais alongado e estreito que o processo coronóide delimitado posteriormente por uma extremidade afunilada. Anteriormente, cada dentário se encontra na linha média originando assim a sínfise mandibular. Ao longo da superfície dorsal do processo ventral articula-se o osso articular, que se insere na bifurcação do dentário e se estende ao longo de todo o processo ventral.

O articular insere-se entre os processos coronóide e ventral do dentário, articulando-se ventralmente ao dentário ao longo de toda a sua superfície e formando a parte póstero-dorsal do arco mandibular. Esse osso é alongado, de formato triangular, com a extremidade anterior

estreita que se insere na bifurcação do dentário. Na metade da sua extensão, o articular apresenta um processo coronóide reduzido, formando um pequeno pico em alguns espécimes. No exemplar GF00652, este processo não é observado. No entanto, alguns exemplares apresentam este processo desenvolvido (ver discussão de morfótipos). A superfície pósterodorsal do articular apresenta uma faceta de articulação, na qual o côndilo do quadrado se insere. Posteroventralmente, o articular se articula com o retroarticular.

O retroarticular é um osso pequeno localizado na parte posterior do complexo mandibular (Figura 39). O osso apresenta um formato semelhante a um revolver onde a extremidade anterior, semelhante ao cano, se insere no articular e a extremidade posterior, semelhante ao cabo, se articula com o interopérculo.

Figura 39 – Superfície lateral do complexo mandibular



Legenda: a) Superfície lateral do complexo mandibular de *S. marmoratus* PNT467; b) ilustração da superfície lateral externa de *S. marmoratus* MNHN00652. pmx – pré-maxilar; mx – maxilar; pco – processo coronóide; art – articular; ret – retroarticular; den – dentário. Escala 10mm.

Fonte: O Autor, 2016.

3.3.6.7 Arco hiopalatino

O conjunto de ossos que compõem o arco hiopalatino, forma a superfície lateral do neurocrânio. Este conjunto é constituído pelos seguintes ossos pares; palatino (pl), ectopterigóide (ecpt), metapterigóide (mpt), quadrado (qua), simplético (si) e hiomandibular (hm).

O palatino é o menor osso do arco hiopalatino e apresenta um formato aproximadamente triangular, sendo a porção anterior larga e a posterior com uma projeção afunilada (Figura 40). Esse osso é situado na porção mais anterior do arco hiopalatino e possui dentes cônicos na sua superfície ventral anterior. A borda anterior do palatino apresenta uma leve convexidade, superfície onde se encaixa na linha media do vômer. A superfície porção anterior do lateral palatino apresenta um processo lateral em forma de espinho direcionado lateralmente. Posteriormente, o palatino se articula à região anterior do ectopterigóide.

O ectopterigóide é o maior osso deste conjunto, preenchendo assim quase toda a parede lateral do arco hiopalatino (Figura 40). Esse osso apresenta um formato aproximadamente triangular, afunilado em sentido anterior e amplo posteriormente. A metade anterior da borda ventral do ectopterigóide apresenta dentes cônicos formando, junto com o palatino, parte da parede dorsal da cavidade oral. A metade posterior, a borda ventral do ectopterigóide curva-se ventralmente e não possui dentes. A região mais anterior do ectopterigóide forma a parede ventral e parte da parede posterior da cavidade orbital, junto com a lâmina ventral do frontal. Anteriormente, o ectopterigóide articula-se com o palatino e, posteriormente, com o quadrado. Sua borda dorsal conecta-se com o etmóide lateral, com a lâmina ventral do frontal e com o basiesfenóide, unindo o neurocrânio ao arco hiopalatino.

O metapterigóide é um osso pequeno e de formato aproximadamente trapezoidal. Articula-se anteriormente e ventralmente ao quadrado, posteriormente ao hiomandibular e ao proótico.

O quadrado possui o formato aproximadamente triangular, assemelhando-se a um leque com a borda dorsal irregular (Figura 40). Esse osso está localizado na porção póstero-ventral, conectando a mandíbula ao arco hiopalatino através de uma superfície ventral- que forma o côndilo de articulação com o articular. Dorsalmente, o quadrado se articula ao metapterigóide através de uma fenda de largura correspondente a superfície ventral do mesmo. A porção mais posterior ainda da sua superfície dorsal possui um sulco onde se

encaixa o simplético. A borda anterior do quadrado se articula com o ectopterigóide e a borda posterior com o pré-opérculo.

O simplético é um osso de formato triangular e alongado (Figura 40). Sua extremidade ventral é afunilada e sua extremidade dorsal larga e arredondada. O simplético está inserido na região posterior dentro da superfície lateral interna do quadrado e se articula dorsalmente ao hiomandibular e posteriormente ao pré-opérculo.

O hiomandibular é um osso de formato irregular perfurado pelo forame do ramo hiomandibular do nervo facial (Figura 40). O osso apresenta três côndilos de articulação: côndilos antero-dorsal e póstero-dorsal que se articulam, respectivamente, com o esfenótico/proótico e o pterótico; e o côndilo posterior onde se articula com o opérculo. A porção anterior do hiomandibular se articula com o metapterigóide, a porção ventral se articula com o simplético e a sua porção posterior com a região dorsal do pré-opérculo.

3.3.6.8 Série opercular

A série opercular é composta por quatro ossos pares: pré-opérculo (pop), opérculo (op), subopérculo (sop) e interopérculo (iop).

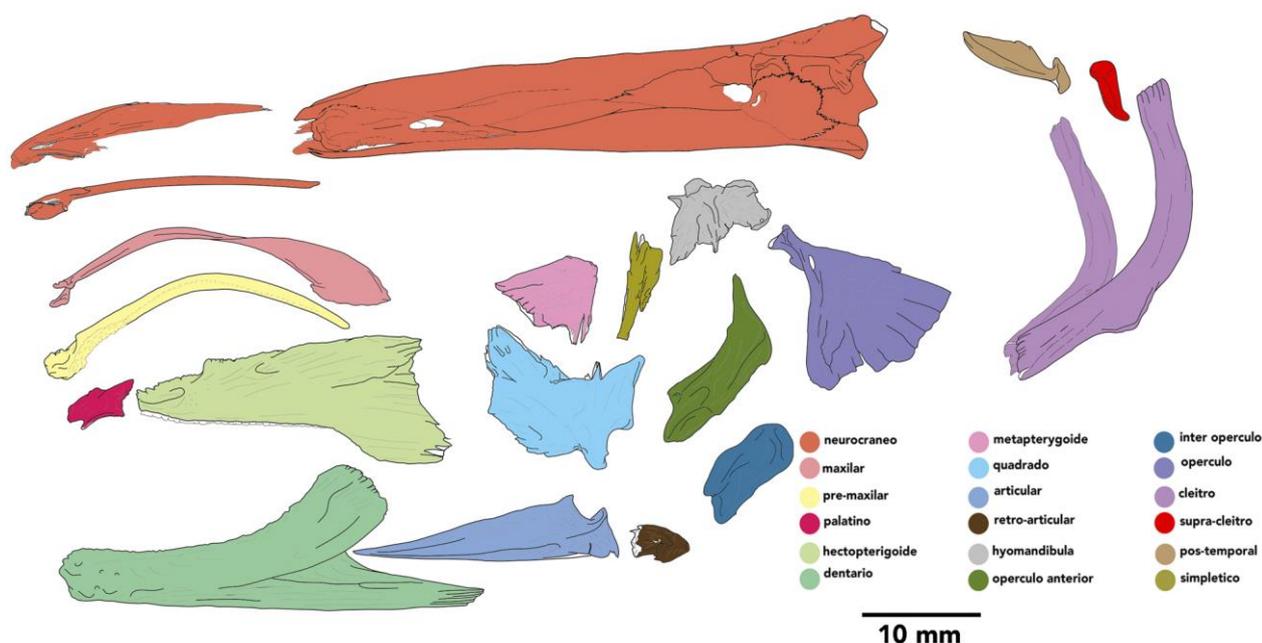
O pré-opérculo é um osso disposto verticalmente na região anterior da série opercular (Figura 40). O osso apresenta um formato semelhante a uma letra “L” invertida, onde a sua extremidade superior afunilada apresenta uma curvatura em sentido anterodorsal, articulando-se a um sulco na parede externa do hiomandibular. O osso abriga o canal sensorial pré-opercular que percorre em toda a sua extensão. A porção inferior da borda anterior do pré-opérculo se articula ao simplético e ao quadrado e, ventralmente, a uma pequena porção da borda posterior, ao interopérculo.

O opérculo constitui o maior osso da série opercular e apresenta o formato semelhante a um leque disposto transversalmente ao neurocrânio (Figura 40). A região dorsal da porção anterior apresenta uma faceta de articulação côncava que se encaixa ao processo posterior do hiomandibular. Contíguo à faceta encontra-se o poro do canal opercular que atravessa o osso transversalmente. A porção posterior do opérculo é fracamente ossificada, de bordas irregulares e cobrindo grande parte do subopérculo. Uma grande variação interespecífica foi observada nesta região do osso em consequência à perda parcial da borda posterior em decorrência do método de preparação dos exemplares.

O subopérculo apresenta um formato laminar retangular de extremidades levemente afuniladas. O osso é escassamente ossificado e está disposto horizontalmente ao neurocrânio e inferiormente ao opérculo, sendo em grande parte recoberto por este. O subopérculo conecta-se anteriormente ao interopérculo, dorsalmente à face interna e ventral do opérculo, recobrendo ventralmente parte das extremidades distais dos raios branquiostegais.

O interopérculo é o menor osso da série opercular e apresenta um formato aproximadamente quadrangular, localizado na região ventral do pré-opérculo. O interopérculo conecta-se anteriormente à região posterior do retroarticular e posteriormente ao subopérculo. A sua borda ventral recobre parcialmente a superfície anterior dos raios branquiostegais mais posteriores.

Figura 40 – Ilustração do complexo esquelético anterior de *S marmoratus*



Legenda: Ilustração dos diferentes arcos osteológicos relacionados ao neurocrânio com a identificação de cada osso correlacionado por cores. Ilustração baseada na estrutura óssea do espécimen MNHN00652.

Fonte: O Autor, 2016.

3.3.6.9 Arco hióide

O arco hióide é constituído pelos seguintes ossos; basihial (bh), hipohial dorsal (hpd), hipohial ventral (hpdv), urohial (uh), ceratohial anterior (cea), ceratohial posterior (cep), interhial (ih) e raios branquiostegais (rb).

O basihial é um dos dois ossos ímpares do conjunto de ossos que constitui o arco hioide (Figura 41). O osso apresenta o formato de uma barra alongada e levemente afunilada em sentido posterior, situado na linha média da porção anterior do arco hióide. A porção mais anterior do osso é robusta e larga, achatada dorsoventralmente apresentando uma leve curvatura anterior e ventral. A porção posterior do basihial é fusionada ao primeiro basibrânquial, formando uma estrutura complexa de formato aproximado a um “Z”. Esse osso apresenta a cada lado uma faceta de articulação na qual o côndilo do hipohial dorsal se articula. Ventralmente o basihial se articula a uma pequena porção da região mais anterior do hipohial ventral.

O hipohial dorsal, o menor osso do arco hioide apresenta um formato triangular irregular articulado posteriormente à extremidade anterior do ceratohial anterior (Figura 41). Sua borda anterior e dorsal é arredondada e na mesma região, mas, na superfície interna, o osso apresenta um côndilo para a articulação com o basihial. Ventralmente, o hipohial dorsal está fusionado com o hipohial ventral. O hipohial ventral é um osso par levemente maior que o hipohial dorsal. O osso apresenta um formato triangular e irregular alongado posteriormente. Sua extremidade posterior se articula firmemente à região anteroventral do ceratohial anterior. Os hipohiais ventrais se conectam na linha média da sua porção mais anterior e a região anterior da sua superfície lateral interna, posterior à conexão entre eles mesmos, os hipohiais ventrais se articulam a porção mais anterior do urohial.

O ceratohial anterior é o maior osso da barra hioide, o mesmo é um osso par localizado posteriormente aos hipohiais (Figura 41). Cada ceratohial apresenta o formato de uma barra alongada e robusta comprimida lateralmente. Cada osso se articula anteriormente com os hipohiais dorsal e ventral, posteriormente com o ceratohial posterior e a sua superfície lateral externa posterior o osso sustenta dois a três raios branquiostegais.

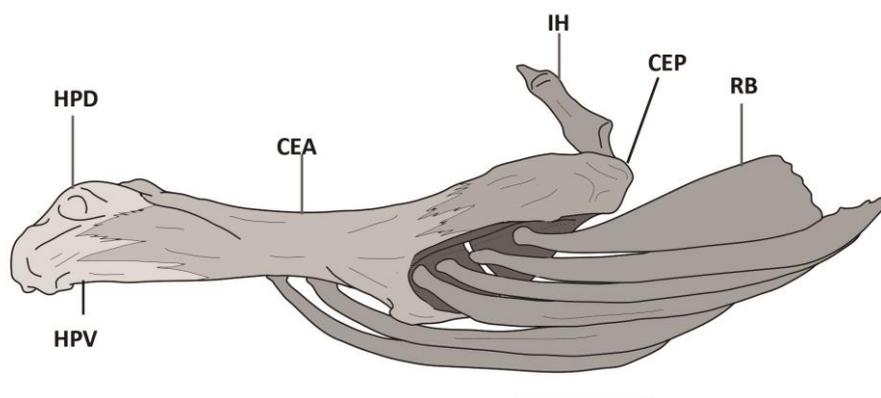
O ceratohial posterior é um osso par, de formato aproximado a um triângulo irregular e situado na região mais posterior da barra hioide (Figura 41). Sua borda anterior é acentuadamente irregular a qual se articula com a extremidade posterior do ceratohial

anterior. Sua superfície lateral externa sustenta de três a quatro raios branquiostegais posteriores. A sua porção posterodorsal o osso se articula com o interhial.

O interhial é um osso par que apresenta um formato tubular disposto verticalmente acima da região posterior do ceratohial posterior. A sua superfície lateral externa se articula com a superfície ventral do hiomandibular, ligando assim o arco hióide ao arco hiopalatino (Figura 41).

O número de raios branquiostegais nos exemplares examinados é de 12 raios no total, sendo seis raios a cada lado: quatro deles articulados dentro da concavidade formada pela articulação do ceratohial anterior e posterior e dois raios anteriores articulados a superfície ventral do ceratohial anterior. Os raios branquiostegais apresentam um formato laminar, comprimidos dorsoventralmente e afunilados gradativamente em sentido posterior. A extremidade anterior, articulada à barra hioide, é lobular e de bordas arredondadas. Os raios branquiostegais, de exemplares maiores de 20 mm, apresentam a extremidade posterior mais ossificada em relação a exemplares menores de 20 mm. Como a extremidade posterior dos raios é menos ossificada, em alguns exemplares ouve a perda total ou parcial dos raios em decorrência a metodologia de preparação utilizada para este estudo.

Figura 41 – Ilustração da superfície lateral externa do arco hióide



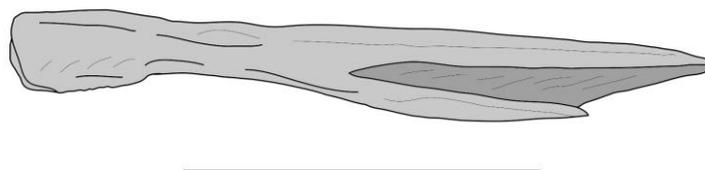
Legenda: Ilustração da superfície lateral externa da barra hióide baseada no exemplar MNHN0052. hpd – Hipohial dorsal; hpv – hipohial ventral; cea – ceratohial anterior; cep – ceratohial posterior; hi – interhial e rb – raios branquiostegais. Escala 10mm.

Fonte: O autor. 2016.

O urohial é o segundo osso ímpar do conjunto de ossos do arco hioide, sendo localizado na linha média, entre as duas barras hioides e sob o basiial (Figura 42). Todos os exemplares analisados apresentaram um formato alongado e levemente afunilado na sua

região posterior. Sua porção mais anterior é tubular e o restante do osso apresenta um formato laminar achatado lateralmente. Dentre os espécimes em estudo, foi observada uma diferença no formato da borda ventral da região posterior, possivelmente em decorrência da perda total ou parcial desta região durante a preparação (essa região apresenta uma escassa ossificação na sua composição). A face dorsal do urohial apresenta uma quilha originada posteriormente à região mais tubular da estrutura. A quilha alongada em direção posterior afunila-se gradativamente delimitando o osso com uma extremidade posterior aguda. Anteriormente, o urohial se articula à região anterior de cada hipohial ventral, através de um côndilo presente na sua superfície anterior e dorsalmente ao primeiro basibranquial.

Figura 42 – Superfície lateral de urohial



Legenda: Ilustração da superfície lateral do urohial do espécimen MNHN00652. Escala 10mm.
Fonte: O Autor, 2016.

3.3.6.10 Região branquial

Na presente tese de doutorado, a descrição da região branquial é dividida em arco branquial dorsal e arco branquial ventral.

3.3.6.11 Arco branquial dorsal

Segundo Rosen & Greenwood 1976, o interarcual do arco branquial dorsal dos Synbranchidae apresenta-se ossificado e, o primeiro faringobranquial está ausente. Estas características foram corroboradas por este estudo durante a análise dos exemplares. O

complexo do arco branquial dorsal é composto pelos seguintes elementos pares: quatro epibranquiais (eb-1, eb-2, eb-3, eb-4), dois faringobranquiais (fb-2, fb-3) e um interarcual (ia) (Figura 43).

O primeiro epibranquial apresenta um formato aproximadamente triangular, alongado, achatado dorsoventralmente na sua extremidade posterior e disposto transversalmente em relação à linha média (Figura 43). A região pósterio-dorsal, da borda interna do primeiro epibranquial, apresenta um pequeno entalhe, na qual a porção anterior do interarcual se articula. Durante a análise dos exemplares, não foram observadas variações relevantes no formato do entalhe onde o interarcual se articula. A extremidade posterior do primeiro epibranquial articula-se com a extremidade posterior do primeiro ceratobranquial.

O segundo epibranquial apresenta o formato de uma barra tubular levemente curvada ao longo do seu comprimento (Figura 43). O osso está posicionado transversalmente à linha média e posteriormente ao primeiro epibranquial, mas sem se articular com o mesmo. A borda anteroventral da extremidade interna se articula com o segundo faringobranquial. Próximo a esta articulação, a borda anteroventral do segundo epibranquial se articula com a extremidade pósterio-dorsal do interarcual. A extremidade interna se articula com o terceiro faringobranquial e sua extremidade externa se articula com a extremidade distal do segundo ceratobranquial.

O terceiro epibranquial é o menor dos ossos epibranquiais. Este osso apresenta o formato semelhante a um “Y” onde a extremidade bifurcada está voltada para a linha média (Figura 43). A extremidade interna da bifurcação anterior, levemente maior que a posterior, se articula à região posterior do terceiro faringobranquial. A bifurcação posterior se articula a borda lateral da porção anterior do quarto epibranquial. A extremidade distal do terceiro epibranquial esta articulada ao terceiro ceratobranquial.

O quarto epibranquial apresenta o formato de uma barra robusta, comprimida dorsoventralmente, e de extremidades levemente largas (Figura 43). O osso está disposto transversalmente à linha média e se articula na sua extremidade interna com a quarta placa dentígera superior (pds-4). Sua borda anterior se articula com a bifurcação posterior do terceiro epibranquial e sua extremidade distal se articula com o quarto ceratobranquial.

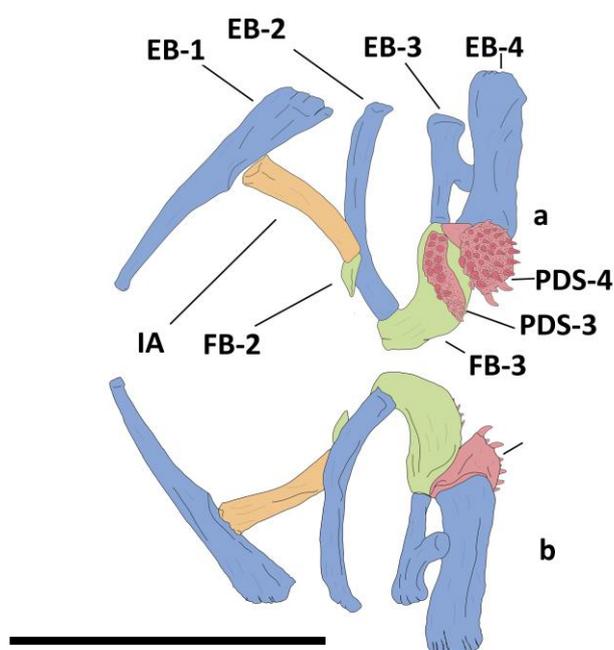
O segundo faringobranquial é o menor osso do arco branquial dorsal. Este pequeno osso apresenta um formato tubular com a extremidade interna aguda e disposta transversalmente a linha média. Sua extremidade anterior não está articulada a nenhuma estrutura. A superfície dorsal da sua extremidade distal se articula à região anteroventral da

extremidade proximal do segundo epibrânquial. A borda anterior da extremidade distal se articula com a extremidade posterior do interarcual.

O terceiro faringobrânquial apresenta um formato triangular, com sua extremidade distal larga e arredondada e a sua extremidade proximal afunilada (Figura 43). O osso está posicionado transversalmente à linha média e possui, fundida à sua face ventral, uma placa dentígera, correspondente à terceira placa dentígera superior (pds-3) das que estão presentes no arco branquial dorsal. O terceiro faringobrânquial se articula na sua extremidade proximal à extremidade proximal do segundo epibrânquial. Uma pequena porção da sua extremidade distal se articula à bifurcação anterior do terceiro epibrânquial e o restante à quarta placa dentígera superior.

O interarcual apresenta o formato de uma barra alongada com a extremidade anterior levemente alargada (Figura 43). O osso está situado entre o primeiro e o segundo epibrânquial e, disposto levemente em sentido transversal à linha média. A porção anterior e distal do osso se articula com a borda interna do primeiro epibrânquial. Sua porção posterior proximal articula-se a uma pequena porção da borda anterior do segundo faringobrânquial e à borda anteroventral do segundo epibrânquial.

Figura 43 – Ilustração do arco branquial dorsal de *S marmoratus*



Legenda: Ilustração do arco branquial dorsal baseado no espécimen *S marmoratus* PNT518; a) Superfície ventral do arco branquial dorsal; b) superfície dorsal. Epibrânquiais – eb-1, eb-2, eb-3, eb-4; faringobrânquiais, fb-2, fb-3; pds-3- terceira placa dentígera superior ; pds-4 quarta placa dentígera superior. ia – Interarcual. Escala 10 mm.

Fonte: O Autor, 2016.

3.3.6.12 Arco branquial ventral

O arco branquial ventral é formado por: três basibranquiais (bb-1, bb-2, bb-3), três pares de hipobranquiais (hp-1, hp-2, hp-3) e cinco pares de ceratobranquiais (cb-1, cb-2, cb-3, cb-4, cb-5) (Figura 44).

O primeiro basibranquial é fusionado à região posterior do basiial (Figura 44). O osso apresenta um formato aproximadamente quadrangular e comprimido lateralmente. O mesmo é situado na linha média anterior conformando a base do arco branquial ventral. A superfície dorsal apresenta uma leve concavidade onde se articula com o segundo basibranquial. A sua superfície ventral é ligeiramente mais alongada e convexa, afunilando-se posteriormente. A superfície lateral da extremidade anterior do primeiro basibranquial se articula com uma pequena porção dos hipohiais dorsais. A superfície lateral da sua extremidade posterior se articula aos primeiros hipobranquiais e ventralmente ao urohial.

O segundo basibranquial é o osso mais comprido dos três basibranquiais que apresenta o formato de uma barra comprimida dorsoventralmente e se encontra situado contíguo ao primeiro basibranquial (Figura 44). A extremidade anterior do segundo basibranquial apresenta uma leve largura maior em relação a sua extremidade oposta. Sua extremidade posterior se articula ao terceiro basibranquial e a uma pequena porção da região anterior dos segundos hipobranquiais.

O terceiro basibranquial é o menor osso do conjunto basibranquial (Figura 44). Apresenta o formato de uma pequena barra afunilada em sentido posterior e está situado na linha média, entre os segundos e os terceiros hipobranquiais, contíguo ao segundo basibranquial. A superfície lateral da sua extremidade anterior apresenta uma faceta de articulação a cada lado onde os segundos hipobranquiais se articulam. Sua extremidade posterior se articula na linha média formada pela união da extremidade posterior dos terceiros hipobranquiais.

O primeiro hipobranquial é o maior dos três elementos ósseos, sendo este situado transversalmente a linha média (Figura 44). O exemplar GF00652 apresenta o formato de uma barra retangular alongada em sentido posterior e comprimida dorsoventralmente ao longo de todo seu comprimento. A superfície interna da extremidade anterior apresenta uma projeção aguda e bem desenvolvida que se articula à base do primeiro do primeiro basibranquial. Posteriormente o primeiro hipobranquial se articula com a extremidade anterior do primeiro

ceratobranquial. No entanto, GF00649 apresenta uma barra curvada, sendo assim sua borda anterior convexa, e a projeção da porção anterior robusta.

