JÚLIA BASTOS DE AQUINO

ANÁLISE MORFOLÓGICA DO TRATO GASTROINTESTINAL DA RAIA NEGRA (Potamotrygon amandae) MYLIOBATIFORMES, POTAMOTRYGONIDAE (LOBODA & CARVALHO, 2013)

São Paulo 2020

JÚLIA BASTOS DE AQUINO

Análise Morfológica do Trato Gastrointestinal da Raia Negra (*Potamotrygon amandae*) Myliobatiformes, Potamotrygonidae (Loboda & Carvalho, 2013)



Obs: A versão original encontra-se disponível na Biblioteca da FMVZ/USP

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie BuffD'Àpice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 4017 FMVZ	Aquino, Júlia Bastos de Análise morfológica do trato gastrointestinal da raia negra (<i>Potamotrygon amandae</i>) Myliobatiformes, Potamotrygonidae (LOBODA & CARVALHO, 2013) / Júlia Bastos de Aquino. – 2020. 119 f. : il.
	Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirargia, São Paulo, 2020.
	Programa de Pós-Graduação: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.
	Área de concentração: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.
	Orientadora: Profa. Dra. Rose Eli Grassi Rici.
	1. Potamotrygonidae. 2. Morfologia. 3. Trato gastrointestinal. 4. Histologia. I. Titulo.

Ficha catalográfica elaborada pela bibliotecária Maria Aparecida Laet, CRB 5673-8, da FMVZ/USP.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO



Comissão de Ética no Uso de Animais

São Paulo, 29th April 2020

CERTIFIED

We certify that the Research "Morphological Analysis of the Black Ray Gastrointestinal Tract (Potamotrygonamandae) Myliobatiformes, Potamotrygonidae (Loboda & Carvalho, 2013)*, protocol number CEUAx 2605250320 (10 001393), under the responsibility Rose Eli Grassi Rici, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Ethic Committee in the Use of Animals of School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo), and was approved in the meeting of day April 29, 2020.

Certificamos que o protocolo do Projeto de Pesquisa intitulado "Análise Morfológica do Trato Gastrointestinal da Raia Negra (Potamotrygonamandae) Myliobatiformes, Potamotrygonidae (Loboda & Carvalho, 2013)*, protocolado sob o CEUAx nº 2605250320, sob a responsabilidade de Rose Eli Grassi Rici, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, e foi aprovado na reunião de 29 de abril de 2020.

Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

Camilla Mota Mendes Vice-Coordenador de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: AQUINO, Júlia Bastos de

Título: Análise Morfológica do Trato Gastrointestinal da Raia Negra (*Potamotrygon amandae*) Myliobatiformes, Potamotrygonidae (Loboda & Carvalho, 2013)

> Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Data: ____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr		
Instituição:	Julgamento:	
Prof. Dr		
Instituição:	Julgamento:	
Prof. Dr		
Instituição:	Julgamento:	

DEDICATÓRIA

A Deus, que sempre esteve (e está) ao meu lado iluminando minha caminhada e me amparando em quaisquer situações e desafios, gratidão por essa oportunidade, aprendizado e evolução.

Aos meus pais Gláucia Heloisa Malzoni Bastos de Aquino e Vitor Nelson Alves de Aquino, que sempre serão minha maior fonte de orgulho e inspiração e a minha irmã caçula Luísa Bastos de Aquino que procura sempre me ouvir e apoiar em todos os momentos, sem vocês absolutamente nada seria possível.

Amo vocês infinitamente (nessa e em todas as outras vidas).

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que vem sempre me proporcionando sabedoria e evolução durante toda a minha jornada.

Aos meus pais, Dra. Glaucia Heloisa Malzoni Bastos de Aquino e Vitor Nelson Alves de Aquino, seria inimaginável estar onde estou sem a força, incentivo e auxilio que vocês me ofereceram incondicionalmente.

A minha irmã caçula, Luísa Bastos de Aquino, por sempre estar presente me ouvindo e aconselhando.

A minha orientadora, Dra. Rose Eli Grassi Rici, pelos ensinamentos compartilhados, pela paciência e dedicação essenciais para o desenvolvimento deste trabalho e para meu crescimento acadêmico-científico. Sou grata pela confiança e atenção.

A minha avó materna, Mafalda Maria Malzoni Bastos, por toda a paciência e interesse pelo tema da minha dissertação e apresentações de seminários, qualificação, etc, que se prontificava a ouvir e opinar sobre o tema.

Ao meu tio materno, Mauricio Norberto Bastos, por me receber em sua residência e pelo companheirismo durante meus dias na cidade de São Paulo.

Aos meus tios maternos, Flavia Bastos Martins e Valdeci Martins, pelo acolhimento aos finais de semana, carinho e apoio.

Aos meus padrinhos, Márcia Ferraz Leite e Fabio Leite, pelo mimo e atenção.

A Professora Dra. Rosângela Felipe Rodrigues pelo acolhimento desde o início, ensinando e auxiliando no ingresso ao mestrado, trazendo uma oportunidade ímpar ao meu desenvolvimento pessoal e profissional.

Ao Professor Dr. Alan Ferraz de Melo pela assistência nas coletas e ensinamentos.

A Professora Dra. Cristélia da Silva Ribeiro, pela disponibilização do material para estudo.

A Dra. Maria Paula Beltran por toda amizade, conselhos e confidências desde a época em que trabalhávamos no Zoológico Municipal de São José do Rio Preto e que se mantem até hoje.

Ao Médico Veterinário Ciro Cruvinel por possibilitar a minha aproximação com o mundo da pesquisa.

A Professora Dra. Patrícia Hoffman pelo exemplo e atenção.

A grande amiga e "irmã mais velha" Luana Felix de Melo, pela amizade e companheirismo desde o primeiro dia, quando pisei no prédio da Anatomia, agradeço todos os dias por você ter entrado e permanecido em minha vida, sem você nada disso seria possível. Obrigada pela amizade/irmandade, apoio e compreensão em todos os momentos.

Ao meu grupo de amigas, "meus presentinhos da anatomia", Ana Lídia Delgado, Ana Clara Rodrigues, Ana Carolina Rabelo, Adriana Anunciação, Anaelise Turquetti, Marisol León, Carla Carvalho, Kaiana Recchia, que sempre estiveram presentes no meu dia-a-dia, no laboratório, nas aulas práticas, almoços, sendo minhas confidentes e me auxiliando em todas as situações.

Ao colega de laboratório Igor Smirnow pelo auxilio e ensinamentos.

Aos demais colegas da PPGAADS, Rafael, Rennan, Eduardo, Gabriel, Marcella, Kadja, Tarley, Thales e Juliana, pela amizade e companheirismo.

As minhas amigas da minha cidade natal: Beatriz Ricardo, Mariana Arroyo, Beatriz Motta, Ana Carolina Miranda, Bianca Tabajara e Luara Dias que se fizeram presentes mesmo de longe.

Aos professores do curso de Pós-Graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da FMVZ pelos conhecimentos transmitidos.

Aos funcionários do setor de laboratório, Ronaldo e Diogo, pela paciência e aprendizado.

A Sra. Daura por toda a assistência, orientação e auxílio durante o meu mestrado.

Aos funcionários da secretaria do setor de Pós-Graduação e a Sra. Regina por toda compreensão, apoio e disponibilidade.

Aos demais funcionários da limpeza e a Paulinha pela simpatia e cuidado.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Gostaria de finalizar meus agradecimentos com uma frase que uma colega me disse em minha primeira disciplina: "Júlia, Pós-graduação não se faz sozinha", e com o passar dos meses dentro dessa instituição pude ver nitidamente como essa frase faz total sentido, afinal, eu não teria sido capaz de concluir meu mestrado sem essas e outras pessoas direta e indiretamente que cruzaram o meu caminho, sempre me trazendo muito aprendizado, oportunidade e evolução.

"Faço de mim Casa de sentimentos bons Onde a má fé não faz morada E a maldade não se cria; Me cerco de boas intenções E amigos de nobres corações Que sopram e abrem portões Com chave que não se copia; Observo a mim mesmo em silêncio Porque é nele onde mais e melhor se diz Me ensino a ser mais tolerante, não julgar ninguém E com isso ser mais feliz."

Morada- Forfun



RESUMO

AQUINO, J. B. Análise Morfológica do Trato Gastrointestinal da Raia Negra (*Potamotrygon amandae*) Myliobatiformes, Potamotrygonidae (Loboda & Carvalho, 2013). 2020. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.

Em função da escassez de informação sobre as espécies de potamotrygonídeos, o presente trabalho objetivou a descrição morfológica do trato gastrointestinal da raia Potamotrygon amandae. A análise da estrutura do trato gastrointestinal propicia entender as demandas da diversidade, habitats e dieta. Da mesma foram feitas análises macro e microscópicas do trato gastrointestinal da raia negra através de microscopia de luz por meio das colorações: hematoxilina-eosina, alcian blue e picrosirius e microscopia eletrônica de varredura. A partir da coloração Hematoxilina-eosina foram identificadas e descritas as camadas, células e glândulas presentes no trato gastrointestinal da raia. A coloração de Alcial blue foram evidenciadas a presença ou ausência de células caliciformes produtoras de muco. A coloração de picrosirius foi realizada para avaliar a presença dos diferentes tipos de fibras colágenas, de acordo com sua espessura e localização. Macroscopicamente observa-se a cavidade orofaringeana dividida em teto dorsal e fundo ventral, apresentando as estruturas respectivamente, labio, dentículo molariforme, rastro labial, crista do palato, mucosa lateral, palato, papila oral e assoalho linguístico. Microscopicamente foram observadas a presença de celulas caliciformes por toda a extensão das estruturas idenfiticadas da cavidade orofaringeana da raia negra e os diferentes tipos de fibras colágenas presentes em cada região. No sistema digestório foi visualizado o esôfago de estrutura tubular. O estômago rugoso formato de J dividido em cardio, fundico e o piloro. O intestino é dividido em anterior, médio (com formato de válvulas espirais), posterior e o reto. O pâncreas nesta espécie é alongado com dois lobos, um que está localizado na porção do intestino anterior e outra porção voltado para as válvulas espirais e o fígado de coloração castanho ocupando 70% da cavidade celomática. Microscopicamente, o sistema digestório consiste em um tubo composto por lúmen e uma parede formada pelas quatro camadas distintas: mucosa, submucosa, muscular e serosa. O esôfago possui a camada mucosa que é constituída de tecido epitelial pavimentoso estratificado não queratinizado. O estômago possui a mucosa composta por epitélio colunar simples, juntamente com o intestino anterior e a válvula espiral, no aparecimento das vilosidades. Em nenhuma das divisões do estômago foram encontradas células caliciformes. O intestino posterior apresenta a mucosa formada por epitélio pavimentoso estratificado. No reto, a camada mucosa é de tecido epitelial estratificado pavimentoso escamoso. O pâncreas é lândula lobulada, que atua como glândula exócrina e endócrina, comum nos peixes. O fígado é recoberto por capsula de tecido conjuntivo, os hepatócitos são grandes células com formato balônico em razão do estoque de gordura dentro do hepatócito formando os vacúolos translúcidos macrogoticulares intracitoplasmáticos Os resultados obtidos neste trabalho oferecem subsidio para estudos posteriores sobre a alimentação e comportamento da raia *Potamotrygon amandae*, contribuindo para o preenchimento de lacunas na literatura e embasamento de novas pesquisas.

Palavras-chave: Potamotrygonidae. Morfologia. Trato gastrointestinal. Histologia.

ABSTRACT

AQUINO, J. B. Morphological Analysis of the Black Ray Gastrointestinal Tract (*Potamotrygon amandae*) Myliobatiformes, Potamotrygonidae (Loboda & Carvalho, 2013). 2020. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.

Due to the scarcity of information about the species of potamotrygonids, the present work aimed at the morphological description of the gastrointestinal tract of the Potamotrygon amandae streak. An analysis of the structure of the gastrointestinal tract provides understanding of the demands of diversity, habitats and diet. Macro and microscopic analyzes of the gastrointestinal tract of the black streak were also performed using light microscopy through the stains: hematoxylin-eosin, alcian blue and picrosirius and scanning electron microscopy. From the hematoxylin-eosin staining, cells, cells and glands present in the gastrointestinal tract of the streak were identified and qualified. The color of Alcial blue showed the presence or absence of goblet cells producing mucus. Picrosirius staining was performed to assess the presence of different types of collagen fibers, according to their thickness and location. Macroscopically, an oropharyngeal cavity is divided into dorsal roof and ventral fundus, depicting the structures, respectively, lip, molariform denticle, lip trail, palate crest, lateral mucosa, palate, oral and linguistic papillae. Microscopically, the presence of goblet cells was observed throughout the entire length of the identified structures of the oropharyngeal cavity of the black streak and the different types of collagen fibers present in each region. In the digestive system, the esophagus of tubular structure was visualized. The rough J-shaped stomach is divided into cardio, fundus and pylorus. The intestine is divided into anterior, medium (in the form of spiral valves), posterior and the rectum. The pancreas in this species is elongated with two lobes, one that is located in the portion of the anterior intestine and the other portion facing the spiral valves and the brown-colored liver occupying 70% of the celomatic cavity. Microscopically, the digestive system consists of a tube composed of lumen and a wall formed by the four distinct layers: mucous, submucosa, muscular and serous. The esophagus has a mucous layer that is made up of non-keratinized stratified squamous epithelial tissue. The stomach has the mucosa composed of simple columnar epithelium, together with the anterior intestine and the spiral valve, in the appearance of the villi. Goblet cells were found in none of the stomach divisions. The posterior intestine presents the mucosa formed by stratified squamous epithelium. In the rectum, the mucous layer is of squamous squamous epithelial tissue. The pancreas is a lobulated gland, which acts as an exocrine and endocrine gland, common in fish. The liver is covered by a capsule of connective tissue, the hepatocytes are large cells with a balloon shape due to the fat stock inside the hepatocyte forming the translucent macrogoticular vacuoles intracytoplasmic The results obtained in this work provide support for further studies on the feeding and behavior of the streak Potamotrygon amandae, contributing to fill gaps in the literature and support new research.

Keywords: Potamotrygonidae. Morphology. Gastrointestinal tract. Histology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Filogenia simplificada da Classe Chondrycties 19
Figura 2 - Atual classificação da Família Potamotrygonidae
Figura 3 - Atual distribuição geográfica da família Potamotrygonidae25
Figura 4 - Fotografia Raia negra Potamotrygon amandae
Figura 5 - Esquema do delineamento experimental, análise e processamento do material para
projeto
Figura 6 - Fotografia macroscópica da vista ventral da cavidade orofaríngea da raia
Potamotrygon amandae
Figura 7 - Ilustração da cavidade orofaríngea da raia Potamotrygon amandae
Figura 8 - Fotografia macroscópica da vista ventral da raia Potamotrygon amandae
Figura 9 - Fotografia do sistema digestório da raia Potamotrygon amandae
Figura 10 - Fotografia do fígado da raia <i>Potamotrygon amandae</i>
Figura 11 - Sistema digestório da raia Potamotrygon amandae
Figura 12 - Fotomicrografia do lábio da raia <i>Potamotrygon amandae</i>
Figura 13 - Fotomicrografia do lábio da raia <i>Potamotrygon amandae</i>
Figura 14 - Fotomicrografia do lábio da raia <i>Potamotrygon amandae</i>
Figura 15 - Eletromicrografia do lábio da raia Potamotrygon amandae
Figura 16 - Fotomicrografia do dentículo molariforme da raia Potamotrygon amandae
Figura 17 - Fotomicrografia do dentículo molariforme da raia Potamotrygon amandae 47
Figura 18 - Fotomicrografia do dentículo molariforme da raia Potamotrygon amandae
Figura 19 - Eletromicrografia do dentículo molariforme da raia Potamotrygon amandae 49
Figura 20 - Fotomicrografia do rastro labial da raia <i>Potamotrygon amandae</i>
Figura 21 - Fotomicrografia do rastro labial da raia <i>Potamotrygon amandae</i>
Figura 22 - Fotomicrografia do rastro labial da raia <i>Potamotrygon amandae</i>
Figura 23 - Eletromicrografia do rastro labial da raia Potamotrygon amandae
Figura 24- Fotomicrografia da crista do palato da raia Potamotrygon amandae 52
Figura 25 - Fotomicrografia da crista do palato da raia Potamotrygon amandae
Figura 26 - Fotomicrografia da crista do palato da raia Potamotrygon amandae
Figura 27 - Eletromicrografia da crista do palato da raia Potamotrygon amandae
Figura 28 - Fotomicrografia da mucosa lateral da cavidade orofaríngea da raia Potamotrygon
amandae

Figura 29 - Fotomicrografia da mucosa lateral da cavidade orofaríngea da raia Potamotrygon
amandae
Figura 30 - Fotomicrografia da mucosa lateral da cavidade orofaríngea da raia Potamotrygon
amandae
Figura 31 - Eletromicrografia da mucosa lateral da cavidade orofaríngea da raia Potamotrygon
amandae
Figura 32 - Fotomicrografia do palato da raia Potamotrygon amandae
Figura 33 - Fotomicrografia do palato da raia <i>Potamotrygon amandae</i>
Figura 34 - Fotomicrografia do palato da raia Potamotrygon amandae
Figura 35 - Eletromicrografia do palato da raia Potamotrygon amandae
Figura 36 - Fotomicrografia da papila oral da raia <i>Potamotrygon amandae</i>
Figura 37 - Fotomicrografia da papila oral da raia <i>Potamotrygon amandae</i>
Figura 38 - Fotomicrografia da papila oral da raia <i>Potamotrygon amandae</i>
Figura 39 - Eletromicrografia da papila oral da raia <i>Potamotrygon amandae</i>
Figura 40 - Fotomicrografia do assoalho linguístico da raia Potamotrygon amandae
Figura 41 - Fotomicrografia do assoalho linguístico da raia Potamotrygon amandae
Figura 42 - Fotomicrografia do assoalho linguístico da raia Potamotrygon amandae
Figura 43 - Eletromicrografia do assoalho linguístico da raia Potamotrygon amandae
Figura 44 - Fotomicrografia do esôfago da raia Potamotrygon amandae
Figura 45 - Fotomicrografia do esôfago da raia Potamotrygon amandae
Figura 46 - Fotomicrografia do esôfago da raia Potamotrygon amandae
Figura 47 - Eletromicrografia do esôfago da raia Potamotrygon amandae
Figura 48 - Fotomicrografia do estômago cardio da raia Potamotrygon amandae
Figura 49 - Fotomicrografia do estômago cardio da raia Potamotrygon amandae
Figura 50 - Fotomicrografia do estômago cardio da raia <i>Potamotrygon amandae</i>
Figura 51 - Eletromicrografia do estômago cardio da raia <i>Potamotrygon amandae</i>
Figura 52- Fotomicrografia do estômago fundico da raia Potamotrygon amandae
Figura 53 - Fotomicrografia do estômago fundico da raia Potamotrygon amandae
Figura 54 - Fotomicrografia do estômago fundico da raia Potamotrygon amandae
Figura 55 - Eletromicrografia do estômago fundico da raia <i>Potamotrygon amandae</i>
Figura 56 - Fotomicrografia do estômago pilórico da raia Potamotrygon amandae
Figura 57 - Fotomicrografia do estômago pilórico da raia Potamotrygon amandae
Figura 58 - Fotomicrografia do estômago pilórico da raia Potamotrygon amandae
Figura 59 - Eletromicrografia do estômago pilórico da raia Potamotrygon amandae

Figura 60 - Fotomicrografia do intestino anterior da raia Potamotrygon amandae	. 79
Figura 61 - Fotomicrografia do intestino anterior da raia Potamotrygon amandae	. 80
Figura 62 - Fotomicrografia do intestino anterior da raia Potamotrygon amandae	. 81
Figura 63 - Eletromicrografia do intestino anterior da raia Potamotrygon amandae	. 81
Figura 64 - Fotomicrografia da região da válvula espiral da raia Potamotrygon amandae	82
Figura 65 - Fotomicrografia da região da válvula espiral da raia Potamotrygon amandae	. 83
Figura 66 - Fotomicrografia da região da válvula espiral da raia Potamotrygon amandae	. 83
Figura 67 - Eletromicrografia da região da válvula espiral da raia Potamotrygon amandae	. 84
Figura 68 - Fotomicrografia do intestino posterior da raia Potamotrygon amandae	. 85
Figura 69 - Fotomicrografia do intestino posterior da raia Potamotrygon amandae	. 86
Figura 70 - Fotomicrografia do intestino posterior da raia Potamotrygon amandae	. 86
Figura 71 - Eletromicrografia do intestino posterior da raia Potamotrygon amandae	. 87
Figura 72 - Fotomicrografia do reto da raia Potamotrygon amandae	. 88
Figura 73 - Fotomicrografia do reto da raia Potamotrygon amandae	. 89
Figura 74 - Fotomicrografia do reto da raia Potamotrygon amandae	. 89
Figura 75 - Eletromicrografia do reto da raia Potamotrygon amandae	. 90
Figura 76 - Fotomicrografia do pâncreas da raia Potamotrygon amandae	. 91
Figura 77 - Eletromicrografia do pâncreas da raia Potamotrygon amandae	. 91
Figura 78 - Fotomicrografia do fígado da raia Potamotrygon amandae	. 92
Figura 79 - Eletromicrografia do fígado da raia Potamotrygon amandae	. 93

1 INTRODUÇÃO	
2 OBJETIVO GERAL	23
2.1 Objetivos específicos	23
3 REVISÃO DE LITERATURA	24
3.1 TRATO GASTROINTESTINAL	
3.1.1 Cavidade orofaríngea	
3.1.2 Esôfago	
3.1.3 Estômago	
3.1.4 Intestino	
3.1.5 Reto	
3.1.6 Pâncreas	
3.1.7 Fígado	
4 MATERIAIS E MÉTODOS	34
4.1 Microscopia de Luz (ML)	
4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	
5 RESULTADOS	
5.1. ANÁLISE MACROSCÓPICA	
5.1.1 Cavidade orofaríngea	
5.1.2 Sistema digestório	39
5.2 ANÁLISE MICROSCÓPICA E ULTRAESTRUTURAL	
5.2.1 Cavidade orofaríngea	
5.2.2 Sistema digestório	63
6 DISCUSSÃO	94
7 CONCLUSÃO	
8 REFERÊNCIAS	
ANEXO 1- DECLARAÇÃO DE DOAÇÃO DE MATERIAL BIOLÓGICO	115

SUMÁRIO

ANEXO 2- SISBIO 116

1 INTRODUÇÃO

Existem aproximadamente 1000 espécies descritas de peixes cartilaginosos (Classe Chondrycties), dentro da subclasse dos Elasmobrânquios, que são divididos em tubarões e raias, a super-ordem batoídea que engloba as raias é composta com cerca de 570 espécies (RAGNO, 2013) e apenas 29 da classe Chondrycties são adaptadas exclusivamente à vida em água doce, sendo 20 pertencentes à família Potamotrygonidae (CARVALHO et al., 2003). A família Potamotrygonidae é o único grupo dentro da classe Chondrycties em que todas as espécies são adaptadas exclusivamente à água doce, possuindo especializações morfológicas e fisiológicas para a vida neste tipo de ambiente.



