

**PRISCILA ROCHA VASCONCELOS ARAÚJO**

**HISTÓRIA DE VIDA DE *Aetobatus narinari* (MYLIOBATIFORMES) CAPTURADA  
PELA PESCA ARTESANAL NO LITORAL DA PARAÍBA E PERNAMBUCO,  
BRASIL**

RECIFE,  
Fevereiro/ 2020



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E**  
**AQUICULTURA**

**HISTÓRIA DE VIDA DE *Aetobatus narinari* (MYLIOBATIFORMES)**  
**CAPTURADA PELA PESCA ARTESANAL NO LITORAL DA PARAÍBA**  
**E PERNAMBUCO, BRASIL**

**PRISCILA ROCHA VASCONCELOS ARAÚJO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco como exigência para obtenção do título de Doutor.

**Profa. Dra. ROSANGELA LESSA**

Orientadora

**Recife,**  
**Fevereiro, 2020**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Sistema Integrado de Bibliotecas  
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- A663h Araújo, Priscila Rocha Vasconcelos  
História de vida de *Aetobatus narinari* (Myliobatiformes) capturada pela pesca artesanal no litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil / Priscila Rocha Vasconcelos Araújo. - 2020.  
108 f. : il.
- Orientadora: Rosangela Lessa.  
Inclui referências.
- Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura, Recife, 2020.
1. Myliobatiformes. 2. Dinâmica de populações. 3. Estrutura de população. 4. Pesca artesanal. I. Lessa, Rosangela, orient. II. Título

CDD 639.3

---

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E  
AQUICULTURA**

**HISTÓRIA DE VIDA DE *Aetobatus narinari* (MYLIOBATIFORMES) CAPTURADA  
PELA PESCA ARTESANAL NO LITORAL DA PARAÍBA E PERNAMBUCO,  
BRASIL**

**PRISCILA ROCHA VASCONCELOS ARAÚJO**

Tese julgada adequada para obtenção do título de doutor em Recursos Pesqueiros e Aquicultura. Defendida e aprovada em 19/02/2020 pela seguinte Banca Examinadora.



**Profa. Dra. ROSANGELA LESSA**

Orientadora

Departamento de pesca e Aquicultura/Universidade Federal Rural de Pernambuco



**Prof. Dr. RICARDO DE SOUZA ROSA**

Departamento de Sistemática e Ecologia/Universidade Federal da Paraíba



**Prof. Dr. FRANCISCO MARCANTE SANTANA**

Unidade Acadêmica de Serra Talhada/Universidade Federal Rural de Pernambuco



**Profa. Dra. RENATA AKEMI SHINOZAKI MENDES**

Departamento de pesca e Aquicultura/Universidade Federal Rural de Pernambuco



**Prof. Dr. HUMBER ÁGRELLI DE ANDRADE**

Departamento de pesca e Aquicultura/Universidade Federal Rural de Pernambuco

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família pelo amor incondicional, aos meus amigos por todo apoio e a todos que contribuíram para realização deste trabalho.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, que acima de tudo, foi o meu refúgio e minha força durante toda essa jornada.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura pelo apoio institucional e infraestrutura.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pelo fomento da bolsa de doutorado.

À Dra. Rosângela Lessa por ter me confiado este trabalho que abriu um horizonte completamente empolgante; e pela oportunidade de contribuir para conservação da *Aetobatus narinari*, que como diria o Dr. Carolus Maria Vooren, “são animais magníficos”.

Aos professores Dr. Ricardo de Souza Rosa, Dr. Francisco Marcante Santana da Silva, Dra. Renata Akemi Shinozaki Mendes, Dr. Humber Agrelli de Andrade, Dra. Maria Lúcia Góes de Araújo, pela disponibilidade em compor minha banca de doutorado contribuindo para melhorar a qualidade dessa tese. Aos professores Dr. Francisco Marcante Santana, Dr. José Carlos Nascimento de Barros, Dr. Joaquim Evêncio Neto, Dra. Flávia Lucena Frédou, Dr. Paulo José Duarte Neto e demais professores da UFRPE pela importante colaboração para o trabalho.

À minha família, minha mãe Jussara, meu pai Oscar, minhas avós Tânia e Bina, meus avôs Juarez (*in memoriam*) e Oscar (*in memoriam*), meu irmão Oscar, tia Cicinha (*in memoriam*), tia Marlí, tio Edson, meu namorado Ramon, meu padrinho Patrício, meus tios Sandra e Sandro e todos os familiares que estiveram sempre me ajudando, dando força, incentivo e aconchego. O apoio de vocês foi imprescindível durante toda essa caminhada.

Aos pescadores de Acaú (Carlinhos e Elviro), Ponta de Pedras (Roberto e Alexandre), Barra de Catuama (Roberto da raia), Jaguaribe – Itamaracá (Santo, Maurício, Daniel, Nuno e Petrônio) e Recife (Davi), pela importante colaboração nos momentos de amostragem.

Aos amigos que fiz no laboratório de Dinâmica de Populações Marinhas – DIMAR, Heitor, Amanda, Diogo, Leandro, Leonardo, Phillippe, Catya, Jonas Eloi, Jonas Rodrigues, Caio, Laís, Thaisy, Débrora, Flavinha, Maysa, Andressa, Aline, Tainá, Aislan, Aninha, Gabriel, Pedro, Tiago, Rodrigo, Jones, Maria Lúcia, Chico, que me acolheram nessa grande família dimariana e aos que me ajudaram neste trabalho, nas coletas, processamento de material, tirando dúvidas, compartilhando comida e conhecimentos. E a todos os amigos que fiz no Depaq, Lucas, Alessandra, Rômulo, Polly, Mariana, Latifa, Érica, que sempre foram muito solícitos.

Aos amigos que fiz na Flórida durante o doutorado sanduíche, Matt Ajemian, Kim Bassos Hull, Mike, Bautisse, Demian Chapman, Katie Flowers, Liu Tongtong, Ruibao, Sahar, Krystan, Lisa, Breanna, Grace, Cam, Steven, Rachel, Maria e todos os amigos que fiz em Orlando, por toda a ajuda e assistência num lugar onde tive um importante crescimento pessoal e acadêmico.