O segundo hipobranquial possui a metade do comprimento do anterior e está situado igualmente em sentido transversal à linha média. O osso apresenta o formato de uma barra retangular comprimida dorsoventralmente. A extremidade anterior do osso possui o formato semelhante à ponta de uma lança, onde a superfície lateral interna se articula à extremidade mais posterior do segundo basibranquial e ao mesmo tempo a extremidade mais anterior do terceiro basibranquial. Ainda na extremidade anterior, a superfície anterolateral apresenta uma pequena projeção aguda e direcionada em sentido anterolateral. Posteriormente, o osso se articula a extremidade anterior do segundo ceratobranquial.

O terceiro hipobranquial é o menor dos três componentes ósseos e, está situado transversalmente à linha média em sentido oposto aos componentes anteriores (Figura 44). O osso apresenta o formato de uma pequena barra retangular levemente arqueada na sua borda anterior. A borda posterior da extremidade anterior do terceiro hipobranquial se articula com ao terceiro ceratobranquial. A borda anterior da extremidade posterior se articula com uma pequena porção da extremidade posterior do terceiro basibranquial e a sua borda posterior conecta-se a porção anterior do quarto ceratobranquial por meio de tecido conectivo.

Os ceratobranquiais são os maiores ossos do arco branquial ventral (Figura 44). Estes cinco pares de ossos alongados, apresentam o formato de uma barra comprimida dorsoventralmente e expandidas em sentido posterolateral.

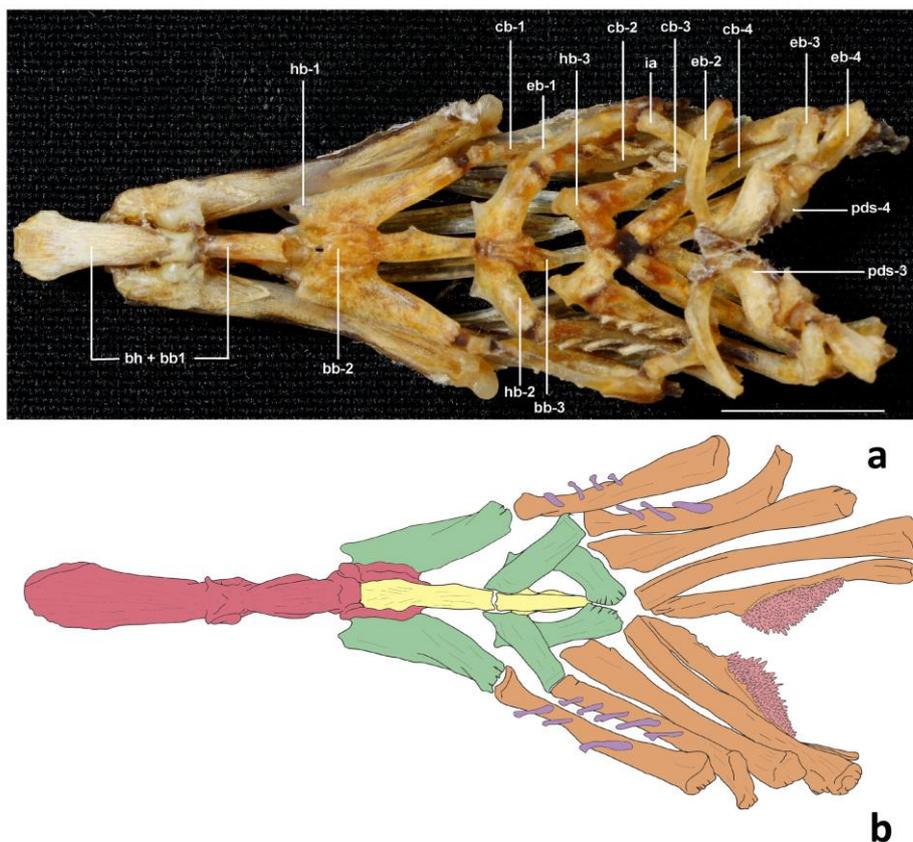
O primeiro, segundo e terceiro ceratobranquial são alongados e apresentam uma curvatura acentuada das suas regiões posteriores direcionadas dorsalmente. Estes ceratobranquiais apresentam os raios branquiais na sua superfície dorsolateral. A extremidade anterior do primeiro, segundo e terceiro ceratobranquial articulam-se, respectivamente, com o primeiro, segundo e terceiro hipobranquiais. As extremidades posteriores dos três primeiros ceratobranquiais estão articuladas com as extremidades distais do primeiro, segundo e terceiro epibranquiais respectivamente.

O quarto ceratobranquial possui um formato semelhante aos anteriores com a diferença que este osso não possui raios branquiais. A extremidade anterior deste osso está conectada por meio de tecido conectivo a região posterior do terceiro hipobranquial e a uma pequena porção da região anterior dorsal do quinto ceratobranquial. A extremidade posterior do quarto ceratobranquial articula-se com o quarto epibranquial.

O quinto ceratobranquial apresenta o formato semelhante às quatro anteriores. A diferença dos outros, o quinto ceratobranquial é constituída por uma barra mais delgada e

apresenta a placa dentígera inferior, a qual está situada na borda interna do ceratobranquial. Sua extremidade anterior se articula ao quarto ceratobranquial e posteriormente ao cleitro através de tecido conectivo.

Figura 44 – Arco branquial ventral de *S marmoratus*



Legenda: a) Superfície dorsal do arco branquial de *S marmoratus* PNT466. b) Ilustração do arco branquial ventral baseado no exemplar *S marmoratus* PNT518. bh + bb1 – basiial + primeiro brasibranquial; hb1 – primeiro hipobranquial; cb-1 – primeiro ceratobranquial; eb-1 – primeiro epibranquial; hb-3 – terceiro hipobranquial; cb-2 – Segundo ceratobranquial; ia – interarcual; cb-3 – terceiro ceratobranquial; eb-2 – Segundo epibranquial; cb-4 – quarto ceratobranquial; eb-3 – terceiro epibranquial; eb-4 quarto epibranquial; pds-4 – quarta placa dentígera superior; pds-3 – terceira placa dentígera superior; bb-3 – terceiro basibranquial; hb-2 – Segundo hipobranquial; bb-2 – Segundo basibranquial. Escala 10mm.

Fonte: O Autor, 2016.

3.3.6.13 Cintura peitoral

A cintura peitoral é constituída pelos seguintes ossos pares; pós-temporal (pst), supracleito (scl) e o cleito (cl).

O pós-temporal do exemplar GF00652, assim como os outros dois exemplares da Guiana, apresenta o formato tubular alongado em direção posterior, comprimido lateralmente (Figura 45). Essa estrutura tubular se apresenta levemente curvada em sentido dorsal e lateral, apresentando assim uma superfície ventral convexa e uma superfície lateral externa levemente côncava. A superfície dorsal da barra tubular é percorrida por uma lamina expandida dorsalmente e que percorre toda a extensão da superfície dorsal do túbo. Em vista lateral, a quilha laminar apresenta um formato triangular, sendo o ponto médio da quilha a região mais expandida dorsalmente. Sua extremidade anterior é afunilada e se articula ao neurocrânio através do epiótico.

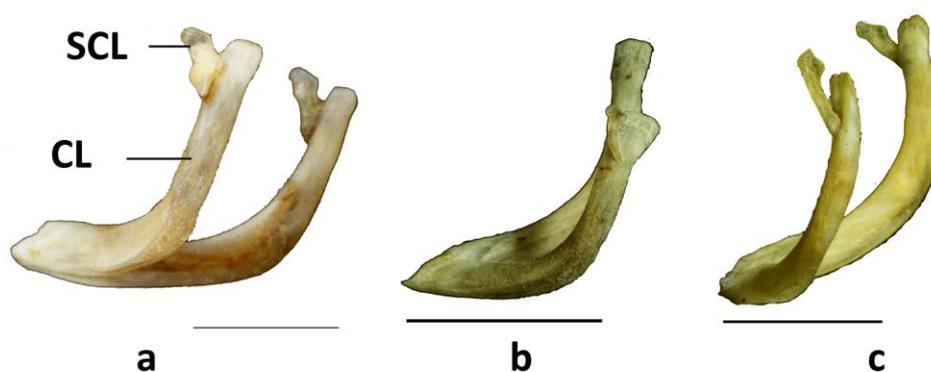
Em todos os exemplares analisados, a extremidade posterior se apresenta mais larga e a mesma não se articula ao supracleito (Figura 45). Durante a análise dos exemplares para este estudo, foram observadas variações no formato da quilha presente na região dorsal pós-temporal. Em alguns indivíduos, esse osso se apresenta reduzido a uma simples haste alongada em decorrência ao pouco desenvolvimento da quilha dorsal do pós-temporal, como constatado em PNT458 proveniente à Bacia Paraná - Paraguai. Outros indivíduos apresentam o pós-temporal com a quilha dorsal mais desenvolvida e robusta com a face dorsal triangular, terminando em formato aproximado de seta como no caso do espécime PNT466 pertencente à bacia do Leste Brasileiro.

O supracleito é o menor osso da cintura peitoral (Figura 45). Este osso está disposto verticalmente na região superior da superfície lateral externa do cleito. O supracleito dos exemplares das Guianas apresenta o formato semelhante a uma pequena barra comprimida lateralmente, apresentando uma extremidade superior lobulada na sua borda anterior, uma extremidade inferior afunilada e a superfície anterior convexa. Durante análise e comparação desta estrutura, foi observada uma variação principalmente no formato das extremidades deste osso. Exemplares como PNT461, coletado no Rio Miracema, apresenta o supracleito estreito, com a superfície dorsal mais alargada e bordas lobuladas nas suas superfícies anterior e posterior da extremidade superior. Em outros indivíduos, esse osso apresenta-se delgado e em linha reta, sem a convexidade da superfície anterior apresentada por outros exemplares.

A superfície lateral interna da extremidade posterior do supracleitro se articula à superfície lateral externa da região superior do cleitro. A extremidade anterior do supracleitro não se articula com o pós-temporal, condição observada igualmente em exemplares de *Monopterus cuchia* e *M. boueti* segundo Rosen & Greenwood, 1976. O mesmo trabalho aponta tal desconexão da cintura peitoral com o neurocrânio como uma característica só observada em *Synbranchus* e as espécies de *Monopterus* citadas anteriormente.

O cleitro é o maior osso da cintura peitoral (Figura 45). Este osso apresenta seu formato semelhante a um “L” voltado para trás, formando assim, uma estrutura laminar robusta e comprimida lateralmente, com sua extremidade anterior disposta horizontalmente e uma extremidade posterior disposta verticalmente. As extremidades anteriores e horizontais se encontram na linha média sob o quarto e quinto ceratobranquial. A extremidade posterior e horizontal se articula ao supracleitro e apresenta-se deslocado ao nível da quarta ou quinta vertebra. Segundo Rosen & Greenwood 1976, o cleitro se apresenta livre do neurocrânio, conectando-se apenas ao quarto e/ou quinto ceratobranquiais e/ou à quarta ou quinta vértebra por uma conexão de tecido conjuntivo ou, muitas vezes, se apresenta totalmente livre do restante dos ossos. Em decorrência a metodologia de preparação, não foi possível corroborar a conexão através do tecido conectivo apontado por esse trabalho.

Figura 45 – Comparação de três cinturas peitorais evidenciando morfotipos diferentes no supracleitro.



Legenda: Superfície lateral da cintura peitoral de *S marmoratus* a) MNHN00652; b) PNT459; c) PNT463. cl – cleitro, scl – supracleitro. Escala 10mm.

Fonte: O Autor, 2016.

3.3.6.14 Coluna vertebral

A coluna vertebral é constituída por três tipos de vértebras, sendo: atlas (primeira vertebra que se articula ao basioccipital); vértebras pré-caudais ou abdominais; e as vértebras caudais (Figura 46). Estas últimas se diferenciam das outras pela presença de arcos hemais. Durante o desenvolvimento da presente tese, a análise do material revelou espécimes com uma variação no número total de vértebras entre 132 e 159. Da mesma forma, o número total de vertebra pré-caudais apresentou uma variação em torno de 76 e 87. Foi observada também uma variação no número de vértebras caudais variando entre 51 e 72 vertebra.

As vértebras dispostas anteriormente se apresentam maiores e as mesmas diminuem de tamanho gradativamente em sentido posterior (Figura 46). Desta forma, as últimas vertebra são estruturas diminutas ou, folículos de ossos, como denominados por Rosen e Greenwood, 1976. Na porção mais posterior do corpo do peixe, em espécimes menores que 20 mm, não é possível distinguir o centro vertebral das demais estruturas acessórias que compõem a vértebra devido ao tamanho reduzido da estrutura.

A primeira vértebra da coluna vertebral, o atlas, é a menor de todas as vértebras pré-caudais (Figura 46 - b). A face anterior da vértebra apresenta uma superfície convexa que se articula no côndilo do basioccipital do neurocrânio que, segundo Rosen & Greenwood, 1976, este tipo de articulação é denominado do tipo *pluglike*. Ainda na face anterior, o atlas apresenta a cada lado dessa região de articulação com o neurocrânio um processo lateral (prl), os quais se articulam com as duas facetas laterais do exoccipital.

A superfície dorsal de todas as vertebra apresenta um arco neural (arn) (Figura 46). A superfície dorsal de cada arco neural apresenta a projeção de um espinho neural (esn) em direção pósterodorsal. Em vista lateral, a base deste espinho se apresenta larga, mas diminuindo de tamanho gradativamente em sentido posterior. Do mesmo modo, a superfície posterior de cada vertebra apresenta de cada lado uma pequena projeção em sentido posterior denominado pós-zigapófises (poz). Por outro lado, cada superfície lateral das vertebra apresenta uma projeção em sentido posterolateral denominado processo transversal (prt). No entanto, só as cinco primeiras vértebras apresentam um epicentral (epc) articulado na extremidade posterior de cada processo transversal. Costelas pleurais estão presentes a partir da sexta vértebra e são sustentadas pelas parapófises (pap), que apresentam uma quilha vertical para a articulação das costelas pleurais.

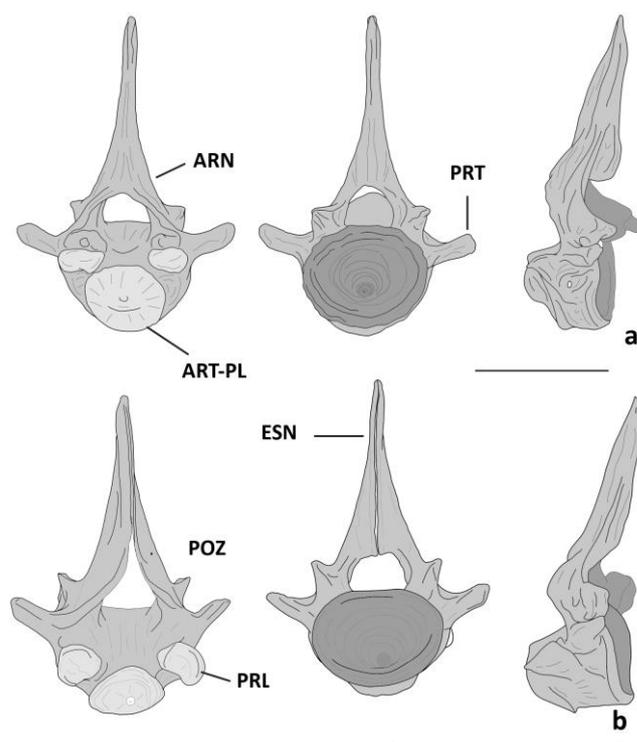
Figura 46 – Superfície lateral da coluna vertebral



Legenda: Superfície lateral da coluna vertebral do espécime *S marmoratus* PNT518. a) primeira vertebra caudal – Atlas, seguidas pelas demais vértebras pré-caudais; b) vértebras pré-caudais e início das vértebras caudais; c) vértebras caudais. Escala 10mm.

Fonte: O Autor, 2016.

Figura 46 b – Comparação de duas primeiras vértebras – Atlas



Legenda: a) Superfície anterior, posterior e lateral do atlas de *S marmoratus* PNT518; b) *S marmoratus* MNHN00652. Prt – processo transverso; prl – processo lateral; esn – espinho neural; poz – pós-zigapófises; arn – arco neural; art-pl: articulación tipo *plug-like*. Escala 10mm.

Fonte: O Autor, 2016.

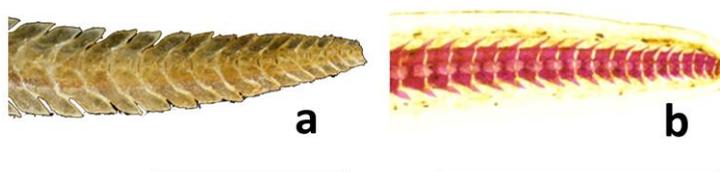
3.3.6.15 Esqueleto caudal

As estruturas que constituem o complexo esquelético da nadadeira caudal não foram observadas na grande maioria dos exemplares analisados neste estudo em decorrência ao método de preparação a seco e ao mesmo tempo pelo tamanho minúsculo destas estruturas nos espécimes analisados.

Nos esqueletos que foram possíveis de observar, o esqueleto da nadadeira caudal é bastante reduzido e a complexidade da estrutura apresentou variações entre os exemplares observados (Figura 47). O formato mais simplificado observado foi no espécime SGRJ 01 que apresenta a última vertebra caudal diferenciada em um centro pré-ural. Os demais elementos do esqueleto caudal estão ausentes.

Por outro lado, GURJ 01, apresenta um ural (u) fusionado a um hipural (hp) (Figura 47). A superfície hipural deste exemplar suporta quatro raios cartilagosos extremamente pequenos e não segmentados.

Figura 47 – Vertebras da nadadeira caudal



Legenda: Esqueleto da nadadeira caudal de a – *Synbranchus marmoratus* PNT484. b – *Synbranchus marmoratus* PNT465. Escala 10mm.

Fonte: O Autor, 2016.

3.4 Análise molecular *Synbranchus marmoratus*

Para a análise molecular das espécies de *Synbranchus marmoratus* foram analisadas um total de 27 sequências de nucleotídeos do gene COI para a reconstrução da relação filogenética da mesma. Do total das sequências analisadas, 22 sequências pertencem a espécies catalogadas como *Synbranchus marmoratus*, quatro como *Synbranchus* sp. e uma sequência do gene COI da espécie *Monopterus albus* que foi utilizada como grupo externo. Das 27 sequências analisadas, 11 sequências foram geradas por este trabalho e, os restantes 16, foram recuperados a partir de banco de dados genéticos públicos.

Em base ao resultado do alinhamento das 27 sequências das diferentes espécies de Synbranchidae foram elaborados dois bancos de dados. O primeiro com a sequência das espécies incluindo a sequência do grupo externo e, outro conjunto de sequências unicamente com as espécies de Synbranchidae. Os valores informativos dos sítios do alinhamento estão esquematizados na seguinte tabela 8:

Tabela 8 – Valores dos sítios de alinhamento

BD	Nro. Seq.	ST	SC	SV	SPi	SA
Seq. Com gr. ex	27	692	406	263	163	100
Seq. Sem gr. ex.	25	692	496	170	112	58

Legenda: BD.: Banco de dados; Seq. Com gr. ex.: Sequência com grupo externo; Seq. Sem gr. ex.: sequência com grupo externo; Nro. Seq.: número de sequências alinhadas; ST: sítios totais; SC: sítios conservados; SV: sítios variáveis; SPi: sítios informativos de Parcimônia; SA: sítios de autopomorfia.
Fonte: O Autor, 2016.

A análise de distância genética entre as 27 sequências de Synbranchidae utilizando o parâmetro K2P apresentou como resultado uma média de 11,7% de divergência genética entre todas as sequências analisadas. Em contrapartida, a análise realizada excluindo as duas sequências utilizadas como grupo externo, o valor diminui para 8,1%. Os valores detalhados da matriz gerada entre as sequências estão disponíveis no Apêndice C.

A maior divergência entre as sequências observadas na matriz gerada é observada entre os exemplares ITAPE293-15 *Synbranchus* sp. do Maranhão e LIA2020 *S. marmoratus*

do Xingu com um valor de 14,8%. A Sequência LIA2020 *S marmoratus* foi obtida durante a análise deste trabalho, e a mesma apresenta a maior distância genética entre todos os exemplares analisados. Esta sequência apresenta uma divergência de 13,9% com a sequência do exemplar PNT461 *S marmoratus* do Chaco, sendo assim a maior divergência apresentada entre as sequências geradas neste estudo (Apêndice C).

As sequências obtidas de exemplares procedentes da região Chaco do Rio Paraguai, apresentam uma alta heterogeneidade nos valores de distância genética entre eles. Estes valores apresentam valores como de 11,6% entre as sequências dos exemplares CHPA10 *S marmoratus* do Chaco Paraguai e PNT517 *S marmoratus* do rio Paraguai, sendo estas duas áreas de coleta próximas umas a outra. No entanto, o exemplar CHPA06 e CHPA08 ambas catalogadas como *S marmoratus*, apresentam uma distância de 0,3%, sendo estas coletadas na mesma região do Chaco que os exemplares anteriormente citados.

Por outro lado, as sequências obtidas dos exemplares LIA2020 e LIA2026, ambas catalogadas como *S marmoratus*, apresentam uma divergência genética de 13,2% sendo os dois exemplares coletados na mesma localidade.

O modelo GTR, utilizado como modelo de substituição na análise de reconstrução filogenética para Synbranchidae, e nos outros grupos estudados neste trabalho, apresenta uma variação nos parâmetros estimados pelo modelo imposta pela divergência das sequências dos grupos externos. Do mesmo modo que na análise anterior realizada com sequências de Potamotrygonidae, esta variação foi minimizada com a remoção dos grupos externos. Na análise previa realizada com todas as sequências (Apêndice D), foi observado que a sequência de *Synbranchus* sp. ITAPE290-15 procedente do Maranhão, apresentou-se como um provável grupo externo, devido a que esta sequência forma um grupo irmão com a sequência do espécime NC003192 *Monopterus albus*, o qual foi previamente escolhido como sequência a ser utilizada como grupo externo. Diante disso, o exemplar foi excluído das análises sendo ele tratado como provável grupo externo.

Desta forma, a remoção das duas espécies utilizadas como grupo externo, para a análise das relações filogenéticas, foi realizada com o intuito de aumentar a robustez e resolução dos grupos internos. Assim, os valores dos parâmetros de modelo GTR para as sequências com grupo externo e para as sequências sem grupo externo são resumidos na seguinte tabela 9:

Tabela 9 – Valores dos parâmetros do modelo evolutivo GTR

Alinhm.	Nro. S.	P	lnL	(+G)	R	f(A)	f(T)	f(C)	f(G)
Seq. Com gr. ex	27	60	-2592.57	0.2	5.04	0.268	0.297	0.278	0.156
Seq. Sem gr. ex	25	56	-1859.36	0.16	5.66	0.27	0.299	0.277	0.154

Legenda: Alinhm.: alinhamento; Seq. Com gr. ex.: Sequência com grupo externo; Seq. Sem gr. ex.: Sequência sem grupo externo; Nro. S.: Número de sequências; P.: Parâmetros; lnL.: Verossimilhança Máxima dada em logaritmo neperiano; (+G): modelo de distribuição Gamma; R.: transição/transversão; f(A): frequência do nucleotídeo Adenina; f(T): frequência do nucleotídeo Timina; f(C): frequência do nucleotídeo Citosina; f(G): frequência do nucleotídeo Guanina.

Fonte: O Autor, 2016.

O resultado de Máxima Verossimilhança da reconstrução filogenética recupera uma relação de sequências de *Synbranchus marmoratus* agrupando exemplares da mesma localidade em alguns clados, assim como clados conformados por sequências procedentes de localidades muito distantes entre eles. Figura 48.

O clado A, com um valor de suporte de 96%, é conformado por uma politomia de cinco sequências de *S marmoratus* do alto Paraná e uma *S marmoratus* do rio Miracema – RJ. O clado A apresenta uma relação com o clado B e o táxon CHPA11 *S marmoratus* do Chaco Paraguai. Este clado B, de ramo de distância pequeno e sustentado por um valor de suporte de 68%, está conformado por duas sequências de *S marmoratus* do Chaco Paraguai. Estes clados, A, B e o táxon citado, conformam o clado C sustentado por um valor de suporte baixo de 36%. Este último clado está relacionado com o táxon HM404979 *S marmoratus* pertencente à bacia do alto Paraná.

O clado C e o último táxon citado conformam o clado D sustentado por um valor de suporte de 72% (Figura 48). Desta forma, o clado D é grupo irmão do clado E, onde este clado é conformado pela sequência de CHPA07 *S marmoratus* do Chaco Paraguai e a sequência JX111854 *S marmoratus* procedente de La Plata – Argentina.