Os quatro gêneros da família Potamotrygonidae conhecidos são: Paratrygon descrito por Duméril em 1865, Potamotrygon descoberto por Garman (1877), Plesiotrygon identificado por Rosa, Castello e Thorson, 1987 e Heliotrygon detalhado por Carvalho e Lovejoy (2011) totalizando 31 espécies, sendo que cerca de 10 espécies ainda não foram descritas (LUCÍFORA et al., 2015).



Figura 2. Atual classificação da Família Potamotrygonidae, segundo Carvalho (2016).

A raia *Potamotrygon amandae* possui distribuição geográfica nos países: Argentina, Brasil, Bolívia e Paraguai. Originalmente, a espécie foi descrita para toda a bacia Paraná-Paraguai, em seus dois principais rios, o Paraná, o Paraguai e seus afluentes, inclusive com presença no Setor do rio Paraná acima da usina hidrelétrica de Itaipu (GARRONE-NETO et al., 2007; LOBODA; CARVALHO, 2013). No entanto, após a descrição da espécie, exemplares de *P. amandae* do rio Guaporé/Iténez (sub-bacia do rio Madeira), foram identificados em várias faculdades que possuem cursos de ictiologia (LOBODA; CARVALHO, 2013). A espécie apresenta o corpo achatado dorso-ventralmente, fazendo com que a boca e os olhos fiquem posicionados em superfícies opostas. Portanto, para que haja sucesso no comportamento alimentar, a atuação simultânea dos sistemas sensoriais torna-se essencial para a localização e captura da presa. Dentre eles, os canais da linha lateral da superfície ventral do corpo da raia têm o papel tátil para a identificação da presença de presas no substrato antes que inicie a fase de captura durante o forrageamento (MARUSKA; TRICAS, 2004; SHIBUYA et al., 2010).

A taxonomia da família Potamotrygonidae é ainda bastante incompleta, pois é dificultada pela escassez de informação, sendo muitas espécies pobremente descritas, por falta de material adequado, presença de grande variação e sobreposição de coloração, diferentes formas e morfometrias entre as espécies (CARVALHO et al., 2003).

Raias da família Potamotrygonidae apresentam grande importância ecológica e econômica e têm sido exploradas como fonte de alimento na bacia amazônica, principalmente por ribeirinhos. Além disso, algumas espécies de Potamotrygon têm sido capturadas na bacia Rio Amazonas e exportadas como peixe ornamental para o mercado internacional (DUNCAN et al., 2010).

Tendo em vista a ocorrência de significativas mudanças na estruturação natural tanto da fauna quanto da flora por todo planeta e o interesse crescente por parte dos órgãos competentes e instituições de pesquisa na compreensão da relação estabelecida entre espécies nativas e não nativas em determinados ambientes, visando a conservação da biodiversidade, inclusive no rio Paraná e seus afluentes, que tem sofrido alterações resultantes da intervenção humana, faz-se necessária a realização de pesquisas que abordem a interação homens e raias de água doce (GARRONE-NETO; CARVALHO, 2016).

Este interesse por parte de entidades responsáveis por conservação e institutos de pesquisa se deve ao fato de desempenharem papel importante na dinâmica do ecossistema, uma vez que são classificadas como mesopredadores, estando em posição intermediária na cadeia alimentar e por estarem ameaçadas pela pesca excessiva (MARINSEK, 2017).

Esse fato tem apontado a necessidade de que sejam realizados estudos no que se refere aos aspectos taxonômicos e sistemáticos básicos, tendo em vista que apesar do desenvolvimento de pesquisas e conhecimento sobre as raias de água doce nos últimos cinco anos, sem dúvida ainda há que se implementar levantamentos populacionais destinados ao uso sustentável para a sua utilização como recurso ornamental (LASSO; MORALES-BETANCOURTY; GARRONE-NETO, 2016). No caso específico da raia *Potamotrygon amandae* que foi recentemente catalogada, e, portanto, conta com poucos estudos, justifica-se a necessidade da descrição do trato gastrointestinal da mesma, tendo em vista que na literatura ainda não existe tal descrição.

2 OBJETIVO GERAL

Descrever a morfologia do trato gastrointestinal da raia negra Potamotrygon amandae.

2.1 Objetivos Específicos

- Analisar por meio de fotodocumentação as estruturas que compõem o trato gastrointestinal da raia *Potamotrygon amandae*.
- Analisar microscopicamente através das técnicas de microscopia de luz (ML) e microscopia eletrônica de varredura (MEV) o trato gastrointestinal da raia *Potamotrygon amandae*.

3 REVISÃO DE LITERATURA

A Classe Chondrichthyes é formada por peixes cartilaginosos sendo composta pelas Subclasses Holocephali (quimeras) e Elasmobranchii (tubarões e raias) (COMPAGNO, 1990). As espécies desta classe estão presentes em todos os oceanos e mares, em águas tropicais, subtropicais e temperadas, além de poder ser encontradas também em água doce (estuários e rios) (CAMHI et al., 1998).

A descrição atual dos elasmobrânquios os agrupa em cerca de 57 famílias, que consiste em torno de mil espécies válidas, tanto marinhas como dulcícolas (COMPAGNO, 1999; 2005).

No que se refere ao Brasil, registrou-se a ocorrência de 82 espécies de tubarões e 45 de raias. Contudo, nesse levantamento, as raias de água doce não foram levadas em conta (LESSA et al., 1999).

Os elasmobrânquios estão, em sua maioria, restringidos a ambientes marinhos, no entanto, algumas espécies, como a família de raias Potamotrygonidae, possuem a capacidade de viver em ambientes exclusivamente dulcícolas ou de águas salobras, apresentando ocorrência endêmica na América do Sul.

Estas raias (cerca de 31 espécies válidas) são encontradas nos maiores sistemas fluviais da América do Sul que drenam para o Atlântico ou para o Caribe (COMPAGNO; COOK, 1995; CARVALHO et al., 2003). A maior diversidade de espécies é conhecida da região amazônica (ROSA, 1985).

Mais especificamente no Brasil, ocorrem desde a bacia Amazônica, no rio Paraíba, tendo sido identificadas em rios do Piauí e do Maranhão, assim como nas bacias dos rios Uruguai e Paraná Paraguai (ROSA, 1985; CARVALHO et al., 2003).



Figura 3. Atual distribuição geográfica da família Potamotrygonidae. Mapa elaborado pelo MSc. Erlane da Cunha.

Em função da construção de barragens na área do alto rio Paraná e da consequente destruição de barreiras naturais, Potamotrigonídeos foram encontrados nessa região, local em que espécies de elasmobrânquios não ocorrem de maneira usual.

As raias de água doce apresentam características fisiológicas únicas, as principais características que distinguem a família são o habitat, exclusivamente continental, a presença do processo pré-pélvico, incapacidade de retenção de ureia, o que causa uma baixa concentração de ureia no sangue, a modificação das ampolas de Lorenzini para operação em água doce, a presença de um processo anteriormente expandido na cintura pélvica (THORSON et al., 1978; CARVALHO et al., 2003), atrofia da glândula retal. Apesar de todos os

potamotrigonídeos possuírem uma glândula retal, não são capazes de manter uma função excretora (THORSON, et al., 1978; ROSA, 1985; RASCHI; MACKANOS, 1989; COMPAGNO; COOK, 1995; DINGERKUS, 1995; ZORZI, 1995).

Ainda no que se refere às possíveis alterações decorrentes da sua restrição a ambientes de água doce, as raias desenvolveram pelo menos duas adaptações comportamentais: a habilidade de flutuação na superfície da água para a obtenção de oxigênio e o cuidado parental (ARAÚJO et al., 2004).

Algumas raias endêmicas exigem condições especificas de habitat e apresentam uma pequena tolerância as alterações ambientais (COMPAGNO; COOK,1995), podendo ter sua distribuição limitada por altas salinidades (ROSA et al., 2010).

A família Potamotrygonidae, é composta por todas as raias de água doce, sendo considerada a única família dos elasmobrânquios, cujos espécimes são integralmente adaptados a este ambiente (THORSON et al.,1983; ROSA, 1985; CHARVET-ALMEIDA et al., 2002; QUIJADA, 2003). Por apresentar distribuição exclusiva em algumas bacias hidrográficas da região Neotropical, Potamotrygonidae é apontada como uma família monofilética (CARVALHO et al., 2003; ROSA, 1985).

Potamotrygonídeos foram identificados em uma grande variedade de habitats, ocorrendo em vários substratos, incluindo areia, lama, pequenos riachos rochosos, etc, (ARAUJO et al., 2004; CHARVET - ALMEIDA, 2006; ROSA et al., 2010), como perto de cachoeiras, corredeiras, cabeceiras de rio e represas formadas por construção de barragens (ROSA et al., 2010).

A família Potamotrygonidae possui histórico taxonômico que apresenta, desde sua elaboração, diversos equívocos e imprecisões em função do seu policromatismo, o que contribuiu para que ocorressem casos de ambiguidade na descrição das espécies, havendo sinonímia que, até hoje, provoca dúvidas na identificação de espécimes coletados ou guardados em coleções (CARVALHO et al., 2003; GARRONE-NETO; HADDAD, 2009; ROSA et al., 2010). Foram identificados quatro gêneros: Paratrygon descrito por Duméril (1865)(monotípico), Potamotrygon descoberto por Garman (1877), Plesiotrygon identificado por Rosa, Castello e Thorson, 1987 e Heliotrygon descrito recentemente por Carvalho e Lovejoy (2011) totalizando 31 espécies, sendo que cerca de 10 espécies ainda não foram descritas (LUCÍFORA et al., 2015).

As raias Potamotrygonidae, assim como demais batóideos, possuem o corpo achatado dorsoventralmente, narinas, boca e aberturas branquiais situadas na região ventral do corpo e os olhos posicionados dorsalmente (COMPAGNO, 1990). Porém, apesar das raias em geral apresentarem semelhanças nas características anatômicas do corpo e aparelho alimentar relativamente simples, as espécies apresentam diferenças nos hábitos alimentares e possivelmente na mecânica alimentar utilizada.

No que diz respeito aos hábitos alimentares das raias de água doce, observa-se que o grau de conhecimento obtido sobre a detecção, localização e captura das presas pelas espécies de tubarões (LIEM; SUMMERS, 1999; WILGA, 2005) não tem sido observado no que se refere aos batóideos, nem no que diz respeito às raias Potamotrygonidae. O número de trabalhos a respeito dos hábitos alimentares de raias desta família ainda é extremamente reduzido (CHARVET-ALMEIDA, 2001) e relativamente recentes.

Os hábitos alimentares das raias de água doce no rio Paraná foram inicialmente observados por Achenbach e Achenbach (1976). A dieta predominantemente piscívora da *Plesiotrygon iwamae* foi descrita por Rosa et al. (1987), enquanto que a dieta da *Paratrygon aiereba* está baseada em peixes e camarões e da raia *Potamotrygon orbignyi* é preferencialmente por insetos, ambas identificadas por Lasso et al. (1996), nos *llanos* venezuelanos (MORO, 2010).

As raias de água doce são carnívoras e de um modo geral, se alimentam principalmente de invertebrados (insetos, moluscos, crustáceos e anelídeos) e vertebrados (peixes) (ROSA et al., 2010).

Observações sobre o comportamento alimentar podem gerar conhecimentos importantes para uma melhor compreensão do emprego das estruturas anatômicas para a obtenção de alimento, como foi realizado em diversos estudos de morfologia funcional (WILGA; MOTTA, 1998; MOTTA, 2004).

Além de que, o estudo da relação entre os tipos de presas consumidas pode ser um indicador importante para a descrição e compreensão da anatomia bucal das raias, o funcionamento do sistema sensorial na detecção das presas e com o modo de captura da presa empregado pelo predador (PANTANO-NETO, 2001; MARUSKA, 2001; COLLINS et al., 2007).

O conhecimento científico construído sobre os mecanismos alimentares em raias de água doce está contido nos trabalhos de Pantano-Neto (2001) e na análise sistemática feita por Lovejoy (1996), acrescido de considerações importantes sobre o assunto elaboradas por Garman (1892) (SHIBUYA, 2009).

Rincón-filho (2006) afirma que os potamotrigonídeos apresentam uma alimentação de nível trófico intermediário e que somente algumas espécies são predadores de nível trófico superior.

Apesar do conhecimento sobre a dieta em batóideos ter apontado para a presença preponderante de crustáceos e peixes nos hábitos alimentares tanto das raias marinhas como das espécies de água doce, já existe um maior detalhamento nas pesquisas apontando que as larvas de insetos formam uma categoria de presas significativa na dieta dos potamotrigonideos, no entanto o hábito alimentar das espécies de Potamotrygonidae ainda é pouco conhecido e carece de estudos mais aprofundados (LASSO et al., 1996; LONARDONI et al., 2006; RINCON-FILHO, 2006).

No que se refere especificamente à dieta da *Potamotrygon amandae*, em função da escassez de descrição, pode-se utilizar o conhecimento produzido a partir de dados coletados acerca da *Potamotrygon motoro*, por ser uma espécie que ocorre em simpatria com a raia que está sendo descrita (GARRONE-NETO, et al.,2016). *Potamotrygon motoro* demonstra um comportamento alimentar que se modifica de acordo com a estação ou época do ano, tendo em vista que esta pode substituir o alimento, destacando-se os moluscos e peixes, além de insetos aquáticos na estação cheia e o alto índice de forrageamento de crustáceos e peixes na estação seca, com redução de ingestão principalmente de fragmentos vegetais e insetos. Observa-se que a alternância na dieta ocorre devido a modificação do ambiente e disponibilidade do recurso alimentar. Uma vez que, a estação cheia proporciona um aumento na área alagada e a abundância de insetos e moluscos, assim como a reprodução dos peixes e maior área de forrageamento para as raias (VASCONCELOS, 2011).

A análise comparativa entre os processos de digestão dos peixes e dos animais homeotermos (animais de sangue quente e temperatura corporal constante) não tem sido aprofundada, no entanto, os resultados obtidos apontam para informações que referem serem ambos semelhantes (ROTTA, 2003).

Tais estudos indicam que a anatomia do trato gastrointestinal dos peixes configura-se como em outros vertebrados variando tanto na filogenia ontogênese, quanto na dieta e no ambiente. Os dados morfológicos resultantes de estudos realizados visando a compreensão da organização espacial e da relação dos dados fisiológicos e bioquímicos têm se mostrado importantes para a construção do conhecimento voltado para a nutrição dos peixes (ROTTA, 2003).

A análise dos conteúdos estomacais tem se constituído na base para a obtenção de parte significativa das informações sobre alimentação em potamotrigonídeos, no entanto estes resultados tem se restringido a relatar os itens alimentares consumidos, deixando de enfatizar o estudo da anatomia do aparelho bucal e como a mecânica adotada influencia na captura de presas que compõe sua dieta (SHIBUYA, 2009).

Vale destacar que a ecologia do grupo ainda carece de descrição detalhada, uma vez que o conhecimento sobre os potamotrigonídeos se restringe a saber que os mesmos são completamente adaptados a água doce (ROSA et al., 2010).

Estudos taxonômicos e filogenéticos do grupo das raias de água doce têm sido desenvolvidos, entretanto, a biologia básica, a ecologia e a dinâmica populacional destes animais ainda necessitam de maior número de pesquisas, pois o conhecimento obtido ainda é desproporcional com relação ao desenvolvimento da taxonomia (RINCON-FILHO, 2006).

3.1 TRATO GASTROINTESTINAL

No transcorrer do processo evolutivo dos peixes, foi no sistema digestório que ocorreram as maiores modificações para que pudessem ser respondidas as demandas da diversidade de habitats e dieta. O tamanho do animal, os níveis de atividade e metabolismo são alguns motivos que afetam o sistema digestório para adaptação evolutiva (MARINSEK, 2017).

Pode-se observar que os processos de digestão dos peixes se assemelham aos mesmos processos que nos vertebrados, no entanto, se destacam as diferenças existentes em seu trato digestório, em função do acesso e disponibilidade de alimentos em seu próprio meio ambiente, aquático e terrestre. A partir dessas diferenças, destaca-se a ausência de glândulas salivares, além da modificação no tamanho, na forma e na posição dos órgãos (SILVA, 2019).

Além de características que refletem a diferenciação funcional, a morfologia do trato gastrointestinal dos peixes mostra muitas variações específicas relacionadas com a dieta e a filogenia do hábito alimentar (SILVA, 2016).

Rotta (2003) cita que os fatores ambientais podem contribuir para as modificações observadas nas estruturas do aparelho digestório e influenciar na relação existente entre a organização do trato digestório e a nutrição. Estas variações podem ter características permanentes, sendo denominadas de adaptações, por serem resultado da evolução filogenética

ou serem características temporárias, classificadas como modificações, produzidas no ciclo ontogenético (da fecundação a maturidade reprodutiva do indivíduo).

O trato gastrointestinal ou digestório pode ser descrito como o canal através do qual são conduzidos os alimentos, e que liga a boca ao ânus. É formado pela cavidade bucal ou bucofaringeana, intestino anterior (esôfago e estomago), intestino médio (sendo o intestino em si) e intestino posterior (reto). É composto ainda por vários tecidos e órgãos, que têm a função de auxiliar na apreensão, mastigação e deglutição, e posteriormente na digestão e absorção dos nutrientes, assim como na excreção (ROTTA, 2003).

3.1.1 Cavidade orofaríngea

A cavidade bucofaringeana ou orofaríngea, apesar de não poder ser subdividida em cavidade bucal e faringe, tem relevância significativa nas conclusões acerca de seu hábito alimentar.

Mesmo que anatomicamente não apresentem demarcação evidente, verifica-se continuidade entre ambas (cavidade bucal e faringe) estando, portanto, associada ao aparelho digestório e respiratório, o que permite a compreensão de ações como a seleção, a apreensão e a condução do alimento.

Dentre as adaptações relatadas a partir da descrição da cavidade bucofaringea, pode-se elencar a posição, o tamanho e a forma da boca; a estrutura dos lábios; língua, presença ou ausência de dentições oral e faringeana; presença de rastro labiais e a presença do órgão palatal (ROTTA, 2003; SILVA, 2016).

3.1.2 Esôfago

A função do esôfago consiste em conduzir os alimentos da boca para o estômago, nos peixes geralmente é um tubo de paredes grossas, curto e reto; já em peixes agástricos, conecta a faringe ao estômago ou intestino.

Tem ainda a função de minimizar a entrada de água (hipo-homeostática) durante a ingestão do alimento em peixes de água doce; por essa razão, a musculatura do esôfago tende a ser mais desenvolvida nestes do que em peixes de água salgada (ROTTA, 2003).

Morfologicamente, o esôfago é projetado principalmente para a passagem de alimentos, através do auxílio das ondas peristálticas (contrações musculares cuja função é transportar os alimentos pelo TGI, misturá-los com os sucos digestivos).

Seu revestimento é composto por uma camada mucosa protegida por células mucosas epiteliais que o protegem de danos químicos e mecânicos, atuando como um lubrificante para auxiliar a passagem de alimentos, além de ter um papel na osmorregulação.

A mucosa é organizada em pregas longitudinais ou papilas que permitem a distensão do lúmen para a passagem de grandes itens alimentares durante a deglutição (WILSON; CASTRO, 2011).

3.1.3 Estômago

O estômago tem como função o armazenamento temporário do alimento e exerce a função também de auxiliar na trituração do alimento. Silva (2019) relata que o mesmo dispõe de três regiões que são a cárdia (inicio), fundica (saco) e pilórica (final).

Já de acordo com Rotta (2003), o tamanho do estômago pode ser usualmente relacionado com o intervalo entre as refeições e o tamanho das partículas do alimento ingerido.