EPÍGRAFE

*Quando o homem aprender a respeitar até o menor ser da criação, seja animal ou vegetal, ninguém precisará ensiná-lo a amar seus semelhantes.*

Albert Schweitzer

## RESUMO

A raia pintada, *Aetobatus narinari*, ocorre em regiões tropicais costeiras e insulares no oceano Atlântico. A recente redefinição taxonômica da espécie reduziu a literatura disponível sobre sua biologia e a pesca, bem como tornou seu *status* de conservação (Quase Ameaçada - NT) obsoleto a nível mundial. No Brasil, essa raia é capturada pela pesca artesanal em várias regiões, mesmo assim não se tem informações sobre sua biologia básica nessas áreas, sendo classificada como uma espécie com dados insuficientes (DD). Portanto, o presente trabalho teve como objetivo estimar a idade e crescimento; caracterizar aspectos da biologia reprodutiva e hábitos alimentares; e estudar a morfometria linear, geométrica e a estrutura populacional da raia *A. narinari* na costa da Paraíba e Pernambuco (07°30'S; 34°49'W / 07°47'S; 34°51'W), Nordeste do Brasil. As amostras foram coletadas em maio e julho de 2015 e mensalmente de abril de 2016 a agosto de 2018 pela pesca artesanal da região. Os indivíduos foram identificados, sexados, fotografados, a largura do disco (LD, cm) e o peso total (PT, kg) foram tomados. Para o estudo do crescimento, a idade foi estimada através da contagem das bandas translúcidas das vértebras para 26 fêmeas (LD: 53,2 - 155 cm) e 24 machos (LD: 44,2 - 136 cm), assim sendo o modelo de crescimento com o melhor ajuste para ambos os sexos foi o de von Bertalanffy (fêmeas:  $L_{\infty} = 164,2$ ;  $k = 0,18$  e  $t_0 = -2,4$ ; machos  $L_{\infty} = 153,3$ ;  $k = 0,25$  e  $t_0 = -1,9$ ); e os indivíduos mais velhos foram uma fêmea com nove anos (LD: 155 cm) e um macho com cinco anos (LD: 136 cm). Para a biologia reprodutiva, com base na análise de estruturas macroscópicas sexuais secundárias, 27 fêmeas (LD: 53,2 - 155 cm) e 27 machos (LD: 39,5 - 141 cm) foram analisados, sendo observado que para as fêmeas o tamanho em que 50% da população atingiu a maturidade ( $L_{50}$ ) foi de 130,15 cm e para os machos foi de 116,42 cm. Os maiores valores médios do índice hepatossomático (IHS) e índice gonadossomático (IGS) para os machos ocorreram no terceiro bimestre do ano, e para as fêmeas ocorreu no último bimestre para o IHS e no quarto bimestre para o IGS. Em relação ao estudo da dieta, com base na análise dos conteúdos estomacais, a raia pintada apresentou uma dieta especialista baseada em presas do grupo Chordata e Mollusca, onde fêmeas se alimentaram principalmente de Teleostei (IRI %: 46,4) e Ascídia (IRI %: 27,9); e os machos de Ascídia (IRI %: 57,2) e Gastropoda (IRI %: 20,3). Para a morfometria linear, além da LD, mais 29 medidas morfométricas foram tomadas para comparação entre machos e fêmeas; as Análises de Covariância (ANCOVA) realizadas para os sexos separados demonstrou diferença significativa nas regressões lineares entre cada medida e a LD dos indivíduos. Para a morfometria geométrica foram utilizadas fotografias da vista dorsal e ventral dos condrocânios de 38 indivíduos (15 machos e 23 fêmeas); e conforme a análise de Componentes Principais (PCA) e Discriminante houve diferença significativa entre os sexos em ambas as vistas dorsal e ventral. Finalmente, para estudar a estrutura populacional, 42 indivíduos foram utilizados e sequências concatenadas COI-Cytb-ND4 de genes mitocondriais foram analisados; a amostra apresentou 14 diferentes haplótipos, com diversidade  $h_d = 0,646$ ; baixos valores de índice de fixação ( $F_{ST}$ ) por local; indicando fraca estrutura populacional. Na área de estudo a pesca artesanal de pequena escala captura espécimes de *A. narinari* de todas as idades e diferentes estágios de maturação durante todo o ano, portanto, o estudo pode contribuir para o manejo da pesca e conservação da espécie na região.

**Palavras-chave:** Myliobatiformes, Dinâmica de populações, Estrutura de população, Pesca artesanal, História de Vida.

## ABSTRACT

The spotted eagle ray, *Aetobatus narinari*, occurs in coastal and island tropical regions of the Atlantic Ocean. The recent taxonomic redefinition of the species has reduced the available literature on its biology and fishing, as well as made its conservation status (Near Threatened - NT) obsolete worldwide. In Brazil, this ray is caught by artisanal fisheries in several regions; even so there is no information about its basic biology in these areas, being classified as a Data Deficient species (DD). Therefore, the present work aimed to estimate age and growth; characterize aspects of reproductive biology and eating habits; and study the linear and geometric morphometry and population structure of the ray *A. narinari* in the coast of Paraíba and Pernambuco (07°30'S; 34°49'W / 07°47'S; 34°51'W), Northeast Brazil. The samples were collected in May and July of 2015 and monthly from April 2016 to August 2018 by artisanal fishing. The individuals were identified, sexed, photographed, the disc width (DW, cm) and total mass (TM, kg) were taken. For the study of growth, age was estimated by counting the translucent bands of the vertebrae for 26 females (DW: 53.2 - 155 cm) and 24 males (DW: 44.2 - 136 cm), so the growth model with the best fit for both sexes was von Bertalanffy (females:  $L_{\infty} = 164.2$ ;  $k = 0.18$  e  $t_0 = -2.4$ ; males  $L_{\infty} = 153.3$ ;  $k = 0.25$  e  $t_0 = -1.9$ ); and the older individuals were a nine-year-old female (DW: 155 cm) and a five-year-old male (DW: 136 cm). For reproductive biology, based on the analysis of secondary sex macroscopic structures, 27 females (DW: 53.2 - 155 cm) and 27 males (DW: 39.5 - 141 cm) were analyzed, females body size at which 50% of the individuals are mature (DW<sub>50</sub>) at 130.15 cm and males at 116.42 cm. The highest mean values of the hepatosomatic index (IHS) and gonadosomatic index (IGS) for males occurred in the third bimester of the year, and for females occurred in the last bimester for IHS and in the fourth bimester for IGS. Regarding the study of diet, based on the analysis of stomach contents, the Whitespotted Eagle Ray presented a specialist diet based on prey from the Chordata and Mollusca group, where females fed mainly on Fish (IRI %: 46.4) and Ascidians (IRI %: 27.9); and the males on Ascidians (IRI %: 57.2) and Gastropoda (IRI %: 20.3). For linear morphometry, besides DW, 29 additional morphometric measurements were taken for comparison between males and females; therefore the results of Covariance Analyses (ANCOVA) performed for the separate sexes showed a significant difference in linear regressions between each measurement and the DW of individuals. For the geometric morphometry, photographs of the dorsal and ventral view of the chondrochraniums of 38 individuals (15 males and 23 females) were used; and according to the statistical of Principal Component analysis and Linear Discriminant analysis there were significant differences for the sexes in both dorsal and ventral views. Finally, to study the population structure, 42 individuals were used and concatenated COI-Cytb-ND4 sequences of mitochondrial genes were analyzed; and the sample presented 14 different haplotypes, with diversity  $h_d = 0.646$ ; low fixation index ( $F_{ST}$ ) values per site; indicating weak population structure. In the study area the small-scale artisanal fishery catches *A. narinari* specimens of all ages and different stages of maturity throughout the year, so the study can contribute to the management of fishing and conservation of the species in the region.