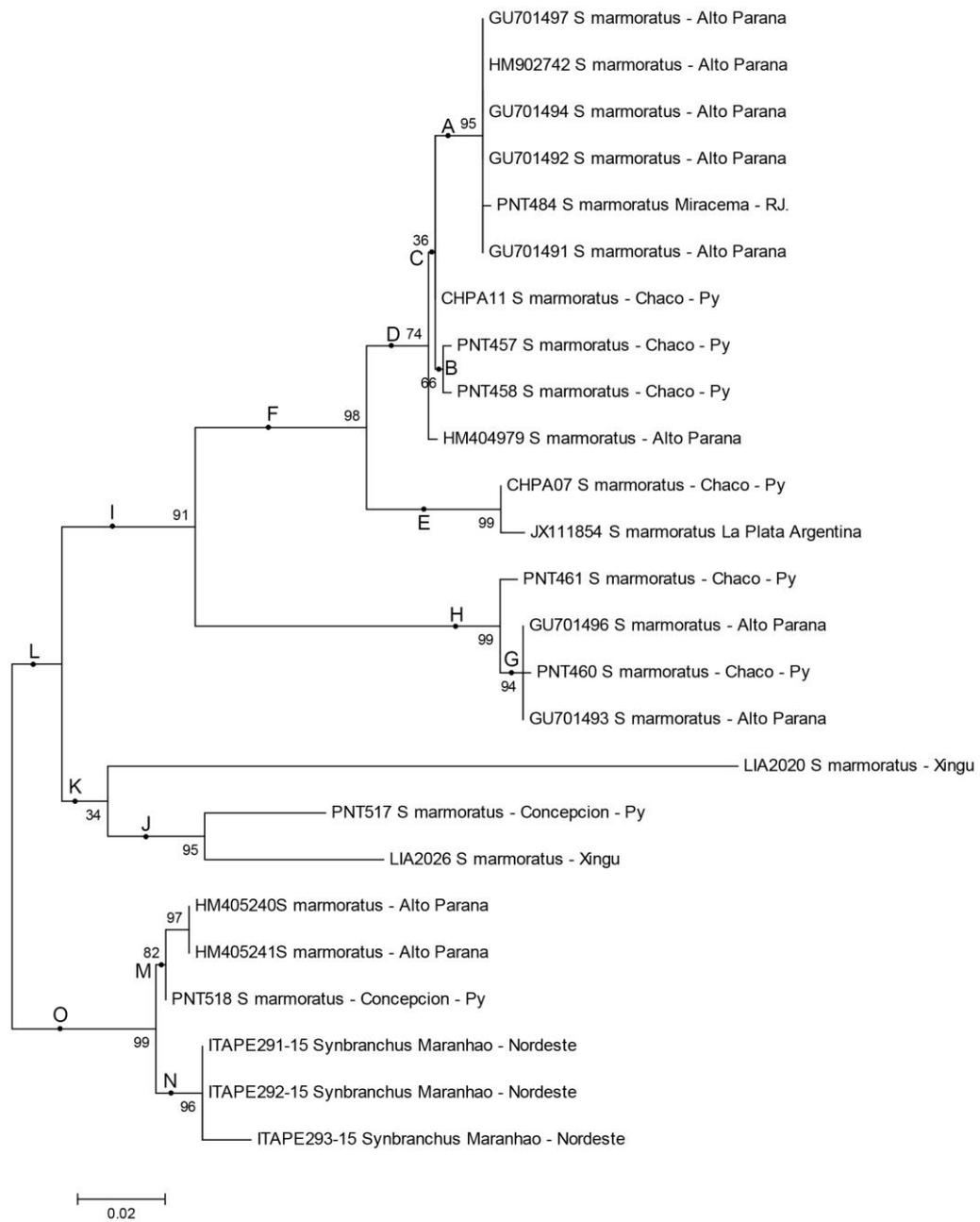
Por conseguinte, o clado D e E, formam um grupo monofilético representado como o clado F, que apresenta um valor de suporte de 96%. Este clado F está relacionado ao clado H, o qual apresenta um valor de suporte de 100%. O clado H é conformado pelo clado G que apresenta um valor de suporte de 94%. Este clado G, relacionado com o táxon PNT461 *S marmoratus* do Chaco Paraguai, é conformado por duas sequências de *S marmoratus* do alto Paraná e a sequência de ramo um pouco maior de CHPA10 *S marmoratus* do Chaco Paraguai. O clado H e F forma um grupo monofilético representado pelo clado I, apresentando um valor de suporte de 87%.

Desta forma, a análise recupera uma relação entre o clado I com o clado K (Figura 48). Este último clado está conformado pelo clado J e o táxon LIA2020 *S marmoratus*. Este táxon apresenta a maior distância de ramo entre as relações filogenéticas do dendograma e a mesma é procedente do rio Xingú. O clado J apresenta um valor de suporte de 95% e é constituído pelas sequências PNT517 *S marmoratus* do rio Paraguai e LIA2026 *S marmoratus* do rio Xingu.

O clado L, integrado pelos cladros I e K, forma um grupo monofilético com o clado O (Figura 48). Este último clado se apresenta como o mais basal entre os grupos anteriormente descritos. Desta forma, o clado O é sustentado por um valor de suporte de 99% e é conformado pelos cladros M e N. Sendo assim, o clado M, com um valor de suporte de 77%, é conformado pela sequência do táxon PNT518 *S marmoratus* do rio Paraguai e duas sequências de táxons em politomia procedentes do alto Paraná.

O clado N, sustentado por um valor de suporte de 97% (Figura 48), é conformado pelas três sequências procedentes do Maranhão, onde uma delas, ITAPE293-15, apresenta um ramo de distância maior que as outras duas.

Figura 48 – Relações filogenéticas do complexo *Synbranchus marmoratus*



Legenda: Resultado da análise de Máxima verossimilhança do gene mitocondrial citocromo oxidase I (COI) indicando as relações filogenéticas do complexo *Synbranchus marmoratus* com valores de *Bootstrap* incluídos para cada clado.

Fonte: O Autor, 2016.

4 DISCUSSÃO

4.1 Discussão morfológica do complexo *Potamotrygon motoro*

Os resultados da análise filogenética apresentados aqui, baseados em dados morfológicos externos e esqueléticos, indicam a monofilia da família Potamotrygonidae (Figura 31).

A família Potamotrygonidae, Garman 1877, é um grupo monofilético (Rosa, 1985b; Lovejoy, 1996; Lovejoy *et al.*, 1998; Carvalho *et al.*, 2004b) pertencente à ordem Myliobatiformes e composta por 18 a 20 espécies válidas (Rosa, 1985b; Carvalho *et al.*, 2003). Atualmente as raias de água doce estão constituídas por quatro gêneros; *Potamotrygon* (Garman, 1877), *Paratrygon* (Duméril, 1865), *Plesiotrygon* (Rosa, Castello & Thorson, 1987) e *Heliotrygon* (Carvalho, 2011). A validade de cada gênero é corroborada nos resultados desta análise, indicando um clado monofilético formado pelos táxons de *Heliotrygon gomesi* e *Paratrygon aiereba*. Da mesma forma a análise obteve uma relação monofilética entre o táxon *Plesiotrygon iwamae* e espécies do gênero de *Potamotrygon*.

No presente estudo, durante a análise dos exemplares de *Potamotrygon motoro* das duas bacias, foi corroborada a variação intraespecífica de coloração e ao mesmo tempo a sobreposição de padrões de coloração propostos por Loboda *et. al.* 2013. Desta forma, somente o padrão de coloração, não consegue delimitar a espécie *Potamotrygon motoro* devido ao alto nível de policromatismo observado, independentemente da localidade de coleta.

Uma das primeiras chaves de identificação para as espécies da família Potamotrygonidae foi realizada por Rosa (1985b). Ele produziu uma chave de identificação para as espécies da família baseada principalmente em padrões de coloração. Na chave apresentada por Rosa (1985b) para as espécies do gênero *Potamotrygon* (Anexo A), a espécie *Potamotrygon motoro* é diagnosticada principalmente por apresentar ocelos concêntricos amarelos ou laranjas maiores que o diâmetro do olho em um fundo oliváceo - marrom a cinza escuro. Do mesmo modo, o trabalho mais recente sobre esta espécie, diagnostica a *Potamotrygon motoro* pela presença de ocelos conspícuos tricoloridos (com um ponto amarelo central, um anel de cor laranja e um anel externo preto), sobre um fundo cinza ou marrom na face dorsal do disco (Loboda *et. al.* 2013).

Durante as descrições e observações dos padrões de coloração nas análises deste estudo, foi observado uma constante no padrão da ornamentação na face dorsal do disco das raias de água doce. Por tanto, para a análise deste estudo, foram elaborados e utilizados caracteres em base ao padrão da ornamentação presentes na região dorsal do disco das raias. Cabe ressaltar que não foi utilizada em nenhum momento a coloração das espécies como caráter. Atualmente, uma característica principal de identificação das espécies para esta família é a utilização do padrão de coloração como caráter diagnóstico mais relevante na hora da identificação das mesmas.

Sendo assim, os caracteres elaborados a partir do padrão da ornamentação neste trabalho, contemplam a presença ou não de ornamentação no disco (1), o padrão (2), formato (3) e o tamanho das mesmas (4).

A topologia obtida apresenta o clado A (Figura 31) formado por espécies unicamente do gênero *Potamotrygon*, que compartilham o caráter 4. Este caráter refere-se ao tamanho do formato da ornamentação apresentando um CI de 0,5. Os dois estados possíveis para este caráter estão distribuídos entre as diferentes espécies que formam este clado.

Por outro lado, caracteres utilizados a partir da descrição morfológica externa, como as elaboradas por Rosa 1985, na qual descreve a nadadeira pélvica “mais ou menos” coberta pelo disco em *Dasyatis*, *Himantura*, *Taeniura*, *Potamotrygon* e *Paratrygon* e, expostas depois do disco para *Gymnura*, *Hexatrygon*, *Urotrygon*, *Urolophus*, *Urobatis*, e *Plesiotrygon*, foi codificado e utilizado na matriz de dados para a posterior análise. Esta descrição é apontada como ambígua pelo Lovejoy 1996 e por este motivo não a utiliza como caráter válido para a utilização da sua análise sistemática sobre as raias de água doce. A diferença do Lovejoy 1996, a análise deste trabalho considera válido este caráter e conseqüentemente é utilizada na análise sistemática apresentada. No entanto, a codificação foi feita de maneira diferente ao de Rosa 1985, considerando a nadadeira parcialmente recoberta pela nadadeira peitoral para *Plesiotrygon iwamae* e todas as espécies do gênero *Potamotrygon* como o estado plesiomórfico, já que os grupos externos *Himantura schmardae* e *Urotrygon chilensis* utilizados como grupo externo no presente estudo apresentam esta condição. O estado apomórfico para este caráter foi codificado como totalmente recoberta pela nadadeira pélvica para *Heliotrygon gomesi* e *Paratrygon aiereba*.

O equivalente taxonômico de *Urotrygon chilensis*, utilizado como grupo externo na análise, apresenta uma nadadeira caudal formada por dobras caudais. No entanto, o equivalente taxonômico de *Himantura schmardae* não apresenta estas dobras caudais. Desta forma, todas as espécies do gênero *Potamotrygon*, incluindo a *Potamotrygon motoro*,

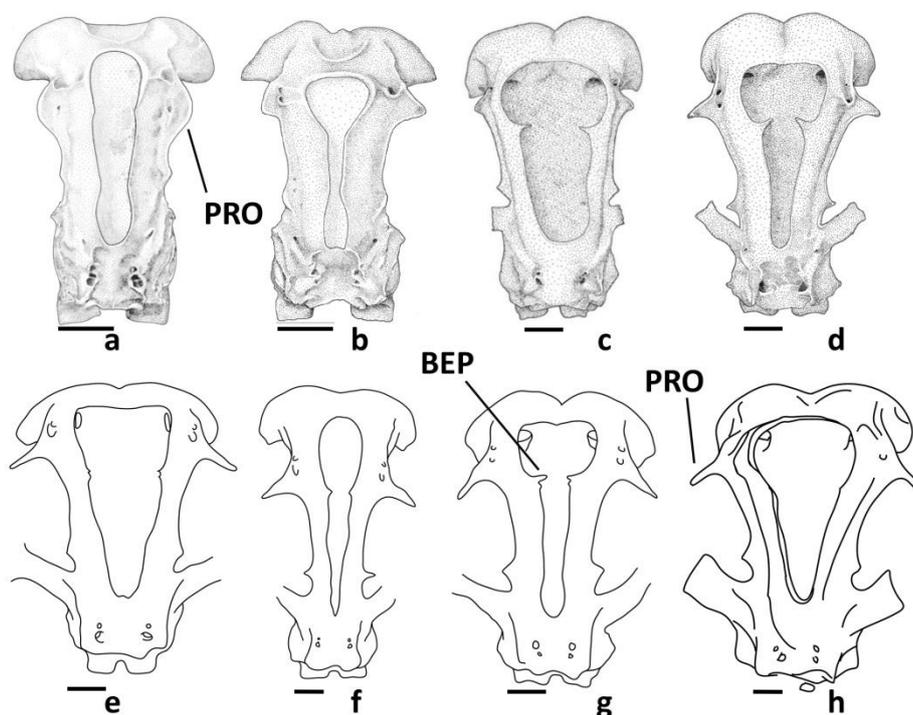
apresentam a dobra caudal, representando desta maneira o estado plesiomórfico deste caráter para o gênero *Potamotrygon*.

Os exemplares da Amazônia (LIA2018, PNT521, FMNH94503, FMNH106065) possuem a cápsula nasal próxima ao processo pré-orbital, a diferença dos exemplares da bacia Paraná-Paraguai (PNT519, PNT520, FMNH 84658, FMNH 108171), as quais possuem a cápsula nasal numa posição mais anterior ao processo pré-orbital. Esta diferença de arranjo das cápsulas nasais pode estar relacionada á angulação ocasionada pela orientação anterolateral que apresentam as cápsulas nasais dos exemplares da Amazônia, posicionando desta forma, a região distal das cápsulas próximas a base do processo pré-orbital. Esta diferença não foi utilizada como possível caráter na análise sistemática devido à falta de exemplares para uma ampla comparação e possível validação do caráter.

A cartilagem antorbital não apresenta diferenças entre os espécimes de *Potamotrygon motoro*. Por outro lado, quando a estrutura é comparada com exemplares do mesmo tamanho de outros gêneros, a cartilagem antorbital é menor e o formato triangular muito mais definido como apresentado no grupo monofilético formado pelos taxons *Paratrygon aiereba* e *Heliotrygon gomesi* (Figura 31).

Os processos pré-orbitais não apresentam diferenças significantes entre os exemplares examinados de *Potamotrygon motoro*. Segundo estudos realizados por Nishida 1990, este processo não pode ser utilizado como caráter devido a uma alta variabilidade intraespecífica no formato da estrutura. Entretanto, mesmo apresentando uma variabilidade entre as mesmas espécies, o formato desta estrutura apresenta sim um padrão quando comparados entre os gêneros representantes dos Potamotrygonideos. Por tanto, nesta análise foi utilizada o desenvolvimento ou não deste processo, devido a uma clara diferença no tamanho e formato observados em representantes de cada gênero (Figura 49).

Figura 49 – Neurocrânios de espécies de Potamotrygonidae



Legenda: Neurocrânios da família Potamotrygonidae apresentado diferenças no desenvolvimento do processo pre-orbital e a barra epifisial. a) *Heliotrygon gomesi*; b) *Paratrygon aiereba*; c) *Plesiotrygon iwamae*; d) *Potamotrygon falknery*; e) *Potamotrygon leopoldi*; f) *Potamotrygon tigrina*; g) *Potamotrygon* sp; h) *Potamotrygon motoro*. Bep – barra epifisial; Pro – processo pre-orbital. Escala 10 mm.

Fonte: O Autor, 2016.

Os forames anteriores e posteriores para o canal pré-orbital apresentam uma variabilidade intraespecífica muito alta, corroborando desta forma a discussão elaborada por Nishida 1999 sobre a variabilidade destes forâmens. Por tal motivo não foi utilizado na análise sistemática.

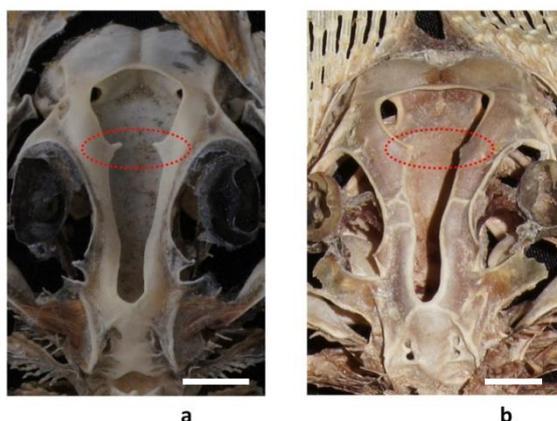
O processo pós-orbital, como já indicado na descrição das espécies, está dividido em duas porções, uma anterior e outra posterior como descrito no trabalho de Nishida 1990. No mesmo trabalho, o autor utiliza como caráter (67) a presença de um só processo pós-orbital ou a presença de duas projeções bem separadas. Segundo Lovejoy 1996, a separação facilita a passagem do canal infra-orbital do canal da linha lateral ventral. No presente estudo, foi codificado um caráter em base a separação destas duas porções, indicando a proximidade ou não do processo pós-orbital anterior em relação ao posterior (22).

No resultado da análise, o táxon *Plesiotrygon iwamae* é sustentado por este caráter, validando assim o gênero *Plesiotrygon* (Figura 31). Ao mesmo tempo, entre as 6

árvores possíveis para as relações recuperadas da família Potamotrygonidae, o clado A4 é a que apresenta uma variação na constituição dos grupos internos da mesma. O único caráter que aparece nas 6 árvores possíveis sustentando este clado é o processo pós-orbital anterior próximo ao processo pós-orbital posterior (22) com CI de 0,5. No entanto, este caráter inédito, elaborado a partir das observações e discussões de autores anteriores sobre a relevância da separação do pós-orbital anterior em relação ao posterior, merece um maior número de exemplares analisados para a validação da mesma. A consideração de um maior número de exemplares na análise é alegado em base à observação de uma possível relação entre o tamanho do exemplar e a distancia destes dois processos.

A barra epifisial, que divide a fontanela craniana em duas regiões, não é foco de atenção nos estudos realizados geralmente. Mas durante a análise de exemplares deste trabalho, os exemplares que correspondem á bacia do Amazônia (LIA2018, PNT521), apresentam um formato atípico da barra epifisial, semelhante entre elas, porém diferentes quando comparados com os exemplares da bacia do Paraná – Paraguai (PNT519, PNT520). Este formato atípico, que consiste numa estrutura triangular com duas pontas, uma anterior e outra posterior, é constatada em outras espécies analisadas pertencentes ao gênero *Potamotrygon* (*Potamotrygon* sp. PNT307, *Potamotrygon leopoldi* PNT308) (Figura 50). A partir da descrição e observação desta diferença, foi utilizada como caráter na análise a presença de uma ponta simples ou ponta dupla desta estrutura (carater 18). Desta forma, este caráter sustenta o clado A4, junto com o caráter 22, em uma das 6 árvores possíveis do resultado da analise.

Figura 50 – Neurocrânios de espécimes da bacia Amazônica



Legenda: Neurocrânios de a) *P motoro* LIA2018, b) *P motoro* PNT521 apresentando uma barra epifisial de ponta dupla. Escala 10 mm.

Fonte: O Autor, 2016.

Dentre os forâmens presentes na região ótica, o forame do nervo óptico é o mais largo. Os exemplares da bacia do Amazônia apresentam uma maior largura deste forame quando comparados aos exemplares da bacia Paraná – Paraguai. Mesmo assim, exemplares de uma mesma bacia apresentando um padrão de largura, o forame não é utilizada como possível caráter, concordando e corroborando desta maneira com a discussão da variabilidade da largura deste forame apresentado por Nishida 1990.

Na face lateral da região ótica, o exemplar correspondente a bacia da Amazônia (LIA2018), apresenta uma característica única e atípica na sua estrutura. A comissura lateral neste exemplar tem um terceiro ponto de conexão com a parede ótica situada no meio da estrutura, a diferença dos outros que possuem só dois pontos de conexão com a parede ótica. Durante a análise de outros exemplares, esta condição não foi observada em nenhum outro exemplar. Sendo assim, tal condição foi interpretada como uma provável variação intraespecífica.

Os exemplares examinados apresentam uma cartilagem angular bem desenvolvida e com claras diferenças entre os espécimes pertencentes a bacia do Amazônia e a bacia do Paraguai (Figura 22). Espécimes analisados da bacia do Paraná – Paraguai apresentam a cartilagem anterior e posterior semelhantes em tamanho e formato. Por outro lado, exemplares da bacia do Amazônia apresentam uma variação intraespecífica. O exemplar PNT521 apresenta uma cartilagem angular posterior dois terços menor que a cartilagem angular anterior. Em contrapartida, o exemplar LIA2018 apresenta uma cartilagem angular posterior vestigial situada na extremidade distal da cartilagem angular anterior. Esta mesma condição é observada em outras espécies pertencentes ao gênero *Potamotrygon* (*Potamotrygon tigrinus* PNT304, *Potamotrygon* sp. PNT307). Filogenias anteriores são discrepantes relacionados á dificuldade de observar esta estrutura em alguns táxons como, por exemplo, em *Paratrygon* e *Heliotrygon* (Figura 51). A matriz apresentada por Nishida 1990 descreve só um caráter (75) codificando a presença ou não da estrutura. Do mesmo modo, Lovejoy, 1996, cita a dificuldade da observação desta estrutura em algumas espécies, mas mesmo assim utiliza a estrutura codificando só a presença ou não da mesma (12).

No presente estudo, esta estrutura apresenta uma variação no formato e quantidade de estruturas que a formam nos exemplares estudados. Isto dificulta sua utilização como caráter válido, mas neste trabalho a estrutura é utilizada como caráter no intuito de testar a sua provável relevância. Sendo assim foram elaborados dois caracteres (caracteres 26 e 27) a partir desta estrutura com a finalidade de testar as relações entre os táxons analisados. Desta forma, o clado A3 é sustentado pelo caráter 27, agrupando desta forma todos os espécimes

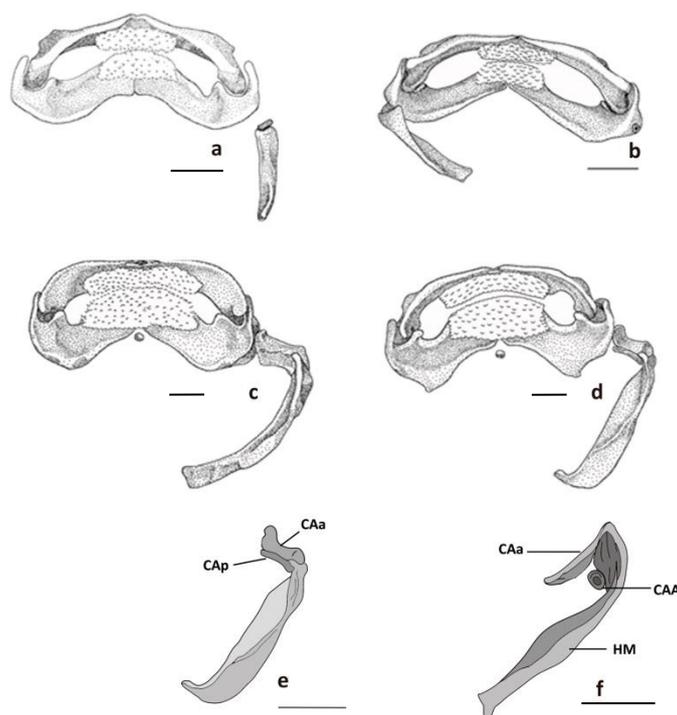
catalogados como *Potamotrygon motoro* para as diferentes bacias, além de sustentar o clado A5 nas 6 árvores possíveis da análise filogenética.

Descrições de Nishida 1990 e Lovejoy 1996 apresentam a descrição de dois tipos de cartilagens acessórias situadas na extremidade distal da cartilagem hiomandibular. A cartilagem acessória hiomandibular 1 (presentes em algumas espécies de *Urolophus* e *Dasyatis* segundo Nishida 1990) e Cartilagem acessória hiomandibular 2 (presentes em algumas espécies de *Urobatis*, *Dasyatis*, *Potamotrygon* e *Paratrygon* segundo Garman 1913, Nishida 1990, Lovejoy 1996) não foram observadas em nenhum exemplar analisado para este estudo.

Uma cartilagem acessória hiomandibular 2 dorsal é descrita para *Potamotrygon motoro* no trabalho de Lovejoy 1996. No presente estudo, esta cartilagem não foi observada para nenhum dos exemplares analisados. Devido a que a estrutura é pequena e não esta articulada a nenhuma outra peça, provavelmente foi perdida na hora da preparação.

No entanto, é constatado a presença de uma pequena estrutura calcificada associada a porção distal ventral da cartilagem angular no exemplar *Potamotrygon motoro* LIA2018. Uma estrutura semelhante é observada nos exemplares de *Potamotrygon* sp., *Potamotrygon tigrinus* e *Potamotrygon falknery* na mesma posição (Figura 51). Não tendo certeza se esta pequena cartilagem se tratasse na verdade de umas das cartilagens hiomandibulares acessórias devido a que não estão na mesma posição descrita pelos autores, a estrutura foi denominada como cartilagem acessória angular (CAA), devido a sua estreita relação com a cartilagem angular. Foi elaborado um caráter tendo em conta a presença ou não da mesma (28). Desta forma, este caráter sustenta junto com o caráter 27, o clado A5 em uma das 6 árvores possíveis do resultado da análise.