No que se refere à digestão química, esta tem início no estômago, uma vez que os peixes não produzem secreção de enzimas digestivas na boca e na faringe. Estas secreções são estimuladas pela entrada do alimento no estômago, nos peixes que possuem esse órgão, ativando a liberação dos sucos gástricos.

Na região final do estômago está localizado o esfíncter pilórico, responsável pela retenção do alimento antes que o mesmo seja transferido para o intestino delgado, sendo este contido, provavelmente em função da fluidez do bolo alimentar, que é controlada nos peixes de água doce pela liberação de água para o interior do estômago e pela ingestão de água em peixes de água salgada (BOMBARDELI et al., 2003).

3.1.4 Intestino

A principal função do intestino é a conclusão dos processos digestivos iniciados no estômago sendo também onde ocorre a maior parte da absorção dos nutrientes, íons e água

oriundos da dieta, sendo os produtos da digestão mantidos em solução, o que facilita a absorção (ROTTA, 2003).

Nos peixes, sua morfologia é composta por um tubo relativamente simples, que se inicia na válvula pilórica e termina no reto, não sendo separado em delgado e grosso, como nos mamíferos.

Seu comprimento é influenciado por vários outros fatores e pode mudar de acordo com a alimentação do animal (SILVA, 2019); além da dieta, estes fatores incluem também o tamanho do peixe (massa e comprimento) e forma do corpo, histórico recente de alimentação.

Vale ressaltar que o comprimento intestinal é usado como um indicador morfológico do nível trófico em ecologia nutricional.

A válvula espiral não apenas aumenta a área da superfície do intestino sem aumentar o comprimento intestinal, mas também está associada com uma taxa lenta de passagem de alimentos. O intestino é torcido ao longo de seu eixo longitudinal, tendo a aparência de espiral ou parafuso, com o número de voltas e altura da dobra variável entre espécies.

Acredita-se que o intestino de rolagem seja derivado do intestino em espiral e pode permitir a passagem de alimentos de tamanhos variados sem obstrução pelo intestino, mantendo o aumento da capacidade de absorção de sua superfície (HENNINGSEN et al., 2005; WILSON; CASTRO, 2011).

3.1.5 Reto

O reto consiste em uma abertura anal ou fenda que demarca o termino dos ductos urinários e reprodutivos. Diferencia-se da cloaca por terminar em uma abertura para o ambiente externo, apesar de possuir três ductos que desembocam na mesma região, enquanto que a cloaca nas aves possui uma câmara interna comum.

Caracteriza-se ainda por possuir uma parede muscular com grande capacidade de distensão e bem mais grossa que a do intestino (ROTTA, 2003).

3.1.6 Pâncreas

O pâncreas difere de forma significativa no que se refere à sua localização e desenvolvimento na anatomia de grupos de peixes variados. Por ser descrito como uma glândula que desempenha tanto funções endócrinas, quanto exócrinas, é descrito por Diaz et al. (1999) como uma glândula mista.

No que concerne às suas funções, no metabolismo de todos vertebrados, o pâncreas é responsável pela produção de hormônios como a insulina e o glucagon, que regulam a concentração de açúcar no sangue e das enzimas digestivas, que se tornam ativas ao serem liberadas no intestino médio (LEMES, 2004).

Kobelkowsky (2010) relata que nas espécies (*Urotrygon chilensis* e *Dasyatis sabina*) o pâncreas é pequeno e se localiza entre o estômago pilórico e o duodeno (intestino anterior); e apresenta dois lobos um ventral e outro posterior. Kobelkowsky (2013) descreve que o pâncreas é ovalado e está formado por dois lobos de superfície plana nas espécies *G. micrura*, *R. lentiginosus* (Rhinobatidae), *R. texana* (Rajidae), *U. chilensis* (Urotrygonidae) e *D. sabina* (Dasyatidae). O lobo ventral está localizado entre o duodeno e o intestino espiral; enquanto o lobo dorsal está localizado entre o baço e o intestino em espiral.

3.1.7 Fígado

O fígado dos peixes desempenha funções hepáticas e pancreáticas, sendo que entre elas estão a digestão e a adequação das substâncias nutritivas às condições que o corpo necessita, a partir da sua reabsorção pelo intestino, metabolizando-as para que cheguem ao sangue; além da desintoxicação dos componentes nocivos ao metabolismo, permitida por sua localização e que impede que os mesmos o penetrem. Por essa razão, é utilizado como referência histológica, quando pretende-se analisar a ação danosa de elementos que poluem o ambiente tais como metais pesados, pesticidas entre outros (LEMES, 2004; LEOTTA, 2017).

Harder (1975) *apud* Palhares (2004) refere que o fígado dos peixes, por não possuir uma forma própria, está distribuído ao longo da parede do corpo preenchendo espaços vazios existentes entre o intestino, o baço, a vesícula biliar e o pâncreas.

No que diz respeito à sua coloração, o fígado em peixes apresenta coloração marrom avermelhada por sua vascularização abundante; podendo exibir uma coloração amarelada em função ao acúmulo de gordura (MELO, 2019).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados seis (6) espécimes de machos adultos de *Potamotrygon amandae* provenientes do projeto de pesquisa intitulado: "Aspectos metabólicos reprodutivos de *Potamotrygon amandae* (Chondrichthyes: Myliobatiformes: Potamotrygonidae) em área de ocorrência não-natural" sob a responsabilidade da Professora Doutora Cristélia da Silva Ribeiro que está sendo desenvolvido na Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (FEIS/UNESP) no Departamento de Biologia e Zootecnia UNESP de Ilha Solteira; autorizadas pelo SISBio: 72788-1, aceito pelo comitê de ética da Universidade de São Paulo, CEUAX: 2605250320.



Figura 4 (A-B). Fotografia Raia negra *Potamotrygon amandae*. Em A vista dorsal. Em B vista ventral. Fonte: AQUINO, J.B. (2020).

Os animais foram coletados e fixados em formoldeído 10%, as raias foram abertas com incisão pela cloaca, rompendo a cintura pélvica até a cintura escapular pela linha alba, sentido caudo-cranial, para exposição dos órgãos e o trato gastrointestinal. Fragmentos de cada região foram coletados e identificados. O processamento foi realizado no Setor de Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

Os cortes foram submetidos as colorações de hematoxilina-eosina (H.E.), alcian blue, picrosirius red e analisados em microscópio de luz.

Hematoxilina-Eosina

A Hematoxilina é uma base que cora, preferencialmente, componentes ácidos das células em um tom azulado escuro. Como os componentes ácidos mais abundantes são o DNA e o RNA, tanto o núcleo, quanto certas partes do citoplasma, se tornam azulados. Esses componentes são chamados de basófilos. A Eosina, ao contrário, é um ácido que cora as estruturas básicas da célula de rosa. Estas estruturas são abundantes no citoplasma e são chamadas de acidófilas (Gartner e Hiatt, 1999).

Alcian Blue

Os corantes de alcian são compostos catiónicos e formam ligações eletrostáticas (iônica) com determinados grupos polianióicos carboxil ou sulfato. O Azul de alcian (AA) tem grande especificidade em corar mucinas ácidas. Os tecidos não são afetados por posteriores tratamentos com água ou álcool e tem elevada durabilidade da coloração. Este corante cora específica e intensamente mucinas ácidas, de cor azul (Pires, 2004).

Picrosirius

Picrosirius é uma coloração seletiva de tecido conjuntivo (Sweat et al., 1964) que permite uma análise qualitativa das fibras colágenas do tecido conjuntivo.


Figura 5. Esquema do delineamento experimental, análise e processamento do material para projeto. Fonte: MELO, L.F. (2020).

4.1 Microscopia de luz (ML)

Para análise histológica, as amostras de todo o trato gastrointestinal foram fixadas em formoldeído a 10%, desidratadas em séries crescentes de etanóis (70 a 100%) e diafanizadas em xilol, com posterior inclusão em parafina. Cortes de 5µm de espessura foram realizados no micrótomo (LEIKA E GERMAN, 1988). As imagens foram obtidas através do microscópio de luz Nikon Eclipse E- 800, presente no Centro Avançado em Diagnóstico por Imagem - CADI-FMVZ-USP.

4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Amostras fixadas com formol 10% foram desidratadas em séries crescentes de etanóis em concentrações de 70%, 80%, 90% e 100%, secas em aparelho de ponto crítico LEICA EM CPD 300, colados com cola de carbono em bases metálicas de alumínio (*stub*) e metalizados ("*sputting*") com ouro no aparelho metalizador EMITECH K550, analisadas em microscópio

eletrônico de varredura (MEV) LEO 435VP, no Centro Avançado em Diagnóstico por Imagem - CADI- FMVZ-USP.

5 RESULTADOS

Foram observadas as seguintes estruturas na cavidade orofaríngea da raia *Potamotrygon amandae*: lábio superior, lábio inferior, crista do palato, mucosa lateral da cavidade orofaríngea, palato, assoalho linguístico, papila oral, dentículos orais e rastro labial

Já no sistema digestório foram observadas as seguintes estruturas: esôfago, estômago, intestino anterior, válvula espiral, intestino posterior, reto e glândulas anexas que são constituídas pelo pâncreas e fígado.

5.1 ANÁLISE MACROSCÓPICA

5.1.1. Cavidade orofaríngea

Quando analisada a cavidade orofaríngea da raia *Potamotrygon amandae*, ventralmente na parte externa, pôde-se observar os lábios superior e inferior. (Figura 6A e 6B)

Seguindo para a parte interna, a cavidade orofaríngea é dividida em duas regiões: o teto dorsal e o fundo ventral.

O teto dorsal da cavidade orofaringeana compreende a mandíbula superior que consiste no lábio superior, que comparado com o lábio inferior, possui um comprimento maior, para que auxilie na atividade de sucção do alimento. Adentrando a cavidade encontramos os dentículos molariformes, estrutura composta por cartilagem, que em sua superfície apresenta pequenos dentículos, responsáveis pela abrasão do alimento e consequentemente proteção do epitélio das outras estruturas que consistem a cavidade orofaríngea; subsequente encontra-se o rastro labial que são estruturas curtas e pontiagudas em formato viliforme, que filtram as partículas de alimento que estão prestes a serem ingeridas, atuando na proteção mecânica para a não ingestão de matéria inorgânica ou sedimentos do substrato (uma vez que o estilo de vida do animal é bentônico). Observa-se a crista do palato, apresentando uma estrutura protuberante e pregueada; nas laterais da crista, visualizamos a mucosa lateral da cavidade orofaringeana, que também é bastante pregueada, contendo a mesma coloração e textura da crista do palato. Subsequente, observamos a região do palato, que possui uma estrutura rígida, com o epitélio da superfície que revela uma aparência áspera e que se estende para direcionar o alimento até primeiras estruturas do trato gastrointestinal. (Figura 6C)

No fundo ventral da cavidade orofaríngea visualizamos os dentículos molariformes, observa-se as papilas orais, totalizando 5 estruturas, atuando no direcionamento do alimento por conta das brânquias que se encontram na lateral da cavidade, sendo assim a estrutura direciona o alimento da cavidade orofagingeana para o esôfago, impedindo que o alimento obstrua as brânquias e bloqueie assim a respiração do animal (troca gasosa), observamos o assoalho linguístico que é estático e ocupa grande proporção da cavidade, comparada com as demais estruturas citadas; o ápice do assoalho apresenta três protuberâncias com aspecto áspero e rugoso, que auxiliam no direcionamento do alimento do alimento ao esôfago. (Figura 6D)



Figura 6 (A-D). Fotografia macroscópica da vista ventral da cavidade orofaríngea da raia *Potamotrygon amandae*. Em A lábio superior (1) e lábio inferior (2). Em B lábio superior (1) e lábio inferior, estruturas abertas (2). Em C estruturas da região do teto dorsal, dentículos molariformes (3), rastro labial (4), crista do palato (5), mucosa lateral (6) e palato (7).Em D estrutura do fundo ventral, dentículos molariformes (3), papila oral (8) e assoalho linguístico (9).Fonte: AQUINO, J.B (2020)



Figura 7. Ilustração da cavidade orofaríngea da raia *Potamotrygon amandae*. Em A vista dorsal da raia negra evidenciando as estruturas do teto dorsal. Em B observar as estruturas do fundo ventral. Fonte: AQUINO, J.B (2020) / Ilustração por Gabriel Leandro Gomes Lamounier.

5.1.2. Sistema digestório

Quando analisado o conteúdo da cavidade celomática de *Potamotrygon amandae*, pôdese observar que o fígado de coloração castanho, ocupando quase toda a sua totalidade. (Figura 8A) O esôfago apresenta estrutura tubular curta e reta seguindo na junção com o estômago. O estômago tem forma de J, sendo anatomicamente dividido em três regiões, parte inicial, onde ocorre a transição do esôfago para o estômago, nomeada como cardia sendo a maior porção do órgão, o fundico e o piloro porção final do estômago. O pâncreas situa-se na porção anterior do intestino meio a junção da válvula espiral. (Figura 8B)



Figura 8 (A-B). Fotografia macroscópica da vista ventral da raia *Potamotrygon amandae*. Em A, observar a posição topográfica do fígado (FIG) ocupando toda cavidade celomática, em relação as estruturas como a válvula espiral (VAL); o intestino posterior (INTP) e o reto (RET). Em B, sintopia dos órgãos do sistema digestório da raia negra; o esôfago (ESO); o estômago cardio (ETC); o estômago fundico (ETF); o piloro (PIL); o pâncreas (PAN); o baço (BAÇ); o epidídimo (EPI); intestino anterior (INTA); válvula espiral (VAL); intestino posterior (INTP); reto (RET) Fonte: AQUINO, J.B (2020)

O intestino é composto por um tubo longo dividido em anterior e posterior, na região medial apresenta uma estrutura em formato de válvula com projeções espirais, contendo de 9 a 11 espiras (variando conforme o tamanho de cada animal), na sequência o reto que é de aspecto enrrugado e pregueado. (Figuras 9A-B)



Figura 9 (A-B). Fotografia do sistema digestório da raia *Potamotrygon amandae*. Em A, posição anatômica do sistema digestório, fora da cavidade celomática onde observa-se as estruturas esôfago (ESO); estômago: porção cárdia (ETC); porção fundica (ETF); porção pilórica (PIL); pâncreas (PAN); baço (BAÇ); intestino anterior (INTA); válvula espiral (VAL) e o intestino posterior (INTP) e reto (RET). Em B, corte longitudinal, evidenciando a mucosa interna do sistema digestório da raia negra. Fonte: AQUINO, J.B (2020).

O figado da raia (*Potamotrygon amandae*) é caracterizado pela presença de dois lobos hepáticos, sendo que os mesmos ocupam 70% da cavidade celomática. Os lobos hepáticos direito e esquerdo estão abaixo da cintura escapular. O lobo hepático esquerdo cobre o esôfago, o estômago e parte do intestino anterior. O lobo hepático direito está localizado ventralmente ao pâncreas e parcialmente a válvula espiral. É possível observar a presença da vesícula biliar entre os dois lobos hepáticos direito e esquerdo e sob o intestino anterior proximo ao pâncreas. (Figuras 10A-B)



Figura 10 (**A-B**). Fotografia do fígado da raia *Potamotrygon amandae*. Em **A**, vista ventral do fígado, observar a vesícula biliar (VB), entre os dois lobos direito (LHD) e esquerdo (LHE) unidos por um ligamento(seta). Em **B**, vista visceral do fígado, observar as impressões dos órgãos em cada lobo. No lobo hepático direito a impressão dos órgãos: esôfago (IESO); estômago cardio (IETC), estômago fundico (IETF) e no lodo esquerdo a impressão dos órgãos: intestino anterior (INTA) e das válvulas espirais (IVAL). Fonte: AQUINO, J.B (2020).

O pâncreas nesta espécie é alongado apresentando dois lobos: um que está na porção do intestino anterior e outra porção voltada para as válvulas espirais; sua superficie é lisa e amarelada. (Figura 11)



Figura 11. Sistema digestório da raia *Potamotrygon amandae*, vista ventral da cavidade celomática, observar a topografia do pâncreas que está localizado no intestino anterior (INTA), a válvula espiral (VAL) e o estômago

pilórico (PIL), bem como as demais estruturas como o estômago cardio (ETC) e estômago fundico (ETF) e o baço (BAÇ). Fonte: AQUINO, J.B (2020).

5.2 ANÁLISE MICROSCOPICA E ULTRAESTRUTURAL

Através da técnica de microscopia de luz (ML), por meio das colorações: Hematoxilina-Eosina, Alcian blue e Picrosirius, e da técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV), observou-se a morfologia específica de cada região do trato gastrointestinal da raia *Potamotrygon amandae*.

Na coloração de Hematoxilina-eosina foram identificadas e descritas as camadas, células e glândulas presentes em cada região do trato gastrointestinal da raia negra.

Na coloração de alcial blue foram evidenciadas a presença ou ausência de células caliciformes produtoras de muco na camada mucosa das regiões identificadas do trato gastrointestinal.

A coloração de picrosirius foi realizada para avaliar a presença dos diferentes tipos de fibras colágenas, de acordo com sua espessura e localização; comprovou-se a presença de fibras colágenas com diferentes espessuras, utilizando-se a luz polarizada foi possível visualizar a birrefringência em amarelo e vermelho das fibras grossas, e verde das fibras mais finas.

Por meio da técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), o trato gastrointestinal da raia negra foi avaliado, ressaltando as adaptações do animal com alimentação e o meio em que vive.

5.2.1 Cavidade orofaríngea

Lábio

No lábio encontramos 5 tipos de camadas: mucosa, submucosa, muscular, cartilagem e serosa.

Na camada mucosa, o epitélio que encontramos é o estratificado pavimentoso não queratinizado; na região intermediaria do epitélio, encontramos as células caliciformes (Figura 12A), observamos a camada submucosa com a presença de melanócitos marrons escuros (Figura 12B). Contendo uma camada mais espessa comparada às demais camadas visualizadas no lábio, encontra-se a camada muscular que apresenta musculatura lisa, uma camada de

cartilagem é visualizada circundante da cavidade oral e subsequente observamos a musculatura esquelética com músculo orbicular da boca. (Figura 12A)



Figura 12 (A-B). Fotomicrografia do lábio da raia *Potamotrygon amandae*. Em **A** observar epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado (chave), células caliciformes (asterisco), camada submuscosa (Sb), a camada muscular contem musculatura lisa (Mu), posteriormente visualiza-se cartilagem circundante da cavidade oral (Cr), observar musculatura esquelética com músculo orbicular da boca (Mo). Em **B** melanócitos marrons escuros (círculos). Coloração em H.E.

A mucosa do lábio é composta por epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado com presença de células caliciformes, evidenciada pela coloração, observamos a camada submucosa com presença de ductos e vaso sanguíneo. Visualiza-se camada de cartilagem circundante da cavidade oral. (Figura 13)



Figura 13. Fotomicrografia do lábio da raia *Potamotrygon amandae*. Epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado (chave) com presença de células caliciformes (setas), camada submucosa (Sb) apresentando ductos (circulo) e vaso sanguíneo (quadrado), abaixo uma camada de cartilagem circundante da cavidade oral (Cr). Coloração em Alcial blue.

No lábio constatou-se a presença de fibras colágenas, sendo possível visualizar birrefringência avermelhada, representando as fibras grossas, na região submucosa.

Vale ressaltar que nas regiões da mucosa formada por epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado e região da cartilagem circundante da cavidade oral não foram observadas a presença das fibras colágenas. (Figuras 14A-B)



Figura 14 (**A-B**). Fotomicrografia do lábio da raia *Potamotrygon amandae*. Em **A** (sem polarização) observar região mucosa formada por epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado (a), submucosa (b) e cartilagem circundante (c). Em **B** (com luz polarizada). Coloração de Picrosirius.

O lábio da raia negra foi analisado a partir da microscopia eletrônica de varredura, visualizando-se o ápice irregular e algumas impressões na superfície de contato, pode-se observar também a presença de glândulas e orifícios revestindo a mucosa, apresentando o epitélio um formato poligonal. (Figuras 15 A-B)



Figura 15 (**A-B**). Eletromicrografia do lábio da raia *Potamotrygon amandae*. Em **A** observar superfície da região do lábio (quadrados). Em **B** glândulas e orifícios no epitélio (círculos).

Dentículo molariforme

A camada basal dos dentículos é formada por tecido conjuntivo frouxo; a epiderme é formada por epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado, com a presença de células caliciformes, placa basal que está alicerçada no tecido conjuntivo dando sustentação para o dentículo. (Figura 16A)

Os dentículos molariformes são formados por esmalte, dentina e a polpa, tendo sua base maior do que a cúspide. Na região mais interna do dentículo podemos observar a cavidade da polpa. (Figura 16B)



Figura 16 (A-B). Fotomicrografia do dentículo molariforme da raia *Potamotrygon amandae*. Em A epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado (Epi), células caliciformes (asteriscos), placa basal (quadrado). Em B observar formação do dentículo formado por esmalte (seta vazada), dentina (Den) e Cavidade da polpa (Cp). Coloração em H.E.

Formada por epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado, a epiderme apresenta células caliciformes, evidenciadas pela coloração de alcian blue. Os dentículos molariformes são formados por esmalte, dentina e a polpa, tendo sua base maior do que a cúspide. (Figura 17)



Figura 17. Fotomicrografia do dentículo molariforme da raia *Potamotrygon amandae*. Observar epiderme formada por epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado (chave), células caliciformes (setas pretas). Dentículos formados por esmalte (seta vazada), dentina (Den) e a polpa (Cp). Coloração em Alcian blue.