**Key words:** Myliobatiformes, Population dynamics, Population structure, Artisanal Fishing, Life History.

## Lista de figuras

### Introdução Geral

Figura 1. Mapa de distribuição das espécies das raias do gênero *Aetobatus*. Mapa adaptado de Richards et al. (2009) e ilustrações adaptadas de Last et al. (2016).....23

### Age and growth of the Whitespotted eagle ray *Aetobatus narinari* (Myliobatiformes) caught in the Northeast of Brazil

Figure 1. Map of the study area indicating the landing sites (Acaú, Barra de Catuama, Jaguaribe, Cais do Apolo) of the artisanal fishery that captured the specimens of *Aetobatus narinari* on the coast of Paraíba and Pernambuco, Brazil.....34

Figure 2. Vertebra section of a 1550 mm  $W_D$  female from *Aetobatus narinari* estimated to have 10 rings including birth mark (BM) captured off the Northeast coast of Brazil.....35

Figure 3. Capture of *Aetobatus narinari* by quarter of the year by artisanal fishing in Autumn 2015 and Autumn 2016 to Winter 2018 on the Northeast coast of Brazil.....38

Figure 4. Relationship between the radius of the vertebrae ( $V_R$ ) and disc width ( $W_D$ ) of *Aetobatus narinari* captured off the Northeast coast of Brazil.....39

Figure 5. (a) Average per quarter of the year SD of the marginal increment ratio ( $R_{MI}$ ) for the entire sample and (b) distribuição de frequência de valores IMR por trimestre do ano (■,  $R_{MI}=0-0.3$ ; □,  $R_{MI} > 0.3$ ) of *Aetobatus narinari* captured off the Northeast coast of Brazil.....40

Figure 6 - Opaque bands observed in *Aetobatus narinari* captured off the Northeast coast of Brazil. The circles denote the likelihood of an annual growth band formation cycle, predicted by Okamura and Semba (2009) model.....41

Figure 7. Von Bertalanffy model (VBGF) for the separate sexes (● males; — VBGF for males; ○ females; - - - VBGF for females) of *Aetobatus narinari* captured off the Northeast coast of Brazil.....44

### Reprodução e dieta da raia *Aetobatus narinari* (Myliobatiformes) capturada no Litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil

Figura 1. Mapa da área de estudo indicando os locais de desembarque (Acaú, Barra de Catuama, Jaguaribe, Cais do Apolo) da pesca artesanal que capturou os espécimes de *Aetobatus narinari* no litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil.....57

Figura 2. Frequência absoluta de fêmeas e machos de *Aetobatus narinari* capturadas pela pesca artesanal no litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil, com classes de largura de disco (LD) de 10 cm.....62

Figura 3. Relação entre o peso do fígado (PF), em gramas, e a largura do disco (LD), em cm, para machos e fêmeas de *Aetobatus narinari* (A) relação entre o peso total (PT), em quilogramas, e a largura do disco (LD), em cm, para machos e fêmeas de *A. narinari* (B) capturadas pela pesca artesanal no litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil. A curva potencial foi ajustada apenas para machos (linha preta) e fêmeas (linha tracejada).....62

Figura 4. Relação entre a largura do disco (LD) e o comprimento do cláspes (CCL) (A); comprimento da glândula do cláspes (CGCL) (B) e peso dos testículos direito e esquerdo juntos (PTE) (C) por estágio de maturação para machos de *Aetobatus narinari* capturados pela pesca artesanal no litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil.....64

Figura 5. Relação entre a largura do disco (LD) e a proporção de machos maduros (A); e o intervalo de credibilidade de 95% das distribuições posteriores do  $L_{50}$  (B) para machos de *Aetobatus narinari* capturados pela pesca artesanal no litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil.....65

Figura 6. Valores médios bimestrais e desvio padrão do índice hepatossomático (IHS) para machos e fêmeas (A); índice gonadossomático (IGS) para machos e fêmeas (B) e maior diâmetro do folículo vitelogênico (DFV) (C) para fêmeas de *Aetobatus narinari* capturadas pela pesca artesanal no litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil.....66

Figura 7. Relação entre a largura do disco (LD) e a largura da glândula oviducal (LGO) (A); largura do útero esquerdo (LUE) (B); diâmetro do maior folículo vitelogênico (DFV) (C) e peso dos ovários direito e esquerdo juntos (POV) (D) por estágio de maturação para fêmeas de *Aetobatus narinari* capturadas pela pesca artesanal no litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil.....67

Figura 8. Relação entre a largura do disco (LD) e a proporção de machos maduros (A); e o intervalo de credibilidade de 95% das distribuições posteriores do  $L_{50}$  (B) para fêmeas de *Aetobatus narinari* capturadas pela pesca artesanal no litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil.....68

Figura 9. Contribuição do índice percentual de importância relativa (IRI%) de cada grupo de presas da dieta de fêmeas jovens e adultas, machos jovens e adultos de *Aetobatus narinari* capturadas pela pesca artesanal no litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil.....71

### **Morfometria e estrutura populacional de *Aetobatus narinari* (Myliobatiformes) capturada no Litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil**

Figura 1. Mapa da área de estudo indicando os locais de desembarque (Acaú, Barra de Catuama, Jaguaribe, Cais do Apolo) da pesca artesanal que capturou os espécimes de *Aetobatus narinari* no litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil.....87

Figura 2. Representação das medidas morfométricas: 1- Largura do disco, 2- Largura da boca, 3- Largura da placa dentária inferior, 4- Distância entre o primeiro par de fendas branquiais, 5- Distância entre o quinto par de fendas branquiais, 6- Distância entre o primeiro e quinto par de fendas branquiais, 7- Distância internasal, 8- Comprimento do focinho, 9- Distância interorbital, 10- Comprimento do disco, 11- Comprimento da nadadeira pélvica, 12 - Largura da nadadeira pélvica, 13- Margem anterior externa do disco, 14- Margem posterior externa do disco, 15- Comprimento pré-orbital, 16- Comprimento da cabeça, 17- Largura da cabeça, 18- Altura da cabeça na medida dos olhos, 19- Largura interespiracular, 20- Comprimento do espiráculo, 21- Largura do espiráculos, 22- Diâmetro orbital, 23- Diâmetro do olho, 24- Comprimento da nadadeira dorsal, 25- Altura da nadadeira dorsal, 26- Distância focinho espiráculos, 27- Distância focinho olho, 28- Distância focinho narina, 29- Distância focinho cloaca, 30- Distância narina boca.....89