Figura 51 – Complexos mandibulares da família Potamotrygonidae



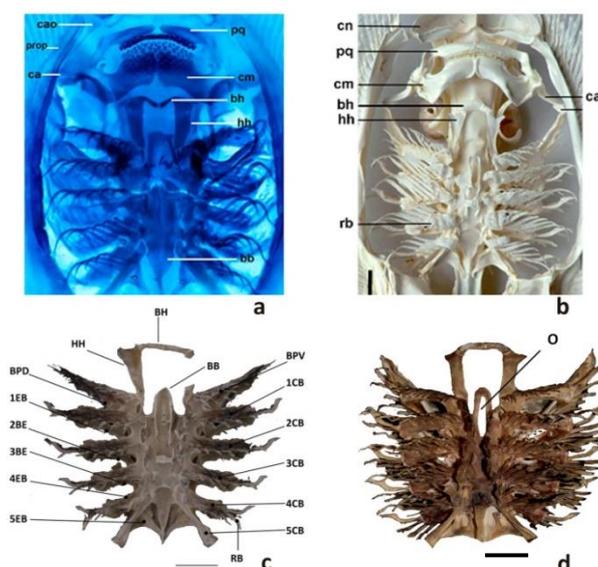
Legenda: Formato da cartilagem angular nas diferentes espécies de Potamotrygonidae. a) *Heliotrygon gomesi* (PNT268); b) *Paratrygon aiereba* (PNT266); c) *Plesiotrygon iwamae* (PNT303); d) *Potamotrygon* (PNT309); e) *Potamotrygon motoro* (PNT521); f) *Potamotrygon motoro* LIA2018. Cartilagem angular anterior – CAa; Cartilagem angular posterior – CAp; Hiomandibular – HM. Escala 10mm.

Fonte: O Autor, 2016.

Todos os exemplares examinados de *Potamotrygon motoro* apresentaram a cartilagem basihial semelhantes estruturalmente a exceção de FMNH94503. O exemplar FMNH94503, coletado no Equador e depositado no Field Museum of Natural History, apresenta uma cartilagem basihial par, constituída por barras pequenas e direcionada em sentido posterior, formando uma estrutura semelhante a uma V (Figura 52). O material PNT521 (Rio Tocantins) preparado para este estudo exibe uma cartilagem par de barras direcionadas anteriormente, formando uma estrutura semelhante a uma V invertida. O formato de V invertido é similar ao exemplar de *Potamotrygon motoro* do trabalho publicado por Stepanek R. 2012 (infelizmente o trabalho não informa a localidade de coleta do exemplar. Esta estrutura apresenta uma variação importante dentro de Potamotrygonidae já que o gênero *Heliotrygon* não apresentaram tal estrutura nos exemplares examinados neste estudo. Descrições exclusivas dos arcos branquiais em trabalhos anteriores como os de Compagno, 1973 e Dingerkus, 1995, foram realizadas com o intuito de informar a importância desta estrutura

como fonte de caracteres inexplorados para caracterizar os elasmobrânquios. No entanto, o presente estudo utiliza só a presença ou não da estrutura (31) devido a difícil observação da mesma, que em geral parte da mesma é perdida no momento da preparação por ser uma estrutura muito frágil e pequena. Este estudo reconhece a importância citada por autores anteriores, mas não a explora como deveria devido à falta de material de comparação.

Figura 52 – Arcos branquiais e ioides de espécimes do complexo *P motoro*



Legenda: Espécimes apresentando variações na estrutura da cartilagem basihial. a) FMNH94503; b) *P motoro* (Stepanek R., 2012); c) *P motoro* LIA2018; d) *P motoro* PNT521. Escala 10mm.
Fonte: a) FMNH; b) (Stepanek R., 2012); c – d o autor, 2016.

acordo com o trabalho de Miyake e Mceachram 1991, a cartilagem basibrânquial é o resultado da fusão ontogenética de componentes da cartilagem hipobrânquial e basibrânquial formando uma placa única média. O orifício anterior apresentado pela cartilagem basibrânquial em alguns exemplares examinados para este estudo, possui uma variação no seu formato e tamanho assim como a quantidade de orifícios como por exemplo no exemplar LIA2018 (Rio Xingu), que apresenta dois orifícios pequenos e contínuos. Em contrapartida, o exemplar de *Potamotrygon* sp. (Rio Paraguai) não apresenta nenhum orifício assim como espécimes de *Heliotrygon gomesi*, *Paratrygon aiereba*, e *Plesiotrygon iwamae*.

Visando a variabilidade na quantidade de orifícios quando a mesma está presente, foi elaborado unicamente um caráter codificando a presença ou ausência deste orifício (31), sem ter em conta a quantidade nem formato devido à falta de material para comparação.

Na base da porção anterior da cartilagem basibranquial dos exemplares pertencentes a bacia da Amazônia (LIA2018, PNT521), é destacado um sulco seguido por uma pequena ponte, que de acordo com Miyake e Mceachran 1991 é para acomodar a passagem da aorta ventral e os ramos eferentes. Nos exemplares da bacia do Paraná-Paraguai, estas estruturas não podem ser visualizadas em consequência da perda desta estrutura na hora da preparação do material. Comparando com outros exemplares como *Heliostrygon gomesi*, um ligeiro sulco está presente na base da porção anterior não mostrando qualquer ponte desenvolvido no resto da cartilagem. *Paratrygon aiereba* apresentam um sulco e uma ponte muito reduzida. Exemplares de *Potamotrygon falknery* possuem duas pontes bem desenvolvidas diferindo de *Potamotrygon leopoldi*, *Potamotrygon* sp. e *Potamotrygon tigrinus* que exibem uma ponte bem desenvolvida e uma segunda menor. As duas amostras analisadas de *Plesiotrygon iwamae* mostram o mesmo desenvolvimento assimétrico da ponte. Entretanto, a presença ou não desta ponte na região ventral da cartilagem basibranquial, não foi utilizada como caráter devido a falta de informação sobre os possíveis estados que podem apresentar este caráter nos grupos externos e em exemplares danificados ou perdidos a consequência do método de coleta ou preparação.

Todos os exemplares de *Potamotrygon motoro* examinados neste estudo apresentaram os quatro primeiros ceratobranquiais fusionados entre eles. Segundo estudos realizados por Miyaki & Mceachran, 1991, o mesmo tipo de fusão ocorre para *Potamotrygon constellata*. Do mesmo modo o trabalho cita uma variação na fusão entre os ceratobranquiais que varia para os gêneros da família citando trabalhos como o de Rosa 1985, destacando a fusão da barra pseudohial e as primeiras duas ceratobranquiais em espécimes analisados por ele. Trabalhos anteriores como o de Nishida 1990 já relatam uma fusão variável dos ceratobranquiais citando uma ampla variação entre táxons de Potamotrygonidae. Ao mesmo tempo, o trabalho destaca uma visível anquilose dos últimos dois ceratobranquiais na extremidade proximal a qual serve para inserção de músculos. Esta condição foi igualmente observada em todos os exemplares analisados para este estudo.

Os exemplares de *Potamotrygon motoro* analisados, apresentaram o formato da barra coracóidea semelhante entre eles sem uma variação relevante. Mas quando comparada a outros táxons da mesma família, a barra coracóidea é muito mais plana e larga como as dos espécimes de *Heliostrygon gomesi* e *Paratrygon aiereba*. Os côndilos observados na face lateral do processo escapular, apresentam uma variação intra e interespecífica. A variação no formato é observada na maioria dos exemplares analisados e estão relacionados com o tamanho e grau de maturidade dos exemplares. Desta forma, existe uma grande dificuldade

para determinar um padrão nestas estruturas para poderem ser utilizadas numa análise filogenética.

Do mesmo modo, os foramens presentes na parede lateral do processo escapular apresentam uma variação na largura assim como a quantidade de foramens dependendo do tamanho e maturidade dos exemplares. Os espécimes das duas bacias de *Potamotrygon motoro* analisados para o presente trabalho, apresentaram semelhanças no formato e quantidade destes foramens. Por outro lado, quando comparados com exemplares de outros gêneros de Potamotrygonidae, os foramens posterodorsais e posteroventrais apresentam uma diferença relevante no número de foramens presentes na parede lateral do processo escapular. Todos os exemplares de *Potamotrygon motoro* apresentaram um forame tanto para os foramens anterodorsais, anteroventrais, posterodorsais e posteroventrais. No entanto, exemplares de *Heliotrygon gomesi* apresentam cinco foramens posterodorsais e três posteroventrais, já os exemplares de *Potamotrygon falknery* e *Potamotrygon leopoldi* não apresentam nenhum forame posterodorsal e um forame posteroventral. Devido a uma alta variação intra e interespecífica, e o desconhecimento do possível estado nos grupos externos para este caráter, os foramens do processo escapular não foram utilizados como caráter nesta análise mesmo sendo utilizado por Nishida 1990 e Lovejoy 1996.

As placas basais dos exemplares das duas bacias analisadas apresentaram um arranjo semelhante entre eles assim como o formato das estruturas que as conformam. Por outro lado, quando as placas basais dos *Potamotrygon motoro* são comparadas com outros grupos, as estruturas apresentam variações relevantes que podem ser utilizadas numa análise filogenética.

A porção mais anterior do propterígio é fragmentada formando uma estrutura de menor tamanho que sustenta os raios peitorais mais anteriores. Este fragmento anterior do propterígio não é expandido até as paredes anteriores da cápsula nasal em todos os exemplares de *Potamotrygon motoro* das duas bacias. Do mesmo modo, exemplares de *Plesiotrygon iwamae*, assim como de *Potamotrygon falknery*, *Potamotrygon tigrina* e *Potamotrygon* sp. apresentam esta mesma condição. No entanto, nos gêneros *Heliotrygon* e *Paratrygon*, o fragmento anterior do propterígio estende se as paredes anteriores das cápsulas nasais.

Como já descrito anteriormente, a extremidade posterior do propterígio se articula no procôndilo da cintura peitoral. Entretanto, estudos realizados por Lovejoy 1996, apontam que a maioria das raias, incluindo *Hexatrygon* e *Plesiobatis*, a extremidade posterior do propterígio se articula inclusive na face anteromedial do mesopterígio. Esqueletos analisados

para este estudo evidenciam esta articulação como as observadas nos exemplares de *Heliostrygon gomesi* e *Paratrygon aiereba*. Exemplares de *Plesiostrygon* assim como todos os espécimes de *Potamotrygon* analisados não apresentam este tipo de articulação.

O sinarcual dos exemplares de *Potamotrygon motoro* das duas bacias hidrográficas analisadas para o estudo não apresentaram diferenças relevantes entre eles. No entanto, quando a estrutura é comparada com outros exemplares pertencentes a gêneros da família, observamos diferenças relevantes entre estas estruturas.

Os exemplares de *Potamotrygon motoro* apresentam uma largura da região anterior equivalente a dois quintos do comprimento total do sinarcual. Esta relação é observada em outros exemplares como *Plesiostrygon iwamae*, *Potamotrygon falknery*, *Potamotrygon* sp., *Potamotrygon leopoldi* e *Potamotrygon tigrinus*. Por outro lado, esta relação da largura da região anterior é de dois terços em relação ao comprimento da estrutura nos exemplares de *Heliostrygon gomesi* and *Paratrygon aiereba*. Segundo Lovejoy 1996, a largura da sinarcual anterior é aproximadamente igual a altura da mesma. O trabalho corrobora em parte esta relação, mas demonstra uma ambiguidade nos resultados, devido a que o formato da estrutura não facilita uma padronização para que esta relação seja medida num ponto certo. O resultado apresentado aqui propõe a relação da largura anterior em relação ao comprimento total da sinarcual anterior (33) como um caráter para ser utilizado na análise filogenética.

Segundo Brito *et. al.*, 2013, a presença de uma pequena cartilagem dorsal no espaço entre a região posterior do neurocrânio e a região anterior da sinarcual anterior, é denominada cartilagem arcualia dorsal. A estrutura é descrita como uma cartilagem par presente no fóssil de *Stahlraja sertanensis* assim como em exemplares atuais de *Zapteryx brevirostris* e *Gymnura altavela*. Uma estrutura semelhante foi observada nos exemplares de *Potamotrygon motoro* PNT519 e PNT520 (Rio Paraguai) (Figura 28). Os dois apresentam uma pequena cartilagem de formato circular coberto por tecido conectivo. A estrutura consiste numa peça única situada a direita, no espaço entre o neurocrânio e a sinarcual anterior, no exemplar PNT520. No exemplar PNT519 esta peça também única, está situada a esquerda. Nenhum outro exemplar de Potamotrygonidae entre os exemplares analisados para este estudo e mesmo na literatura apresentou uma estrutura semelhante à arcualia dorsal aqui descrita para estes exemplares de *P. motoro*.

Por tanto, a presença desta estrutura num exemplar pertencente à Potamotrygonidae é inédita. Concordando com Brito *et. al.*, 2013, a discussão sobre a homologia e função desta estrutura está fora do âmbito do presente estudo. No entanto, a presença ou não desta estrutura (36) foi utilizada como caráter na análise filogenética. No resultado da análise, a presença da

arcualia dorsal sustenta o táxon *Potamotrygon motoro* Paraná-Paraguai. Este caráter é inédito numa análise filogenética para Potamotrygonidae.

A base anterior da crista lateral é fusionada ao longo da parede dorsolateral da sinarcual nos exemplares de *Potamotrygon motoro* das duas bacias analisadas. Igualmente, este tipo de fusão é observado em exemplares de *Potamotrygon falknery*, *Potamotrygon* sp., *Potamotrygon leopoldi*, *Potamotrygon tigrina* e *Plesiotrygon iwamae*. Em contrapartida, exemplares de *Heliotrygon gomesi* e *Paratrygon aiereba* não apresentam esta fusão da base anterior da crista lateral. Esta estrutura, no entanto, é menor, mais delgada e projetada desde a parede ventrolateral da sinarcual anterior.

Compagno 1977 descreve a fusão da supraescapular nas laterais da cartilagem sinarcual anterior, formando um encaixe a cada lado da sinarcual para a articulação da projeção da cintura peitoral em Myliobatiformes. Esta articulação posterodorsal da sinarcual anterior com a supraescapular, não apresenta diferenças entre os exemplares de *Potamotrygon motoro* analisados neste estudo assim como quando comparadas com exemplares de *Potamotrygon falknery*, *Potamotrygon leopoldi*, *Potamotrygon* sp., *Potamotrygon tigrina* e *Plesiotrygon iwamae*. Por outro lado, esta articulação apresenta uma maior área de contato entre estas estruturas em exemplares de *Heliotrygon gomesi* e *Paratrygon aiereba* evidenciando uma interação mais compacta.

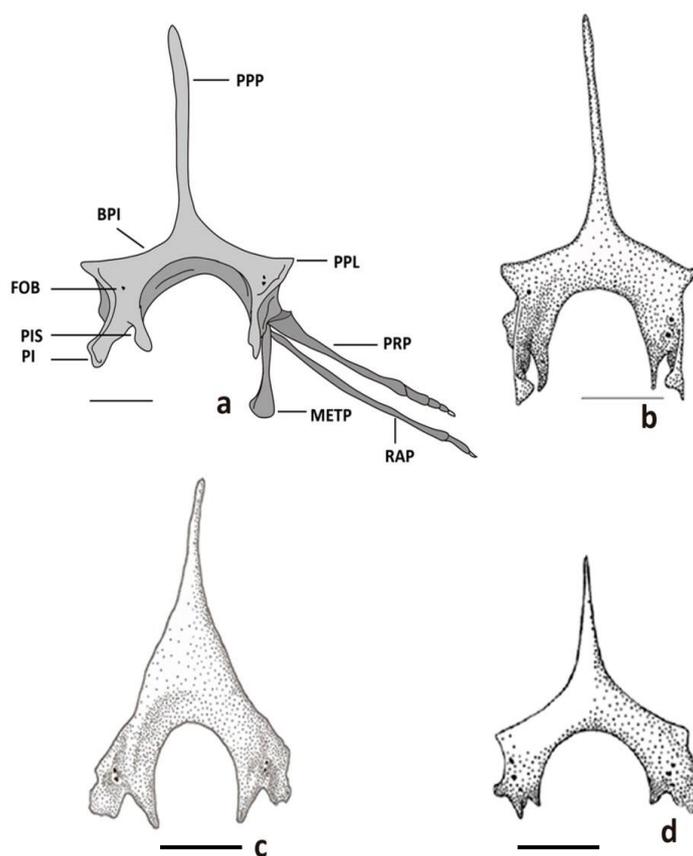
A quantidade de vértebras fusionadas lateralmente na cartilagem da sinarcual posterior apresenta uma variação interespecífica e intraespecífica muito alta, impossibilitando desta forma a utilização desta informação numa análise filogenética. Espécimes de menor porte apresentam uma menor quantidade de vértebras fusionadas e exemplares de porte maior apresentam uma maior quantidade de vértebras fusionadas lateralmente, o qual indica uma possível relação entre a quantidade de vértebras fusionadas e a maturidade do peixe.

O formato em geral da cintura pélvica, conformada principalmente pela barra pubo isquiática, são semelhantes entre todos os exemplares analisados. Por outro lado, os espécimes apresentam leves variações entre exemplares machos e fêmeas. Os exemplares LIA2018 (fêmea) e PNT520 (fêmea) apresentam uma barra pubo isquiática menos arqueada em comparação aos exemplares PNT519 (macho) e PNT521 (macho).

O processo ilíaco, projetado dorsalmente, apresenta variações irrelevantes entre os espécimes da bacia do Amazônia e a bacia do Paraguai – Paraná. No entanto, quando esta estrutura é comparada com exemplares de outro gênero da família, o processo ilíaco é muito menos desenvolvido, apresentando um formato reduzido e delgado como observado nos exemplares de *Heliotrygon gomesi*, *Paratrygon aiereba*, e *Plesiotrygon iwamae*. Por outro

lado, quando o processo ilíaco do *Potamotrygon motoro* é comparado com exemplares de *Potamotrygon falkneri*, *Potamotrygon leopoldi*, *Potamotrygon tigrina*, o processo ilíaco destas espécies é maior, mais largo e apresentando uma estrutura em geral bem mais desenvolvida (Figura 53). A diferença de formato e largura desta estrutura entre os gêneros de Potamotrygonidae pode estar relacionada aos músculos caudais que se inserem na mesma. Isto pode ser corroborado na largura bem mais reduzida da cauda observados nos exemplares de *Heliotrygon gomesi*, *Paratrygon aiereba*, e *Plesiotrygon iwamae*. Apesar do trabalho não contemplar a descrição muscular dos exemplares analisados, estas espécies apresentam uma musculatura caudal visivelmente mais delgada quando comparados as espécies contempladas dentro do gênero *Potamotrygon*.

Figura 53 – Diferenças no formato da cintura pélvica entre espécies da família Potamotrygonidae



Legenda: Cintura pélvica de a) *Potamotrygon motoro* PNT520; b) *Plesiotrygon* (PNT303); c) *Heliotrygon gomesi* (PNT268); d) *Paratrygon aiereba* (PNT266). Ppp – Processo pré-pélvico; Ppl – processo pré-pélvico lateral; Prp- propterigio pélvico; Rap – raios pélvicos; Metp – metapterigio pélvico; Pi – Processo ilíaco; Pis – Processo isquiático; Bpi – Barra puboisquiática. Escala 10mm.

Fonte: O Autor, 2016.

Uma provável explicação para um processo ilíaco mais desenvolvido pode estar claramente relacionado a uma maior musculatura devido à inserção de músculos nesta estrutura. Analisando exemplares do gênero *Potamotrygon*, observamos uma musculatura caudal muito mais desenvolvida e robusta quando comparadas com os outros gêneros da família. Esta cauda mais robusta, porém ao mesmo tempo mais curta, pode estar relacionada à capacidade de natação do animal. Pode se inferir pela robustez da cauda dos exemplares de *Potamotrygon*, que são melhores nadadores. Isto proporciona ao animal maior rapidez na hora de procurar alimento assim como uma maior facilidade de locomoção e fuga de possíveis predadores. O gênero *Potamotrygon* é o único que possui espécies distribuídas em todas as bacias da América do Sul e a capacidade de natação do animal pode estar relacionada com a capacidade de ocupar novos nichos ecológicos distantes.

A articulação do metapterígio na parede lateral externa do processo ilíaco acontece por meio de dois pontos de articulação. A principal articulação é através de um côndilo convexo presente na base do processo ilíaco onde a faceta articular da região anterior do metapterígio se articula. A segunda articulação é a traves de ligamentos cartilagosos entre uma projeção presente acima do côndilo e a região mais anterior do metapterígio. Estas duas regiões de articulação apresentam uma distancia equivalente nos exemplares de *Potamotrygon motoro* analisados assim como nos exemplares de *Potamotrygon falknery*, *Potamotrygon leopoldi* e *Potamotrygon tigrina*. Por outro lado, nos exemplares de *Heliotrygon gomesi* e *Paratrygon aiereba* estas duas regiões de articulação apresentam uma distancia menor. No entanto, é preciso uma quantidade maior de material de comparação para ser utilizado como um caráter valido numa análise filogenética.

O formato do metapterígio apresenta uma diferença entre exemplares machos e fêmeas das espécies. Nos machos, a estrutura é retangular, mais curta e robusta e decorrência de que esta estrutura suporta o clasper nos machos. Espécimes fêmeas apresentam um metapterígio mais comprido e afunilado na sua extremidade distal. Exemplares fêmeas de *Potamotrygon motoro* LIA2018, PNT519, *Plesiotrygon iwamae* PNT 303, *Potamotrygon tigrina* PNT304, *Potamotrygon leopoldi* PNT 308 e *Potamotrygon falknery* PNT310 apresentam uma segmentação triangular da extremidade distal do metapterígio. Por outro lado, exemplares fêmeas de *Heliotrygon gomesi* PNT 269 e *Paratrygon aiereba* PNT264 esta segmentação é delgada e retangular.

Nos exemplares analisados para o estudo, apenas três exemplares apresentaram o cláspere o suficientemente desenvolvido para poder ser preparado e estudado. O formato do cláspere nos exemplares analisados não apresentam diferenças relevantes a exceção da

cartilagem terminal dorsal 2. O exemplar da bacia da Amazônia LIA2018, apresenta uma borda externa curvada para a cartilagem terminal dorsal 2. Por outro lado, o exemplar PNT520 da bacia do Paraná – Paraguai, apresenta uma borda externa em linha reta da mesma cartilagem. Ao mesmo tempo, o exemplar LIA2018 apresenta a extremidade distal da cartilagem terminal dorsal 2 afunilada, diferenciando-se desta forma do exemplar PNT520, que apresenta a extremidade distal retangular para esta cartilagem. Igualmente, esta última conformação é observada no exemplar *Potamotrygon* sp. PNT307.

A pesar de contar com uma quantidade muito reduzida de espécimes adultos para o estudo do cláster, o resultado observado aqui, condiz com o resultado apresentado por Taniuchi e Hichihara, 1990, trabalho no qual realizam uma comparação desta estrutura entre os gêneros da família Potamotrygonidae. O trabalho de Taniuchi e Hichihara 1990, em concordância com este estudo, determina que a cartilagem terminal dorsal 2 é uma das cartilagens a apresentar pequenas diferenças entre os exemplares, não obstante, estas diferenças não foram catalogadas como provável caráter para serem utilizadas numa análise filogenética devido a falta de uma maior quantidade de material de comparação.

As vértebras diplospondílicas dos exemplares de *Potamotrygon motoro* LIA2018 e PNT521 (Bacia Amazônica) estão posicionadas até a ponta da cauda assim como nos exemplares de *Potamotrygon falknery*, *Potamotrygon* sp., *Potamotrygon leopoldi* e *Potamotrygon tigrina*. No entanto, exemplares de *Heliotrygon gomesi*, *Paratrygon aiereba* e *Plesiotrygon iwamae* apresentam uma continuação cartilaginosa não segmentada e de longitude variável posteriormente as vértebras diplospondílicas. A presença ou não da extremidade cartilaginosa (10) foi codificada como um caráter a ser utilizado na análise.

Os exemplares analisados pertencentes às duas bacias apresentaram espinhos neurais desenvolvidos assim como os observados nos exemplares de *Potamotrygon leopoldi*, *Potamotrygon falknery* e *Potamotrygon* sp. Exemplares de *Paratrygon aiereba* e *Plesiotrygon iwamae* apresentaram espinhos neurais muito reduzidos quando comparados com os anteriores exemplares.

O formato em geral dos espinhos caudais quando comparados entre as espécies da família Potamotrygonidae, não apresentam diferenças relevantes para serem utilizadas numa análise filogenética. No entanto, a quantidade de espinhos caudais presentes nos exemplares apresenta uma alta variabilidade intraespecífica como no caso do exemplar LIA2018 (Rio Xingu) que possui dois espinhos caudais bem desenvolvidos assim como nos exemplares de *Potamotrygon* sp., *Potamotrygon tigrina*, *Potamotrygon leopoldi* e *Plesiotrygon iwamae* PNT308. Por outro lado, o exemplar de *Potamotrygon motoro* PNT521 (Rio Caiapó)

apresenta um espinho caudal bem desenvolvido assim como os exemplares de *Potamotrygon falknery* PNT309 e *Plesiotrygon iwamae* PNT303. Porém, exemplares de *Heliotrygon gomesi* não apresentaram espinhos caudais. No entanto, a ausência ou diferença na quantidade de espinhos caudais não significa que o exemplar realmente não possua o espinho ou a quantidade observada nele. A ausência ou diferença na quantidade de espinhos presentes na cauda, esta relacionado a uma alta variabilidade em consequência da perda ou não dos espinhos ao longo da sua maturação, ou na perda do mesmo devido á utilização desta estrutura como mecanismo de defesa pelo animal.

4.2 Discussão morfológica do complexo *Synbranchus marmoratus*

De acordo com Rosen & Greenwood (1976) a família Synbranchidae representa um grupo monofilético composto por 4 gêneros distintos (cf. *Macrotrema*, *Synbranchus*, *Amphipnous* e *Ophisternom*). Atualmente existem 24 espécies válidas (Eschmeyer & Fong, 2016), sendo três pertencentes ao gênero *Synbranchus*, objeto dessa tese.