No dente molariforme, a coloração de picrossirius possibilitou a constatação da presença dos diferentes tipos de fibras colágenas, de acordo com sua espessura e localização. Na região do esmalte, observa-se invaginações de fibras mais grossas comprovadas pela coloração amarela, já nas regiões da cúspide, cavidade da polpa, placa basal e tecido conjuntivo, observa-se uma birrefringência mais homogênea contendo as cores amarelo, vermelho e laranja relacionadas as fibras mais grossas, e azul e verde representando as fibras mais finas. (Figuras 18A-B)



Figura 18 (A-B). Fotomicrografia do dente molariforme da raia *Potamotrygon amandae*. Em A (sem polarização) observar as regiões esmalte (a), cúspide (b), cavidade da polpa (c), placa basal(d), e tecido conjuntivo (e). Em B (com luz polarizada). Coloração em Picrosirius.

Através da microscopia eletrônica de varredura foi evidenciado nos dentículos molariformes a disposição dos feixes denticulares apresentando um formato piramidal e visualizado no ápice somente uma cúspide na região frontal do dentículo. (Figuras 19 A-B)



Figura 19 (**A-B**). Eletromicrografia do dentículo molariforme da raia *Potamotrygon amandae*. Em **A** observa-se a disposição dos feixes denticulares. Em **B** o ápice da cúspide.

Rastro labial

Podemos observar através da análise do rastro labial, que o mesmo é composto por uma camada de tecido muscular liso e tecido conjuntivo denso modelado para que possa dar forma e rigidez a estrutura. (Figura 20A) Na camada mucosa podemos visualizar a presença de epitélio pavimentoso estratificado não queratinizado, subsequente a camada de musculatura lisa e tecido conjuntivo denso não modelado. (Figura 20B)



Figura 20 (**A-B**). Fotomicrografia do rastro labial da raia *Potamotrygon amandae*, Em **A** tecido conjuntivo denso modelado (Tm) e tecido muscular liso (Ml). Em **B** tecido conjuntivo denso não modelado (Tn), epitélio pavimentoso estratificado não queratinizado (chave). Coloração em H.E.

A camada mucosa apresenta epitélio pavimentoso estratificado não queratinizado, com presença de células caliciformes, demonstrado através da coloração de alcian blue. Na camada

muscular observa-se uma camada de tecido muscular liso e tecido conjuntivo não modelado. (Figura 21)



Figura 21. Fotomicrografia do rastro labial da raia *Potamotrygon amandae*. Observar camada mucosa composta por epitélio pavimentoso estratificado não queratinizado (chave), com presença de células caliciformes (setas pretas), tecido muscular liso (Ml) e tecido conjuntivo não modelado (Tn). Coloração em Alcian blue.

O rastro labial é evidenciado com uma maior concentração de fibras vermelhas, que são as mais espessas, no tecido muscular liso há uma presença mais homogênea de fibras finas e grossas na região do tecido conjuntivo denso não modelado. Não foram observadas a presença de fibras colágenas na região mucosa com epitélio pavimentoso estratificado não queratinizado. (Figuras 22A-B)



Figura 22 (**A-B**). Fotomicrografia do rastro labial da raia *Potamotrygon amandae*. Em **A** (sem polarização) observa-se a mucosa formada por epitélio pavimentoso estratificado não queratinizado (a), tecido muscular liso (b) e tecido conjuntivo denso não modelado (c). Em **B** (com luz polarizada). Coloração em Picrosirius

Através da microscopia eletrônica de varredura, a ultraestrutura da mucosa do rastro labial foi observada apresentando dispersão de criptas, algumas formando sulcos no epitélio pavimentoso. (Figura 23A) Visualiza-se o epitélio composto por micro saliências e a presença de sulcos. (Figura 23B)



Figura 23 (A-B). Eletromicrografia do rastro labial da raia *Potamotrygon amandae*. Em A observa-se criptas (setas). Em B pode ser evidenciada a presença de sulcos e micro saliências (quadrado).

Crista do palato

Na região denominada como crista do palato a mucosa apresenta epitélio de revestimento estratificado pavimentoso não queratinizado, à medida que se aproximam da luz, elas tornam-se achatadas, com núcleo alongado acompanhando o formato celular (o epitélio apresenta uma superfície lisa, enquanto a superfície basal é caracterizada por ondulações irregulares, comparadas a outras regiões da cavidade orofaringeana). (Figura 24A) Entre as células da camada mucosa encontramos as células claviformes, que são células grandes

ovaladas, com o núcleo central fortemente corado pela hematoxilina e citoplasmas fortemente corados pela eosina, sendo por tanto chamadas de células acidófilas devido a presença de agregado proteico, localizadas acima das células basais, formando camadas descontínuas em alguns pontos, se estendem entre as células mucosas e atingem a superfície do epitélio. Na região basal do epitélio existem algumas células que se apresentam com o núcleo maior, sendo circundado com um alo branco, indicando serem células claviformes em diferentes fases de diferenciação celular. (Figura 24B) Feixes de musculo liso com melanócitos marrons escuros interligados também foram encontrados na estrutura. Visualiza-se tecido conjuntivo denso não modelado. (Figura 24A)



Figura 24 (A-B). Fotomicrografia da crista do palato da raia *Potamotrygon amandae*. Em A mucosa com epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado (chave), feixes de musculo liso (Ms) com melanócitos marrons escuro interligados (círculos), mais internamente visualiza-se tecido conjuntivo denso, não modelado (Tn). Em B observa-se as células claviformes (setas). Coloração em H.E.

A camada mucosa da crista do palato apresenta epitélio pavimentoso estratificado não queratinizado, com presença de células caliciformes, subsequente observamos uma camada de tecido muscular liso e subsequente tecido conjuntivo não modelado. (Figura 25)



Figura 25. Fotomicrografia da crista do palato da raia *Potamotrygon amandae*. Observar mucosa com epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado (chave) com presença de células caliciformes, feixes de musculo liso (Ms) mais internamente visualiza-se tecido conjuntivo denso, não modelado (Tn). Coloração em Alcian blue.

Com a coloração de picrosirius, a crista do palato evidencia as fibras colágenas que compõe o tecido. Nota-se maior birrefringência nas cores vermelha e amarela (fibras grossas) nas regiões de musculo liso e de tecido conjuntivo denso não modelado; observa-se ainda além do amarelo e vermelho, a presença da birrefringência verde, comprovando a presença de fibras mais finas entremeadas no tecido. Na camada mucosa não foram observadas fibras colágenas, consequentemente não apresentando birrefringência. (Figuras 26A-B)



Figura 26 (**A-B**). Fotomicrografia da crista do palato da raia *Potamotrygon amandae*. Em **A** (sem polarização) observa-se a musculatura lisa (a), tecido conjuntivo denso não modelado (b) e camada mucosa formada por epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado (c). Em **B** (com luz polarizada). Coloração em Picrossírius.

Por meio da microscopia eletrônica de varredura, a mucosa da crista do palato foi visualizada apresentando um padrão de projeções epiteliais semelhantes a favos de mel, com orifícios de tamanhos irregulares dispersos por toda a extensão do epitélio. (Figura 27)



Figura 27. Eletromicrografia da crista do palato da raia *Potamotrygon amandae*. Observa-se padrão de projeções epiteliais (quadrados) e com orifícios de tamanhos irregulares (setas).

Mucosa lateral da cavidade orofaríngea

Na região denominada como mucosa lateral podemos observar a submucosa que é composta por tecido conjuntivo denso não modelado, tecido conjuntivo frouxo e camada muscular contendo tecido muscular liso com feixes desordenados e finalizando com a camada serosa. (Figura 28A) A camada mucosa apresentou epitélio de revestimento que foi descrito como estratificado pavimentoso não queratinizado, entre as células da camada epitelial encontramos as células claviformes e caliciformes por toda sua extensão, visualiza-se melanócitos marrons escuro. (Figura 28B)



Figura 28 (**A-B**). Fotomicrografia da mucosa lateral da cavidade orofaríngea da raia *Potamotrygon amandae*. Em **A** observa-se tecido conjuntivo denso não modelado (Tn), em seguida uma camada de tecido conjuntivo frouxo (Tf), tecido muscular liso (Ml) e pôr fim a camada serosa (Se). Em **B** no epitélio encontra-se células caliciformes (asterisco), entre as células da camada epitelial também visualizamos células claviformes (setas). O epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado (chave) contendo melanócitos marrons escuro (círculos). Coloração em H.E.

A região da mucosa lateral da cavidade orofaringeana apresenta camada mucosa formada por epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado, contendo células caliciformes por toda sua extensão, sendo evidenciada pela coloração em alcian blue, subsequente observamos melanócitos marrons escuro, logo abaixo verificou-se tecido conjuntivo denso não modelado, uma camada de tecido conjuntivo frouxo, tecido muscular liso e camada serosa. (Figura 29)



Figura 29. Fotomicrografia da mucosa lateral da cavidade orofaríngea da raia *Potamotrygon amandae*. Observa-se camada mucosa composta por epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado (chave), contendo células caliciformes (setas pretas), células claviformes (quadrados), em seguida observamos melanócitos marrons escuro (círculos), posteriormente tecido conjuntivo denso não modelado (Tn), subsquente uma camada de tecido conjuntivo frouxo (Tf), tecido muscular liso (Ml) e camada serosa (Se). Coloração em Alcian blue.

Na região da mucosa lateral orofaringeana, a luz polarizada possibilitou a visualização de birrefringência em amarelo e vermelho, de fibras grossas, e verde de fibras mais finas nas regiões de tecido conjuntivo denso não modelado, no tecido muscular liso e na camada serosa. O tecido conjuntivo frouxo se apresenta com algumas fibras finas entremeando a região, enquanto que a mucosa formada por epitélio estratificado pavimentoso queratinizado não apresenta fibras colágenas. (Figuras 30A-B)



Figura 30 (**A-B**). Fotomicrografia da mucosa lateral orofaringeana da raia *Potamotrygon amandae*. Em **A** (sem polarização) observamos mucosa formada por epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado (a), tecido conjuntivo denso não modelado (b), tecido conjuntivo frouxo (c), tecido muscular liso (d) e serosa (e). Em **B** (com luz polarizada). Coloração em Picrosirius.

Por meio da microscopia eletrônica de varredura da mucosa lateral da cavidade orofaríngea, através do corte longitudinal, foi evidenciado o epitélio glandular com aberturas das células caliciformes. São visualizadas irregularidades formadas pelo tecido conjuntivo denso não modelado e subsequentemente a camada de tecido conjuntivo frouxo. (Figura 31 A-B)



Figura 31 (**A-B**). Eletromicrografia da mucosa lateral da cavidade orofaringeana da raia *Potamotrygon amandae*. Em **A** e **B** observar epitélio glandular (a) e tecido conjuntivo denso não modelado (b). Em **C** a camada de tecido conjuntivo frouxo (c).

Palato

Na mucosa do palato é bem evidente a presença de um dentículo oral, que é responsável pelo direcionamento do alimento até as primeiras estruturas do sistema digestório, o epitélio identificado foi estratificado pavimentoso não queratinizado, com a presença de células caliciformes secretoras de muco para auxiliar na passagem do alimento, pode-se visualizar na camada submucosa a presença de um grande vaso. (Figura 32A) A camada submucosa apresenta tecido conjuntivo denso não modelado, com feixes de fibras musculares e vasos, observa-se tecido conjuntivo denso modelado. (Figura 32B)



Figura 32 (**A-B**). Fotomicrografia do palato da raia *Potamotrygon amandae*. Em **A** observar dentículo oral (seta vazada), visualizar o epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado (chave) com vaso sanguíneo (quadrado) e células caliciformes (asterisco). Em **B** presença de células claviformes (setas pretas), melanócitos marrons escuro (círculo), tecido conjuntivo denso não modelado (Tn) com feixes de fibras musculares e presença de vasos (Fm) e tecido conjuntivo denso modelado (Tm). Coloração em H.E.

O palato apresenta sua mucosa com epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado, são observadas em toda a sua extensão a presença de células caliciformes e células claviformes, evidenciadas pela coloração de alcian blue. A camada submucosa apresenta tecido conjuntivo denso não modelado com feixes de fibras musculares e tecido conjuntivo denso modelado. (Figura 33)



Figura 33. Fotomicrografia do palato da raia *Potamotrygon amandae*. Observa-se a mucosa contendo epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado (chave), com células caliciformes (setas pretas) e células claviformes (quadrados). A camada submucosa apresenta tecido conjuntivo denso não modelado (Tn) com feixes de fibras musculares e tecido conjuntivo modelado (Tm). Coloração em Alcian blue.

Na região do palato, a luz polarizada indicou a presença de fibras colágenas sendo possível visualizar birrefringência em amarelo e vermelho, das fibras grossas, na região de tecido conjuntivo denso não modelado, juntamente com feixes de fibras musculares, na região mucosa formada por epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado não se observa e a presença das fibras colágenas. (Figuras 34A-B)



Figura 34 (**A-B**). Fotomicrografia do palato da raia *Potamotrygon amandae*. Em **A** (sem polarização) observar a camada mucosa formada por epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado (a), tecido conjuntivo denso não modelado, juntamente com feixes de fibras musculares. Em **B** (com luz polarizada). Coloração em Picrosirius.

Por meio da microscopia eletrônica de varredura da região do palato observou-se a mucosa revestida por epitélio estratificado pavimentoso, com a presença de orifícios por sua extensão. (Figura 35A) Pode-se verificar a ampliação do epitélio contendo uma superfície plana. (Figura 35B)



Figura 35 (**A-B**). Eletromicrografia do palato da raia *Potamotrygon amandae*. Em **A** observar mucosa composta por epitélio estratificado pavimentoso (chave) e orifícios (seta). Em **B** visualiza-se o Epitélio contendo uma superfície plana (quadrado).

Papila oral

A camada mucosa da papila oral é composta por tecido epitelial estratificado pavimentoso não queratinizado, à medida que se aproximam da luz, as células tornam-se achatadas, com núcleo alongado acompanhando o formato celular; na mesma camada podem ser visualizadas também as células caliciformes que têm como função secretar muco. As criptas encontradas na camada mucosa (Figura 36A), juntamente com as pregas orofaringeanas invaginam o tecido conjuntivo frouxo, formando ondulações na mesma, que por sua vez é mais espessa comparada com as outras estruturas da cavidade. (Figura 36B) Na camada submucosa podemos identificar o tecido conjuntivo denso não modelado com a presença de vasos, observase tecido conjuntivo denso modelado responsável por dar forma e rigidez a estrutura. (Figura 36C)



Figura 36 (A-C). Fotomicrografia da papila oral da raia *Potamotrygon amandae*. Em A observar tecido epitelial estratificado pavimentoso não queratinizado (chave), crisptas (seta vazada), tecido conjuntivo denso modelado (Tm). Em B tecido conjuntivo denso não modelado (Tn) Tecido conjuntivo frouxo (Tf), pregas orofaringeanas (cabeça da seta). Em C vaso sanguíneo (quadrado) e células caliciformes (asteriscos). Coloração em H.E.

A papila oral possui sua camada mucosa composta por tecido epitelial estratificado pavimentoso não queratinizado apresentando de células caliciformes, evidenciadas pela coloração são observadas formação de criptas, presença de conjuntivo frouxo e tecido conjuntivo denso não modelado e vasos. (Figura 37)



Figura 37. Fotomicrografia da papila oral da raia *Potamotrygon amandae*. Observar a camada mucosa composta por tecido epitelial estratificado pavimentoso não queratinizado (chave), com a presença de células caliciformes (setas pretas), tecido conjuntivo frouxo (Tf), tecido conjuntivo denso não modelado (Tn) apresentando vasos (Vs) e tecido conjuntivo denso modelado (Tm). Coloração em Alcian blue.

Através da luz polarizada foi possível visualizar birrefringência em amarelo e vermelho, das fibras grossas, e verde das fibras mais finas nas regiões de tecido conjuntivo denso não modelado, enquanto que a mucosa e o tecido conjuntivo denso modelado não apresentam fibras colágenas. (Figura 38A-B)



Figura 38(A-B). Fotomicrografia da papila oral da raia Potamotrygon amadae. Em **A** (sem polarização) observa-se a mucosa formada por epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado (a), tecido conjuntivo denso não modelado (b) e tecido conjuntivo denso modelado (c). Em **B** (com luz polarizada). Coloração em Picrosirius

Por meio da microscopia eletrônica de varredura foi evidenciada que a mucosa da papila oral é formada por epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado, essa camada é bem espessa comparada com as outras regiões da cavidade orofaringeana e possui a formação de criptas. (Figura 39A) Foram visualizados orifícios dispersos por todo o epitélio (Figura 39B).



Figura 39 (**A-B**). Eletromicrografia da papila oral da raia *Potamotrygon amandae*. Em **A** observar epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado bem espessa com formação de criptas (quadrado). Em **B** visualiza-se orifícios (setas).

Assoalho linguístico

O assoalho linguístico é formado pelas camadas mucosa, submucosa e muscular.

A camada mucosa é formada por epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado, contendo células caliciformes, na camada submucosa, observa-se tecido conjuntivo denso não modelado e camada muscular que apresenta musculo estriado esquelético. (Figura 40A)

Na camada muscular da mucosa visualiza-se fibras musculares de musculo liso, tecido conjuntivo denso não modelado e vasos sanguíneo (eritrócitos nucleados). (Figura 40B)

Na camada mucosa observamos células claviformes e a presença de dentículo oral. (Figura 40C)





Figura 40 (**A-C**). Fotomicrografia do assoalho linguístico da raia *Potamotrygon amandae*. Em **A** observar a camada mucosa (Mu) com epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado (chave), contendo células caliciformes (asteriscos), na camada submucosa (chave), observa-se tecido conjuntivo denso modelado (Tm), tecido conjuntivo denso não modelado (Tn) e camada muscular visualiza-se musculo estriado esquelético (Me). Em **B** a camada mucosa visualiza-se fibras musculares de musculo liso (MI) e vasos sanguíneo (cabeça da seta). Em **C** na camada mucosa observa-se células claviformes (setas pretas), camada de musculo liso (MI) e a presença de dentículo oral (seta vazada). Coloração em H.E.

A camada mucosa do assolho linguístico é formada por epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado, apresentando células caliciformes secretoras de muco, células clavifomes e dentículo oral, por toda sua extensão, sendo destacadas pela coloração. Na camada submucosa observamos a presença de tecido conjuntivo denso não modelado e entre eles tecido conjuntivo denso modelado, para dar forma e sustentação para a estrutura do assoalho linguístico. (Figura 41)



Figura 41. Fotomicrografia do assoalho linguístico da raia *Potamotrygon amandae*. Observar mucosa formada por epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado (chave), células caliciformes (setas pretas), células clavifomes (círculos) e dentículo oral (seta vazada), na submucosa visualiza-se a presença de tecido conjuntivo denso não modelado (Tn), musculatura lisa e tecido conjuntivo denso modelado (Tm). Coloração em Alcian blue.

Quanto a região do assoalho linguístico, utilizando-se da luz polarizada, pode-se comprovar a ausência de fibras colágenas na região mucosa formada por epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado; na referida região, que possui fibras musculares de musculo liso, observa-se uma maior concentração de fibras mais espessas, marcadas por vermelho e amarelo, enquanto que na região de tecido conjuntivo denso não modelado nota-se uma birrefringência mais homogênea apresentando as fibras mais finas (verde). Na região do tecido conjuntivo denso modelado existe uma invaginação de fibras mais finas pelo tecido circundante. (Figuras 42A-B)



Figura 42 (**A-B**). Fotomicrografia do assoalho linguístico da raia *Potamotrygon amandae*. Em **A** (sem polarização) observa-se região da mucosa formada por epitélio estratificado pavimentoso não queratinizado (a), fibras musculares de musculo liso (b) tecido conjuntivo denso não modelado (c) e tecido conjuntivo denso modelado (d). Em **B** (com luz polarizada). Coloração em Picrosirius.

Através da microscopia eletrônica de varredura foi evidenciado que todo o assoalho linguístico é recoberto de elevações epiteliais semelhantes a montículos e dentes papiliformes com formato cônico. (Figura 43A) Visualiza-se a vista lateral do dente papiliforme que é circundado por pequenas fendas. (Figura 43B) Observa-se que o ápice dos dentes papiliformes são finos e pontiagudos em formato cônico. (Figura 43C)



Figura 43 (**A-C**). Eletromicrografia do assoalho linguístico da raia *Potamotrygon amandae*. Em **A** observa-se elevações epiteliais semelhantes a montículos e dentes papiliformes. Em **B** vista lateral do dente papiliforme. Em **C** ápice dos dentes papiliformes.

5.2.2. Sistema digestório

Esôfago

No esôfago, a camada mucosa é constituída de tecido epitelial pavimentoso estratificado não queratinizado, com presença de células cúbicas na sua área basal, e na sua superfície, observa-se também células epiteliais se descamando da superfície, essas células apresentam forma discóide. São encontradas glândulas muco secretoras unicelulares em formato de cálice. (Figura 44A) A camada submucosa é formada por tecido conjuntivo denso não modelado e invaginação para a formação das dobras. (Figura 44B) A camada muscular é constituída por duas camadas, uma camada circular e uma camada longitudinal. Entre ambas se encontra o plexo muscular mioentérico. A camada serosa que se encontra ao redor do órgão, é formada por tecido conjuntivo frouxo. (Figura 44C)



Figura 44 (A-C). Fotomicrografia do esôfago da raia *Potamotrygon amandae*. Em **A**, observar a camada de mucosa com tecido epitelial pavimentoso estratificado não queratinizado e células cubicas na sua área basal, e na sua superfície, observar também células epiteliais se descamando (chave) e glândulas muco secretoras em formato de cálice (asteriscos). Em **B**, a camada submucosa presente tecido conjuntivo denso não modelado (circulo) e invaginação para a formação das dobras (cabeça de seta). Em **C**, as duas camadas musculares, camada circular (quadrado) e camada longitudinal (triangulo). Entre ambas se encontra o plexo muscular mioentérico (estrela). Serosa ao redor do órgão formada por tecido conjuntivo frouxo (seta vazada). Coloração em H.E.