Figura 3. Descrição dos marcos anatômicos utilizados na morfometria geométrica da vista dorsal (A); e vista ventral (B) do condrocânio de *Aetobatus narinari* capturada pela pesca artesanal no litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil. A: 1 e 2 – Cápsula nasal; 5,6,7 e 8 – Fontanela pré-cerebral; 7,8,9,10 e 11 – Fontanela Frontoparietal; 12 e 13 – Processo pré-orbital; 14 e 15 – Processo supraorbital. B: 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7 – Cápsula nasal; 11 – Superfície articular para sinarcual; 13 e 14 – Processo pré-orbital; 15 e 16 – Processo supraorbital.....90

Figura 4. Análise de Componentes Principais da região dorsal (A) e ventral (B) do condrocânio de *Aetobatus narinari* capturadas pela pesca artesanal no litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil.....94

Figura 5. Placa fina de deformações (thin-plate spline - TPS) da Análise de Componentes Principais da região dorsal (A) e ventral (B) do condrocânio de *Aetobatus narinari* capturada pela pesca artesanal no litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil.....95

Figura 6. Análise Discriminante da região dorsal (A) e ventral (B) do condrocânio de *Aetobatus narinari* capturadas pela pesca artesanal no litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil.....96

Figura 7. Redes de haplótipos TCS de *Aetobatus narinari* do litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil. As redes de haplótipos foram construídas com base nas sequências CO1-Cytb-ND4 concatenadas em 1976 pb. Cada círculo representa um haplótipo diferente, com seu tamanho proporcional ao número de indivíduos encontrados com esse haplótipo; traços nos galhos indicam diferenças nos pares de bases. Os locais de amostragem são indicados por cores diferentes, referindo-se ao local em que os haplótipos foram encontrados. ITA – Itamaracá; BCM – Barra de Catuama; ACU – Acaú.....98

## Lista de tabelas

### Age and growth of the Whitespotted eagle ray *Aetobatus narinari* (Myliobatiformes) caught in the Northeast of Brazil

Table 1. Comparison of fishing methods and catch composition of *Aetobatus narinari* by fishing between three localities of Northeast Brazil. N is number of individuals.....38

Table 2. Number of individuals, range and average disc width ( $W_D$ ) by age for each sex of *Aetobatus narinari* captured off the Northeast coast of Brazil. N is number of individuals.....39

Table 3. Observed and back calculated disc width ( $W_D$ ) in mm - age for females and males of *Aetobatus narinari* captured off the Northeast coast of Brazil.....42

Table 4. Estimated growth parameters for *Aetobatus narinari* by models indicating the Akaike information criterion (AIC), ( $k$  / year = growth coefficient;  $W_\infty$  = asymptotic size;  $t_0$  = theoretical age at zero).....43

Table 5. Back-calculated growth studies performed for Myliobatiformes rays. All disc width measurements are in mm. N is number of individuals, M are males and F are females.....46

### Reprodução e dieta da raia *Aetobatus narinari* (Myliobatiformes) capturada no Litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil

Tabela 1. Descrição dos estágios de maturação para vivíparos matrotóxicos baseada no Workshop sobre Classificação de Maturidade Sexual de Elasmobrânquios do Conselho Internacional de Exploração do Mar (ICES 2013).....58

Tabela 2. Composição da dieta de *Aetobatus narinari* coletada no nordeste do Brasil. FO% frequência de ocorrência; FN% frequência numérica, FG% gravimetria porcentual, IRI% porcentual de índice de importância relativa; F1 fêmeas jovens; F2 fêmeas adultas; M1 machos jovens; M2 machos adultos. Para cada filo e classe foi feito o somatório do grupo.....70

### Morfometria e estrutura populacional de *Aetobatus narinari* (Myliobatiformes) capturada no Litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil

Tabela 1. Definição dos caracteres morfométricos de *Aetobatus narinari* capturadas pela pesca artesanal no litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil.....88

Tabela 2. Análise de Covariância comparando as regressões lineares entre medida morfométrica e a largura do disco para cada sexo de *Aetobatus narinari* capturadas pela pesca artesanal no litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil. MM – medidas morfométricas; M – machos; F – fêmeas; gl – graus de liberdade; LB- Largura da boca, LPD- Largura da placa dentária inferior, D1F- Distância entre o primeiro par de fendas branquiais, D5F- Distância entre o quinto par de fendas branquiais, D1\_5F- Distância entre o primeiro e quinto par de fendas branquiais, DIN- Distância internasal, CF- Comprimento do focinho, DIO- Distância

interorbital, CD- Comprimento do disco, CPV- Comprimento da nadadeira pélvica, LPV - Largura da nadadeira pélvica, MAD- Margem anterior externa do disco, MPD- Margem posterior externa do disco, CPO- Comprimento pré-orbital, CCB- Comprimento da cabeça, LCB- Largura da cabeça, ACB- Altura da cabeça na medida dos olhos, LIE- Largura interespiracular, CE- Comprimento do espiráculo, LE- Largura do espiráculos, DOB- Diâmetro orbital, DO- Diâmetro do olho, CND- Comprimento da nadadeira dorsal, AND- Altura da nadadeira dorsal, FE- Distância focinho espiráculos, FO- Distância focinho olho, FN- Distância focinho narina, FC- Distância focinho cloaca, NB- Distância narina boca.....93

Tabela 3. Análises populacionais para amostras de *Aetobatus narinari*,  $F_{ST}$  em pares de sequências concatenadas COI-Cytb-ND4 entre os locais de amostragem.....97

Tabela 4. Medidas da AMOVA de subdivisão populacional em *Aetobatus narinari* para populações de Itamaracá, Barram de Catuama, Acaú e Recife, no nordeste do Brasil.....97

## SUMÁRIO

<b>DEDICATÓRIA</b> .....	<b>5</b>
<b>AGRADECIMENTOS</b> .....	<b>6</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>8</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>9</b>
<b>Lista de figuras</b> .....	<b>10</b>
<b>Lista de tabelas</b> .....	<b>13</b>
<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>17</b>
<b>Introdução Geral</b> .....	<b>17</b>
Referências.....	25
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>30</b>
<b>Age and growth of the Whitespotted eagle ray <i>Aetobatus narinari</i> (Myliobatiformes) caught in the Northeast of Brazil</b> .....	<b>30</b>
Abstract .....	31
Introduction.....	31
Materials and methods .....	33
Results .....	37
Discussion .....	44
Acknowledgments.....	47
References .....	47
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>53</b>
<b>Reprodução e dieta da raia <i>Aetobatus narinari</i> (Myliobatiformes) capturada no Litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil</b> .....	<b>53</b>
Resumo.....	54
Abstract .....	54
Introdução .....	55
Material e métodos.....	56
Resultados .....	61
Discussão .....	71
Referências.....	76
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>83</b>