As espécies de *Synbranchus* são anatomicamente pouco estudadas e suas identificações sempre foram associadas aos padrões de coloração. Mesmo a primeira espécie descrita para o gênero, *Synbranchus marmoratus* Bloch, 1795, distribuída em todas as Bacias Hidrográficas Sulamericanas, não apresenta uma descrição anatômica detalhada.

Esta etapa da tese tem como objetivo apresentar um estudo osteológico detalhado de *Synbranchus marmoratus*, comparando os táxons presentes nas quatro Bacias Sulamericanas mais importantes: bacias costeiras dos rios Comté e Approuague - Guiana Francesa; Rio Madeira da Bacia do Amazonia; Rio Paraguai e região do Chaco da Bacia Paraná – Paraguai e a Bacia do Leste Brasileiro. Com o levantamento desses dados anatômicos será possível estabelecer uma relação de parentesco entre os grupos de *S. marmoratus* distribuídos, e isolados, em suas respectivas áreas geográficas na América do Sul. Dada a ampla distribuição desse táxon em todo o continente Sulamericano, a espécie *S. marmoratus* é atualmente conhecida como complexo *Synbranchus marmoratus*. A descrição anatômica detalhada das espécies de *S. marmoratus* de cada Bacia corrobora a elevada variabilidade existente entre as mesmas.

A partir da revisão anatômica dos diversos exemplares de *S. marmoratus*, foi possível constatar uma grande variabilidade entre os exemplares de uma mesma Bacia e entre os

exemplares de diferentes Bacias. Durante a realização dos trabalhos de coleta, observou-se que espécimes menores e de coloração mais clara sempre estavam presentes em riachos com águas mais cristalinas, enquanto os espécimes maiores somente foram encontrados em rios com uma vazão maior e com águas mais escuras. Em sua grande maioria, as manchas e máculas características do complexo *S. marmoratus*, não foram observados nos exemplares menores presentes em águas claras e cristalinas. Por outro lado, tais características são marcantes nos exemplares maiores – presentes em águas escuras e de alta energia (Figura 35). A presença das manchas e máculas está claramente associada ao padrão de turbidez d'água em que o animal vive, possivelmente servindo como um padrão de camuflagem. Concomitantemente, pode-se inferir também, que muito provavelmente, que as espécies do complexo *S. marmoratus* passem a sua fase juvenil em riachos com águas claras e que a fase adulta seja em águas mais escuras.

O complexo *S. marmoratus* apresenta diferenças anatômicas no neurocrânio, o que tornou possível a identificação de três morfótipos de mesetmóide (mm-1, mm-2 e mm-3). O 1º morfótipo, como observado no exemplar GF00649 e presente em todas as Bacias, apresenta a região anterior próximo à articulação do nasal, mais larga tornando-se progressivamente mais afunilada posteriormente. O 2º morfótipo, como observado no exemplar PNT457 e presente também em todas as Bacias, apresenta sua superfície dorsal triangular e afilada. O 3º morfótipo, observado apenas no exemplar PNT273 da Bacia Paraná-Paraguai, assemelha-se ao segundo apresentando somente como diferença a presença de um pequeno lóbulo com bordas arredondadas, próximo da articulação com o nasal (Figura 54).

No paraesfenóide foi possível também identificação de dois diferentes morfótipos (mp-1, mp-2), sobretudo na sua porção posterior. O 1º morfótipo, como observado no exemplar GF00652 e presente nos exemplares de todas as Bacias, é caracterizado pela presença de extremidades arredondadas. O 2º morfótipo, como observado no exemplar PNT464 e presente também em todas as Bacias, é caracterizado pelas extremidades pontiagudas.

A superfície anterior da lamina descendente do frontal apresentam variações classificadas em três morfótipos (mlf-1, mlf -2, mlf -3). O 1º morfótipo apresenta a superfície anterior orientada posteriormente como observado no exemplar GF00652 (Figura 54). O 2º morfótipo corresponde a uma superfície anterior orientado em linha reta como observado no exemplar GF00651. O 3º morfótipo tem como característica a presença de uma cavidade na superfície anterior como observado no exemplar PNT464. Estes morfótipos estão distribuídos

em todas as bacias hidrográficas com exceção do MLF-1, que não foi observado em exemplares provenientes da Bacia da margem Atlântica no Sudeste Brasileiro.

A porção posterior do frontal também apresentou variação identificada em dois morfótipos distintos (mpf-1 e mpf-2). O 1º morfótipo, como observado no exemplar GF00652, apresenta suas bordas alinhadas e formando uma superfície retilínea irregular (Figura 54). O 2º morfótipo, como observado no exemplar PNT467, apresenta as bordas não alinhadas e a porção mais externa estende-se posteriormente ultrapassando a borda lateral interna delineando um formato semelhante a uma V deitada (<).

A chave apresentada por Rosen & Greenwood (1976) diferenciando *Synbranchus marmoratus* de *Synbranchus madeirae* (Anexo B), indica uma borda anterior quadrada ou irregular para o osso parietal em *Synbranchus marmoratus* e, uma borda anterior arredondada para *S. madeirae*. A borda anterior do parietal se articula anteriormente com a superfície posterior do frontal, região a qual foi observada duas variações importantes no formato deste osso. Durante a análise dos exemplares, observamos que a maioria dos espécimes apresentou a região posterior do frontal superposto à região anterior do parietal, desta forma, a região anterior do parietal fica praticamente sob a região posterior do frontal, escondendo de certa maneira o seu formato verdadeiro. Desta forma acreditamos que o padrão da extremidade posterior do frontal seja mais adequado a ser utilizado como provável caráter para diferenciar estas e outras espécies dentro do gênero.

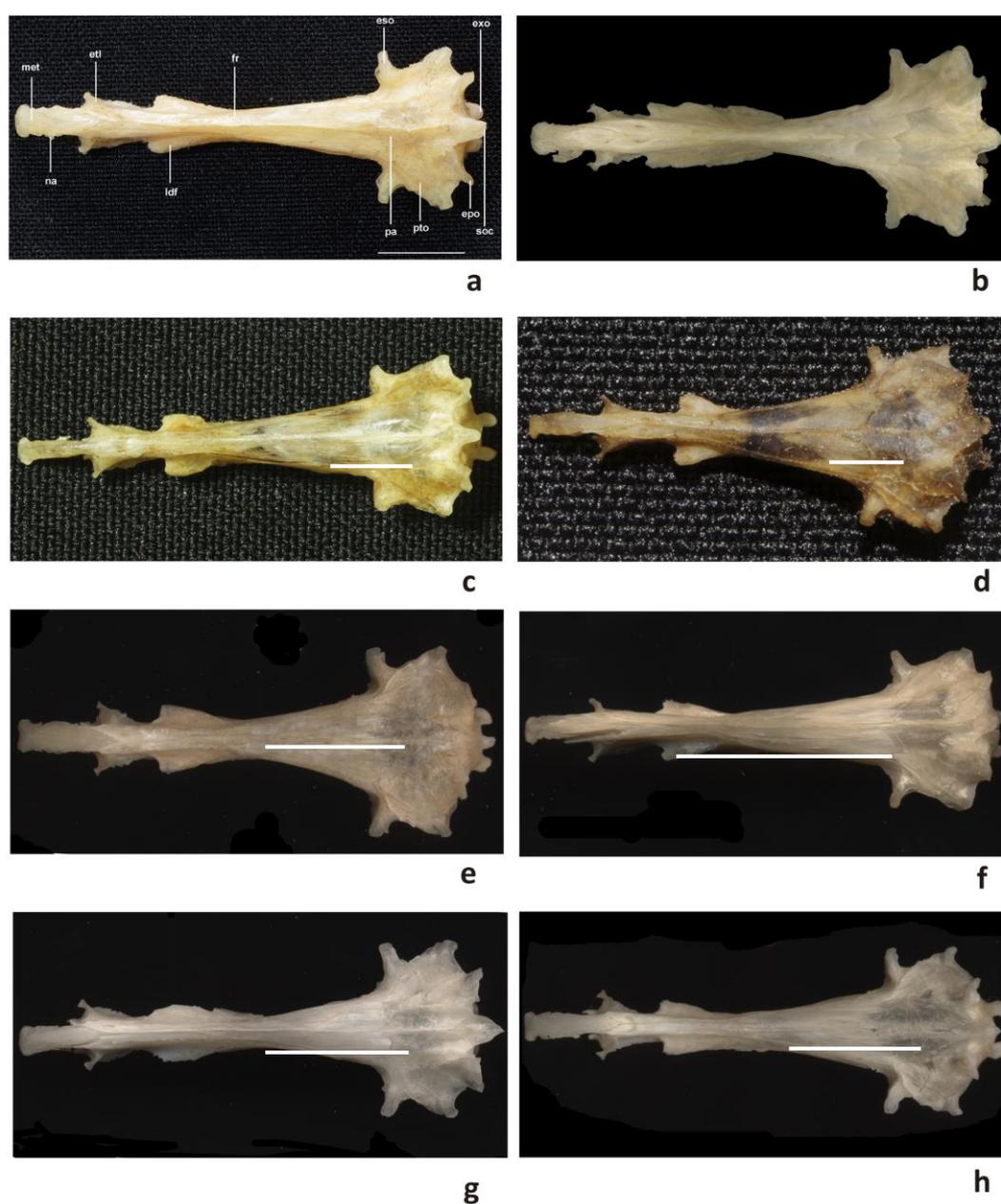
A projeção situada na borda lateral da região posterior do pterótico apresenta dois morfotipos (mpt-1, mpt-2) distribuídos nos exemplares analisados. O primeiro morfotipo corresponde a uma projeção bem desenvolvida, representada por um processo direcionado posterolateralmente como observado no exemplar GF00652 (Figura 54). O segundo é uma projeção representada por uma saliência, de bordas arredondas e não desenvolvidas como observado no exemplar PNT466. O segundo morfotipo não foi observado em exemplares das Guianas.

O processo posterior do epiótico apresentou dois morfótipos (mpe-1, mpe-2) distribuídos nas diferentes Bacias. O primeiro trata-se de um processo bem desenvolvido como observado no exemplar GF00652, o segundo é um processo não desenvolvido como observado no exemplar GF00651 (Figura 54). As duas variações no formato deste processo estão distribuídos em exemplares de todas as bacias.

O supraoccipital apresenta dois tipos de bordas posteriores (ms-1, ms-2). O primeiro morfotipo apresenta uma borda posterior pontiaguda, como observado no exemplar GF00652 (Figura 54). O 2º morfótipo caracteriza-se por uma borda posterior arredondada como

observado no exemplar BO00648. Exemplos da Bacia da Guiana Francesa apresentaram unicamente o primeiro morfotipo. As demais bacias apresentam exemplares com as duas variações possíveis no formato da superfície posterior do supraoccipital.

Figura 54 – Neurocrânios do complexo *Synbranchus marmoratus*



Legenda: Neurocrânio de *Synbranchus marmoratus* a) PNT467 (Rio Miracema); b) PNT518 (Rio Paraguai); c) PNT457 (Chaco Paraguai); d) PNT461 (Chaco Paraguai); e) MNHN00651 (Guiana Francesa); f) MNHN00648 (Bolivia); g) MNHN00652 (Guiana Francesa); h) MNHN00649 (Guiana Francesa). met – mesetmóide; etl – etmóide lateral; fr – frontal; eso – esfenótico; exo – exoccipital; soc – supraoccipital; epo – epiótico; pto – pterótico; pa – parietal; ldf – lamina descendente do frontal; na – nasal. Escala 10mm.

Fonte: O autor, 2016.

Do mesmo modo, variações morfológicas foram observadas na região maxilar dos exemplares analisados. O formato do dentário apresentou duas variações (md-1, md-2) as quais são descritas da seguinte maneira. O 1º morfótipo corresponde a um dentário delgado e alongado como observado no exemplar GF00652 (Figura 39). O 2º morfótipo apresenta o dentário mais robusto e curto como observado no exemplar PNT466. Os exemplares representantes da bacia da Guiana apresentaram só dentários delgados e alongados. As duas variações deste formato são constatadas em todas as demais bacias.

O processo articular apresenta uma pequena elevação denominada processo coronóide do retroarticular segundo Rosen & Greenwood (1976). Nos exemplares analisados observamos três tipos de variações (mpc-1, mpc-2, mpc-3). O 1º morfótipo indica a ausência do processo coronóide articular claramente observado no exemplar GF00652. O 2º morfótipo trata-se da presença e desenvolvimento deste processo como observado no exemplar GF00651 (Figura 39). O 3º morfótipo indica a presença de um processo coronóide do articular bem desenvolvido como observado no exemplar PNT466. A ausência deste processo foi constatada num só exemplar, citado anteriormente, e as outras duas variações estão distribuídas nos exemplares de as outras bacias estudadas.

Dentro da série opercular, o formato da borda posterior do opérculo apresenta uma variação muito alta entre os exemplares examinados, consequência da perda de tecido ósseo durante a preparação. Em alguns dos exemplares de menor porte, a estrutura praticamente foi perdida em decorrência do método de preparação que se mostrou inapropriado para a preparação de esqueletos pouco ossificados ou de tamanho reduzido.

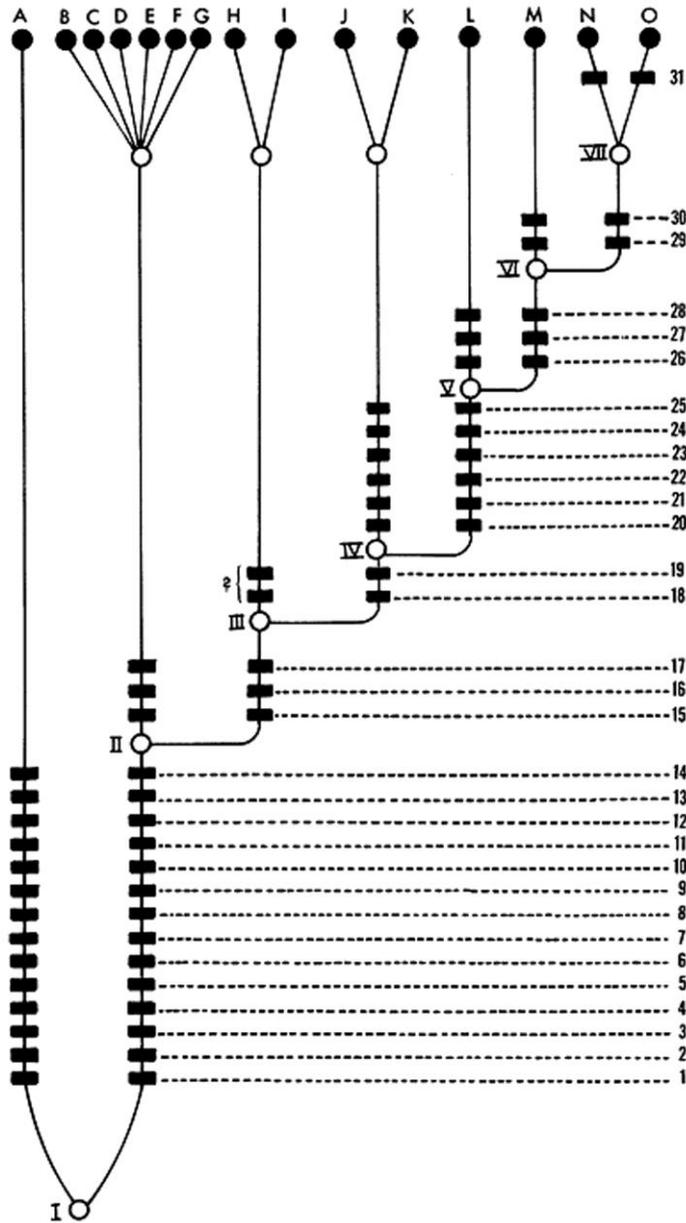
No complexo do arco hioide, a articulação da região posterior e ventral do ceratohial anterior, com a região anterior e ventral do ceratohial posterior, forma uma concavidade acentuada na qual os raios branquiostegais se articulam. Esta concavidade formada por estes dois ossos, é caracterizado por um entalhe acentuado formado pela borda posterior do ceratohial anterior e a borda anterior do ceratohial posterior.

Segundo a hipótese filogenética apresentada por Rosen & Greenwood (1976) (Figura 55), a pouca ossificação das extremidades posteriores dos raios branquiostegais, seria um possível caráter sinapomórfico para *Synbranchus*. O resultado da análise dos exemplares, os raios branquiostegais realmente apresentam-se menos ossificados como proposto por Rosen & Greenwood (1976). No entanto, este estado foi observado somente para exemplares menores de 20 mm enquanto os exemplares maiores de 40 mm apresentam raios branquiostegais ossificados nas suas extremidades posteriores, deixando assim em dúvida se este seria realmente um caráter válido para o grupo, já que o estado pouco ossificado da região posterior

de um raio branquiostegal, está diretamente relacionado com o tamanho do espécimen analisado.

Outra provável sinapomorfia para *Synbranchus*, apontado pelo trabalho de Rosen & Greenwood (1976), é a diferença do tamanho e o formato do entalhe presente na borda externa posterior do primeiro epibranchial. Segundo estes autores a ausência de um entalhe pronunciado na borda anteroposterior do primeiro epibranchial é uma característica de *Synbranchus*. O presente estudo corrobora esta característica e a pesar de não observar uma variação no formato do entalhe, foi observado uma variação na posição do entalhe na borda do primeiro epibranchial. O exemplar GF00652 apresenta um pequeno entalhe aproximadamente um pouco depois do ponto médio do comprimento total da estrutura. Por outro lado, os exemplares PNT466, PNT463 e PNT464, todos estes correspondentes ao Rio Miracema, apresentam o entalhe bem próximo à região mais posterior da extremidade distal da estrutura. Embora o trabalho de Rosen & Greenwood (1976) não cite o ponto aproximado de onde se situa o entalhe na estrutura, consideramos uma informação válida para futuras análises. O formato do primeiro hipobranquial observado no exemplar GF00652 apresenta uma alta variação na sua robustez, interpretado aqui como variação estritamente relacionada ao tamanho do exemplar. No entanto, a pesar de ter sido observado excepcionalmente em um exemplar, consideramos o padrão do formato do exemplar GF00649 como uma possível característica relativa à diferença entre estes dois padrões. Consideramos uma informação válida que deverá ser corroborada examinando mais exemplares em futuros trabalhos.

Figura 55 – Relações filogenéticas para *Synbranchus* proposta por Rosen & Greenwood, 1976



Legenda: Filogenia proposta por Rosen e Greenwood (1976) para a família Synbranchidae. (A) *Macrotrema caligans*; (B) *Ophisternon afrum*; (C) *O. aenigmaticum*; (D) *O. bengalense*; (E) *O. gutturale*; (F) *O. candidum*; (G) *O. infernale*; (H) *Synbranchus madeirae*; (I) *S. marmoratus*; (J) *Monopterus albus*; (K) *M. "indicus"* (espécie descrita por Eapen, 1963, que não foi vista pelos autores); (L) *M. boueti*; (M) *M. indicus*; (N) *M. fossorius*; (O) *M. cuchia*. *Character: 18, branchiostegals with distal half poorly ossified or absent; 19, first epibranchial without a deep notch for ossified interarcual cartilage;*

Fonte: Rosen e Greenwood, 1976.

Do mesmo modo, durante a análise dos exemplares, foi constatada a variação no desenvolvimento da quilha presente na região dorsal do pós-temporal da cintura peitoral. Como já citado na descrição, exemplares como os da Guiana, apresentam uma quilha dorsal mais desenvolvida, característica igualmente observada em exemplares do Rio Miracema. Por outro lado, alguns exemplares da bacia do Paraná-Paraguai apresentaram quilhas menos desenvolvidas. Embora a variação observada neste osso, não tenha uma relevância importante para determinar dois estados de caracteres, consideramos a informação válida e importante, uma vez que durante a análise dos exemplares, e posterior comparação destes com outros grupos, foi observado que este osso apresenta uma configuração totalmente diferenciada do pós-temporal presente em *Synbranchus*, podendo assim desta forma indicar uma possível sinapomorfia para o grupo. Tal característica deverá ser corroborada futuramente realizando uma comparação entre *Synbranchus* e outros gêneros da família.

O supracleito apresentou três variações (msc-1, msc-2, msc-3). O 1º morfotipo, como observado no exemplar GF00652, apresenta uma estrutura com a extremidade dorsal lobulada somente na sua superfície anterior, extremidade inferior afunilada e superfície anterior convexa (Figura 45). O 2º morfotipo observado no exemplar PNT459 apresenta a extremidade superior lobulada tanto na sua superfície anterior como posterior, com formato semelhante a um martelo, levemente convexo e superfície anterior totalmente reta. O 3º morfotipo corresponde a uma extremidade superior lobulada somente na sua superfície anterior, superfície anterior em linha reta sendo a estrutura delgada e alongada como observado na maioria dos exemplares da Bacia do Leste Brasileiro.

Segundo o trabalho de Rosen & Greenwood (1976), uma das sinapomorfias prováveis para *Synbranchus marmoratus* observada na coluna vertebral seria a presença de espinhos neurais das vértebras abdominais curtos e robustos e de tamanho menor que a distância entre dois espinhos neurais.

O presente estudo corrobora a presença de espinhos neurais curtos e robustos nas vértebras abdominais. No entanto, estas características são observadas aproximadamente nas primeiras dez vértebras, enquanto que nas vértebras posteriores diminuem em robustez drasticamente e passam a ser finos e alongados. Por outro lado, os autores não indicam o lugar ou região exata nem aproximada onde foi realizada a medida entre um espinho e outro para determinar o padrão sugerido pelo trabalho. Durante a análise dos exemplares para este estudo, constatamos que o parâmetro de medida apresenta uma ambiguidade. As medidas encontradas na maioria dos exemplares indicam um tamanho do espinho neural maior que a distância entre dois espinhos. Este padrão é observado para medidas realizadas nas primeiras

vértebras abdominais. No entanto se a medida entre dois espinhos é realizada em vértebras mais posteriores, próximo às vértebras caudais, este padrão se torna verdadeiro só para alguns exemplares. Observamos também que o tamanho dos espinhos neurais diminui posteriormente e a distância entre os mesmos aumenta. E que nas vértebras caudais os espinhos diminuem a distância uns dos outros. Desta forma, acreditamos que este padrão não é favorável a ser utilizado para diferenciar *Synbranchus marmoratus* de *Synbranchus madeirae* como proposto por estes autores.

Finalmente, logo de apontar os diferentes morfotipos observados nos exemplares analisados, observamos que algumas características anatômicas são compartilhadas por todos ou a grande maioria dos exemplares de uma mesma bacia. Desta forma, todos os exemplares das Guianas francesas analisadas apresentam; a projeção da borda lateral da região posterior do pterótico bem desenvolvida; supraoccipital de borda posterior aguda; dentário delgado e alongado; supracleito de extremidade superior lobulada somente na sua superfície anterior, extremidade inferior afunilada e superfície anterior convexa.

Por outro lado, exemplares representantes da bacia do Paraná-Paraguai apresentaram uma ampla variação entre os exemplares, compartilhando somente duas características anatômicas pela maioria deles. Todos os exemplares, a exceção de PNT460 e PNT461, apresentam as bordas das extremidades posteriores do frontal alinhadas e formando uma superfície reta irregular. Do mesmo modo, todos os exemplares, a exceção de PNT271 e PNT273, apresentam o processo coronóide do retroarticular pouco desenvolvido.

No entanto, todos os exemplares da bacia do Leste Brasileiro apresentam; a porção posterior do paraesfenóide bifurcada e com as pontas triangulares arredondadas; extremidade posterior do frontal de bordas posteriores não alinhadas; supracleito delgado e alongado com a extremidade superior lobulada unicamente na superfície anterior.

4.3 Filogeografia

Análises filogeográficas de peixes neotropicais vem sendo realizadas com sucesso em alguns grupos taxonômicos como Characidae e Cichlidae (Alves – Silva *et. al.*, 2014; Barros *et. al.*, 2015). As análises filogenéticas moleculares do gene COI, realizadas para as espécies de *Potamotrygon motoro* e *Synbranchus marmoratus* das diferentes bacias, apresentaram resultados favoráveis para a confirmação de que estas espécies amplamente distribuídas na América do Sul sejam na verdade um complexo de espécies. Todavia, estes resultados moleculares, só se tornam significativos quando combinados com os resultados da análise morfológica de cada espécie.

As relações filogenéticas hipotetizadas para as sequências de *Potamotrygon* indicam que o exemplar *Potamotrygon sp.* PNT307, coletado no lago Ypacarai, Paraguai, faz parte do clado A (Figura 32) apresentando uma estreita relação com exemplares procedentes da bacia do Alto Paraná. A média da distância genética entre as sequências do clado A é de 0,3% e, a distância genética entre *Potamotrygon sp.* e o exemplar *Potamotrygon motoro* JN989157 é de 0%, indicando uma grande probabilidade de que estes exemplares, de diferentes bacias, sejam uma mesma espécie. No entanto, quando este exemplar de *Potamotrygon sp.* (PNT307) é comparado ao exemplar também identificado como *Potamotrygon motoro* LIA2018 do rio Xingu, encontrado na base do clado C (Figura 32) encontramos uma distância genética de 7,5%, além do fato de encontrarmos um exemplar da espécie *Potamotrygon falknery* formado o grupo irmão do clado A. Esta distância genética entre os exemplares LIA2018 e PNT307 pode ser corroborada por diferenças morfológicas como a ausência de ornamentação no disco e uma cartilagem antorbital curta no exemplar do Rio Paraguai (PNT307).