A camada mucosa do esôfago é formada por epitélio pavimentoso estratificado não queratinizado (chave), contendo uma grande quantidade de células caliciformes, comparada com outras regiões do trato gastrointestinal e sendo evidenciada pela coloração de alcian blue, subsequente podemos visualizar tecido conjuntivo denso não modelado. (Figura 45)



Figura 45. Fotomicrografia do esôfago da raia Potamotrygon amandae. Observar camada mucosa formada por epitelio pavimentoso estratificado não queratinizado (chave), células caliciformes (setas pretas) e tecido conjuntivo denso não modelado. Coloração em Alcian blue.

No esôfago pode-se notar a presença de fibras colágenas com distribuição homogênea de fibras grossas e finas na área do tecido conjuntivo denso não modelado e uma maior concentração de fibras grossas na região da camada muscular circular. Não foram visualizadas a presença das fibras colágenas na região da mucosa composta por epitélio pavimentoso estratificado não queratinizado. (Figuras 46A-B)



Figura 46 (**A-B**). Fotomicrografia do esôfago da raia *Potamotrygon amandae*. Em **A** (sem polarização) observar a camada mucosa formada por epitélio pavimentoso estratificado não queratinizado (a), tecido conjuntivo denso não modelado (b) e camada muscular circular (c). Em **B** (com luz polarizada). Coloração em Picrosirius.

O esôfago observado através da microscopia eletrônica de varredura apresenta superfície do epitélio em formato poliédrico e achatado; sendo analisado na microscopia de luz como epitelial pavimentoso. Em toda superfície na extensão luminal são observadas micro saliências. (Figura 47A) Observa-se também a abertura das células caliciformes em toda sua extensão. No corte transversal observa-se uma papila com presença de condutos excretores (procedentes de glândulas submucosas). (Figura 47B) No corte transversal nota-se as camadas: mucosa, submucosa, muscular circular, muscular longitudinal e serosa. (Figura 47C)



Figura 47 (**A-C**). Eletromicrografia do esôfago da raia *Potamotrygon amandae*. Em **A**, superfície do epitélio um formato poliédrico, achatado (círculo), micro saliências também foram (quadrado) observadas. Em **B**, observa-se a abertura das células caliciformes em toda sua extensão (seta branca), uma papila é evidenciada (régua branca), com presença de condutos excretores (triângulo). Em **C** corte transversal com as camadas: mucosa (Mu), submucosa (Su), muscular circular (Mc), muscular longitudinal (MI) e serosa (Se).

Estômago cardio

Na Submucosa, a lâmina própria apresenta-se escassa comparada com o restante do trato digestório, sendo composta por tecido conjuntivo frouxo, o qual sustenta os vasos sanguíneos. (Figura 48A) Na camada muscular, são observadas duas camadas: a muscular circular formando camadas incompletas e uma camada longitudinal. A camada serosa é composta por tecido conjuntivo frouxo. (Figura 48B) Na porção cárdia a camada mucosa apresenta epitélio colunar simples, com formação das criptas gástricas. No epitélio há predominância das glândulas cárdias que tem como unidade funcional as células parietais muco secretoras, e apresentam formato piramidal com núcleo na porção central. (Figura 48C)



Figura 48 (A-C). Fotomicrografia do estômago cardio da raia *Potamotrygon amandae*. Em A, camadas do estômago: mucosa (Mu), submucosa (Su) com presença de vasos sanguíneos (estrela), muscular (Ms) e serosa (Se). Em B, a camada muscular circular (Mc) e uma camada muscular longitudinal (chave). A camada serosa é

composta por tecido conjuntivo frouxo (seta vazada). Em C, a mucosa apresenta epitélio colunar simples (setas pretas), a formação das criptas gástricas (quadrado). No epitélio há predominância das glândulas cárdias (círculos). Coloração em H.E.

A camada mucosa é formada por epitélio colunar simples com a formação de criptas gástricas e glândulas cárdias. A submucosa por sua vez é composta por tecido conjuntivo frouxo, apresentando vasos sanguíneos. A camada muscular é evidenciada por musculatura circular interna. A partir da coloração de alcian blue, não foram identificadas células caliciformes na região do estômago cardio da raia *Potamotrygon amandae*. (Figura 49)



Figura 49. Fotomicrografia do estômago cardio da raia *Potamotrygon amandae*.Observar a camada mucosa formada por epitélio colunar simples (chave), com presença de criptas grástricas (quadrados) e glandulas cardias (círculos) A camada submucosa composta por teecido conjuntivo frouxo, visualiza-se vasos sanguíneos (estrela) e camada muscular contendo musculaura circular interna.Coloração em Alcian blue.

A partir da coloração de picrosirius, foram evidenciadas as fibras colágenas que compões o tecido do estômago cardio.

A camada mucosa que é composta por epitélio colunar simples e observa-se a presença da birrefringência verde, comprovando a presença de fibras mais finas entremeadas entre as glândulas cardias. Visualiza-se maior birrefringência na cor amarela na região do tecido conjuntivo frouxo apresentando fibras grossas, nota-se uma birrefringência mais homogênea
apresentando as fibras mais finas (verde) na camada muscular circular interna. (Figuras 50A-B)



Figura 50 (**A-B**). Fotomicrografia do estômago cardio da raia *Potamotrygon amandae*. Em **A** (sem polarização) observa-se camada mucosa formada por epitélio colunar simples (a), tecido conjuntivo frouxo (b) e camada muscular circular interna (c). Em **B** (com luz polarizada). Coloração em Picrosirius.

Através da microscopia eletrônica de varredura foi possível visualizar a superfície da mucosa, células parietais que se destacam por sua forma poliédrica. (Figura 51A) Observa-se uma fenda composta pela cripta gástrica e presença de epitélio colunar simples, seguido pela abertura de glândulas cardias (Figura 51B), e por fim evidencia-se uma grande quantidade de glândulas tubulares. (Figura 51C)



Figura 51 (A-C). Eletromicrografia do estômago cardio da raia *Potamotrygon amandae*. Em **A**, é possível observar células parietais (quadrado). Em **B**, observa-se cripta gástrica, abertura de glândulas cardias (círculos) e epitélio colunar simples (seta). Em **C**, glândulas tubulares (quadrado).

Estômago fundico

O estômago fundico apresenta juntamente com a mucosa, epitélio colunar simples com a presença criptas gástricas. (Figura 52A) Ainda na camada mucosa há a presença de glândulas

fundicas que são compostas pelas células parietais e as células principais. (Figura 52B) A camada submucosa é composta por tecido conjuntivo frouxo. A camada muscular é dividida em duas: circular, formando grupos de feixes incompletos e camada longitudinal. (Figura 52C) A camada serosa é composta por tecido conjuntivo frouxo, células adiposas, com a presença de gânglios nervosos. (Figura 52D)



Figura 52 (A-D). Fotomicrografia do estômago fundico da raia *Potamotrygon amandae*. Em **A**, observar a camada mucosa (Ms) composta por epitélio colunar simples com formação de criptas gástricas (seta vazada) e camada muscular (Mu). Em **B**, presença das glândulas fúndicas (círculo), compostas pelas células parietais (cabeça das setas) e as células principais (setas pretas). Em **C** a camada submucosa é composta por tecido conjuntivo frouxo (Tf), a camada muscular com musculatura circular (Mc) e longitudinal (Ml). Em **D**, camada serosa composta por tecido conjuntivo frouxo, células adiposas e gânglios nervosos (Ga). Coloração em H.E.

A camada mucosa apresenta epitélio colunar simples com a presença criptas gástricas, e glândulas fundicas. A camada muscular da mucosa podemos observar a presença de músculo liso com fibras dispostas longitudinalmente, a submucosa é composta por tecido conjuntivo frouxo. A camada muscular apresenta musculatura circular interna. A partir da coloração de alcian blue, não foram identificadas células caliciformes na região do estômago fundico da raia *Potamotrygon amandae*. (Figura 53)



Figura 53. Fotomicrografia do estômago fundico da raia *Potamotrygon amandae*. Observar na camada mucosa a formação de epitélio colunar simples, com a presença criptas gástricas e glândulas fundicas (circulo). Na camada muscular da mucosa visualiza-se musculo liso com fibras dispostas longitudinalmente (triâmgulo), a camada submucosa composta por tecido conjuntivo frouxo (Tf) com presença de vaso sanguíneo (estrela) e a camada muscular apresenta musculatura circular interna (Mu). Coloração em Alcia blue.

No estômago fundico a partir da coloração de picrossirius foram evidenciadas a fibras colágenas que compõe o tecido. Nota-se maior birrefringência nas cores vermelha e amarela (fibras grossas) nas regiões da camada muscular e na região do tecido conjuntivo frouxo, já na camada muscular da mucosa, que contem musculo liso com fibras dispostas longitudinalmente observa-se além do amarelo e vermelho, a presença da birrefringência verde, comprovando a presença de fibras mais finas entremeadas no tecido, e invaginando as glândulas fundicas na mucosa. (Figuras 54A-B)



Figura 54 (**A-B**). Fotomicrografia do estômago fundico da raia *Potamotrygon amandae*. Em **A** (sem polarização) observa-se a camada mucosa formada por epitélio colunar simples, com presença de glândulas fundicas (a), muscular da mucosa, contedo musculo liso (b), tecido conjuntivo frouxo (c) e camada muscular (d). Em **B** (com luz polarizada). Coloração em Picrosirius.

Na microscopia eletrônica de varredura a porção fundica do estômago apresenta epitélio de revestimento simples cilíndrico baixo, com a presença de criptas gástricas e as camadas submucosa, muscular circular e muscular longitudinal. (Figura 54A) Observa-se também a presença de glândulas fundicas, que são responsáveis pela digestão do alimento na cavidade gástrica. (Figura 55B)



Figura 55 (**A-B**). Eletromicrografia do estômago fundico da raia *Potamotrygon amandae*. Em **A**, observa-se epitélio de revestimento simples cilíndrico baixo (quadrado), criptas gástricas com feixes musculares (seta) e as três camadas: submucosa (Su), muscular circular (Mc) e longitudinal (Ml). Em **B**, nota-se a presença de glândulas fundicas (círculos).

Estômago pilórico

O estômago pilórico possui o formato de funil que se encontra entre o estômago e o intestino anterior. A camada submucosa é composta por tecido conjuntivo frouxo, pode-se observar também que a mesma apresenta vaso sanguíneo, a camada muscular retrata a presença de músculo liso e fibras dispostas longitudinalmente ao tecido, apontando segmento transversal em relação ao corte histológico, sendo mais espesso comparado as outras regiões do estômago. A camada muscular apresenta tecido mais fino com musculatura lisa circundante, envolvendo o plexo muscular mioentérico, a serosa apresenta uma camada simples de tecido conjuntivo frouxo. (Figura 56A)

A camada mucosa possui epitélio colunar simples, a mesma invagina-se formando criptas gástricas mais profundas que se abrem em glândulas gástricas longas. (Figura 56B)



Figura 56 (A-B). Fotomicrografia do estômago pilórico da raia *Potamotrygon amandae*. Em **A**, camada submucosa visualiza-se tecido conjuntivo frouxo (Tf) com presença de vaso sanguíneo (estrela e camada muscular composta por musculo liso com fibras dispostas longitudinalmente (MI), musculo liso circundante (Mc) e plexo muscular mioentérico (triângulo), a camada serosa é formada por camada tecido conjuntivo frouxo (seta vazada). Em **B**, observar epitélio colunar simples com formação de criptas gástricas (círculo preto). Coloração em H.E.

A camada mucosa possui epitélio colunar simples, a mesma invagina-se formando criptas gástricas mais profundas que se abrem em glândulas gástricas longas (quadrados). A camada submucosa com tecido conjuntivo frouxo e vasos sanguíneos A partir da coloração de alcian blue, não foram visulizadas células caliciformes na região do estômago pilórico da raia *Potamotrygon amandae*. (Figura 57)



Figura 57. Fotomicrografia do estômago pilórico da raia *Potamotrygon amandae*. Observar a camada mucosa formada por epitélio colunar simples, visualiza-se também a invaginação formando criptas gástricas mais profundas que se abrem em glândulas gástricas longas (quadrados). A camada submucosa com tecido conjuntivo frouxo e vasos sanguíneos. Coloração em Alcian blue.

Coloração de picrossírius na região do estômago pilórico da raia negra, evidenciando a disposição das fibras colágenas com fibras finas com birrefringência verde, fibras grossas amarelas e vermelhas com predominância na região de tecido conjuntivo frouxo. Nota-se uma maior presença de fibras mais espessas entremeadas entre a camada muscular de musculo liso com fibras dispostas longitudinalmente. Há invaginação de fibras finas juntamente no epitélio colunar simples com formação de criptas gástricas. (Figuras 58A-B)



Figura 58 (**A-B**). Fotomicrografia do estômago pilórico da raia *Potamotrygon amandae*, Em **A** (sem polarização) observa-se a camada mucosa composta por epitélio colunar simples com formação de criptas gástricas (a), tecido conjuntivo frouxo (b) e camada muscular (c). Em **B** (com luz polarizada). Coloração em Picrosirius.

No estômago pilórico, através de microscopia eletrônica de varredura podemos observar que a mucosa possui vilosidades por conta do comprimento das criptas gástricas. (Figura 59A) O epitélio de revestimento é do tipo gástrico cilíndrico, simples. (Figura 59B)



Figura 59 (**A-B**). Eletromicrografia do estômago pilórico da raia *Potamotrygon amandae*. Em **A**, observar criptas gástricas compridas, assemelhando a vilosidade. Em **B**, nota-se epitélio de revestimento gástrico e cilíndrico (quadrado).

Intestino anterior

O intestino anterior representa a região anterior a válvula espiral, sua mucosa apresenta epitélio colunar simples, onde as vilosidades começam a aparecer, com a presença de uma elevada quantidade de células caliciformes e borda em escova. (Figura 60A) A região submucosa se apresenta bem espessa com presença de tecido conjuntivo frouxo e vasos. (Figura 60B) A camada muscular apresenta musculatura lisa longitudinal em relação ao órgão e

musculatura lisa circular. (Figura 60C) A camada serosa é evidenciada por camada de tecido conjuntivo frouxo. (Figura 60D)



Figura 60 (**A-B**). Fotomicrografia do intestino anterior da raia *Potamotrygon amandae*. Em **A**, observar mucosa com epitélio colunar simples (seta preta), com vilosidades (Vi), células caliciformes (asteriscos) com borda em escova. Em **B**, região submucosa com tecido conjuntivo frouxo (chave) e vasos (Vs). Em **C**, camada muscular com musculatura lisa longitudinal (seta com duas pontas) e musculatura lisa circular (retângulo). Em **D**, camada serosa com tecido conjuntivo frouxo (Tf). Coloração em H.E.

A camada mucosa do intestino anterior da raia nega é formado por epitélio colunar simples, com o aparecimento de vilosidades e presença de células caliciformes, podendo ser visualizadas através da coloração de alcian blue. A camada submucosa apresenta tecido conjuntivo frouxo e vasos sanguíneos. (Figura 61)



Figura 61. Fotomicrografia do intestino anterior da raia *Potamotrygon amandae*. Observar camada mucosa com epitélio colunar simples (chave), composto por vilosidades (quadrado) e células caliciformes (setas pretas), região submucosa com presença de tecido conjuntivo frouxo (Tf) e vasos (estrela). Coloração em Alcian blue.

Através da coloração de picrosirius é evidenciada no intestino anterior uma birrefringência mais homogênea contendo a birrefringência verde (fibras finas), vermelho e amarelo (fibras grossas) nas áreas da mucosa epitélio colunar simples, camada muscular com musculatura lisa longitudinal, submucosa composta por tecido conjuntivo frouxo, já na região musculatura lisa circular, nota-se uma maior concentração de fibras grossas. (Figuras 62A-B)



Figura 62 (A-B). Fotomicrografia do intestino anterior da raia *Potamotrygon amandae*. Em **A** (sem polarização) observar camada muscular com musculatura lisa circular (a), camada muscular com musculatura lisa longitudinal (b), submucosa composta por tecido conjuntivo frouxo (c) e camada mucosa formada por epitélio colunar simples (d). Em **B** (com luz polarizada). Coloração de Picrosirius.

A microscopia eletrônica de varredura evidencia no intestino anterior com a presença de vilosidades na camada mucosa. (Figura 63A) Seu epitélio apresenta células cilíndricas com bordas estriadas e células caliciformes tendo como função a produção de muco. (Figura 63B)



Figura 63 (A-B). Eletromicrografia do intestino anterior da raia *Potamotrygon amandae*. Em A, observar a mucosa com vilosidades (setas vazadas). Em B, nota-se epitélio com células cilíndricas e caliciformes (círculo).

Válvula espiral

Na válvula espiral a camada mucosa revela presença de vilosidades em seu epitélio colunar simples. É observada uma quantidade significativa de células caliciformes que produzem muco e auxiliam na passagem do bolo alimentar, e células colunares absortivas que possuem a função de extrair água e eletrólitos, desidratando o conteúdo antes da eliminação. A

submucosa se mostra altamente vascularizada, em razão da absorção, e é seguida de tecido conjuntivo frouxo com a presença de feixes irregulares de musculo liso. (Figura 64)



Figura 64. Fotomicrografia da região da válvula espiral da raia *Potamotrygon amandae*. Observa-se células caliciformes (asteriscos) e células colunares absortivas (setas amarelas), a submucosa vascularizada (quadrado), com tecido conjuntivo frouxo e músculo liso (triângulos), mucosa com epitélio colunar simples (seta preta) e vilosidades. Coloração em H.E.

A camada mucosa da válvula espiral da raia *Potamotrygon amandae* é formada por epitélio colunar simples e apresenta várias vilosidades, apresentando também células caliciformes por toda a sua extensão, sendo evidenciada pela coloração de alcian blue. A submucosa é formada por tecido conjuntivo frouxo, com a presença de feixes irregulares de musculo liso por toda o tecido. (Figura 65)



Figura 65. Fotomicrografia da região da válvula espiral da raia *Potamotrygon amandae*. Observa-se a mucosa apresentando epitélio colunar simples (chave), com presença de células caliciformes (setas pretas). Na camada submucosa visualiza-se tecido conjuntivo frouxo (Tf) com feixes irregulares de musculo liso (triângulo). Coloração em Alcian blue.

Na válvula espiral a coloração de picrossirius segue evidenciando a presença de fibras colágenas mais espessas marcadas pela birrefringência vermelha no tecido conjuntivo frouxo, na região da mucosa composta por tecido epitelial colunar simples não foram visualizadas fibras colágenas. (Figuras 66A-B)



Figura 66 (A-B). Fotomicrografia da válvula espiral da raia *Potamotrygon amandae*. coloração de picrossirius. Em **A** (sem polarização) observa-se camada mucosa composta por tecido epitelia colunar simples (a) e tecido conjuntivo frouxo (b). Em **B** (com luz polarizada). Coloração de Picrosirius.

Na análise através da microscopia eletrônica de varredura pode-se afirmar que a região da válvula espiral possui camada de epitélio colunar simples, evidenciado por meio de microscopia de luz (Figura 67A). Sua mucosa apresenta pregas circulares por todo seu tecido (Figura 67B) e presença de glândulas caliciformes. (Figura 67C)



Figura 67 (**A-C**). Eletromicrografia da válvula espiral da raia *Potamotrygon amandae*. Em **A**, observa-se a camada epitelial colunar simples (quadrado). Em **B**, nota-se a mucosa com pregas circulastes. Em **C**, a presença de células caliciformes (seta).

Intestino posterior

A região do intestino posterior possui a camada mucosa contendo epitélio pavimentoso estratificado com células cúbicas, apresentando descamação epitelial com a presença de células caliciformes. (Figura 68A) A camada submucosa é espessa apresentando tecido conjuntivo frouxo. (Figura 68B) A camada muscular dispõe de musculatura lisa com feixes desordenados longitudinalmente ao órgão, circundado por uma camada mais fina de músculo liso. A camada serosa é composta por uma camada única de tecido conjuntivo frouxo. (Figura 68C)



Figura 68 (A-C). Fotomicrografia do intestino posterior da raia *Potamotrygon amandae*.Em A, nota-se a mucosa composta por epitélio pavimentoso estratificado, células cubicas (circulo), e presença de células caliciformes (asterisco). Em B, a submucosa com tecido conjuntivo frouxo (triângulo). Em C, a camada muscular apresenta musculatura lisa com feixes desordenados (Cm), circundada por musculo liso (Ml); a camada serosa composta de tecido conjuntivo frouxo (seta vazada). Coloração em H.E.

A camada mucosa do intestino posterior da raia negra apresenta epitélio pavimentoso estratificado com a presença de células caliciformes e descamação epitelial. A camada submucosa é formada por tecido conjuntivo frouxo. (Figura 69)



Figura 69. Fotomicrografia do intestino posterior da raia *Potamotrygon amandae*. Observar epitélio pavimentoso estratificado (chave), células caliciformes (setas pretas) e descamação epitelial (círculo). Na camada submucosa visualiza-se tecido conjuntivo frouxo (Tf). Coloroação em Alcian blue.