<b>Morfometria e estrutura populacional de <i>Aetobatus narinari</i> (Myliobatiformes) capturada no Litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil.....</b>	<b>83</b>
Resumo.....	84
Abstract.....	84
Introdução.....	85
Material e métodos.....	86
Resultados.....	92
Discussão.....	98
Referências.....	101
<b>CAPÍTULO 5.....</b>	<b>106</b>
<b>Considerações finais.....</b>	<b>106</b>

# **CAPÍTULO 1**

## **Introdução Geral**

## Introdução Geral

### Contextualização da pesquisa

#### Caracterização do ambiente

A região litorânea do estado de Pernambuco se caracteriza por possuir recifes costeiros e manguezais, em seus 187 km de extensão, representando 2,5% do litoral brasileiro e abrangendo 14 municípios costeiros, com 33 comunidades pesqueiras (LESSA et al., 2009). A Plataforma continental de Pernambuco é estreita, relativamente plana e terminada por um declive abrupto ocorrendo entre 60 e 80 m de profundidade. Os tipos de fundo no litoral de Pernambuco são recifes em linhas de arenito, areia quartzosa, lama (concentrada em pequenas manchas, geralmente na dependência dos rios costeiros), fundo de algas calcárias, organogênico (KEMPF, 1967a).

A região norte de Pernambuco trata-se de uma zona plana, de altitude baixa (30-60 m), terminando abruptamente perto do litoral, o que é nítido na região de Ponta de Pedras onde a falésia é contígua à praia. Afloramentos calcários aparecem nas praias de Bom Jesus, Pilar, Jaguaribe, Ponta do Funil, Ponta de Pedras e Carne de Vaca. Em Ponta de Pedras eles são particularmente importantes, formam recifes emergidos na praia e também a uma pequena distância da costa (1/4 milha) (KEMPF, 1967b). A ilha de Itamaracá é afastada da costa por um braço de mar penetrando nas terras, localizada entre as bacias hidrográficas do rio Capibaribe e do rio Goiana, só recebe cursos d'água de importância muito reduzida, que desembocam principalmente no Canal de Santa Cruz. Ainda há o “mar de dentro” devido a uma linha recifal composta paralelamente com o sentido geral da costa, em frente a um pequeno afastamento da praia para o interior, entre dois pontos avançados do litoral (KEMPF, 1967b). Corais vivos aparecem em frente à Ponta de Pedras, que apresenta uma estrutura ilhada com construções de corais e algas calcárias (KEMPF, 1967b). As areias ocupam a maior parte da região norte de Pernambuco podendo ser quartzosa na dependência dos estuários e calcária biodetrítica ligada à presença dos recifes de corais, observa-se no litoral de Ponta de Pedras formações desenvolvidas de *Halimeda incrassata*, e ainda a lama pode se misturar à areia do fundo como em frente ao rio Jaguaribe, entre Catuama e Ponta de Pedras (KEMPF, 1967b).

A salinidade e a temperatura das águas da plataforma continental adjacente à zona costeira demonstram, de uma maneira geral, ciclo sazonal bastante definido, devido à influência do aporte dos rios costeiros, desse modo apresenta temperatura superficial de 27,0 a

28,7°C, e a salinidade apresenta valores mais elevados em períodos secos (37,16‰) e menores no período chuvoso (28,88‰) (MANSO et al., 2006). As baixas concentrações de material em suspensão nas águas da plataforma podem resultar da pouca produtividade do Atlântico Equatorial, da pouca produção de sedimentos em regiões semiáridas ou, ainda, devido à retenção dos sedimentos finos pela vegetação costeira dos manguezais, fato comum na costa pernambucana (MANSO et al., 2006).

A plataforma continental do sul da Paraíba é um pouco similar à de Pernambuco, sendo assim, é estreita com largura entre 30 e 35 km; profundidade inferior a 50 m, sendo delimitada por uma quebra entre as isóbatas de 50 a 60 m; as águas são quentes com alta salinidade; e o fundo tem predominância de sedimentos carbonáticos; onde bancos de algas e corais crescem sobre um substrato de arenito de praia ou de arenitos ferruginosos da Formação Barreiras (BARBOSA, 1987).

#### Pesca artesanal no Nordeste

Uma grande variedade de aparelhos de pesca é utilizada pelas diversas comunidades pesqueiras do Nordeste. A utilização varia de acordo com o local e com o grupo de espécies-alvo das pescarias, podendo ser divididas em artes passivas e ativas. São utilizadas na região, por exemplo, as modalidades rede de cerco, utilizada para cercar os cardumes na superfície, na área costeira; e rede de espera, que opera na superfície, meia-água e fundo, também na área costeira (NÓBREGA e LESSA, 2007).

Na Paraíba, a pesca é essencialmente artesanal; sendo utilizadas as artes de pesca de rede de emalhe, linha e covó; das quais a rede de emalhe é a principal utilizada nesse estado, que, dependendo do modo de operação pode ser Boiera (atua sobre espécies pelágicas, ou quando usada em rasas, captura espécies associadas ao fundo); Fundeio (atua junto ao substrato) e Caceio ou caçoeira (usada na superfície ou coluna d'água) (MARIANO E ROSA, 2010). Para a captura de elasmobrânquios na pesca artesanal da Paraíba foram relatadas espécies como: *Rhizoprionodon porosus*, *Hypanus marianae*, *Pseudobatos percellens*, *Urotrygon microphthalmum*, *Rhinoptera bonasus*, *H. guttatus*, *Narcine brasiliensis*, *Scyliorhinus haeckelii*, *Carcharhinus acronotus*, *Sphyrna tiburo* e *H. americanus*, *Ginglymostoma cirratum* (MARIANO E ROSA, 2010).

A Pesca Artesanal representa em Pernambuco a maior parcela da produção pesqueira do estado (70%), caracterizada pelo trabalho familiar e comunitário, utilizando técnicas e tecnologias tradicionais, sendo praticadas no litoral norte de Pernambuco pescarias de covó, de curral, com rede de emalhe, rede de espera, rede caçoeira, rede malhadeira, entre outras (LESSA et al., 2006; LIRA et al., 2010). Através da pesca, os pescadores adquirem um

extenso conhecimento sobre o meio ambiente, as condições da maré, os tipos de ambientes propícios à vida de certas espécies de peixes, o manejo dos instrumentos de pesca, identificação dos pesqueiros (melhores pontos de pesca), o hábito dos diferentes peixes, o comportamento e classificação dos peixes (PIORSKI et al., 2009).