O dendograma da análise molecular apresenta uma relação entre os exemplares que formam o clado D (PNT520, PNT519 e KU288990). A distância média das sequências genéticas de 0% sendo corroborada por uma autapomorfia (c.f., presença de uma arcualia dorsal anterior ao sinarcual).

Finalmente o espécime *P motoro* PNT521 coletado no Rio Caiapó da bacia Amazônica e posicionado como grupo irmão dos demais clados e apresenta uma diferença morfológica em relação aos outros táxons examinados: uma ponta dupla em sua barra epifisial (Figura 50) maior proximidade entre o processo pós-orbital anterior e o processo pós-orbital posterior (Figura 17) e a presença de uma cartilagem mandibular acessória (Figura 21)

Da mesma forma, as relações filogenéticas obtidas para as sequências de *Synbranchus marmoratus* indicam que a sequência do exemplar *S marmoratus* PNT484 coletado no Rio Miracema, no estado do Rio de Janeiro forma parte do clado A onde a mesma está agrupada com cinco sequências de *S marmoratus* procedentes da bacia do Alto Paraná (Figura 48) apresentando uma distância média genética entre eles de 0%. Sendo assim, o clado A forma um grupo monofilético com o espécime *S marmoratus* CHPA11 e com o clado B (PNT457 e PNT458); estes três exemplares coletados no Chaco Paraguai.

Por outro lado, apesar da distância genética entre o exemplar PNT484 do Rio Miracema e o exemplar CHPA11 e o clado B ser somente de 1,6%, foram verificadas diferenças morfológicas importantes (os outros exemplares do clado A não foram observados morfológicamente). O exemplar do Rio Miracema (assim como todos os exemplares analisados para esta bacia) apresenta as bordas posteriores do frontal não alinhadas (Figura 54) assim como possui um supracleito delgado e alongado (Figura 45). Por outro lado exemplares do clado B apresentam bordas posteriores do frontal alinhadas formando uma superfície retilínea irregular e um supracleito de formato semelhante a um martelo. Finalmente o exemplar *S marmoratus* HM404979 da bacia do alto Paraná é apresentasse como grupo irmão do clado C (Clado D, Figura 48)

O clado E é formado pelas sequências dos espécimes CHPA07 coletado no Chaco Paraguai e JX111854 da bacia do Rio da Prata. Embora não tenhamos uma descrição morfológica para os exemplares do clado E, CHPA07, coletado na mesma região que os exemplares do Chaco (clado C), apresenta uma diferença genética de 4,6% em relação ao clado B e de 4,2% em relação ao exemplar CHPA11 (Figura 48).

O clado H está formado pela relação entre a sequência do espécime PNT461 do Chaco Paraguai e o clado G, formado por uma politomia de táxons do Chaco e da bacia do alto Paraná (Figura 48). A sequência do exemplar *S marmoratus* PNT460 pertencente ao clado C, apresenta uma distância genética de 0,1% em relação ao exemplar PNT461.

Quando comparamos a distância genética entre PNT460 (clado H) e CHPA07 (clado E), esta é de 10,7%. Todavia esta distância elevada entre as sequências chama a atenção pelo fato de ambos os exemplares terem sido coletados na mesma bacia. Os exemplares PNT460 e PNT461 são os únicos que apresentam a extremidade posterior do frontal com as bordas posteriores não alinhadas, entre os exemplares coletados na Bacia Paraná – Paraguai. Esta característica anatômica é compartilhada com os exemplares da bacia do Leste Brasileiro, embora a distância genética entre estes seja de 9,7%.

O táxon *S marmoratus* LIA2020 do rio Xingú é a sequência mais divergente entre todas as sequências analisadas neste trabalho. Infelizmente não temos informação sobre suas características morfológicas internas à causa de que a sequência deste exemplar foi obtida a partir de tecido muscular doado pelo laboratório de Ictiologia de Altamira (LIA) da UFPA. No entanto, no momento da coleta, a coloração externa apresentava uma cor preta na sua região dorsal e manchas amareladas em todo o corpo (observação pessoal), apresentando assim um padrão de coloração bem diferenciado em relação à coloração padrão para *Synbranchus marmoratus*. Este exemplar juntamente com as sequências do táxon PNT517, coletado no Rio Paraguai, próximo à região do Chaco, e a sequência do táxon LIA2026, coletado no Rio Xingú foram o clado K (Figura 48). Todavia a distância genética entre LIA2020 e PNT517 é de 5,8%, ao passo que entre LIA2020 e LIA2026 é de 13,2% (Apêndice C). No momento da coleta, o padrão de coloração do exemplar LIA2026 era de uma cor cinza escura na região dorsal e ventralmente amarelada, com pequenas manchas pretas sem formato definido.

Finalmente, o clado O é formado pelos cladogramas M e N (Figura 48). O clado M é representado pela sequência do exemplar *S marmoratus* PNT518 coletado do Rio Paraguai e as sequências de *S marmoratus* HM405240 e HM405241 da bacia do Alto Paraná, apresentando uma distância genética de 0,5% entre as mesmas.

A pesar dos exemplares PNT518 e PNT517, pertencente ao clado J, terem sido coletados na mesma bacia e, praticamente no mesmo rio, suas respectivas sequências genéticas apresentam uma distância de 8,1% e cada um deles está relacionado inesperadamente a sequências de exemplares de bacias bem distantes. Isto é posto em consideração devido a estes exemplares foram coletados muito próximos a os exemplares coletados no Chaco Paraguaio.

O clado N, conformado por três sequências de *S marmoratus* oriundos do estado do Maranhão, Nordeste do Brasil.

Topologias como as apresentadas no dendograma da análise molecular de *Synbranchus marmoratus* (Figura 48), onde exemplares da mesma espécie coletados na mesma bacia, não estão relacionadas entre si e sim com exemplares de bacias adjacentes ou mesmo distantes, é observado de igual maneira no dendograma obtido para *Potamotrygon* (Figura 32), inclusive no dendograma da análise filogenética baseada em dados morfológicos apresentados por este estudo para esta última espécie (Figura 31).

As relações obtidas entre os exemplares analisados não estão relacionados da mesma maneira, apresentando assim uma pequena incongruência, principalmente quanto a relação da

P motoro coletada no Rio Paraguai. Na topologia filogenética baseada em dados morfológicos a *P motoro* do Rio Paraguai aparece como sendo a mais basal entre os exemplares deste complexo (clado A3, Figura 31) e seguidamente se relaciona com os demais exemplares que formam o clado A4, inclusive pertencentes a outras espécies como *Potamotrygon leopoldi*, espécie endêmica da bacia da Amazônia, e *P falknery* do baixo Paraná.

Por outro lado, a topologia da filogenia molecular (Figura 32) apresenta *P motoro* coletado no Rio Caiapó de Tocantins como sendo a mais basal e, posteriormente relacionada à *P motoro* do Rio Paraguai, com uma distância genética elevada e características morfológicas diferentes anteriormente já citadas. No entanto, a relação entre a *P motoro* coletada no Xingu e a *Potamotrygon* sp., coletada no Lago Ypacarai do Rio Paraguai é mantida nas duas topologias obtidas, sendo esta relação a mais derivada entre elas nas duas topologias apresentadas. Infelizmente o estudo não obteve sucesso na obtenção de uma *Potamotrygon motoro* da bacia do Alto Paraná para ser analisada morfológicamente.

Até a presente data não se tem informação na literatura sobre análises filogenéticas baseadas em dados morfológicos para *Synbranchus marmoratus*. No entanto, o resultado deste estudo indica características morfológicas compartilhadas por exemplares de uma mesma bacia assim como diferenças entre exemplares da mesma bacia. Portanto, é preciso testar a validade destes caracteres no intuito de resgatar as relações dentro deste complexo e confrontá-las com a topologia de uma árvore filogenética baseada em dados moleculares como a obtida por este trabalho (Figura 48) testando assim a validade de novas espécies.

O dendograma filogenético apresenta exemplares de *S marmoratus* coletados na bacia do Alto Paraná sendo mais próximos de exemplares coletados na Bacia do Leste Brasileiro. Seguidamente estas duas bacias estão relacionadas a exemplares da Bacia do Paraná – Paraguai especificamente à região do Chaco Paraguaio. Por conseguinte, estes exemplares da bacia do Paraná – Paraguai estão relacionados a exemplares do Rio Xingu e seguidamente estes exemplares novamente apresentam uma relação com exemplares da bacia do Paraná – Paraguai, mas desta vez com exemplares especificamente coletados no rio Paraguai próximos à região do Chaco Paraguaio.

Tanto na topologia filogenética de *P motoro* e *S marmoratus*, observamos que os exemplares coletados nas bacias do Alto Paraná formam um grupo monofilético. Da mesma forma, as duas topologias moleculares apresentam uma relação mais próxima entre exemplares do Alto Paraná e exemplares da Bacia do Paraguai – Paraná. Por conseguinte, exemplares da Bacia do Paraguai – Paraná estão relacionados a exemplares coletados no Rio Xingu nas duas topologias obtidas para as diferentes espécies. Desta forma, exemplares do

Rio Xingú apresentam uma relação de parentesco com clado formado pelos exemplares da Bacia do Paraná – Paraguai. Por último, para o complexo *Potamotrygon motoro*, exemplares da Bacia Paraná – Paraguai se relacionam com o exemplar mais basal que foi coletado no Rio Caiapó de Tocantins da Amazônia.

Contrariamente a análise do complexo *Synbranchus marmoratus* não possui exemplares coletados no Tocantins, mas sim numa região próxima, que corresponde ao Nordeste Brasileiro – Maranhão e a mesma os apresenta como exemplares mais basais.

Conseqüentemente, os resultados filogenéticos apontam para uma conexão mais recente entre as bacias do Alto Paraná e a Bacia do Paraná – Paraguai. Ao mesmo tempo, nossos resultados indicam que existiu uma conexão anterior entre a sub-bacia do rio Xingu e a Bacia do Paraná – Paraguai.

Considerando estas prováveis conexões entre bacias, estas relações podem ser utilizadas como ponto de partida para uma possível explicação da dispersão destes dois complexos de espécies amplamente distribuídas na América do Sul. Apesar da pouca quantidade de espécimes de *Potamotrygon motoro*, analisados morfológica e molecularmente, assim como para espécimes de *Synbranchus marmoratus*, este estudo propõe determinar a possibilidade da existência de espécies crípticas baseado nas características morfológicas compartilhadas entre exemplares de uma mesma bacia, as quais estão sustentadas por uma distância genética elevada, assim como a congruência das relações entre as topologias apresentadas nas árvores filogenéticas destas duas espécies.

No entanto, não é objetivo deste estudo determinar o tempo das cladogênese dos ancestrais de cada complexo. Entretanto, o padrão de relação observado entre as bacias sugere uma provável especiação alopátrica gerando uma radiação e posterior adaptação dos ancestrais de *Potamotrygon motoro* e *Synbranchus marmoratus*.

A região Neotropical exibe um padrão biogeográfico tão complexo, que várias hipóteses baseadas em processos diferentes têm sido propostas para explicar a origem da riqueza de espécies tropicais e padrões de distribuição na América do Sul. Embora estas teorias sejam decorrentes de diferentes campos da biogeografia e envolvendo processos em diferentes escalas de tempo e espaço, são observadas concordâncias entre a relação dos eventos geológicos e climáticos sobre os padrões de distribuição (Hubert & Renno, 2006).

Segundo o estudo realizado por Hubert 2007, seus resultados apontam a junção de quatro hipóteses que explicam melhor os eventos que contribuíram a diversidade da fauna ictiológica Neotropical; a hipótese dos Museus, indicando uma diferenciação alopátrica das espécies nas terras altas e posterior acúmulo de espécies nas terras baixas; a hipótese

Paleogeográfica, indicando uma diferenciação alopátrica das espécies através da formação de paleoarcos em decorrência da dinâmica andina; a hipótese de Rios, indicando uma fragmentação das biotas subsequentes ao estabelecimento final do canal principal dos rios da América do Sul e; a hipótese Hidrogeológica.

Esta última hipótese, formalizada como tal por Montoya-Burgos, 2003, está baseada em resultados do trabalho de Lundberg *et al.*, 1998, onde indica que a maior parte da diversidade de peixes de água doce pode ser o resultado de alterações paleohidrológicas originando capturas de cabeceiras de rios ou conexões temporárias entre as principais drenagens promovendo assim a dispersão seguidas de divergência alopátrica.

Segundo os resultados obtidos por este estudo, a hipótese Hidrogeológica se manifesta como a explicação mais parcimoniosa para a topologia dos nossos resultados, corroborando a relação mais basal entre exemplares da Bacia do Paraná – Paraguai e a Bacia da Amazônia, tanto para o complexo de *Potamotrygon motoro* e *Synbranchus marmoratus*.

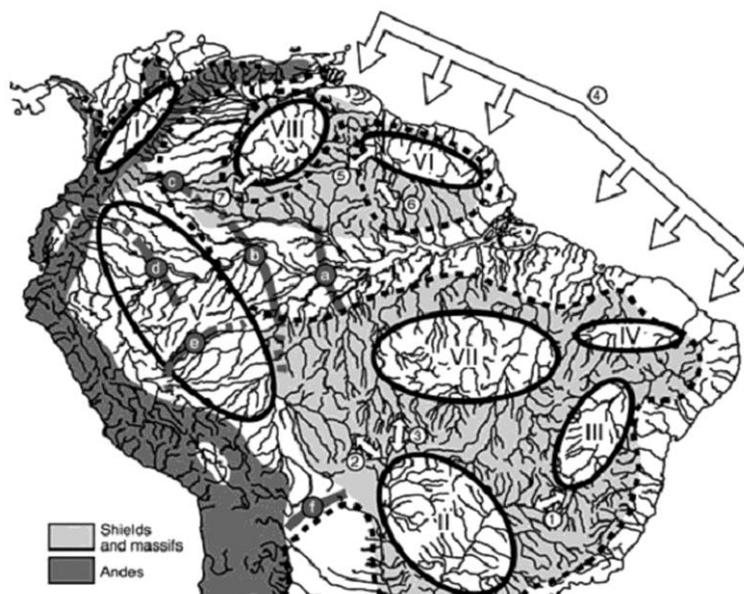
Os ancestrais destas espécies provavelmente invadiram as águas das cabeceiras da Bacia do Paraná - Paraguai numa das conexões entre essas bacias como a relatada por Lundberg, 1998 e corroborada por Hubert, 2007. Os resultados apresentados por eles indicam uma conexão entre as cabeceiras dos rios do leste da Amazônia e o noroeste da Bacia Paraná-Paraguai no final do Mioceno, onde o alagamento ao leste da Amazônia (Bacia de Anti-pais) resultou no transbordamento e subsequente quebra do Arco do Purus, estabelecendo assim a drenagem transcontinental atual do Amazonas (Lundberg *et al.*, 1998).

Por outro lado, a hipótese dos Museus se apresenta como a mais parcimoniosa para explicar as relações entre exemplares mais derivados dos dois complexos de espécies analisados, relacionando a Bacia Paraná – Paraguai e a bacia do Alto Paraná. Esta hipótese proposta por Haq *et al.*, 1987, e sustentada por Hubert & Renno, 2006 e Hubert, 2007, propõe que o aumento do nível do mar em até 100 m aproximadamente há 5-4 Ma e as consequentes ingressões marinhas na plataforma continental teriam isolado áreas de maior altitude, criando assim refúgios de água doce e influenciando profundamente a distribuição dos peixes Neotropicais.

Segundo Hubert & Renno, 2006, uma série de refúgios foram postulados para a América do Sul, sendo um deles na bacia Paraná – Paraguai (Figura 56). Desta forma, provavelmente o aumento do nível do mar afetando o sul da região Neotropical, resultou no isolamento de espécies como as de *Potamotrygon motoro* e de *Synbranchus marmoratus* nas áreas mais elevadas como as do Alto Paraná, ocasionando assim processos de diferenciação destas espécies nestes refúgios. Segundo a hipótese dos Museus, posteriormente teria havido

uma re-colonização das regiões mais baixas durante os períodos de regressão marinha e um acúmulo de espécies nestas regiões.

Figura 56 - Refúgios de água doce durante as ingressões marinhas do Mioceno-Plioceno.



Legenda: I, Noroeste; II, Rio da Prata; III, São Francisco; IV, Parnaíba; V, Alto Amazonas; VI, Guiana; VII, Tocantins-Xingu; VIII, Orinoco. Números em algarismos arábicos indicam possíveis rotas de dispersão.

Fonte: Hubert *et al.* (2007).

A história da biogeografia dos peixes de água doce da América do Sul apresenta uma complexidade maior do que o esperado. Analisando nossos resultados relacionando-as com as melhores hipóteses que as expliquem e, concordando com Hubert & Renno, 2006, tudo indica que em vez de haver um único processo predominante, o estabelecimento da fauna atual de peixes de água doce da América do Sul é o resultado de uma interação complexa entre incursões marinhas, elevação dos paleoarcos e conexões históricas entre os rios.

Infelizmente, estudos biogeográficos em grande escala ainda são escassos para peixes neotropicais devido à escassez de hipóteses filogenéticas robustas e, estudos taxonômicos superficiais ou conhecimento detalhado da distribuição geográfica de várias espécies. Portanto, estudos filogenéticos assim como genética populacional proporcionariam melhorias significativas na compreensão da evolução dos rios da América do Sul e suas respectivas biotas. Por outro lado, esta questão ainda constitui um desafio considerável.

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

O presente trabalho teve como objetivo principal realizar um estudo filogeográfico de dois complexos de espécies neotropicais, *Potamotrygon motoro* (Muller & Henle, 1841) e *Synbranchus marmoratus* (Bloch, 1795). Para tal fim, foi realizada uma comparação da morfologia de espécimes das duas espécies distribuídas nas diferentes bacias hidrográficas principais (Amazônica e Paraná-Paraguai), assim como uma análise filogenética molecular das mesmas.

Desta forma podemos concluir sobre o ponto de vista morfológico que:

- A descrição detalhada de exemplares catalogados como *Potamotrygon motoro*, coletados em rios da Amazônia e no Rio Paraguai da Bacia Paraná – Paraguai viabilizou a identificação de características morfológicas próprias para os espécimes provenientes das diferentes bacias. Posteriormente, a comparação morfológica gerou novos caracteres, além dos já descritos na literatura, para a utilização dos mesmos numa análise filogenética baseada em dados morfológicos.
- O resultado da análise filogenética, com base em caracteres morfológicos do complexo *Potamotrygon motoro*, apresenta uma relação entre os espécimes provenientes da Bacia Paraná – Paraguai (Baixo Paraná) com exemplares da Bacia dos rios da Amazônia (Rio Xingu e Rio Caiapó). Por outro lado, os espécimes do Alto Paraná formam um clado, corroborando assim a presença de espécies crípticas dentro do complexo *Potamotrygon motoro*.
- O exemplar PNT307 de *Potamotrygon* sp. é parte do complexo *Potamotrygon motoro* (clado A5), sendo aqui considerado como o grupo irmão do espécime LIA2018 de *Potamotrygon motoro* coletado no Rio Xingu.
- Da mesma forma, a redescrição morfológica de exemplares catalogados como *Synbranchus marmoratus*, analisados nas diferentes bacias hidrográficas, diferenciam este complexo de espécie por bacias. Havendo, desta forma, a existência de possíveis espécies crípticas dentro deste complexo.

Sobre ponto de vista molecular concluímos que:

- A análise filogenética do complexo *Potamotrygon motoro* apresenta uma relação semelhante à análise morfológica entre os exemplares analisados, indicando uma relação entre os exemplares da Bacia do Alto Paraná e do Rio Paraguai (Bacia Paraná – Paraguai) e uma relação entre exemplares do Rio Paraguai e do Rio Caiapó (Amazonas), corroborando a presença de espécies crípticas dentro do complexo.
- A análise filogenética do complexo *Synbranchus marmoratus* exibe um padrão de distribuição inédito entre os exemplares analisados neste estudo. Desta forma o clado I apresenta espécimes do Chaco Paraguai – Alto Paraná, formando um grupo monofilético relacionado a espécimes do Rio Xingu da Bacia Amazônica.
- O exemplar LIA2020 não se trata de *Synbranchus marmoratus* devido à elevada distância genética apresentada com todas as outras sequências e sustentada por uma anatomia externa fora dos padrões característicos para esta espécie.
- O exemplar LIA2026 não se trata de *Synbranchus marmoratus* e também não pode ser considerada uma espécie semelhante a LIA2020 devido ao fato de que estas apresentam uma distância genética de 13,2% entre elas além de características morfológicas externas distintas.

Por fim:

- A utilização do marcador molecular COI junto com uma descrição morfológica detalhada dos espécimes analisados mostrou-se satisfatória para o reconhecimento da presença de espécies crípticas dentro do complexo *Potamotrygon motoro* e *Synbranchus marmoratus* distribuídos nas diferentes bacias.
- Com base na correlação das topologias obtidas a partir das análises filogenéticas e com o padrão de distribuição dos exemplares analisados, foi estabelecida a probabilidade dos processos vicariantes que explicam as relações observadas nas análises a partir de dados da geologia histórica. Desta forma, as relações entre exemplares da Bacia Amazônica e Bacia Paraná–Paraguai podem ser explicadas por intermédio da Hipótese Hidrogeológica, seguida

pelas relações entre os Rios Paraguai e o Alto Paraná explicadas por médio da Hipótese dos Museus.

Perspectivas futuras:

- Descrever as diversas espécies que compõem os complexos anatômicos de *Potamotrygon motoro* e *Synbranchus marmoratus*;
- Descrever os complexos anatômicos de espécimes das localidades onde foram utilizados unicamente dados moleculares;
- Aplicar a metodologia do Relógio Molecular a fim de precisar as cladogênesis.

REFERÊNCIAS

- ABRAO, M. S. *Peculiar alpha-adrenoceptors promote pigment aggregation in the teleost, *Synbranchus marmoratus melanophores**. *Comparative Biochemistry and Physiology*, v. 99, p. 147-151, 1991.
- ADNET S, SALAS-GISMONDI R, ANTOINE PO. 2014. *River stingrays (Chondrichthyes: Potamotrygonidae) from the middle Eocene of Peruvian Amazonia and an overview of potamotrygonid dental morphology*. *Naturwissenschaften* 101, 33–45.
- ALBERT, J.S. & REIS, R.E. 2011. *Historical Biogeography of Neotropical Freshwater Fishes*. University of California Press. London. England, p.1- 406.
- ALVES-SILVA, ANA PAULA ; DERGAM, JORGE ABDALA . Cryptic Speciation Within the Neotropical Cichlid *Geophagus brasiliensis* (Quoy & Gaimard, 1824) (Teleostei Cichlidae): A New Paradigm in Karyotypical and Molecular Evolution. *Zebrafish* (Larchmont, NY), v. 00, p. 141211075322008, 2014.
- BAYONA, G., C. JARMARILLO, M. RUEDA, A. REYES-HARKER, AND V. TORRES. 2007. *Paleocene–Middle Miocene fl exural-margin migrations of the nonmarine Llanos Foreland Basin of Colombia*. *Ciencias, Tecnologia y Futura* 3:141–160.
- BAILEY, R. M.; GANS, C. *Two new synbranchid fishes, *Monopterus roseni* from Peninsular India and *M. desilvai* from Sri Lanka*. *Occasional Papers of the Museum of Zoology, University of Michigan*, n. 726, p. 1-18, 1998.
- BARROS, LUCAS CAETANO ; Santos, Udson ; CIOFFI, MARCELO DE BELLO ; DERGAM, JORGE ABDALA . Evolutionary Divergence Among *Oligosarcus* spp. (Ostariophysi, Characidae) from the São Francisco and Doce River Basins: *Oligosarcus solitarius* Menezes, 1987 Shows the Highest Rates of Chromosomal Evolution in the Neotropical Region. *Zebrafish* (Larchmont, NY), v. 12, p. 102-110, 2015.
- BERG, L. S. *Sistema ryboobraznykh i ryb, nyne zhivushchikh i iskopaemykh*. Moskva : Akademiia nauk SSSR. 1940. 517 p. (*Trudy Zoologicheskogo instituta Akademii nauk SSSR*). [Classification of fishes, both recent and fossil. Bangkok : Document Reproduction Unit, Thai National Documentation Centre, Applied Scientific Research Corp. of Thailand, 1965. 304 p.].
- BERMERGUY, R. L., AND J. B. SENA COSTA. 1991. *Considerações sobre a evolução do sistema de drenagem da Amazônia e sua relação com o arcabouço tectônico-estrutural*. *Museu Paraense Emilio Goeldi, Série Ciências de Terra* 3:75–97.
- BERRA, T. M. *Freshwater fish distribution*. 2 ed. rev. San Diego, California: Academic Press, 2001. 604 p.
- BLOCH, M. E. *Naturgeschichte der ausländischen fische*. Berlin: 1795, V. 2 (Pt 9), 192 p. [Ichthyology, ou Histoire naturelle, generale et particuliere des poissons. Berlin: 1795- 1797, Sér. 2, Pt. 12 , 142 p].

BLOCH, M. E.; SCHNEIDER, J. G. *Systema ichthyologiae iconibus CX illustratum*. Jo. Gottlob Schneider, saxo. Berolini: 1801, 584 p.