Com a coloração de picrossírius polarizada nota-se a ausência de fibras colágenas na região da mucosa. As fibras de cores amarelas e vermelhas, fibras grossas com predominância na região de tecido conjuntivo frouxo. A coloração evidencia a disposição das fibras colágenas com birrefringência verde, fibras finas, na região da camada muscular lisa com feixes de musculo desordenados. (Figuras 70A-B)



Figura 70 (**A-B**). Fotomicrografia do intestino posterior da raia *Potamotrygon amandae*. Em **A** (sem polarização) observar região mucosa formada por tecido epitelial pavimentoso estratificado (a), tecido conjuntivo frouxo (b) e camada muscular lisa com feixes de musculo desordenados. Em B (com luz polarizada). Coloração em Picrosirius.

Através da microscopia eletrônica de varredura foi evidenciado que o intestino posterior apresenta epitélio colunar, tendo a presença de uma grande quantidade, comparada as outras regiões do sistema digestório de células caliciformes, produtoras de muco (Figura 71A) e abertura de células caliciformes. (Figura 71B)



Figura 71 (**A-B**). Eletromicrografia do intestino posterior da raia *Potamotrygon amandae*. Em **A**, observa-se o epitélio estratificado e células caliciformes (setas). Em **B**, nota-se abertura de células caliciformes (quadrado).

Reto

Na região do reto evidencia-se a camada mucosa que apresenta tecido epitelial estratificado pavimentoso escamoso, na camada submucosa nota-se a presença de tecido conjuntivo frouxo. (Figura 72A) A camada muscular apresenta musculatura lisa circundante interna em relação ao órgão e musculatura lisa longitudinal externa. (Figura 72B) Circundando o órgão a camada serosa possui tecido estratificado cúbico. (Figura 72C)



Figura 72 (A-C). Fotomicrografia do reto da raia *Potamotrygon amandae*. Em A, camada mucosa evidenciando tecido epitelial estratificado pavimentoso escamoso (seta preta), submucosa com tecido conjuntivo frouxo (quadrado). Em B, na camada muscular nota-se musculatura lisa circundante interna (estrela) e musculatura lisa longitudinal externa (triângulo). Em C, camada serosa possui tecido estratificado cúbico (seta vazada). Coloração em H.E.

A camada mucosa é formada por tecido epitelial estratificado pavimentoso escamoso, a camada submucosa nota-se a presença de tecido conjuntivo frouxo. Não foram visualizadas células caliciformes na região do reto. (Figura 73)



Figura 73. Fotomicrografia do reto da raia *Potamotrygon amandae*. Observar a camada mucosa formada por tecido epitelial estratificado pavimentoso escamoso (chave), epitélio descamando (circulo), camada submucosa apresenta tecido conjuntivo frouxo (Tf). Coloração em Alcian blue.

No Reto a coloração de picrosirius pode evidenciar uma birrefringência mais homogênea contendo o verde (fibras finas), amarelo e vermelho (fibras grossas) na região da camada muscular apresentando musculatura lisa circundante interna e musculatura lisa longitudinal externa. Nota-se uma maior concentração de fibras finas na região tecido conjuntivo frouxo, e ausência na região mucosa. (Figuras 74A-B)



Figura 74 (**A-B**). Fotomicrografia do reto da raia *Potamotrygon amandae*. Em **A** (sem polarização) observa-se a camada mucosa formada por tecido epitelial estratificado pavimentoso escamoso (a), tecido conjuntivo frouxo (b), musculatura lisa circundante (c) e musculatura lisa longitudinal (d). Em **B** (com luz polarizada). Coloração de Picrosirius.

Por meio da microscopia eletrônica de varredura nota-se que a região do reto apresenta a camada epitelial descamando, evidenciando a presença de tecido epitelial estratificado pavimentoso escamoso, confirmando o que foi analisado através da microscopia de luz. (Figura 75)



Figura 75: Eletromicrografia do reto da raia *Potamotrygon amandae*. Evidencia-se o tecido epitelial pavimentoso escamoso.

Glândulas anexas que são constituídas pelos pâncreas e fígado

Pâncreas

O pâncreas é uma glândula lobulada coberta com uma fina cápsula conjuntiva, que se estende como delicados septos. (Figura 75A) Ele apresenta ductos intercalares que drenam para ductos intralobulares, que por sua vez, drenam para os ductos interlobulares. O pâncreas endócrino forma as ilhotas de Langerhans I, que possuem tamanho variado e estão espalhados por todo tecido. (Figura 75B)6



Figura 76 (**A-B**). Fotomicrografia do pâncreas da raia *Potamotrygon amandae*. Em **A**, nota-se septos compostos por capsula conjuntiva (Tc). Em **B**, observa-se ductos intercalares (seta vazada), ductos intralobulares (circulo) e ductos interlobulares (setas pretas), de tamanho variado revelam-se as ilhotas de Langerhans I (asterisco). Coloração em H.E.

Através da microscopia eletrônica de varredura foram observados no pâncreas a presença de condutos excretores e artérias. (Figura 76A) Foram identificados numerosos ácinos glandulares serosos. (Figura 76B)



Figura 77 (**A-B**). Eletrmicrografia do pâncreas da raia Potamotrygon amandae. Em **A**, nota-se a presença de artéria no tecido (seta vazada) e conduto excretor (triângulo). Em **B**, observar numerosos ácinos glandulares serosos (círculos).

Fígado

A superfície mais interna do fígado é recoberta pela cápsula de tecido conjuntivo, conhecida como capsula de Glisson, sobre a qual há uma camada de células mesoteliais do peritônio. O fígado não contem muito tecido conjuntivo, a maior parte forma os espaços tríade portal, que contém os principais vasos sanguíneos (Figura 78A). Os hepatócitos são grandes células com formato balônico em razão do estoque de gordura dentro do seu interior, formando os vacúolos translúcidos macrogoticulares intracitoplasmáticos, deslocando os núcleos para a periferia celular. Os núcleos são arredondados com nucléolo evidente, após a sua marginalização causada pelo acúmulo de gordura ele torna-se elíptico, em alguns casos dependendo do corte histológico não é possível a visualização do núcleo celular. As células de Kupffer encontram-se dispersas entre as células hepáticas sendo uma célula fagocitaria grande e volumosa, com núcleo ovóide, essas células fazem parte do sistema de defesa mononuclear fagocitário, participam de remoção de eritrócitos velhos e de outros restos particulados da circulação. (Figuras 78B-C)



Figura 78 (A-C). Fotomicrografia do fígado de raia *Potamotrygon amandae*. Em A, nota-se tecido conjuntivo formando cápsula hepática (estrela), células mesoteliais do peritônio (seta), tríade portal (circulo), cordão hepático (retângulo). Em B, observa-se vacúolos translúcidos macrogoticulares intracitoplasmático (quadrado), núcleo arredondado (seta vazada) e células de Kupffer (colchete). Em C, observa-se vacúolos translúcidos macrogoticulares intracitoplasmático arredondado (seta vazada), núcleo arredondado, ductos interlobulares (triângulo), núcleo arredondado (seta vazada), núcleos elípticos marginalizados (asterisco) e células de Kupffer (colchete). Coloração em H.E.

Por meio da microscopia eletrônica de varredura, foram visualizados no fígado a presença de hepatócitos balônicos dispersos por toda sua superfície e capilares sinusóides. (Figura 79)



Figura 79. Eletromicrografia do fígado da raia *Potamotrygon amandae*. Observa-se hepatócitos (círculos) e capilares sinusóides (seta).

6 DISCUSSÃO

A existência de significativas diferenças observadas nos tratos digestivos dos peixes em sua forma e função justificam a necessidade da realização de estudos em maior número e aprofundamento (CINAR & SENOL, 2006). Uma vez que o conhecimento acerca de sua anatomia, histologia e estudos histoquímicos podem fundamentar a descrição do trato digestivo e a consequente compreensão de sua fisiologia, através da descrição dos hábitos alimentares que poderão orientar o manejo das diferentes espécies de peixes. (VEGAS-VELEZ 1972, RODRIGUES & MENIN 2005, GERMANO et al. 2014).

Dessa forma, buscou-se associar a discussão dos achados com a forma e função das regiões identificadas e descritas, visando contribuir para a construção do referencial teórico e subsidiar novos estudos.

Além da referência acerca da forma e função das estruturas estudas, buscou-se abordar as similaridades e diferenças entre as espécies de peixes., uma vez que Ao longo da evolução, a morfologia do sistema digestório dos peixes se desenvolveu para assegurar que a ingestão, digestão e assimilação de nutrientes fossem adequadas ao hábito alimentar da espécie (Rust, 2002). No entanto, embora estrutura e função sejam geneticamente programadas, o trato digestório dos peixes exibe certa flexibilidade fenotípica em resposta a alterações na dieta (BUDDINGTON E HILTON, 1987)

A cavidade oral compreende a boca e as estruturas internas que a compõem e consiste no órgão por onde o alimento entra ao sistema digestório, se estendendo desde a região da mandíbula até o esfíncter esofágico, já a faringe corresponde a região posterior da boca, próxima do esôfago e brânquias (RUST, 2002). A língua nos peixes, geralmente não é bem desenvolvida (KAPOOR, 1975; BUDDINGTON E KUZ'MINA, 2000), possuindo alguma movimentação em espécies carnívoras, uma vez que colabora na apreensão da presa, mais especificamente piscívoros (KAPOOR 1975).

O epitélio das regiões do lábio, palato e língua da raia *Potamotrygon amandae* foi descrito como estratificado pavimentoso não queratinizado (KASOZI, 2017), diferindo do relatado em *Alestes baremoze* em que as estruturas citadas acima são revestidas por epitélio escamoso estratificado.

No lábio de *Alestes baremoze* não foram encontradas papilas gustativas, como citou Kasozi (2017), semelhante ao observado na raia negra.

No que se refere aos dentículos, em seu trabalho, Gamal (2012) revelou que os dentes molariformes com superfícies arredondadas e rombas na região palatina foram relatados em peixe *R. rita* (YASHPAL et al., 2006). Os mesmos foram encontrados no início da cavidade orofaringeana da raia estudada.

Estas estruturas podem estar associadas a triturar e moer as presas de corpo duro (por exemplo, moluscos, crustáceos). Assim como no peixe *Anarrhichichthys ocellatus* que se alimenta de animais com corpo rígido, cujos dentes molariformes são usados para esmagar as carapaças, segundo relata Bond (1979).

Vale destacar que (WHITEHEAD, 1977) refere que os dentes moliformes também podem ser usados para compactar alimentos em carapaças lisas e escorregadias, prevenindo sua fuga e garantindo o progresso em direção ao trato digestório.

Foram encontradas em cangati (*Parauchenipterus galeatus*) (PERETTI E ANDRIAN, 2008) e pintado (RODRIGUES E MENIN, 2006) placas ou áreas dentígeras, similares as da raia negra, repletas de dentículos responsáveis por raspar o corpo da presa e deixar o seu conteúdo mais exposto à ação enzimática.

Nikolsky, 1963, refere que a boca dos peixes pode ser dorsal, terminal, semiventral ou ventral, estando está determinada pela condição diversificada dos níveis tróficos (AL-HUSSAINI, 1947, RUST, 2002) e ligada ao acesso ao alimento, assim como na maioria dos órgãos que compõem o sistema digestório. Na análise da cavidade orofaríngea da raia negra, pode-se constatar que a boca está localizada na região dorsal, o que se justifica por esta ser descrita como peixe sedentário, sendo esta distensão da cavidade oro-branquial auxiliar na respiração e na captura de presas por sucção (ZAVALA-CAMIN, 1996).

No que se refere ainda aos processos de busca, seleção, apreensão, orientação e preparação pré-digestiva do alimento, os órgãos sensoriais associados à boca, faringe, dentes, arcos branquiais, assim como a língua e o esôfago estão relacionados à quebra do alimento e a absorção de líquidos, o que contribui para a função das enzimas digestivas. (BUDDINGTON E KUZ'MINA, 2000; KAPOOR, 1975; RUST, 2002).

No que se refere ao muco encontrado em toda a extensão da cavidade orofaríngea da raia *Potamotygon amandae*, Ciena (2015) afirma que o muco é produzido por células caliciformes, também chamadas de células produtoras de muco e tem como função a lubrificação do epitélio e dos alimentos ingeridos, objetivando possibilitar que esses alimentos deslizem de forma suave, protegendo o epitélio orofaríngeo de abrasão e lesões mecânicas (ATKINSON E COLLIN, 2012). Tais resultados foram obtidos também por (PINKY ET AL., 2002; YASHPAL ET AL., 2006; ABBATE ET AL., 2006; TRIPATHI E MITTAL, 2010; EL-BAKARY, 2011), que sugeriram ser esta uma adaptação para os fins de lubrificação e proteção do epitélio.

Segundo Chatchavalvanich (2006) descreve em raia da família Dasytidae, o trato alimentar consiste de boca, faringe, esôfago, estômago (com uma parte pilórica cárdia e ascendente descendente), intestino anterior (com uma porção inicial e intestino em espiral) e intestino posterior, terminando em uma cloaca, provando com os achados do nosso estudo, onde descrevemos o esôfago, estômago, intestino anterior, válvula espiral, intestino posterior e glândulas anexas que são constituídas pelos pâncreas e fígado.

O trato digestório apresenta alterações morfológicas e fisiológicas em resposta à dieta, microbiota intestinal e pelos processos de digestão e absorção de nutrientes como descrito por Buddington e colaboradores (1997), Kapoor e colaboradores (1975), Rust (2002), Wilson e Castro (2011), e como visto na raia negra.

O trato digestório dos peixes consiste em um tubo composto por lúmen e uma parede formada por basicamente quatro camadas distintas: mucosa, submucosa, muscular e serosa (GENTEN et al., 2009). A mucosa é composta por um revestimento epitelial e lâmina própria (tecido conjuntivo frouxo, vascularizado, contendo nervos e leucócitos) (WILSON & CASTRO, 2011). O epitélio do trato digestório dos peixes é altamente revestido por substâncias mucosas variadas, de grande importância fisiológica nos processos digestivos e na proteção contra injúrias mecânicas e químicas (KAPOOR et al., 1975). A submucosa consiste em uma camada adicional de tecido conjuntivo e embora seja relatada em peixes, tecnicamente, porém, estaria presente apenas em peixes com muscular da mucosa, estrutura que é raramente encontrada em peixes (WILSON & CASTRO, 2011). A túnica muscular é formada por camadas longitudinais e circulares de músculo estriado ou liso, enquanto a serosa é uma camada de tecido conjuntivo frouxo, rica em vasos sanguíneos e revestida por células mesoteliais (WILSON & CASTRO, 2011). Igualmente encontrado nos nossos estudos.

O esôfago dos peixes conecta a cavidade orofaringeana ao estômago, auxiliando na passagem do bolo alimentar, absorção de água, vitaminas e sais minerais. Consiste geralmente em um tubo curto, reto e espesso por onde o alimento transita (WILSON E CASTRO, 2011). O epitélio de revestimento encontrado no esôfago da raia negra é do tipo pavimentoso estratificado não queratinizado. Nesse epitélio podem ser identificados dois tipos celulares diferenciados, sendo: as epiteliais, as mucosas (caliciformes), como também foram encontradas em *Pseudolatystoma coruscans*, descrito por Cal (2006). Esta região é altamente elástica em peixes predadores, sendo menos distensível nas espécies detritívoras e herbívoras (BALDISSEROTTO, 2009; RUST, 2002). Esôfagos mais musculosos são atribuídos às espécies de água doce como adaptação osmorregulatória para eliminação da água do alimento

(SMITH, 1980), como no caso da espécie foco do nosso estudo, onde apresenta esôfago curto, reto e espesso com musculatura bem evidente. Apresenta mucosa bastante desenvolvida e provida de numerosas pregas longitudinais que auxiliam a distensão do órgão e passagem do alimento para desobstrução do esôfago. Outros autores descrevem característica semelhante em teleósteos, como Rodrigues e Menin (2008) em dourado, Burnstock, (1958) em truta marrom, Sis e colaboradores (1979) em bagre do canal e Diaz e colaboradores (2006) em peixe-rei de água doce.

Segundo (BALDISSEROTTO, 2009), por possuir anatomia bastante variável e em função de apresentar diferentes formatos, mesmo em espécies com hábitos alimentares semelhantes, o estômago dos peixes pode ser classificado em três tipos: retilíneo (formato de saco e com lúmen grande), sifoide (semelhante a um sifão, em forma de U ou J, com lúmen amplo) e cecal (similar a um saco, em forma de Y e característico de espécies que ingerem grandes itens alimentares de uma só vez) (OLSSON, 2011; SMITH, 1980). Entre esses formatos, Gonçalves (2012) destaca que o estômago sifoide é o mais comum entre as espécies de peixe (traíra *Hoplias malabaricus*), como visto na raia negra que apresenta seu estômago em formato de sifão e J.

O estômago dos peixes armazena temporariamente a dieta e desempenha funções mecânicas e químicas que auxiliam na trituração do alimento e no início da digestão (BALDISSEROTTO, 2009; OLSSON, 2011).

Diversos autores citados por Franco (1994) levam em conta a localização da região do estômago, a presença, orientação e espessura de pregas na mucosa ou distribuição de glândulas gástricas, para dividir o estômago em três regiões: cárdica, fúndica e pilórica, divisão encontrada também por Mori (2016) em *Colossoma macropomum*. A cárdica está situada logo após o esôfago, é longa e tem formato tubular. A região fúndica é sacular e curta, de onde parte a região pilórica, que é tubular e curta. O estômago do tipo sacular permite a ingestão de presas inteiras, mesmo as de maior porte, ocorrendo distensão das paredes estomacais, em especial nas regiões cárdica e fúndica (MORAES et al., 1997). Silva (2005) cita que as criptas ou fossetas gástricas estão dispostas regularmente por toda a mucosa do estômago, diferenciando-se em número, tamanho e profundidade, dependendo da região considerada, comprovando os achados do estudo.

Além das espécies citadas a cima, o estômago de vertebrados também é geralmente dividido em três regiões, diferenciáveis histologicamente: região cárdia, fundica e pilórica, embasados em trabalhos descritos por Albrecht e colaboradores (2001), Genten e colaboradores (2009). A mucosa apresenta epitélio colunar simples, com formação das criptas gástricas. No epitélio há predominância das glândulas cárdias que têm como unidade funcional as células parietais muco secretoras que apresentam formato piramidal com núcleo na porção central, assim como descrito por Bucke (1971), Carassón e colaboradores (2006) e Genten e colaboradores (2009) em peixes carnívoros. Na Submucosa, a lâmina própria apresenta-se escassa comparada com o restante do trato digestório, sendo composta por tecido conjuntivo frouxo não modelado para dar forma, mas não dar rigidez, o qual sustenta os vasos sanguíneos e vasos linfáticos. A camada muscular em peixes, são observadas duas camadas: a muscular circular formando camadas incompletas e uma camada longitudinal, também descrita por Carassón e colaboradores (2006). Rust (2002) descreve que a camada muscular pode ser estriada na região cárdia próxima ao esôfago, sendo voluntariamente controlada pelo peixe para segurar a presa e regurgitar ou rejeitar o alimento, porém não foi visto em nosso estudo.

A porção fundica do estômago apresenta mucosa com epitélio colunar simples com a presença de glândulas fundicas que são compostas pelas células parietais e as células principais, criptas gástricas e camada muscular. A camada muscular é dividida em duas: uma circular, formando grupos de feixes incompletos e uma camada longitudinal. Segundo Wilson e Castro (2011), em peixes neotropicais, a camada muscular circular na região pilórica tende a ser mais desenvolvida, utilizada para triturar o alimento em partículas menores, disponibilizando maior área superficial para a atividade de enzimas. O estômago é separado do intestino pelo esfíncter pilórico ou piloro, que evita o refluxo do alimento (OLSSON, 2011) e libera controladamente a digesta do estômago para o intestino (RUST, 2002), onde podemos ver a porção final do estômago.

A função primária do intestino é completar o processo de digestão iniciado no estômago e absorver nutrientes, água e íons (BALDISSEROTTO, 2009; SUNDELL e RØNNESTAD, 2011). mas executam a peristalse (transporte) do alimento sendo digerido enquanto adicionam secreções que atuam na digestão da comida, além da absorção de nutrientes. De acordo com Grau et al. (1992) e Morais (2016), a espessura da musculatura pode ser correlacionada com o armazenamento temporário e expulsão de material fecal desta área. No caso da raia estudada, por ser um animal carnívoro, pode-se visualizar espiras em seu intestino, onde supomos que haja melhor absorção de água e nutrientes do alimento que está sendo digerido.

No que se refere à absorção, Gonçalves (2012) salientou que a área superficial absortiva do intestino pode ser expandida não somente com o aumento do comprimento intestinal, como também pela presença de estruturas acessórias como os cecos pilóricos e as válvulas espirais (REIFEL E TRAVILL, 1979; RUST, 2002). Entretanto, a arquitetura da mucosa (pregas e microvilosidades) constitui o mecanismo mais significativo para o aumento da área superficial

de absorção (AL-HUSSAINI, 1949; BUDDINGTON et al., 1997). Corroborando com os achados do estudo, que demonstram que a raia apresenta intestino íleo retal com presença de espiras. O intestino dos peixes é comumente dividido em duas porções: uma proximal, muitas vezes subdividida em mais de um segmento, e outra distal, também denominada de reto. Essas duas regiões podem ser distinguidas pela presença da válvula íleo-retal em algumas espécies e/ou pela diferença em anatomia e coloração (REIFEL E TRAVILL, 1979; RODRIGUES et al., 2009), sendo que no caso da *Potamotrygon amandae* a presença da válvula espiralada íleo-retal, aumenta a superfície de contato das enzimas com o alimento que está sendo digerido, bem como a superfície de absorção dos produtos da digestão.