A plataforma continental é utilizada para diversas etapas do ciclo de vida de espécies de elasmobrânquios como *Rhizoprionodon porosus*, *R. lalandii*, *Carcharhinus acronotus*, *C. leucas*, *C. plumbeus*, *C. obscurus*, *Galeocerdo cuvier*, *Sphyrna lewini*, *Aetobatus narinari*, *Bathytoshia centroura* e *Hypanus americanus*, os quais são capturados como alvo ou de forma incidental pela pesca artesanal como os tubarões comuns *Rhizoprionodon* spp., consumidos em toda a região, e as raias do gênero *Hypanus* e *Aetobatus*, consumidas, principalmente, em Pernambuco (LESSA et al., 2005). Diante do deficiente sistema de informações sobre capturas de elasmobrânquios no nordeste do Brasil, é preocupante a situação de espécies costeiras de grande porte, por suas características biológicas e ecológicas, encontrando-se algumas delas nas listas de espécies ameaçadas em diversos locais do mundo (LESSA et al., 2005).

No Nordeste, elevada riqueza de espécies são capturadas pela frota artesanal, como espécies de elasmobrânquios incluindo as raias Myliobatiformes (*Gymnura micrura*, *Hypanus americanus*, *Bathytoshia centroura*, *Fontitrygon geijskesi*, *Hypanus guttatus*, *Aetobatus narinari*, *Rhinoptera bonasus* e *Mobula birostris*) (LESSA et al., 1999; NÓBREGA e LESSA, 2007). No litoral de Pernambuco oito espécies de raias dessa ordem ocorreram nos desembarques da pesca artesanal: *H. marianae*, *H. guttatus*, *H. americanus*, *G. micrura*, *A. narinari*, *R. brasiliensis*, *R. bonasus* e *Urotrygon microphthalmum*; das quais algumas espécies têm sido estudadas quanto à biologia reprodutiva, parâmetros de crescimento, taxa de mortalidade, dieta e uso do habitat (ARAÚJO, 2016; SANTANDER NETO, 2015; MELO, 2016; QUEIROZ, 2017; MENANI, 2019).

Na mesma região, em áreas costeiras próximas a estuários as espécies com maiores capturas de fêmeas adultas foram *A. narinari* e *H. guttatus* (ETEPE, 1995; MELO, 2016; QUEIROZ, 2017). Apesar de se observar que os exemplares capturados na pesca artesanal apresentam diferentes estágios de desenvolvimento, pouco se sabe sobre a biologia de *Aetobatus narinari* no litoral de Pernambuco.

#### Pesca com Raieira

As redes de emalhar são geralmente colocadas em diferentes posições na coluna d'água dependendo da rota do peixe migratório, de modo que os peixes fazem o seu caminho através

das malhas da rede, podendo ser operadas de várias formas, como redes de fundo para peixes demersais; flutuantes ancoradas para os peixes de meia-água; e as redes de emalhar de deriva para peixes de superfície e de meia-água (GABRIEL et al., 2005). Várias propriedades influenciam a eficiência das redes de emalhar como: o tamanho da rede, da malha, altura da rede; o material utilizado da arte de pesca, desses dependendo sua baixa visibilidade, que depende também da sua espessura, da quantidade de nós, cor, e seu contraste com o ambiente onde será utilizada; o entrelaçamento, tornando-se menos perceptível para os peixes (que podem detectá-la através da linha lateral), utilizando fibras sintéticas menos visíveis (PA multifilamento, monofilamentos transparentes); e ainda o tipo de montagem, dando à rede uma melhor flexibilidade para emaranhamento (GABRIEL et al., 2005).

No Nordeste brasileiro, a utilização da rede de emalhar derivante é cada vez mais comum, porém pouco se sabe sobre suas características operacionais e produtivas (CARNEIRO e SALES, 2011). A raieira pode ser operada na superfície, coluna ou fundo para capturar peixes que habitam diferentes estratos da coluna de água, e quando no fundo, atuam de maneira similar às redes de emalhar de fundo usadas para capturar elasmobrânquios (SHERIEF et al., 2015). No litoral de Pernambuco a rede raieira é o único aparelho de pesca dirigido à captura de raias, sendo relatado para as regiões de Igarassu, Itapissuma, Itamaracá e Goiana; a qual é utilizada no estuário sendo lançada ao entardecer na preamar, em profundidades entre 5 e 18 m em fundos lamosos, e recolhida na baixa mar (MELO, 2016). De acordo com Sparre e Venema (1997), peixes grandes em relação à malha não podem ser emalhados, mas podem ficar presos na rede de emalhar de outras maneiras, como, por exemplo, quando ficam enredados, de modo que podem se prender na rede pelos dentes, maxilares, nadadeiras ou outras saliências, sem ter penetrado na malha.

Vários tamanhos de raias são capturados em rede de emalhar, como as espécies *Gymnura micrura*, *G. poecilura*, *Dasyatis uarnak*, *D. bleekeri*, *D. sephen*, *Aetobatus narinari* e *Mobula* sp., de modo que o espinho caudal das raias fica preso na rede e na tentativa de escapar o corpo inteiro fica enredado na rede (SHERIEF et al. 2015). Em Sonora no México, Bizzarro et al. (2009) observaram em desembarques de redes de emalhe de fundo da pesca artesanal muitas raias adultas incluindo grávidas de várias espécies (pertencentes aos gêneros *Hypanus*, *Gymnura*, *Mobula*, *Myliobatis*, *Narcine*, *Rhinobatos*, *Rhinoptera*, *Urobatis*, *Urotrygon* e *Zapteryx*), representando 63,4% do total de indivíduos registrados. Segundo Marion (2015), na Baía de Todos os Santos são utilizadas duas redes de emalhe que capturam raias: Arraieira, uma rede de espera de fundo com fio multifilamento, que captura *H. guttatus*, *R. bonasus* e *A. narinari*; e o Linxeiro, uma rede de deriva de fundo de fio multifilamento

dirigida a captura de *A. narinari* e muito eventualmente espécies da família Dasyatidae que ocupam o fundo.

A raieira, utilizada no litoral da Paraíba e em Pernambuco, é dirigida à captura de raias. Em Pernambuco e na Paraíba a raieira é uma rede de espera de fundo utilizada na captura de raias e cações, confeccionada com fio de poliamida PA (multifilamento), com malha de 200 mm (entre nós opostos), altura média de 10 a 20 malhas e coeficiente de entalhamento entre 43 e 50% (LIRA et al., 2010). Nestas operações de pesca *H. guttatus* é a espécie de raia mais comum, sendo capturada em todos os seus estágios de desenvolvimento (MELO, 2016).