BOGAN, S.; ZURITA, A. E.; MIÑO-BOILINI, A. R.; SUÁREZ, P.; FRIEDRICH, J.; LUTZ, A. I. & FRIEDRICH, J. 2012: Primer registro de Synbranchiformes (Teleostei) para el Holoceno temprano de Argentina. *Rev. Mus. Argentino Cienc. Nat.*, 14 (1): 190-195.

BOLTOVSKY, E. 1991. Ihering's hypothesis in the light of foraminiferological data. *Lethaia* 24:191–198.

BOULENGER, G. A. *Fishes (Systematic part)*. In: HARMER, S. F.; SHIPLEY, A. E. (Eds.). *The Cambridge Natural History*. London: Macmillan, 1904, v.7, p. 539-727.

BRITO, P. M.; DEYNAT, P. P. 2004. *Freshwater stingrays from the Miocene of South America with comments on the rise of potamotrygonids (Batoidea, Myliobatiformes)*. Pp. 575-582. En: Arratia, G., M. V. H. Wilson y R. Cloutier (Eds.). *Recent Advances in the Origin and Early Radiation of Vertebrates*. Verlag Dr. Friedrich Pfeil, München, Germany.

BRITO, P.; MEUNIER, F.; LEAL, M. E. C. *Origine et diversification de l'ichtyofaune néotropicale : une revue*. *Cybium*, v. 31, n. 2, p. 149-163, 2007.

BRITO, P.M.; LEAL, M.E.C. & GALLO, V. 2013. "A new lower Cretaceous guitarfish (Chondrichthyes, Batoidea) from the Santana formation, Northeastern Brazil". *Boletim do Museu Nacional, Geologia*, 75: 1-13.

BRITZ, R. *A new earthworm eel of the genus Chaudhuri from the Ayeyarwaddy River Drainage, Myanmar (Teleostei: Synbranchiformes: Chaudhuriidae)*. *Zootaxa*, v. 2571, p. 6268, 2010b.

BRITZ, R. et al. *Monopterus ichthyophoides, a new species of scaled swamp eel (Teleostei: Synbranchiformes: Synbranchidae) from Mizoram, India*. *Zootaxa*, v. 2936, p. 51-58, 2011.

BRITZ, R.; FAVORITO, S.; JOHNSON, G. D. *The hyopalatine arch of a 25 mm larva of Synbranchus and homology of the single pterygoid in the Synbranchidae (Teleostei: Synbranchiformes)*. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, v. 116, n. 2, p. 337340, 2003a.

BRITZ, R.; KOTTELAT, M. *Descriptive Osteology of the Family Chaudhuriidae (Teleostei, Synbranchiformes, Mastacembeloidei), with a Discussion of Its Relationships*. *American Museum Novitates*, v. 3418, n. 3418, p. 1-62, 2003b.

BROOKS, D. R.; THORSON T. B., MAYES, M. A. 1981. *Fresh-water stingrays (Potamotrygonidae) and their helminth parasites: testing hypothesis of evolution and coevolution*: p. 147- 175. In: V. A. FUNK & BROOKS, D. R. (Eds.), *Advances in Cladistics*. *Proceedings of the First Meeting of the Willi Hening Society*, New York Botanical Garden, New York.

BULLOCK, T. H. *Seeing the world through a new sense : electroreception in fish*. *American Scientific*, 1973, v. 61, n. 3, p. 316-325.

BURGOS, J. D. Z. 2006. *Genese et progradation d'un cone alluvial au front d'une chaine active: Exemple des Andes Equatorienne au Neogene*. Toulouse: l'Université Paul Sabatier III.

CARVALHO, M. R.; LOVEJOY, N. R. *Morphology and phylogenetic relationship of a remarkable new genus and two new species of Neotropical freshwater stingrays from the Amazon basin (Chondrichthyes: Potamotrygonidae)*. Zootaxa, 2011, p.13-48.

CARVALHO, M. R.; LOVEJOY, N. R.; ROSA, R. S.. 2003. Family Potamotrygonidae (River stingrays. In Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America, edited by R. E. Reis, S. O. Kullander, and C. J. Ferraris, Jr., 22–28. Porto Alegre: Edipucrs.

CARVALHO, M. R.; MANSEY, J. G.; GRANDE, L. 2004. *Freshwater stingrays of the Green river formation of Wyoming (early eocene), with the Description of a new genus and Species and an analysis of its Phylogenetic relationships (Chondrichthyes: Myliobatiformes)*. Bulletin Of The American Museum Of Natural History.

CASTELLO, H. P. *Hunting for freshwater stingrays*. Trop. Fish Hobbyst, 1978, v. 23, n. 12, p. 19-34.

CASTELNAU, F. L. *Poissons. In: Animaux nouveaux or rares recueillis pendant l'expédition dans les parties centrales de l'Amérique du Sud, de Rio de Janeiro a Lima, et de Lima au Para; exécutée par ordre du gouvernement Français pendant les années 1843 a 1847. Part 7, Zoologie*. Paris (P. Bertrand), v. 2, 1855, 112p., pls. 1-50.

CASTEX, M. N. *Estado actual de los estudios sobre la raya fluvial Neotropical*. Rev. Mus. Prov. cienc. nat. F. Ameghino, 1964, n. Cincuentenario, p. 9-49.

CASTEX, M. N.; CASTELLO, H. P. *Nuevas sinonimias para el genero monotipico Disceus Garman 1877 (Potamotrygonidae) y observaciones sistemáticas a la familia Paratrygonidae Fowler 1948 (dubit.)*. Acta Scient. latinoam. Fisiol. Reprod, 1969, n. 7, p.1-43.

CLAESON, K. M. *The Sinarcual Cartilage of Batoids With Emphasis on the Sinarcual of Rajidae*. Journal Of Morphology, 2011, p. 1-12.

CLAESON, K. M.; HILGER, A. *Morphology of the anterior vertebral region in elasmobranchs: special focus, Squatiniformes*. Wiley-vch, 2011, p.129-140.

CLEMENT M, POSADA D, CRANDALL K. 2000. *TCS: a computer program to estimate gene genealogies*. Molecular Ecology 9:1657-1660.

COATES, A. G., COLLINS, L. S.; AUBRY, M. P.; BERGGREN, W. A. 2004. *The geology of the Darien, Panama, and the late Miocene-Pliocene collision of the Panama arc with northwestern South America*. Geological Society of America Bulletin 116:1327–1344.

COATES, A. G.; OBANDO, J. A.. 1996. The geological evolution of the Central American Isthmus. In Evolution and Environment in Tropical America, edited by J. Jackson, A. F. Budd, and A. G. Coates, 21–56. Chicago: University of Chicago Press.

COLLINS, T. M. *Genetic Diversity in a Morphologically Conservative Invasive Taxon: Multiple Introductions of Swamp Eels to the Southeastern United States*. Conservation Biology, v. 16, n. 4, p. 1024-1035, 2002.

CUVIER, G. *Le règne animal distribué d'après son organization*, Tome II. Paris: Deterville, 1817. 546 p.

COMPAGNO, L. *Interrelationship of living elasmobranch*. Pp. 15-61 In: Greenwood, P. H. R., Miles, S., and C. Patterson (eds.), *Interrelationships of Fishes*. Zool. J. Linn. Soc. London, 1973, v. 53 (suppl. 1).

COMPAGNO, L.J.V. 1977. Phyletic relationships of living sharks and rays. American Zoologist 17(2): 303–322.

DEYNAT, P. P.; BRITO, P. M. *Révision des tubercules cutanés des raies (Chondrichthyes, Batoidea) du Bassin du Paraná, Tertiaire d'Amérique du Sud*. Annales de Paleontologie (Vert.-Invert.), 1994, v. 80, n. 4, p. 237- 251.

DINGERKUS, G. *Relationships of potamotrygonin stingrays (Chondrichthyes, Batiformes, Myliobatiformes)*. J. Aquaricult. Aqua. Sci., 1995, v. 7, p. 32- 37.

DUMERIL, A. 1865. *Histoire naturelle des poissons ou ichthyologie générale*. Vol. 1, Elasmobranches plagiostomes et holocéphales ou chimères. Librairie Encyclopédique de Roret, Paris, France, p. 1-720.

DUQUE-CARO, H. 1990b. Major neogene events in Panamaic South America. In Pacific Neogene Events, Their Timing, Nature and Interrelationships, edited by R. Tsuchi, 101–114. Tokyo: Tokyo University Press. Dutheil, D. B. 1999. The first articulated fossil cladistian: *Serenichthys kemkemensis*, Gen. et sp. nov., from the Cretaceous of Morocco. Journal of Vertebrate Paleontology 19:243–246.

ESCHMEYER, W. N.; FONG, J. D. Species by Family/Subfamily. (<http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/SpeciesByFamily.asp>). Electronic version accessed dd mmm 2016. [Recalculated with each new version; based on current literature, this provides all available species names, valid species, and species described in the last 10 years by family/subfamily.]

FAVORITO-AMORIM, S. E. *Relações filogenéticas da ordem Synbranchiformes e revisão sistemática da família Synbranchidae (Teleostei: Acanthopterygii)*. 1998. 217f. Tese (Doutorado em Ciências, área de Zoologia) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo.

FAVORITO, S. E.; ZANATA, A. M.; ASSUMPCÃO, M. I. Teleostei: Synbranchiformes: Synbranchidae from ilha de Marajó, Pará, Brazil, with notes on its reproductive biology and larval development. Neotropical Ichthyology, v. 3, n. 3, p. 319-328, 2005.

FELSENSTEIN J. *Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap*. Evolution, v. 39, n. 4, 1985, p.783-791.

- FIGUEIREDO, J., C. HOORN, P. VAN DER VEN, AND E. SOARES. 2009. Late Miocene onset of the Amazon River and the Amazon deep-sea fan: Evidence from the Foz do Amazonas Basin. *Geology* 37:619–622.
- FIGUEIREDO, J., C. HOORN, P. VAN DER VEN, AND E. SOARES. 2010. Late Miocene onset of the Amazon River and the Amazon deep-sea fan: Evidence from the Foz do Amazonas Basin: Reply. *Geology* 38:e213. doi: 10.1130/G31057Y.
- FINK, W. L., AND S. V. FINK. 1973. *Central Amazonia and its fishes*. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology 62:13–29.
- FRAILEY, C. D. 1986. *Late Miocene and Holocene mammals, exclusive of Notoungulata, of the Rio Acre region, western Amazonia*. Natural History Museum of Los Angeles County Contributions in Science 364:1–46.
- GARMAN, S. *On the pelvis and external sexual organs of selachians, with special reference to the new genera Potamotrygon and Disceus*. Proc. Bost. Soc. Nat. Hist., 1877, v. 19, p. 197–215.
- GARMAN, S. *On the lateral canal system of the salachia and holocephala*. Bulletin Of The Museum Of Comparative Zoology, 1888.
- GARMAN, S. *The Plagiostomia (sharks, skates and rays)*. Mem. Mus. Comp. Zool., 1913, v. 36, p. 1–515, 75 pls.
- GAYET, M., T. SEMPERE, H. CAPPETTA, E. JAILLARD; LÉVY, A. 1993. La présence de fossiles marines dans le Crétacé terminal des Andes centrales et ses conséquences paléogéographiques. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, and Palaeoecology* 102:283–319.
- GINGRAS, M. K., M. E. RÄSÄNEN, S. G. PEMBERTON, AND L. P. ROMERO. 2002b. Ichnology and sedimentology reveal depositional characteristics of bay-margin parasequences in the Miocene Amazonian foreland basin. *Journal of Sedimentary Research* 72:871–883.
- GOMEZ, E., JORDAN, T. E.; ALLMENDINGER; R. W.; CARDOZO; N.. 2005. Development of the Colombian foreland-basin system as a consequence of diachronous exhumation of the northern Andes. *Geological Society of America Bulletin* 117:1272–1292.
- GOMEZ, E., JORDAN, T. E.; ALLMENDINGER, R. W.; HEGARTY, K.; KELLEY, S.; HEIZLER, M. 2003. Controls on architecture of the Late Cretaceous to Cenozoic southern Middle Magdalena Valley Basin, Colombia. *Geological Society of America Bulletin* 115:131–147.
- GOSLINE, W. A. *The Relationships of the Mastacembelid and Synbranchid Fishes*. Japanese Journal of Ichthyology, v. 29, n. 4, p. 323–328, 1983.
- GRAHAM, J. B. *Air-Breathing Fishes: Evolution, Diversity, and Adaptation*. San Diego, California: Academic Press, 1997. 299 p.
- GROSS, M., RAMOS, M.I., PILLER, W.E. 2015. *A minute ostracod (Crustacea: Cytheromatidae) from the Miocene Solimoes Formation (western Amazonia, Brazil): evidence for marine incursions?* *Journal of Systematic Palaeontology*.

GÜNTHER, A. Catalogue of the fishes in the British Museum. London: Printed by Order of the Trustees, 1859- 1870. 8 v. V. 8: Catalogue of the Physostomi: Gymnotidae, Symbranchidae, Murenidae, Pegasidae, Lophobranchii, Plectognathi, Dipnoi, Ganoidei, Chondropterygii, Cyclostomata, Leptocardii. 1970. 549 p.

HALL, T.A. *BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT*. Nucleic Acids Symposium Series, v. 41, 1999, p.95-98.

HAQ, B. U., HARDENBOL, J. & VAIL, P. R. 1987. *Chronology of fluctuating sea levels since the Triassic*. Science 235: 1156–1167.

HOLMGREN, N. *Studies on the head in fishes. Part I. Development of the skull in sharks and rays*. Acta Zoologica, 1940, v. 21, p. 51–257.

HOORN, C. 1994b. *An environmental reconstruction of the palaeoAmazon river system (Middle to Late Miocene, northwestern Amazonia)*. Palaeogeography, Palaeoclimatology, and Palaeoecology 112:187–238.

HOORN, C., J. GUERRERO, G. A. SARMIENTO, AND M. A. LORENTE. 1995. Andean tectonics as a cause for changing drainage patterns in Miocene northern South America. Geology 23:237–240.

HOORN, C. 1993. Marine incursions and the influence of Andean tectonics on the Miocene depositional history of northwestern Amazonia: results of a palynostratigraphic study. Palaeogeography, Palaeoclimatology, and Palaeoecology 105: 267–309.

HOVIKOSKI, J., M. GINGRAS, M. RÄSÄNEN, L. A. REBATA, J. GUERRERO, A. RANZI, J. MELO. 2007. The nature of Miocene Amazonian epicontinental embayment: High-frequency shifts of the low-gradient coastline. Geological Society of America Bulletin 119:1506–1520.

HOVIKOSKI, J., F. P. WESSELINGH, M. RÄSÄNEN, M. GINGRAS, AND H. B. VONHOF. 2010. Marine influence in Amazonia: Evidence from the geological record. *In Amazonia, Landscape and Species Evolution*, edited by C. Hoorn and F. P. Wesselingh, 143–161. Oxford, UK: Blackwell Publishing.

HUBERT, NICOLAS; RENNO, JEAN-FRANÇOIS. Historical biogeography of South American freshwater fishes. Journal of Biogeography, 2006, n. 33, p. 1414-1436.

HUBERT, N., du PONCHELLE, F., NUÑEZ, J., GARCIA-DAVILA, C, PAUGY, D.

& RENNO, J-F. 2007. Phylogeography of the piranha genera *Serrasalmus* and *Pygocentrus*: implications for the diversification of the Neotropical ichthyofauna. Mol. Ecol. 16: 2115–2136.

IVANOVA, N. V.; ZASEMLAK, T. S.; ROBERT, H. & HEBERT P. D. N. Universal primer cocktails for fish DNA barcoding. Molecular ecology notes, v. 7, n. 4, 2007, p. 594-548, doi: 0.1111/j.1471-8286.2007.01748.x

- JOHNSON, G. D.; PATTERSON, C. 1993. *Percomorph phylogeny: a survey of acanthomorphs and a new proposal*. Bulletin of Marine Science, v. 52, n. 1, p. 554-626.
- JUNQUEIRA, L. C. U.; HOXTER, G.; ZAGO, D. Observations on the biochemistry of freshwater rays and dolphin blood serum. Rev. Bras. Pesq. Med. Biol., 1968, v. 1, n. 5-6, p. 225-226.
- KULLANDER, S. O., FERRARIS, C.J. (Eds) Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2003, p.594-595.
- LA CÉPÈDE, B. G. E. *Histoire naturelle des poissons*. Paris: Plassan, 1798-[1803]. 5 v. V. 5: Histoire naturelle des poissons. Tome cinquième. 1803. 803 p.
- LAUDER, G. V.; LIEM, K. F. The evolution and interrelationships of the actinopterygian fishes. Bulletin of the Museum of Comparative Zoology, v. 150, n. 3, p. 95-197. 1983.
- LINNEUS, C. 1758. Tomus I. Syst. nat., ed. 10. Holmiae, Laurentii Salvii: [1-4], 1-824.
- LOBODA, T.S. AND M.R. DE CARVALHO, 2013. Systematic revision of the *Potamotrygon motoro* (Müller & Henle, 1841) species complex in the Paraná-Paraguay basin, with description of two new ocellated species (Chondrichthyes: Myliobatiformes: Potamotrygonidae). Neotrop. Ichthyol/ 11(4):693-737.
- LOVEJOY, N. R. *Stingrays, Parasites, and Neotropical Biogeography: A Closer Look at brooks et al's Hypotheses Concerning the Origins of Neotropical Freshwater Rays (Potamotrygonidae)*. Systematic Biology. Nova York, Estados Unidos da América, 1997, v. 46, n. 1, p. 218-230.
- LOVEJOY, N. R. *Systematics of myliobatoid elasmobranchs: With emphasis on the phylogeny and historical biogeography of Neotropical freshwater stingrays (Potamotrygonidae, Rajiformes)*. Zool J Linn Soc., 1996, v. 117, p. 207-257.
- LOVEJOY, N.R., BERMINGHAM, E., & MARTIN, A. *Marine incursion into South America*. Nature, 1998, v. 396, p. 421– 422.
- LOVEJOY, NATHAN R.; ALBERT, JAMES S.; CRAMPTON, WILLIAM G.R. *Miocene marine incursions and marine/freshwater transitions: Evidence from Neotropical fishes*. Journal Of South American Earth Sciences, 2006, p. 1-9.
- LUNDBERG, J. G. *African-South American freshwater fish clades and continental drift: problems with a paradigm*. In: GOLDBLATT, P. (Ed.) Biological Relationships between Africa and South America. New Haven, Connecticut: Yale University Press, 1993, p. 156-199.
- LUNDBERG, J. G. 1997. *Fishes of the La Venta fauna: Additional taxa, biotic and paleoenvironmental implications*. In Vertebrate Paleontology in the Neotropics: The Miocene Fauna of La Venta, Colombia, edited by R. F. Kay, R. H. Hadden, R. L. Cifelli, and J. J. Flynn, 67–91. Washington, DC: Smithsonian Press.
- LUNDBERG, J.G. *The temporal context for diversification of Neotropical fishes*. In: MALABARBA, L.R., REIS, R.E., VARI, R. P. , LUCENA, Z.M.; LUCENA, C.A.S. (Eds.). *Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes*. 1998, p. 49-68. Porto Alegre : Edipucrs.

LUNDBERG, J. G.; MARSHALL, L. G.; GUERRERO, J.; HORTON, B.; MALABARBA, M. C. S. L.; WESSELINGH, F. *The stage for Neotropical fish diversification: A history of tropical South American rivers*. In: MALABARBA, L.R.; REIS, R.E.; VARI, R.,P.; LUCENA, Z. M.; LUCENA; C. A. S (Eds.), *Phylogeny and classification of Neotropical Fishes*. 1998, p. 13-48. Porto Alegre: Edipucrs.

LUNDBERG, J. G., M. KOTTELAT, G. R. SMITH, M. L. J. STIASSNY, AND A. C. GILL. 2000. *So many fishes, so little time: An overview of recent ichthyological discovery in continental waters*. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 87:26–62.

MAISEY, J. G. 2000. *Continental break up and the distribution of fishes of Western Gondwana during the Early Cretaceous*. *Cretaceous Res.* 2000: 281–314.

MALABARBA L. R., R. E. REIS, R. P. VARI, C. A. S. DE LUCENA, AND Z. M. S. DE LUCENA. 1998. Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes, edited by, 193–233. Porto Alegre: Edipucrs.

MARSHALL, L. G., AND T. SEMPERE. 1993. The Petaca (Late Oligocene– Middle Miocene) and Yecua (Late Miocene) Formations of the Subandean-Chaco Basin, Bolivia, and their tectonic significance. *Document Laboratoire Géologie Université Lyon* 125:291–301.

MCEACHRAN, J. D.; ASCHLIMAN; N. 2004. Phylogeny of Batoidea. Pp. 79–113. In: Carrier, J. C., J. A. Musick y M. R. Heithaus (Eds.). *Biology of sharks and their relatives*. CRC Press, Boca Raton, FL, EUA.

MCEACHRAN, J. D.; DUNN, K. and MIYAKE, T. Interrelationships of batoid fishes. In STIASSNY, M.L.J.; JOHNSON, G.D. and PARENTI, L. (Eds.), *Interrelationships of fishes*. 1996, p. 63–84. San Diego: Academic Press.

MENA, M., AND J. F. VILAS. 2005. Serra Geral Formation: New Lower Cretaceous Paleomagnetic Pole for Gondwana. *Geophysical Research Abstracts* 7:08894.

MERRICK, J. R.; SCHMIDA, G. E. *Australian freshwater fishes: biology and management*. Netley, Australia: Griffin Press, 1984. 409 p. apud COLLINS, T. M. et al. Genetic Diversity in a Morphologically Conservative Invasive Taxon: Multiple Introductions of Swamp Eels to the Southeastern United States. *Conservation Biology*, v. 16, n. 4, p. 1024-1035, 2002.

MESSING J (1983). New M13 vectors for cloning. *Methods in Enzymology*, 101, 20-78.

MIYAKE, T. *The systematics of the stingray genus Urotrygon, with comments on the interrelationships within Urolophidae (Chondrichthyes, Myliobatiformes)*. Tese de PhD, Inédita, 1988, Texas A&M University, College Station.

MIYAKE, T.; MCEACHRAN, J.D.; WALTON, P.J.; HALL B. *Development and morphology of rostral cartilages in batoid fishes (Chondrichthyes: Batoidea), with comments on homology within vertebrates*. *Biological Journal of the Linnaen Society*, 1992, v. 46, p. 259–298.

- MONTOYA-BURGOS, J.-I. 2003. Historical biogeography of the catfish genus *Hypostomus* (Siluriformes: Loricariidae), with implications on the diversification of Neotropical ichthyofauna. *Molecular Ecology* 12:1855–1867.
- MÜLLER, J. Y F. G. J. HENLE. 1841. Systematische beschreibung der Plagiostomen. Verlag von Veit, Berlin, Germany. 200 pp.
- NELSON, G. 1985. *Identity of the anchovy *Hildebranchthyes setiger* with notes on relationships and biogeography of the genera *Engraulis* and *Cetengraulis**. *Copeia*.
- NELSON, J. S. *Fishes of the World*. 4. ed. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, 2006. 601 p.
- NELSON, G.; PLATNICK, N. I. *A Vicariance Approach to Historical Biogeography*. *Bioscience*, 1980, v. 30, n. 5, p.339-342.
- NISHIDA K. 1990. Phylogeny of the Suborder Myliobatidoidei. v. 37, n. ½, p. 1-108.
- PAGE, R. D. M. *NDE: NEXUS Data Editor 0.5.0*. University of Glasgow, Glasgow, 2001.
- PALUMBI, S. R. 1996. Nucleic acids II: *The polymerase chain reaction*. In *Molecular Systematics*, 2nd ed., edited by D. M. Hillis, C. Moritz, and B. K. Mable, 205–247. Sunderland, MA: Sinauer.
- PARDIÑAS, U.F.J. & DESCHAMPS, C. M. (1996). Sigmodontinos (Mammalia, Rodentia) pleistocénicos del sudoeste de la provincia de Buenos Aires (Argentina): aspectos sistemáticos, paleozoogeográficos y paleoambientales. *Estudios Geológicos*, 52: 367-379.
- PITMAN, W. C., III, S. CANDE, J. LABRECQUE, AND J. PINDELL. 1993. *Fragmentation of Gondwana: The separation of Africa from South America*. In *Biological Relationships between Africa and South America*, edited by P. Goldblatt, 15–34. New Haven, CT: Yale University Press.
- PERDICES, A; DOADRIO, I.; BERMINGHAM, E. *Evolutionary history of the synbranchid eels (Teleostei: Synbranchidae) in Central America and the Caribbean islands inferred from their molecular phylogeny*. *Molecular phylogenetics and evolution*, v. 37, n. 2, p. 460-73, 2005.
- POTTER P.E. 1997. *The Mesozoic and Cenozoic paleodrainage of South America: A natural history*. *J. Sth Am. Earth Sci.* v. 10, n. 5-6, p. 331-344.
- REIS, R. E., KULLANDER, S. O., FERRARIS JR., C.J. (Eds) *Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America*. EDIPUCRS, Porto Alegre, 2003a, p.666-669.
- RIBEIRO, A. C. *Tectonic history and the biogeography of the freshwater fishes from the coastal drainages of eastern Brazil: an example of faunal evolution associated with a divergent continental margin*. *Neotrop. Ichthyol*, 2006, v. 4, n.2, p.225-246.
- RIBEIRO, A. de M. *Fauna brasiliense. Peixes II (Desmobranchios)*. *Archos. Mus. nac. Rio de Janeiro*, 1907, v. 14, p. 129-217.