Histologicamente, observa-se um aumento da túnica muscular e do número de células caliciformes do intestino proximal para o distal e uma maior complexidade das pregas da mucosa no sentido oposto, assim como descrito em outros trabalhos como Groman (1982), Kapoor e colaboradores (1975), Rodrigues e colaboradores (2009) em peixe tropical de água doce. A maior concentração de células mucosas e o espessamento da camada muscular no intestino distal estão relacionados com a lubrificação e condução do bolo fecal, respectivamente. O maior desenvolvimento da mucosa na região proximal do intestino indica predomínio da absorção de nutrientes nesta porção.

A coloração e o tamanho do fígado podem variar devido ao estado nutricional (ELLIS e ROBERTS, 1989) de amarelada, devido ao acúmulo de lipídios no interior das células hepáticas, a marrom avermelhada, devido à densa vascularização, em nosso caso, o órgão apresenta coloração castanho, com acumulo de gordura e grande vascularização. Em algumas espécies o acumulo de gordura dentro dos hepatócitos está relacionado a um distúrbio patológico, como a esteatose hepática, porém como já descrito em outros trabalhos, como Melo e colaboradores (2019), o acumulo de gordura nos elasmobrânquios além de significar que o animal está em um estado saudável, é fundamental para flutuabilidade, uma vez que não apresentam bexiga natatória, manutenção da vitelogênese no caso das fêmeas e reserva energética. Histologicamente, os hepatócitos apresentam formato balônico com vacúolos translúcidos intracitoplasmáticos macrogoticulares que marginalizam o núcleo celular tornando-o elíptico e dependendo do corte histológico, de difícil visualização.

O pâncreas é uma glândula lobulada, que atua como glândula exócrina e endócrina. O pâncreas endócrino forma as ilhotas de Langerhans I, que produzem os hormônios insulina e glucagon e o pâncreas exócrino que produz o suco pancreático secretado no duodeno por meio de ductos. Ele está presente em todos os vertebrados e pode ser definido como um órgão compacto no caso dos peixes cartilaginosos, assim como descrito por Babkin (1929).

7 CONCLUSÃO

Com base no trabalho executado a partir da descrição macro e microscópica do trato gastrointestinal da raia *Potamotrygon amandae*, apontaram que a mesma apresenta aspectos próprios do trato digestivo de elasmobrânquios, contendo as quatro camadas presentes no sistema digestório, mucosa, submucosa, muscular e serosa, porém a raia negra apresenta algumas generalidades, quando comparada com outros animais, como no caso do estômago ser dividido em três porções, porção cárdia, fudica e pilórica, semelhante aos vertebrados e algumas espécies de peixes. Possui epitélio com presença de grande quantidade de células caliciformes, para que haja melhor deslocamento e proteção do trato no trânsito do bolo alimentar até o destino final da digestão, como no caso de outros peixes.

Podemos concluir no presente trabalho, as diferenças na abundância e distribuição de células de muco entre as regiões do trato gastrointestinal da raia *Potamotrygon amandae*. As células secretoras de muco, ou células caliciformes, são encontradas ao longo do trato gastrointestinal da espécie (com exceção da região do estômago). Essas células são facilmente reconhecidas em microscopia de luz por apresentarem um formato de "cálice". O muco secretado é usado para lubrificar o epitélio e os alimentos ingeridos, a fim de para auxiliar na passagem suave dos alimentos e assim proteger o epitélio de possíveis lesões mecânicas.

Verifica-se a importância do estudo da morfologia do trato gastrointestinal dos elasmobrânquios, por estes possuírem grande variedade e apresentarem diversidade em seus comportamentos alimentares e em suas condições de vida, tornando-se evidente a necessidade de descrição do sistema digestório da família Potamotrygonidae, por possibilitar o conhecimento e a consequente compressão acerca do papel das raias nos ecossistemas de água doce, por desempenhar um papel relevante.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBATE, F., GERMANA, G.P., DE CARLOS, F., MONTALPANO, G., LAURA, R., LEVANTI, M.B., GERMANA, A. The oral cavity of the adult Zebrafish (Danio rerio). Anat. Histol. Embryol. 35, 299–304, 2006.

ALBRECHT M.P.; FERREIRA M.F.N.; CARAMASCHI E.P. Anatomical features and histology of the digestive tract of two related neotropical omnivorous fishes (Characiformes; Anastomidae). **J Fish Biol** 58: 419-430, 2001.

AL-HUSSAINI, A. H. The anatomy and histology of the alimentary tract of the plankton feeder Atherina forskali Rupp. **Journal of Morphology** 80:251-286, 1947.

AL-HUSSAINI, A.H. On the functional morphology of the alimentary tract of some fish in relation to differences in their feeding habits: anatomy and histology. Quarterly **Journal of Microscopical** Science 10: 109-139, 1949.

ARAÚJO, M.L.G.; CHARVET-ALMEIDA, P.; ALMEIDA, M.P.; PEREIRA, H. **Freshwater stingrays (Potamotrygonidae):** status, conservation and management challenges. Information document AC 20 info 08:1-6, 2004. <u>http://www.cites.org/common/cttee/animals/20/e20-inf-08.pdf</u>.

ATKINSON, C. J. L., AND S. P. COLLIN. Structure and topographic distribution of oral denticles in elasmobranch fishes. **Biol. Bull**. 222, 26–34, 2012.

BABKIN, B. P. Studies on the pancreatic secretion in skates. **The Biological Bulletin.** Chicago.v.5, p. 272-291.1929.

BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura.** Santa Maria: Ed. UFSM. 2009. 350.

BOMBARDELLI, R. A.; MEURER, F.; SYPERRECK, M. A. Metabolismo proteico em peixes. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR.** Umuarama, 7, 1, 69-79, 2003.

BOND, C.E., 1979. Biology of Fishes. W.B. Saunders Company, Philadelphia, London.

BUCKE, D. The anatomy and histology of the alimentary tract of the carnivorous fish the pike Esox lucius L. **Journal of FIsh Biology**. United Kingdom. v. 3, n. 42. p.1-43.1971.

BUDDINGTON R.K.; J.W. CHEN, AND J.M. DIAMOND. Genetic and phenotypic adaptation of the intestinal nutrient transport to it in fish. **The Journal of Physiology** 393: 261-281, 1987.

BUDDINGTON, R. K.; KROGDHAL, Å.; BAKKEMcKELLEP, A. M. The intestines of carnivorous fish: structure and functions and the relations with diet. **Acta Physiol.** Scand.67-80, 1997.

BUDDINGTON, R.K., AND V. KUZ'MINN. Digestive System.In G. Ostrander, G.R. Bullock, and T. Bunton editors **The Laboratory Fish: Handbook of Experimental Animals.** Academic Press, Baltimore, USA.173-179, 2000.

BUDDINGTON, R.K.; Å. KROGDAHL, AND A.M. BAKKE-MCKELLEP. The intestines of carnivorous fish: structure and functions and the relations with diet. Acta **Physiologica Scandinavica** 161: 67-80, 1997.

BURNSTOCK, G. The effect of drugs on spontaneous motility and on response to stimulation of the extrinsic nerves of the gut of a teleostean fish. **British Journal of Pharmacology**. Londres v.13, p. 216-226.1958.

CAL, J. A. **Histologia do trato digestório do surubim-pintado (Pseudoplatystoma coruscans – Agassiz, 1829).** 87p. Dissertação. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia.Universidade de São Paulo, 2006.

CAMHI, M.; FOWLER, S.; MUSICK, J. BRAUTIGAM, A.; FORDHAM, S. Sharks and their relatives. Ecology and Conservation. IUCN/SSC **Shark Specialist Group.** IUCN, Gland, Switzerlandand Cambridge. 39p, 1998.

CARRASSÓN, M., GRAU, A., DOPAZO, L.R., CRESPO, S. A histological, histochemical and ultrastructural study of the digestive tract of Dentex dentex (Pisces, Sparidae).**Histology & Histopathology**. Múrcia. v. 21, 579–593.2006.

CARVALHO, M. R.; LOVEJOY, N. R.; ROSA, R. S. Family potamotrygonidae. In: REIS, R. E.; FERARIS JR., C. J.; KULLANDER, S. O. (Ed.). Checklist of the fresh waterfishes of South and Central America (CLOFFSCA). 1st. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2003, 22-29.

CHARVET-ALMEIDA, P. História natural e conservação das raias de água doce (Chondrichthyes: Potamotrygonidae) no médio rio Xingu, área de influência do projeto hidrelétrico de Belo Monte (Pará, Brasil). 376.Tese de doutorado. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2006.

CHARVET-ALMEIDA, P. **Ocorrência**, biologia e uso das raias de água doce na baía de Marajó (Pará, Brasil), com ênfase na biologia de *Plesiotrygoniwamae*(Chondrichthyes: Potamotrygonidae). 213. Dissertação de mestrado. Museu Paraense Emílio Goeldi, Universidade Federal do Pará. Belém do Pará, 2001.

CHARVET-ALMEIDA, P.; ARAÚJO, M.L.G.; ROSA, R.S.; RINCÓN, G. Neotropical freshwater stingrays: diversity and conservation status. **Shark News.** 14: 1-2, 2002.

CHATCHAVALVANICH, K.; MARCOS, R.; POONPIROM, J.; THONGPAN, J.; ROCHA, E. Histology of the digestive tract of the freshwater stingray *Himantura signifier* Compagno and Roberts, 1982 (Elasmobranchii, Dasyatidae). In **Anat Embryol**,211: 507–518 DOI 10.1007/s00429-006-0103-3.2006. CIENA, A. P.; RANGEL, B. de S; BRUNO, C. E. M.; MIGLINO, M. A.; AMORIM, A. F. de. Morphological Aspects of Oral Denticles in the Sharpnose Shark Rhizoprionodon lalandii (Muller and Henle, 1839) € (Elasmobranchii, Carcharhinidae). Anatomia, Histologia, Embryologia. Journal of Veterinary Medicine. 2015. doi: 10.1111/ahe.12178

CINAR K, SENOL N. Histological and histochemical characterization of the mucosa of the digestive tract in Flower Fish (Pseudophoxýnus antalyae). Anatomia, Histologia, Embryologia 35(3): 147-151. 2006. doi: 10.1111/j.1439-0264.2005.00629.x

COLLINS, A.B.; HEUPEL, M.R.; HUETER, R.E. & MOTTA, P.J. Hard prey specialistsoropportunistic generalists? Anexamination of the diet of the cownoseray, Rhinopterabonasus. Marine and Freshwater Research. New Zeland, 58, 135-144, 2007.

COMPAGNO, L.J.V. Alternative life-history styles of cartilaginous fishes in time and space. **Environmental Biology of Fishes.** Corvallis, 28:33-75, 1990.

COMPAGNO, L.J.V. Checklist of living Chondrichthyes. In: HAMLETT, W.C. (ed.): **Reproductive biology and phylogeny of Chondrichthyes**: sharks, batoids and chimaeras. Science Publishers, Enfield, 503-548, 2005.

COMPAGNO, L.J.V. Systematics and body form, In: HAMLETT, W.C. (ed.), **Sharks**, **skates andrays, the biology of elasmobranch fishes.** The Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1-42,1999.

COMPAGNO, L.J.V.; COOK, S.F. The exploitation and conservation of freshwater elasmobranchs: status of taxa and prospects for the future. **J. Aquaricult. Aquatic Sci.**, Parkville, 7, 62-90, 1995.

DIAZ, A.O. et al. Morphological and Histochemical characterisation of liver from stripped weakfish, *Cynoscion guatucupa* (Cuvier, 1830). **Biociências**, 1999.

DIAZ, A.O.; ESCALANTE, A.H.; GARCÍA, A.M.; GOLDEMBERG, A.L. Histology and histochemistry of the pharyngeal cavity and oesophagus of the silverside Odontesthes bonariensis (Cuvier and Valenciennes). **Anatomia, Histologia, Embryologia.** Munique. v.35, p.42-46.2006.

DINGERKUS, G. Relationships of potamotrygon insting rays (Chondrichthyes: Batiformes: Myliobatidae). J. Aquaricult. AquaticSci., Parkville, v. 7, 32-37, 1995.

DUNCAN, W. P., INOMATA.S., FERNANDES. M.N. Comércio de raias de água doce na região do médio Rio Negro, estado do Amazonas, Brasil. **Revista Brasileira de Engenharia de Pesca.** São Luís do Maranhão, 5 (2):13-22, 2010.

EL-BAKARY, N.E.R. Comparative scanning electron microscope study of the buccal cavity in juvenile and adult sea bass (Dicentrachus labrax). World Appl. Sci. J. 12 (8), 138–1133, 2011.

ELLIS, A.E.; ROBERTS, R.J.; TYLLER, P. The anatomy and physiology of teleosts. In: ROBERTS, R.J. **Fish patology.**Londres. p.13-55.1989.

FRANCO, C.R.C. Estudo ultaestrutural do estômago de dois Teleósteos: Hypostomus commersonnii (Reis et.al., 1990) e Rhamdia branneri (Hasemann, 1911). Curitiba. (Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná). 65p, 1994.

GAMAL, A.M.; ELSHEIKH, E.H.; NARS, E.S. Morphological adaptation of the buccal cavity in relation to feeding habits of the omnivorous fish Clarias gariepinus: a scanning electron microscopic study . **The Journal of Basic & Applied Zoology.** 65, 191-198, 2012.

GARRONE NETO, D.; HADDAD JR., V. Acidentes por raias. In: CARDOSO, J. L. C.; FRANÇA, F. O. S.; WEN, F. H.; MÁLAQUE, C. M.; HADDAD JR., V. (Ed.). Animais peçonhentos no Brasil: biologia, clínica e terapêutica dos acidentes. 2ed. São Paulo: Sarvier, 2009, 295-313.

GARRONE-NETO, D., V. HADDAD JR., VILELA, M. J. e UIEDA, V. S. Registro de ocorrência de duas espécies de potamotrigonídeos na região do Alto Rio Paraná e algumas considerações sobre sua biologia. **Biota Neotropica**, Campinas, 7 (1), 1-4, 2007.

GARRONE-NETO, D., V. HADDAD JR.; VILELA, M. J.; GADIG, O.B.F.; UIEDA, V. S. Raias do alto paraná, Brasil: histórico de ocorrência, distribuição atual e consequências do processo de colonização da bacia. In LASSO, C.A.; ROSA, R.; MORALES-BETANCOURT, M.A.; GARRONI-NETO, D.; CARVALHO, M.R. **XV. Rayas de Água Dulce (Potamotrygonidae) de Suramérica, parte II, Colombia, Brasil, Perú, Bolivia, Paraguay e Argentina**, 2, Bogotá, Colombia: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, p 246-267, 2016.

GARRONE-NETO, D.; CARVALHO, M.R. **XV. Rayas de Água Dulce** (**Potamotrygonidae**) **de Suramérica, parte II, Colombia, Brasil, Perú, Bolivia, Paraguay e Argentina**, 2, Bogotá, Colombia: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, 2016.

GARTNER, LESLIE P.; HIATT, JAMES L. **Tratado de histologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.

GENTEN, F.; TERWINGHR, E.; DANGUY, A. **ATLAS OF FISH HISTOLOGY.** SCIENCE PUBLISHERS. ENFIELD. 2009. 219.

GERMANO RM, STABILLE SR, MARI RB, PEREIRA JNB, FAGLIONI JRS, MIRANDA-NETO MH. Morphological characteristics of the Pterodoras granulosus (Valenciennes, 1821) digestive tube (Osteichthyes, Doradidae). Acta Zoologica 95(2): 166-175, 2014. doi: 10.1111/azo.12016

GONÇALVES, L.U., RODRIGUES, A.P.P., MORO. G.V., CARGNIN-FERREIRA, E., CYRINO, J.E.P. Morfologia e fisiologia do sistema digestório de peixes. In: FRACALOSSI, D.M., CYRINO, J.E.P. (ed). **Nutriaqua**: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e biologia aquática, 2012. 9-36 GRAU A, CRESPO S, SARASQUETE MC, GONZÁLEZ DE CANALES ML.The digestive tract of the amberjack Seriola dumerili, Risso: a light and scanning electron microscope study. **Journal of Fish Biology** 41(2): 1992, 287-303.

GROMAN, O.B. **Histology of the Striped bass.** California: American Fisheries Society. 1982.p116.

HENNINGSEN, A.D. et al. Protrusion of the Valvular Intestine in Captive Smalltooth Sawfish and Comments on Pristid Gastrointestinal Anatomy and Intestinal Valve Types. Journal of Aquatic Animal Health.Maryland, 289-295, setembro, 2005.

KAPOOR, R.; SMITH. H.; VERIGHINIA, A. The alimentary canal and digestion in teleosts. Advances in Marine Biology. Amsterdã: Elsevier. V.13, p. 109-239.1975.

KASOZI, N.; DEGU, G.I.; MUKALAZI, J.; KATO, C.D.; KISEKKA, M. Histomorphological Description of the Digestive System of Pebbly Fish, Alestes baremoze (Joannis, 1835), **ScientificWorldJournal**. 2017. doi: <u>10.1155/2017/8591249</u>

LASSO, C. A.; RIAL A. B.; LASSO-ALCALÁ. O. Notes on the biology of the fresh water stingrays Paratrygonaiereba (Müller & Henle, 1841) and Potamotrygonorbignyi (Castelnau, 1855) (Chondrichthyes: Potamotrygonidae:) In: **The Venezuelan Llanos. Aqua Journal of Ichthyology and Aquatic Biology.** Italy. 2 (3): 39-52, 1996.

LASSO, C.A; MORALES-BETANCOURT, M.A. Y GARRONE-NETO.D. conclusiones y recomendaciones. In LASSO, C.A.; ROSA, R.; MORALES-BETANCOURT, M.A.; GARRONI-NETO, D.; CARVALHO, M.R. **XV. Rayas de Água Dulce** (**Potamotrygonidae**) **de Suramérica, parte II, Colombia, Brasil, Perú, Bolivia, Paraguay e Argentina**, 2, Bogotá, Colombia: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, 2016.

LEMES, A.S.; BRACCINI, M.C. Descrição e análise histológica das glândulas anexas do trato digestório de Hoplias malabaricus (Bloch, 1794), (Teleostei, erythrinidae). **Biodiversidade Pampeana.** PUCRS, Uruguaiana, 2004.
LEOTTA, P.E.M.; CALIRI, M.N.; CÁCERES, A.R. Caracterización histológica e histoquímica de branquia, hígado y Riñón de perca criolla (percichthys trucha, valenciennes, 1833) para su uso enbiomonitoreo ambiental. **Acta Microscopica**, 2017.

LESSA, R.; SANTANA, F.M.; RINCÓN, G.; GADIG, O.B.F. & EL-DEIR, A.C.A. Biodiversidade de Elasmobrânquios no Brasil. In: **Relatório e Ações Prioritárias para Conservação da Biodiversidade da Zona Costeira e Marinha**, Recife, 1999.

LIEM, K.F.; SUMMERS, A.P. Muscular system: gross anatomy and functional morphology of muscles. 93-114. In: HAMLETT, W. C. Sharks, skates andrays, the biology of elasmobranchfishes. The John Hopkins University Press, Baltimore, 1999, 93-114.

LOBODA, T. S.; CARVALHO, M.R. 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). Maringá, **Neotropical Ichthyology** 11(4), 693-737, 2013.

LONARDONI, A.P.; GOULART, E.; OLIVEIRA, E.F. & ABELHA, M.C.F. Hábitos alimentares e sobreposição trófica das raias Potamotrygonfalkneri e Potamotrygon motoro (Chondrichthyes, Potamotrygonidae) na planície alagável do alto rio Paraná, Brasil. Acta Scientiarum Biological Sciences, Maringá, 3(28), 195-202, 2006.

LUCIFORA, L.O.; CARVALHO, M.R.; KYNE, P.M.; WHITE, W.T. Freshwater sharks and rays. **Current Biology.** Cambridge, 25, 20, 971-973, 2015.

MARINSEK, P.G.; VILIOD, L.C.M.; MARI, B.R. Ecomorphology of the digestive tract of the brazilian electric ray Narcine brasiliensis (Olfers, 1831) (Torpediniformes: Narcinidae). Acta Zoologica, Stockholm, 98, 229–236, 2017.

MARUSKA, K. P.; TRICAS, T. C. Test of mechanotactilehypothesis: neuromastmorphologyand response dynamics of mechanosensory lateral lineprimary affe - rents in the stingray. **The Journal of Experimental Biology.** Cambridge, 207: 3463-3476, 2004. MARUSKA, K.P. Morphology of the mechanosensory lateral line system in elasmobranch fishes: ecological and behavioral considerations. Environmental Biology of Fishes. Corvallis, 60, 47-75, 2001.

MELO, L.F. **Desenvolvimento embrionário do fígado do Tubarão-azul**, *Prionace glauca* (Linnaeus, 1758). Elasmobranchii, Carcharhiniformes. 42. Dissertação de mestrado. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

MONTES, G.S. Structural biology of the fibres of the collagenous and elastic systems. **Cell Biol. Int**., v,20, p.15-27, 1996.