### *Aetobatus narinari*

*Aetobatus narinari*, raia pintada, tem distribuição tropical ocupando áreas costeiras quente-temperadas do Oceano Atlântico, onde é registrada continuamente da Carolina do Norte ao Sul do Brasil (BIGELOW e SCHROEDER, 1953; McEACHRAN e CARVALHO, 2002; SALES et al. 2019). A espécie pertence à família Aetobatidae, recentemente revalidada por White e Naylor (2016). De acordo com Richards et al. (2009), *A. narinari* é composta por pelo menos 3 linhagens distintas com nenhuma troca genética entre indivíduos do Atlântico Central, Pacífico Leste, e nas regiões Oeste / Central do Pacífico, cuja origem se deu no IndoPacífico Oeste. Foram encontrados elevados níveis de diferenciação genética em *A. narinari* em escala regional, mas estes resultados são limitados devido ao pequeno tamanho amostral (SCHLUESSEL et al., 2010). Recentemente, um estudo filogeográfico indicou que *A. narinari* ocorre apenas no Atlântico ocidental (SALES et al., 2019), além disso *A. ocellatus* é considerada uma espécie válida para o Indo Pacífico e *A. laticeps* para o Pacífico Leste (WHITE et al., 2010; LAST et al., 2016; WHITE e NAYLOR, 2016) (Figura 1).

*Aetobatus narinari* frequentemente é observada em ambientes costeiros rasos, como baías, recifes de corais e ocasionalmente em habitats estuarinos (TAGLIAFICO et al., 2012). Apresenta coloração conspícua, com o dorso mais escuro com pontos esbranquiçados e superfície ventral branca (CÉRVIGON, 1991). Têm nadadeiras peitorais pontiagudas; cauda filiforme, mais longa que o disco com longo espinho serrilhado; dentes em uma única série, largos e achatados (LÉOPOLD, 2004). É vivípara matrotrofica e seus embriões se nutrem por histotrofia lipídica (secreções uterinas) (LAST et al., 2016). Recentemente Harmon et al. (2016) relataram para a espécie o primeiro caso de partenogênese em aquário – forma de reprodução assexuada em que o embrião se desenvolve a partir de um ovo não fertilizado, a qual, caso ocorra com alta incidência pode reduzir a diversidade genética.

O tamanho máximo registrado para a raia pintada é de 241 cm de largura de disco (LD) (CORDOVÉS et al., 2013); jovens variam de 18 a 36 cm de LD ao nascer, fêmeas produzem cerca de 4 jovens por gestação (BIGELOW e SCHROEDER, 1953), enquanto indivíduos aquários podem nascer entre 35,5 e 58 cm de LD (SWIDER et al., 2017). O tamanho de primeira maturação dos machos é de 127 cm de LD (BASSOS-HULL et al., 2014) e das fêmeas  $\geq 150$  cm de LD. Eles se alimentam de gastrópodes, bivalves, crustáceos, poliquetas, equinodermos, cefalópodes e pequenos peixes (MCEACHRAN e CARVALHO, 2002; AJEMIAN et al., 2012; SERRANO-FLORES et al., 2019).



**Figura 1.** Mapa de distribuição das espécies das raias do gênero *Aetobatus*. Mapa adaptado de Richards et al. (2009) e ilustrações adaptadas de Last et al. (2016).

Quanto ao estado de conservação, atualmente *Aetobatus narinari* está classificada como quase ameaçada “*near threatened*”, pela União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN). No Brasil a espécie é categorizada como Dados insuficientes (DD) (ICMBIO, 2016), devido à falta de informações sobre sua biologia, tendência populacional e pesca; além disso, as ameaças constituem as atividades da pesca artesanal (redes de emalhe, currais e espinhéis) e a degradação ambiental das áreas costeiras, havendo a necessidade urgente de monitoramento da atividade pesqueira.

Algumas espécies, principalmente os Myliobatiformes (*Gymnura micrura*, *Aetobatus narinari*, *Rhinoptera bonasus*, *Hypanus guttatus* e *D. centroura*), ocorrem ao longo de todo o Brasil (LESSA et al., 1999). Na região de Caiçara do Norte no nordeste do Brasil, *Aetobatus narinari* parece usar a área como berçário (YOKOTA e LESSA, 2006). Em Pernambuco, espécies residentes com maiores abundâncias de fêmeas adultas deste grupo (*Aetobatus*

*narinari* e *Hypanus guttatus*) ocorrem em regiões costeiras próximas a estuários (ETEPE, 1995).

#### Justificativa

No Nordeste do Brasil, as raias utilizam estuários e zonas costeiras como berçário, bem como áreas além da plataforma continental ao longo do ciclo de vida, portanto, a degradação antropogênica desses ambientes pode acarretar seu desequilíbrio ecológico, e ainda seu desaparecimento (LESSA et al., 2005). Nessa região, o sistema de informações sobre capturas de elasmobrânquios é deficiente e preocupante, principalmente considerando suas características biológicas e ecológicas; e a identificação das espécies que compõe um recurso pesqueiro é indispensável para sua gestão (LESSA, 1986; LESSA et al., 2005). No litoral da Paraíba e Pernambuco a pesca com rede de raieira é praticada na região costeira e estuarina e poucas informações estão disponíveis sobre a composição de suas capturas.

As características biológicas (crescimento lento, baixa fertilidade e maturação tardia) da *Aetobatus narinari* e sua vulnerabilidade às artes de pesca podem constituir fatores de ameaça colocando essas raias em uma lista mundial de declínio da população (BASSOS-HULL et al., 2014), logo especificamente, em áreas onde existem pescaria de *A. narinari*, deve ser tomada uma precautória abordagem mais conservadora (SELLAS et al., 2015). Considerando-se o estado de conservação da raia pintada e a escassez de informações básicas sobre sua biologia no Brasil, são necessárias mais investigações para entender as tendências de longo prazo da população, relações ecológicas com outras espécies, e os impactos sobre a população e seus habitats. Para avaliar adequadamente o impacto da exploração de raias, é necessário conhecer a dinâmica populacional, as taxas de crescimento, idade de maturidade e de fecundidade (MARTIN e CAILLIET, 1988). Desse modo, é imprescindível estudar a história de vida da *Aetobatus narinari*, compreender seus padrões de movimento, biologia pesqueira, estrutura populacional e seus *status* de conservação a fim de desenvolver planos de manejo adequados.