RIBEIRO, A. de M. *Fauna brasiliense. Peixes*. Museu Nacional, Rio de Janeiro, 1923, v.2, parte 1, reedição.

RIBEIRO, A. C. *Tectonic history and biogeography of the freshwater fishes from the coastal drainages of eastern Brazil: an example of faunal evolution associated with a divergent continental margin*. Neotropical Ichthyology, 2006, v. 2, n. 4, p.225-246.

ROSA, R. S. *Paratrygon aiereba (Müller; Henle, 1841): the senior synonym of the freshwater stingray disceus thayeri Garman, 1913 (Chondrichthyes: Potamotrygonidae)*. Revista Brasileira de Zoologia, 1991, v. 7, n. 4, p. 425-437.

ROSA, R. S. *Systematic Revision Of The South American Freshwater Stingrays (Chondrichthyes: Potamotrygonidae)*. Dissertation Abstracts International, 1985a, v. 46, n. 6, p.1843-1844.

ROSA, R. S. *Further comment on the nomenclature of the freshwater stingray Elipesurus spinicauda Schomburgk, 1843 (Chondrichthyes: Potamotrygonidae)*. Revista Brasileira de Zoologia, 1985b, v. 3, n. 1, p. 27- 31.

ROSA, R. S.; CASTELLO, H. P.; T. B. THORSON, *Plesiotrygon iwamae , a New Genus and Species of Neotropical freshwater stingray (Chondrichthyes: Potamotrygonidae)*. Copeia, 1987 (2), p. 447- 458.

ROSEN, D. E. A vicariance model of Caribbean biogeography. Systematic Zoology, v. 24, n. 4, p.431-464, 1975.

ROSEN, D. E.; GREENWOOD, P. H. *A fourth neotropical species of synbranchid eel and the phylogeny and systematics of Synbranchiform fishes*. Bulletin of the American Museum of Natural History, v. 157 n. 1, 70 p., 1976.

ROSEN, D. E.; RUMNEY, A. Evidence of a second species of Synbranchus (Pisces, Teleostei) in South America. American Museum Novitates, v. 2497, p. 1-45, 1972.

RINGUELET, R. A.; ARAMBURU, R. H.; ARAMBURU, A. A. Los peces argentinos de agua dulce. La Plata: Provincia de Buenos Aires Gobernación. Comisión de Investigación Científica. 1967. 602 p.

SERENO, PAUL C. *Logical basis for morphological characters in phylogenetics*. Cladistics, 2007, n. 23, p.565-587.

SONG, J. & PARENTI, R. L. *Clearing and Staining Whole Fish Specimens for Simultaneous Demonstration of Bone, Cartilage, and Nerves*. Copeia, n. 1, 1995, p.114-118.

SOMMER, H. G.; ANDERSON, S. *Cleaning Skeletons with Dermestid Beetles-Two Refinements in the Method*. Curator: The Museum Journal, v. 17, n. 4, p. 290-298, 1974.

SWAINSON, W. *The natural history of fishes, amphibians, & reptiles, or monocardian animals*. London: Longman, Orme, Brown, Green & Longmans, John Taylor. 1838-1839. 2 v. (Cabinet Cyclopaedia: Natural History).

- SWOFFORD, D. L. 2015. PAUP*. *Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods)*. Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- SZABO, T., KALMIJN, A. J., ENGER, P. S.; BULLOCK, T. H. (1972)- *Microampullary organs and a submandibular sense organ in the freshwater ray, Potamotrygon*. *J. Comp. Physiol*, 1972, v. 79, p. 15-27.
- TAMURA, K.; PETERSON, D.; PETERSON, N.; STECHER, G.; NEI, M.; KUMAR, S. *MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods*. *Molecular Biology and Evolution*, v. 28, 2013, p. 2731-2739.
- TAVARE, S. (1986). *Some probabilistic and statistical problems in the analysis of DNA sequences*. *Lectures on Mathematics in the Life Sciences (American Mathematical Society)* 17, 57–86.
- TAYLOR, W.; DYKE, G. VAN. *Revised procedures for staining and clearing small fishes and other vertebrates for bone and cartilage study*. *Cybium*, v. 9, n. 2, p. 107–119, 1985.
- TERUGGI, M. E. 1955. Los basaltos tholeiíticos de Misiones. *Notas de Museo de La Plata, Geología* 18:259–278.
- THORSON, T. B., *Freshwater stingrays, Potamotrygon spp.: Failure to concentrate urea when exposed to saline medium*. *Life Sciences*, 1970, v. 9, n. 2, p. 893-900.
- THORSON, T. B.; BROOKS, D. R.; MAYES, M. A. *The evolution of freshwater adaptation in stingrays*. *Nat. Geogr. Res. Reports*, 1983, v. 15, p. 663- 694.
- THORSON, T. B.; C. M. COWAN & WATSON, D. E. *Potamotrygon spp.: elasmobranchs with low urea content*. *Science*, 1967, v. 158, p. 375-377.
- TIEMEIER, O. W. *The dermestid method of cleaning skeletons*. *University of Kansas Science Bulletin*, v. 26, n. 10, p. 377-383, 1940.
- TORRES, R. A.; ROPER, J. J.; FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. *Surprising genomic diversity in the Neotropical fish *Synbranchus marmoratus* (Teleostei: Synbranchidae): how many species?* *Neotropical Ichthyology*, v. 3, n. 2, p. 277-284, 2005.
- VARI, R.P.; MALABARBA, L.R. *Neotropical Ichthyology: an Overview*. In: MALABARBA, L.R.; REIS, R.E.; VARI, R.P.; LUCENA, Z.M.; LUCENA, C.A.S. (Eds.). *Phylogeny and Classification of Neotropical Fishes*, 1998, p. 1-11. Porto Alegre: Edipucrs.
- WANDERLEY FILHO, J. R., EIRAS, J. F.; CRUZ, P. R. AND VAN DER VEN, P. H. 2010. *The Paleozoic Solimões, Amazonas basins and the Acre foreland basins of Brazil*. In *Amazonia, Landscape and Species Evolution*, edited by C. Hoorn, and F. P. Wesselign, 29–37. Oxford, UK: Blackwell Publishing.
- WARD, R. D., ZEMLAK, T. S., INNES, B. H., LAST, P. R. & HEBERT, P. D. N. 2005. DNA barcoding Australia's fish species. *Phil. Trans. R. Soc. B* 360: 1847–1857.

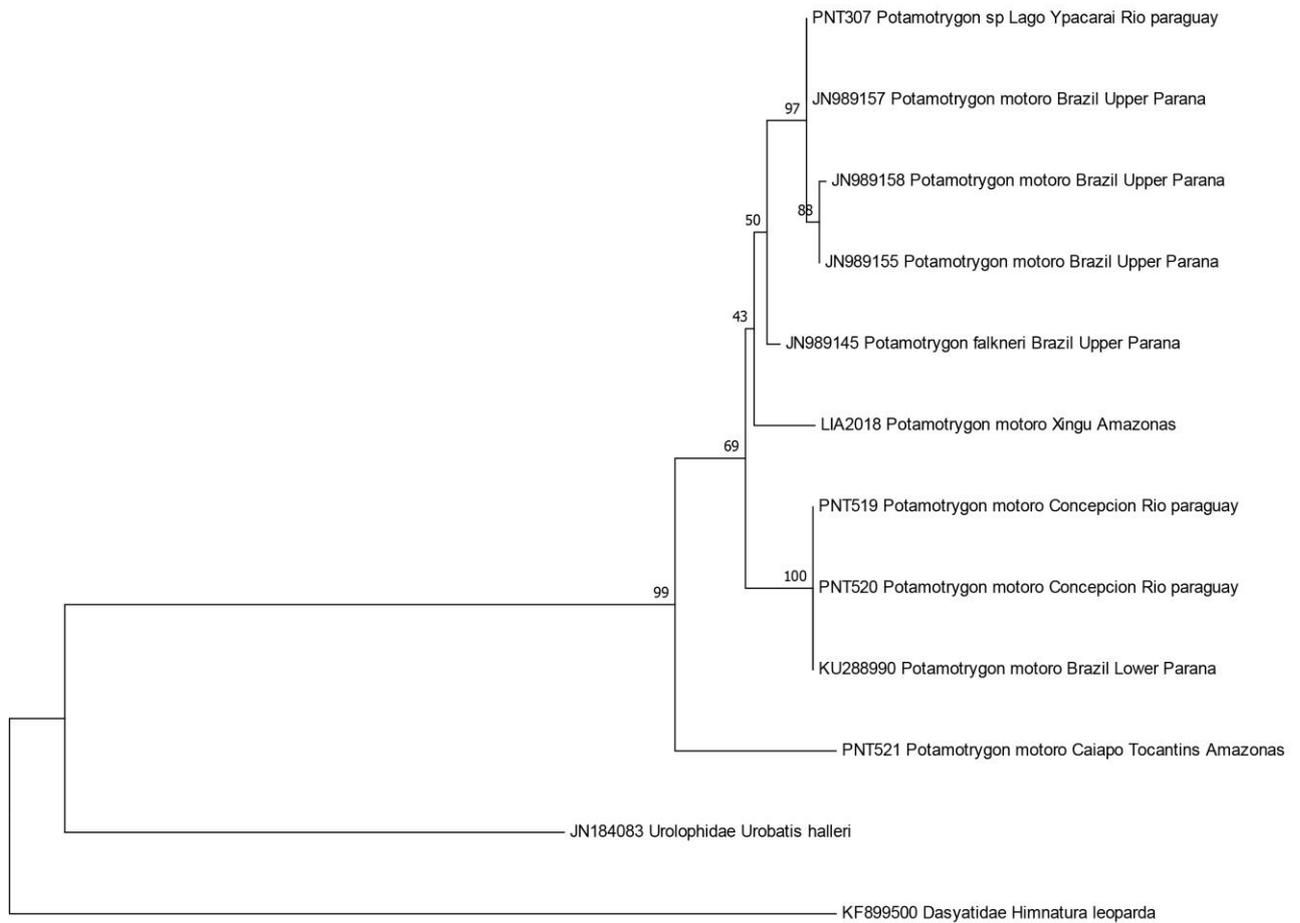
WESSELINGH, F. P., J. GUERRERO, M. E. RÄSÄNEN, L. ROMERO-PITTMAN, AND H. B. VONHOF. 2006. *Landscape evolution and depositional processes in the Miocene Pebas lake/wetland system: Evidence from exploratory boreholes in northeastern Peru*. *Scripta Geologica* 133: 323–361.

WESSELINGH, F. P., M. E. RÄSÄNEN, G. IRION, H. B. VONHOF, R. KAANDORP, W. RENEMA, L. R. PITMANN, AND M. GINGRAS. 2002. Lake Pebas: A palaeoecological reconstruction of a Miocene, long-lived lake complex in western Amazonia. *Cainozoic Research* 1:35–81.

APÊNDICE A - Valores de distância genética entre as sequências de *Potamotrygon*

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	PNT519												
2	PNT520	0.000											
3	PNT521	0.078	0.078										
4	PNT307	0.036	0.036	0.071									
5	LIA2018	0.038	0.038	0.075	0.028								
6	JN989158	0.042	0.042	0.078	0.005	0.034							
7	JN184083	0.234	0.234	0.267	0.234	0.224	0.236						
8	KU288990	0.000	0.000	0.078	0.036	0.038	0.042	0.234					
9	KF899500	0.277	0.277	0.259	0.249	0.250	0.241	0.274	0.277				
10	JN989145	0.028	0.028	0.067	0.014	0.024	0.020	0.224	0.028	0.259			
11	JN989157	0.036	0.036	0.071	0.000	0.028	0.005	0.234	0.036	0.249	0.014		
12	JN989155_	0.040	0.040	0.076	0.004	0.032	0.002	0.234	0.040	0.242	0.018	0.004	

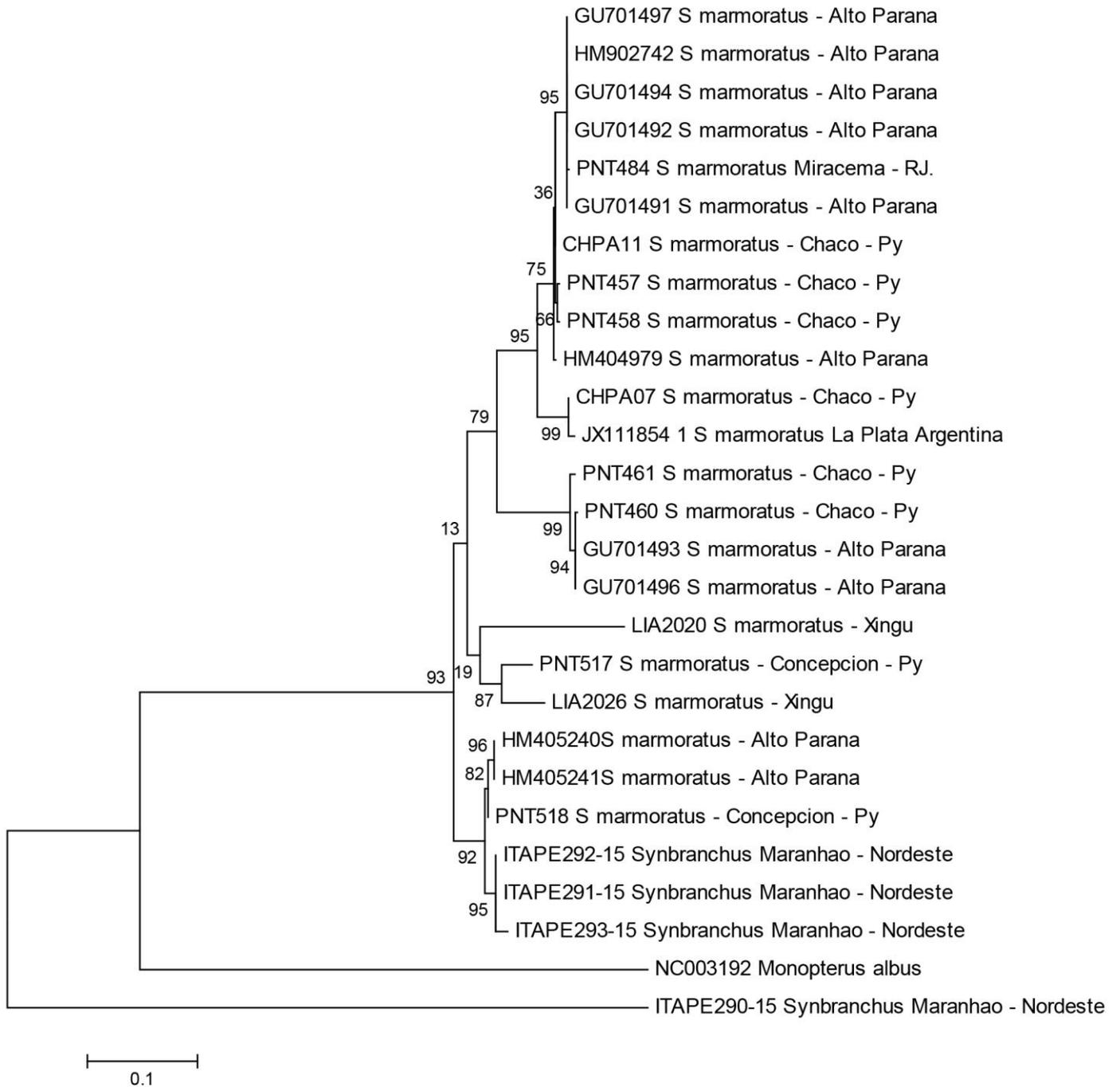
APÊNDICE B- Cladograma da análise filogenética molecular do complexo de *Potamotrygon* *motoro* com o grupo externo incluído na análise e valores de Bootstrap.



APÊNDICE C - Valores de distância genética entre as sequências de *Synbranchus*

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	
1	PNT457																												
2	PNT458	0.003																											
3	PNT460	0.095	0.095																										
4	PNT461	0.093	0.093	0.010																									
5	CHPA07	0.046	0.046	0.107	0.104																								
6	CHPA11	0.003	0.003	0.095	0.093	0.042																							
7	PNT517	0.104	0.099	0.116	0.116	0.101	0.104																						
8	PNT518	0.104	0.104	0.111	0.113	0.104	0.099	0.081																					
9	PNT484	0.016	0.016	0.097	0.100	0.053	0.012	0.104	0.097																				
10	LIA2020	0.129	0.132	0.136	0.139	0.134	0.132	0.130	0.130	0.129																			
11	LIA2026	0.108	0.103	0.128	0.123	0.108	0.103	0.058	0.087	0.099	0.132																		
12	NC003192	0.304	0.297	0.315	0.316	0.315	0.301	0.320	0.327	0.312	0.337	0.288																	
13	GU701491	0.014	0.014	0.095	0.098	0.050	0.010	0.106	0.095	0.002	0.132	0.101	0.308																
14	GU701492	0.014	0.014	0.095	0.098	0.050	0.010	0.106	0.095	0.002	0.132	0.101	0.308	0.000															
15	GU701493	0.093	0.093	0.002	0.009	0.104	0.093	0.113	0.108	0.095	0.134	0.125	0.319	0.093	0.093														
16	GU701494	0.014	0.014	0.095	0.098	0.050	0.010	0.106	0.095	0.002	0.132	0.101	0.308	0.000	0.000	0.093													
17	GU701496	0.093	0.093	0.002	0.009	0.104	0.093	0.113	0.108	0.095	0.134	0.125	0.319	0.093	0.093	0.000	0.093												
18	GU701497	0.014	0.014	0.095	0.098	0.050	0.010	0.106	0.095	0.002	0.132	0.101	0.308	0.000	0.000	0.093	0.000	0.093											
19	ITAPE291-15	0.104	0.104	0.115	0.118	0.113	0.104	0.075	0.012	0.101	0.132	0.088	0.318	0.099	0.099	0.113	0.099	0.113	0.099										
20	ITAPE292-15	0.104	0.104	0.115	0.118	0.113	0.104	0.075	0.012	0.101	0.132	0.088	0.318	0.099	0.099	0.113	0.099	0.113	0.099	0.000									
21	ITAPE293-15	0.115	0.115	0.127	0.130	0.128	0.115	0.088	0.023	0.113	0.148	0.101	0.333	0.111	0.111	0.125	0.111	0.125	0.111	0.010	0.010								
22	ITAPE290-15	0.333	0.337	0.352	0.361	0.349	0.341	0.368	0.331	0.354	0.343	0.379	0.388	0.350	0.350	0.356	0.350	0.356	0.350	0.320	0.320	0.338							
23	HM404979	0.007	0.007	0.100	0.098	0.042	0.003	0.104	0.099	0.016	0.132	0.103	0.301	0.014	0.014	0.097	0.014	0.097	0.014	0.104	0.104	0.118	0.341						
24	HM405240	0.101	0.101	0.118	0.115	0.106	0.097	0.085	0.005	0.099	0.132	0.092	0.320	0.097	0.097	0.115	0.097	0.115	0.097	0.018	0.018	0.028	0.324	0.097					
25	HM405241	0.101	0.101	0.118	0.115	0.106	0.097	0.085	0.005	0.099	0.132	0.092	0.320	0.097	0.097	0.115	0.097	0.115	0.097	0.018	0.018	0.028	0.324	0.097	0.000				
26	JX111854	0.053	0.048	0.107	0.104	0.005	0.048	0.104	0.111	0.059	0.137	0.108	0.308	0.057	0.057	0.104	0.057	0.104	0.057	0.121	0.121	0.136	0.353	0.048	0.113	0.113			
27	HM902742	0.014	0.014	0.095	0.098	0.050	0.010	0.106	0.095	0.002	0.132	0.101	0.308	0.000	0.000	0.093	0.000	0.093	0.000	0.099	0.099	0.111	0.350	0.014	0.097	0.097	0.057		

APÊNDICE D - Cladograma da análise filogenética molecular do complexo de *Synbranchus marmoratus* com o grupo externo incluído e valores de Bootstrap



ANEXO A – Chave de identificação do gênero *Potamotrygon* proposta por Rosa 1985

Chave de identificação para as espécies do gênero *Potamotrygon* (aplica-se a espécimes adultos e subadultos;

1a. Coloração dorsal do disco geralmente com ocelos de cores variadas, desde o branco, amarelo e laranja até o vermelho intenso, e circundados por um anel negro, seu diâmetro maior que o diâmetro horizontal dos olhos 2

1b. Superfície dorsal do disco geralmente sem ocelos maiores que o diâmetro horizontal dos olhos; pequenos ocelos podem estar presentes na periferia do disco5

2a. Ocelos da superfície dorsal do disco geralmente distribuídos em um padrão regular de círculos concêntricos; ocelos geralmente circulares, raramente fusionados dois a dois, reduzidos em tamanho e número ou mesmo ausentes, sua cor de amarelo a laranja; cauda sem ocelos; espécie amplamente distribuída, encontrada nas bacias dos rios Orinoco (Colômbia e Venezuela), Amazonas (Colômbia, Brasil, Equador, Peru, Bolívia e Venezuela), Mearim e Parnaíba (Brasil), assim como na Guiana, Suriname, Guiana Francesa, e na bacia do rio Paraná-Paraguai (Argentina, Brasil, Paraguai e Uruguai)*Potamotrygon motoro*

2b. Ocelos da superfície dorsal do disco geralmente distribuídos irregularmente sem formar um padrão de círculos concêntricos3

3a. Ocelos da superfície dorsal do disco laranja intenso a vermelho, de forma irregular, ovais ou fusionados dois a dois, e rodeados por anéis negros relativamente largos; espécie distribuída na bacia do rio Corantijn no Suriname*Potamotrygon boesemani*

3b. Ocelos da superfície dorsal do disco circulares ou com formatos irregulares, lunados, por vezes fusionados dois a dois, sua cor de branco a amarelo; cauda com ocelos similares aos do disco, desde sua base até a inserção do espinho serrilhado4

4a. Ocelos da superfície dorsal do disco distribuídos irregularmente ou excepcionalmente em um padrão circular; ocelos circulares ou irregulares, ocasionalmente como centro negro; dentes relativamente grandes e largos, com formato tetragonal ou hexagonal, em 14 a 26 fileiras

longitudinais na mandíbula superior; espécie distribuída na bacia dos rios Tocantins e Araguaia no Brasil *Potamotrygon henlei*

4b. Ocelos da superfície dorsal do disco distribuídos irregularmente ou excepcionalmente em um padrão circular; ocelos circulares ou irregulares, ocasionalmente como centro negro; dentes relativamente pequenos, com formato tetragonal, em 23 a 25 fileiras longitudinais na mandíbula superior; espécie distribuída na bacia dos rios Xingú e Irixi no Brasil *Potamotrygon leopoldi*

ANEXO B – Chave de identificação para *Synbranchus* proposta por Rosen & Greenwood 1976;

BB. Gill opening porelike and flanked by deep folds, or of variable size, obtusely triangular or crescentic and internally attached to isthmus; eye on or posterior to a vertical through upper lip; branchiostegals four to six, not extending back to cleithral symphysis or, when extending back to cleithra, with the distal half of each ray -much less well ossified than proximal part in specimens over 150 mm. and little if at all ossified in specimens under 150 mm. in total length; first epibranchial without a deep notch for interarcual bone; shoulder girdle connected to skull or not; articular bone of lower jaw without a distinct coronoid prominence or with a specialized coronoid process that is wider at the tip than at the base, set off sharply from the dorsal edge of the articular, and sloped forward.....C

C. Gill opening porelike and flanked by deep folds and free from isthmus; a distinct, somewhat swollen upper lip fold present; holobranchs well developed on four arches; branchial vascular system normal, with the efferent arteries joining paired lateral aortae; in the ventral gill arch skeleton, basibranchials two and three present and well developed, and first ceratobranchials in the same plane as and articulating with the first hypobranchials; in the dorsal gill arch skeleton, second pharyngobranchials, when present (in most cases), directed anteromedially and not parallel with the long axis of the second epibranchial; neotropical
..... *Synbranchus*

- a. Body coloration gray or clouded, with a broad, pale band middorsally bordered by slender dark lines and a series of whitish spots; caudal peduncle 35 to 37 percent of total length; neural spines of abdominal region long and slender, longer than the distance between any two succeeding spines; parietal bones rounded anteriorly; supernumerary efferent (dorsal) branchial arteries on first two gill arches emptying into a median sinus within the buccopharyngeal epithelium; Rio Madeira, Bolivia..... *Synbranchus madeirae*.
- aa. Body coloration speckled or blotched; caudal peduncle 23 to 34 percent of total length; neural spines of abdominal region short and stout, not longer than the distance between any two succeeding spines; parietal bones rectangular anteriorly or distinctly squared

off in examples more than 200 mm.; branchial arteries normal, without supernumerary elements, the efferent vessels emptying into paired lateral aortae; Argentina north to Pacific slope of Guatemala.....*Synbranchus marmoratus*

CC. Gill opening triangular or crescentic, without lateral folds, and internally attached to isthmus; upper lip jowl-like, without a separate or swollen fold; gills, when present, reduced to single row of filaments on arches one to three, or represented by a thin ridge of tissue; branchial vascular system with efferent and afferent arteries of the fourth gill arch joined to form single continuous vessel that merges dorsomedially with its counterpart to form an unpaired dorsal aorta; in ventral gill arch skeleton basibranchials greatly reduced or absent in most cases, and first ceratobranchials displaced medially and not articulating with the first hypobranchials; in dorsal gill arch skeleton, second pharyngobranchial, when present, not directed anteromedially; Old World.....*Monopterus*