MORAIS, A. L. S.; CARVALHO, M.M.; CAVALCANTE, L.F.M.; OLIVEIRA, M.R.; CHELLAPPA, S. Características morfológicas do trato digestório de três espécies de peixes (Osteichthyes: Lutjanidae) das águas costeiras do Rio Grande do Norte, Brasil. **Biota Amazônia**. 4(2): 51-54, 2014. DOI: <u>http://dx.doi.org/10.18561/2179-5746/</u>

MORI, R.H. ANÁLISES morfológicas, histoquímicas e ultraestruturais do tubo digestivo de tambaqui Colossoma macropomum (CUVIER, 1816). 68 p. Tese – Centro de Aquicultura. Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal. 2016.

MORO, G. Alimentação de *Potamotrygon signata* e *Potamotrygon orbignyi* (chondrichthyes: potamotrygonidae) na bacia do rio Parnaíba.93. Dissertação de mestrado. Centro de ciências exatas e da natureza, departamento de sistemática e ecologia Universidade Federal de Paraíba. João Pessoa. 2010.

MOTTA, P.J. Prey capture behavior and feeding mechanics of elasmobranchs. In: CARRIER, J.C.; MUSICK, J.A.; HEITHAUS, M.R. (eds.): **Biology of Sharks and Their Relatives.** Boca Raton: CRC Press, 65-202, 2004.

NIKOLSKY, G.V. The Ecology of Fishes. Academic Press, London, England. 1963.

OLSSON, C. The enteric nervous system. In: GROSSEL, M.; FARRELL, A. P.; BRAUNER, C. J. **Fish Physiology:** The multifunctional gut of fish. New York. v.30. p.320-349.2011.

PANTANO-NETO, J. Estudo preliminar da anatomia descritiva e funcional associada à alimentação em raias de água-doce (Potamotrygonidae, Myliobatiformes, Elasmobranchii). 92. Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

PERETTI, D., AND I.F. ANDRIAN. Fedding and morphological analysis of the digestive tract of four species of fish (Astyanax altiparanae, Parauchenipterus galeatus, Serrasalmus marginatus and Hoplias aff. :Malabaricus) from the upper Paraná river floodplain, Brazil. Brazilian **Journal of Biology** 68: 671-679.2008.

PINKY, MITTAL, S., OJHA, J., MITTAL, A.K. Scanning electron microscopic study of the structures associated with lips of an Indian hill stream fish *Garra lamta* (Cyrinidae, Cyriniformes). **J. Morph**. 40, 161–169. 2002.

PIRES M.A., TRAVASSOS, F.S., GÄRTNER, F. Atlas de Patologia Veterinária; Lidel; Porto; 2004; pp. 157-171.

QUIJADA, C.C.D. Relações filogenéticas intergenéricas de raias neotropicais de água doce (Chondrichthyes: Potamotrygonidae). 85. Dissertação de mestrado, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2003.

RAGNO, M.P. **Distribuição e morfologia dos canais da linha lateral em raias e sua relevância sistemática (Chondrichthyes: Elasmobranchii:Batoidea).** 194. Dissertação de mestrado. Instituto de Biociências. Universidade de São Paulo, São Paulo, 16/12/2013.

RASCHI, W.; MACKANOS, L.A. The structure of the Ampullae of Lorenzini in Dasyatisgarouaensis and its implication son the Evolution of the freshwater electro receptive system. **Journal Experimental Zoology**, New York, v. 2 (suplemento), 101-111, 1989.

REIFEL, C. W., & TRAVILL, A. A. Structure and carbohydrate histochemistry of the intestine in ten teleostean species. **Journal of Morphology**, Munich. v.162. p. 343-359.1979.

RINCON-FILHO, G. Aspectos taxonômicos, alimentação e reprodução da raia de água doce Potamotrygonorbignyi (Castelnau) (Elasmobranchii: Potamotrygonidae) no rio Paraná-Tocantins. 132. Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista "Júlio Mesquita Filho", Rio Claro, 2006.

RODRIGUES SS, MENIN E. Anatomia da cavidade bucofaringeana de Conorhynchos conirostris (Valenciennes, 1984) (Siluriformes). **Ceres** 52(304): 843-862.2005.

RODRIGUES, F. C., FARIAS, I. P., BATISTA, J. D. S. & ALVES-GOMES, J. A. Isolation and characterization of microsatellites loci for piramutaba (Brachyplatystoma vaillantii, Siluriformes: Pimelodidae), one of the commercially most important migratory catfishes in the Amazon Basin. **Conservation Genetic Resources**.v.1. p.365-368.2009.

RODRIGUES, S.S., E E. MENIN. Adaptações anatômicas da cavidade bucofaringiana de Pseudoplatystoma corruscans (Spix e Agassiz, 1829) (Siluriformes, Pimelodidae) em relação ao seu hábito alimentar. **Revista Ceres** 53: 135-146.2006.

RODRIGUES, S.S.; MENIN, E. Anatomia do tubo digestivo de Salminus brasiliensis (Cuvier, 1817) (Pisces, Characidae, Salmininae). **Biotemas.** Florianópolis: UFSC, v.21. p.65-75. 2008.

ROSA, R. S.; CHARVET-ALMEIDA, P.; QUIJADA, C. C. D. Biology of the South American Potamotrygonid stingrays. In: CARRIER, J. C.; MUSICK, J. A.; HEITHAUS, M. R. (Ed.). **Sharks and their relatives II:** biodiversity, adaptative physiology and conservation. 1st. New York: Editora Taylor & Francis Group, 241-286, 2010. ROSA, R.S. A systematic revision of the South American freshwater stingrays (Chondrichthyes: Portamotrygonidae). 523. Tese de Doutorado. College of William and Mary, Williamsburg, 1985.

ROTTA, M.A. Aspectos Gerais da Fisiologia e Estrutura do Sistema Digestivo dos Peixes Relacionados à Piscicultura. Embrapa Pantanal, EMBRAPA, Corumbá, MS, 2003.

RUST, M.B. Nutritional Physiology. In J.E. Halver, and R.W. Hardy, editors. **Fish Nutrition. Academic Press,** San Diego, CA, USA, 367-505. 2002.

RUST, M.B. Nutritional physiology. In: Halver J. E., Hardy R.W. **Fish nutrition**, 3, Amesterdan: Academic Press. pp 367-452.2002.

SHIBUYA, A. Morfologia funcional dos mecanismos de alimentação em raias myliobatoidei, com ênfase em espécies de Potamotrygonidae do médio Rio Negro. Tese de doutorado, Programa de Pós-Graduação em Biologia de Água Doce e Pesca Interior, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, 2009.

SHIBUYA, A., J.; ZUANON, M. L. G.; ARAÚJO; S. TANAKA. Morphology of lateral linecanalsin Neotropical freshwater stingrays (Chondrichthyes: Potamotrygonidae) from Negro River, Brazilian Amazon. **Neotropical Ichthyology** 8 (4): 867-876, 2010.

SILVA, A. T, Estômago dos peixes tambaqui (*Colossoma macropomum*) e xaréu (*Caranx hippos*): uma fonte de proteases ácidas industriais. Trabalho de conclusão de curso. Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2019.

SILVA, L.T. Adaptações morfológicas do trato digestório do peixe neotropical *Steindachnerina notonota* (Characiformes, Curimatidae) ao hábito alimentar detritívoro.2016.116. Dissertação de mestrado. Centro de biociências, departamento de morfologia. Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN. 2016.

SILVA, N.B.; GURGEL, H.C.B.; SANTANA, M.D. Histologia do sistema digestório de Sagüiru, Steindachnerina notonota (Miranda Ribeiro, 1937) (Pisces, Curimatidae), do Rio

Ceará Mirim, Rio Grande do Norte, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, 31(1): 1 - 8, 2005.

SIS, R. F.; IW, P. J.; JONES, D.M.; LEWIS, D.H.; HAENSL, W.E. The microscopic anatomy of the oesophagus, stomach and intestine of the channel catfish, *Ictalurus punctatus* .**Journal of Fish Biology.** United Kingdom.v.14, p. 179-186.1979.

SMITH, L.S. Digestion in teleost fishes.In **Fish Feed Technology**. Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO], Rome. p. 4-18.1980.

SUNDELL, K. S., & RØNNESTAD, I. Intestinal absorption. In: POTTINGER, T.G. Encyclopedia of fish physiology. Amsterdã: Elsevier. p.1311-1321.2011.

SWEAT, F.; PUCHTLER, H.; ROSENTHAL, SI. Sirius red F3BA as a stain for connective tissue. Arch. Pathol. Lab. Med., v.78, p.69-72, 1964.

THORSON, T.B.; BROOKS, D.R.; MAYES, M.A. The Evolution of freshwater adaptation in stingrays. **Nat Geog Res Rep.**15, 663-694, 1983.

THORSON, T.B.; WOTTON, R.M.; GEORGI, T.A. Rectalgland of freshwater stingrays, *Potamotrygon spp.* (Chondrichthyes: Chicago, **Biological Bulletin.** 154(3),508-516, 1978.

TRIPATHI, P., MITTAL, A.K. Essence of keratin in lips and associated structures of a freshwater fish Puntius sophore in relation to its feeding ecology: histochemistry and scanning electron microscope investigation. **Tissue and Cell** 42, 223–233.2010.

VASCONCELOS, H.C.G.; OLIVEIRA, S.J. Alimentação de *Potamotrygon motoro* (Chondrichthyes, Potamotrygonidae) na planície de inundação da APA do Rio Curiaú, MacapáAmapá-Brasil. **Biota Amazônia**- Open journal system.Macapá, v. 1, n. 2, p. 66-73, 2011.

VEGAS-VELEZ, M. La structure histologique typique du tube digestif des poissons téleosteens. **Tethys** 4(1): 163-174.1972.

WHITEHEAD, P. How Fishes Live. Galley Press. An Imprint of W.H. Smith and Son Limited, England.1977.

WILGA, C.D. Morphology and Evolution of the jaw suspension in lamniform sharks. **Journal of Morphology.** Munich, 265, 102-119, 2005.

WILGA, C.D.; MOTTA, P.J. Feeding mechanism of the Atlantic guitarfish Rhinobatos lentiginosus: modulation of kinematicsand motor activity. **The Journal of Experimental Biology.** Cambridge, 2001, 3167-3184, 1998.

WILSON, J.M.; CASTRO, L.F.C.: Morphological Diversity of the Gastrointestinal Tract in Fishes. In: GROSSEL, M.; FARRELL, A. P.; BRAUNER, C. J. **Fish Physiology:** The multifunctional gut of fish. New York, 30, 1-55, 2011.

YASHPAL, M., KUMARI, U., MITTAL, S., MITTAL, A.K. Surface architecture of the mouth cavity of a carnivorous fish Rita rita (Siluriformes, Bagridae). Belg. **J. Zool**. 136 (2), 155–162.2006.

ZAVALA-CAMIN, L.A. Introdução ao Estudo sobre Alimentação Natural em Peixes. Editora da UEM, Maringá, PR, Brasil.1996.

ZORZI, G.D. The biology of freshwater elasmobranches: anhistorical perspective. J. Aquaricult. Aquatic Sci, Parkville, 7, 10-31, 1995.

ANEXO 1



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO" Compus de libre Soldeire.

Ilha Solteira, 16 de outubro de 2019

Declaração de doação de material biológico

Venho através deste, informar para devidos fins, que fornecerei o material para a dissertação de mestrado "Análise Morfológica do Trato Gastrointestinal da Raia Negra (Potamotrygon amandae) Myliobatiformes, Potamotrygonidae (Loboda & Carvalho, 2013)", totalizando seis (6) espécimes de raia negra (Potamotrygon amandae) provenientes de coletas realizadas do projeto de pesquisa que está em andamento intitulado: "Aspectos metabólicos reprodutivos de Potamotrygon amandae (Chondrichthyes: Myliobatiformes: Potamotrygonidae) em área de ocorrência não-natural" sob minha responsabilidade" e autorizado pelo Sisbio: 72788-1.

Este projeto está sendo desenvolvido na Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira (FEIS/UNESP) no Departamento de Biologia e Zootecnia UNESP de Ilha Solteira Instituição, CNPJ: 48.031.918/0015-20.

Atenciosamente,

Gutun S. Mino

Profa. Dra. Cristélia da Silva Ribeiro Departamento de Biologia e Zootecnia

Faculdade de Engenharia de Bha Salbeira Cursos: Agronoma, Colncias Residigicas, Eng. Cord, Eng. Militica, Eng. MecSeso, Facca e Joceson Avenida Brasil Centro, Sé Calca Postal II CEP 13885-000 Elha Solbeira são Peudo Rosal Pada (18) 1910 1300 fas (18) 1342 2355 scand@idas. Reic.anequite avene. Ses.anequite

ANEXO 2



Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio

Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 72788-1	Data da Emissão: 16/10/2019 11:35:56	Data da Revalidação": 16/10/2020		
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades o projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do labio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.				
Dados do titular				
Nome: Cristiele da Silva Ribe	10	CPF: 311.309.868-88		
Título do Projeito: Aspectos m área de ocomência não-natur	etabólicos reprodutivos de Potamolrygon amandas (Chord al	drichthyes: Myliobatiformes: Potamolrygonidae) em		
Name of Arrists of the United States	CAMPLE OF LINA SOLUTION	Child 1: 48 031 018 0015 10		

Cronograma de atividades

•	Descrição da atividade	Inicio (misiano)	Fim (mils/ano)
1	Divulgação de resultados	01/2020	07/2021
2	Andéses laboratoriais	11/2019	11/2020
3	Coleta de esemplares	11/2019	11/2020

Equipe

•	Nome	Função	CPF	Nacionalidade
1	Douglas de Castro Ribeiro	Colaborador	677.578.146-00	Brasleita

Este documento foi espedido com base na instrupão Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer oidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (ever-icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0727880120191016

116

Página 1/4



Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio

Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 72788-1	Data da Emissão: 16/10/2019 11:35:56	Data da Revalidação": 16/10/2020			
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades					
Siabio no prazo de até 30 d	lo projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Jabio no prazo de até 30 días a contar da data do aniversário de sus emissão.				
Dados do titular					

	Nome: Cristele da Silva Ribeiro	CPP: 311.309.868-88
	Titulo do Projeto: Aspectos metabólicos reprodutivos de Potamoleygon amandas (Chondrichthyes: Myl	lobatformes: Potamotrygonidae) em
	área de ocomência não-natural	
1	Nome da Instituicilo: UNESP - CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA	CNPJ: 48.031.918/0015-20

Observações e ressalvas

_	
1	A autorização não exintitó o penquinador da neureatizade de sóler sultan arculexizar, somo 3 do proprietães, arrendedêns, posserio su mundor quando as advidades haves malizadas
	em área de dombrio privado ou deritos sita. Embra de antidade de conservação federal cujo processo de regularização fandária encontracar em carso, E) da conscribidade indígena
	errobida, acrida o inglo indgesida oficial, quando as alicidades de perspite freme esecularias em lena indgena, II) do Conselho de Debra Nazional, quando as alicidades de prespite
	Remon monocitadas non doma independent à negarança nanional (VI) da autoridado marilima, spansio au albédidom de penquina forem menutadas non àguas Johubicinais branchrize, VI do
	Departamentia Nanisenal da Prostegão Illeveral, quando a perspisa visar a esploração de depósilos bostilheisa su a estração de esplorarios Tinaeto, VI) do depão gestar da
	unidade de conservação exiadual, citabilal ou municipal, devide cubas.
3	Em sans de peoplea en UNEACE DE CONDERVINÇÃO, o peopleador Builer desta autorização deumó sorianiar a administração de unidade a Em de CONPRISIN AS DATAS das
	espediplen, as sondiples para malizaple das soletas e de uno da influentiviora da unidade.
а	O Stater de autorização su de Samça permanente, aestro somo sa membros de sua espiçor, quando de indeção de legislação vigende, su quando de indequeção, sexima a
	falsa descripte de informações relevantes que subsidianam a expedição do año, poderá, mediante desisão málvada, ter a autorização ou foreça suspensa ou recogada pelo
	CDBio, sus lemos da legislação loiadeisa em sigar.
4	Exter documento summite poderá ser utilizado para os fins previsios na Instrução Normalina ICABIo nº 020012 ou na Instrução Normalina ICABIo nº 100010, no que especifica esta
	Auloritagila, niko podende av uližado para fins conversiata, indexisión oz esportivos. O material itológico colotado devená ser uližado para alkólados científicas ou doblican no
	Andele de enteña superior
8	An alticidades de sampo execuídas por pennos natural ou julidos esturageira, em ludo o ferilário national, que impliquem o devlocamento de recurson tranamos e materials, lendo por objeto
	uniteiar dadas, materiais, espécimen instituțione e notorean, peșan integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e pannala, ciclular por meio de minurum e involuan çue se
	desdenen ao estado, à dibuto su à prespisa, estito sujetan a adactação de Silvinierio de Cénsia e Texeología.
4	O Balar de homoja ou autorização e ou reenteou da sua mpiçoe deverão optar por reflutivo de unitar e induventou de saplura deminimados, sempre que possível, ao grupo
	lacordenius de bilerenae, evlando a mote nu siano significados a sudon, grupos, e empregar enlarço de subela ou caplicas que não comprometa a ciabilidade de populações do grupo
	laundesia de ideosa en candição is são
7	Exila autorização NAC moiner o presiçuivador Bular e os menderos de sua regulge da reservoidade de obler as anuências presidas em sudros instrumentos legais, bem somo de
	umantimento de responsável pela dena, pública ou privada, unde será realizada a atividade, indusive do órgão gedor de tena indigena (FUSHI), do unidade de senservação
	estadual, dobilal au municipal, au de proprietato, arrendatario, posseriro au munador de ales deniro des Imães de unitade de sonaerização bedená cujo prozenso de regularização
	Audukta ensemba se ens sures.
8	Exter documento não depensa o comprimeito da legislação que depór volve auesos a componente da paloinites preticos existente no berilário sacional, na plataforma contembra e
	na Jona mondenica molunko, no no contensionis hadiolenal anazolado ao patrimber perdito, para fino de pençolar ciercifico, listorespecção e desenvolvimeiro teoraligios. Veja
	natares internações em essas rena povântegre.
-	

Locais onde as atividades de campo serão executadas

•	Descrição do local	Municipio-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
1	Ro Paranà.	Castiho-SP	Cerado	Não	Fora de UC Federal
2	Reservatório de Jupiã, SP.	iha Sobeira-SP	Cerrado	Não	Fora de UC Federal

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá venticar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (ever Jombio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0727880120191016

Página 2/4



Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio

Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 72788-1	Data da Emissão: 16/10/2019 11:35:56	Data da Revalidação*: 16/10/2020			
De acordo com o art. 28 d do projeto, mas deverá se	De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do				
Siabio no prazo de até 30 d	fas a contar da data do aniversário de sua emissão.				

-		_	
-			

Dados do titular			
Nome: Cristiele da Silva Ribeiro		CPF: 311.309.868-88	
Titulo do Projeto: Aspectos mel	abólicos reprodutivos de Potamolrygon amandae	(Chondrichthyes: Myliobatiformes: Potamotrygonidae) em	
área de ocomência não-natural			
Nome da Instituição: UNESP -	CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA	CNPJ: 48.031.9180015-20	

Atividades

•	Atividade	Grupo de Atividade
1	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Fors de UC Federal
2	Coleta/transporte de amoetras biológicas in situ	Fora de UC Federal
3	Captura de animals silvestres in situ	Fora de UC Federal

Atividades X Táxons

•	ASvidade	Tázon	Qtde.
1	Captura de animais silvestres in situ	Polamoltygon	-
2	Coleta/tansporte de amositas biológicas in situ	Polamolrygon	-
3	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Potamotrygon	120

Materiais e Métodos

•	Tipo de Método (Grupo taxonômico)	Materials		
1	Amostras biológicas (Peixas)	Fragmento de lecido/órgiko, Ovos, Sangue, Sérnen		
2	Método de captura/coleta (Peixex)	Anzol e linha (op.manual)dinha de mão,de corso,carretilha,molinete,corrico,vara e isca viva, Outros métodos de captura/coleta/Arpão sem merguího, pesca ativa), Tamafa		

Destino do material biológico coletado

ŀ	•	Nome local destino	Tipo destino
E	1	UNESP - CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA	Laboratório

Este documento foi expedido com base na instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade dezte documento, por meio da página do Sizbio/ICMBio na Internet (wwe.icmbio.gov.br/atabio).

Código de autenticação: 0727880120191016



Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio

Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 72788-1 Data da Emissão: 16/10/2019 11:35:56 Data da Revalidação?: 16/10/2020										
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do sociato, mas devará ser revalidade apualmente matiente a apresentecia do solicito da atividades a ser explado por maio do										
Siabio no prazo de até 30 días a contar da data do aniversário de sua emissão.										

Nome: Cristiele da Silva Ribeiro	CPF: 311.329.868-88			
Ttulo do Projeto: Aspectos metabólicos reprodutivos de Potamolnygon amandas (Chondrichthyes: Myliobatiformes: Potamolnygonidae) em				
área de ocorrência não-natural				
Nome da Instituição: UNESP - CAMPUS DE ILHA SOLTEIR	A CNPJ: 48.031.9180015-20			

Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser deatinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

Táxon*	Qtda.	Tipo de Amoetra	Qtds.	Data

* Identificar o espécime do nivel taxonômico possível.

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 02/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer citadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (ever Jombio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0727880120191016

Página 4/4