A tese foi dividida em três capítulos:

**CAPÍTULO 2** - Age and growth of the Whitespotted eagle ray *Aetobatus narinari* (Myliobatiformes) caught in the Northeast of Brazil

**CAPÍTULO 3** - Reprodução e dieta da raia *Aetobatus narinari* (Myliobatiformes) capturada no Litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil

**CAPÍTULO 4** - Morfometria e estrutura populacional de *Aetobatus narinari* (Myliobatiformes) capturada no Litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil

## Referências

- AJEMIAN, M.J.; POWERS, S.P.; MURDOCH, T.J.T. Estimating the potential impacts of large mesopredators on benthic resources: integrative assessment of spotted eagle ray foraging ecology in Bermuda. **PLoS One**, v. 7, e40227, 2012.
- ARAÚJO, M.L.G.D.E. Uso de habitats essenciais e recrutamento de espécies de peixes teleósteos e elasmobrânquios no Nordeste do Brasil. Relatório técnico CNPq. 2016.
- BASSOS-HULL, K.; WILKINSON, K.A.; HULL, P.T.; DOUGHERTY, D.A.; OMORI, K.L.; AILLOUD, L.E.; MORRIS, J.J.; HUETER, R.E. Life history and seasonal occurrence of the spotted eagle ray, *Aetobatus narinari*, in the eastern Gulf of Mexico. **Environmental Biology of Fishes**, v.97, p.1039-1056, 2014.
- BARBOSA, C.M.B.M. Sedimentos carbonáticos da plataforma continental do estado da Paraíba. **Tropical Oceanography**, v. 20, p.125-134, 1987.
- BIGELOW, H.B.; SCHROEDER, W.C. Sawfishes, guitarfishes, skates and rays. In: TEEVAN, J.; BREDER, C.M.; PARR, A.E.; SCHROEDER, W.C.; SCHULTZ, L.P. Fishes of the western North Atlantic. New Haven: Memoir Sears Foundation for Marine Research, 1953. p.2-588.
- BIZZARRO, J.J.; SMITH, W.D.; MÁRQUEZ-FARÍAS, J.F.; TYMINSKI, J.; HUETER, R.E. Temporal variation in the artisanal elasmobranch fishery of Sonora, Mexico. **Fisheries research**, v.97, p.103-117, 2009.
- CARNEIRO, P.B.M.; SALLES, R. Caracterização da pescaria com rede de emalhar derivante realizada no município de Fortaleza, estado do Ceará. **Arquivos de Ciências do Mar**, v.44, p.69-80, 2011.
- CÉRVIGON, F. **Los peces marinos de Venezuela**. Caracas: Fundación Científica Los Roques, 1991. 425p.
- CORDOVÉS, M.; RON, E.; CORDOVÉS, P.; TAVARES, R. Caracterización de las capturas comerciales del chucho pintado, *Aetobatus narinari* (Elasmobranchii: Myliobatidae), procedentes del Archipiélago de Los Frailes. **Anartia**, v. 25, p.47-63, 2013.
- EPEPE. **Ecologia dos Tubarões no litoral do Estado de Pernambuco**. Relatório Técnico Científico. UFRPE: Departamento de Pesca, 1995. 213p.
- GABRIEL, O.; LANGE, K.; DAHM, E.; WENDT, T. **Fish Catching Methods of the World**, 4th edition. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 2005. 533p.

HARMON, T.S.; KAMERMAN, T.Y.; CORWIN, A.L.; SELAS, A.B. Consecutive parthenogenetic births in a spotted eagle ray *Aetobatus narinari*. **Journal of Fish Biology**, v.88, p.741-745, 2016.

ICMBIO. **Avaliação do risco de extinção dos elasmobrânquios e quimeras no Brasil: 2010-2012**. Itajaí: ICMBIO / MMA / CEPSUL, 2016. 67p.

KEMPF, M. A Plataforma Continental de Pernambuco (Brasil): Nota Preliminar sobre a Natureza do Fundo. **Trabalhos Oceanográficos da Universidade Federal de Pernambuco**, v.9, 10, 11, p.111-124, 1967a.

KEMPF, M. Nota Preliminar Sobre Fundos Costeiros da Região de Itamaracá (Norte do Estado de Pernambuco, Brasil). **Trabalhos Oceanográficos da Universidade Federal de Pernambuco**, v. 9, 10, 11, p.95-110, 1967b.

LAST, P.R.; NAYLOR, G.J.P.; MANJAJI-MATSUMOTO, B.M. A revised classification of the family Dasyatidae (Chondrichthyes: Myliobatiformes) based on new morphological and molecular insights. **Zootaxa**, v.4139; p.345–368, 2016.

LAST, P. R.; WHITE, W. T.; DE CARVALHO, M. R.; SÉRET, B.; STEHMANN, M. F. W.; NAYLOR, G. J. P. **Rays of the World**. Ithaca, NY: Cornell University Press, 2016, 789p.

LÉOPOLD, M. **Guide des poissons de mer de Guyane**. Plouzané: Ifremer, 2004. 216p.

LESSA, R.P.T. Levantamento faunístico dos elasmobrânquios (Pisces, Chondrichthyes) do litoral ocidental do Estado do Maranhão. **Boletim Laboratório Hidrobiologia**, v. 7, p. 27-41, 1986.

LESSA, R.P.; SANTANA, F.M.; RINCON FILHO, G.; GADIG, O.B.; EL-DEIR, A.C. **Biodiversidade de Elasmobrânquios do Brasil**. Recife: Programa Nacional da Diversidade Biológica (PRONABIO), Relatório de pesquisa, 1999. 154p.

LESSA, R.; VOOREN, C.M.; ARAÚJO, M.L.G.; KOTAS, J.E.; ALMEIDA, P.C.; FILHO, G.R.; SANTANA, F.M.; GADIG, O.B.F.; SAMPAIO, C.; ALMEIDA, Z.; ALMEIDA, M.; ROSA, R.S. **Plano Nacional para Conservação e Manejo dos Estoques de Peixes Elasmobrânquios no Brasil**. Recife: Sociedade Brasileira para o Estudo de Elasmobrânquios – SBEEL, 2005. 100p.

LESSA, R.P.; VIEIRA, A.C.S.; MONTEIRO, A.; SANTOS, J.S.; LIMA, M.M.; CUNHA, E.J.; SOUZA JUNIOR, J.C.A.; BEZERRA, S.; TRAVASSOS, P.E.P.; OLIVEIRA, B.A.B.R. Diagnóstico da Pesca no litoral de Pernambuco. In: ISAAC, V.J.; MARTINS, A.S.; HAIMOVICI, M.; ANDRIGUETTO FILHO, J.M.. A pesca marinha e estuarina do Brasil no início do século XXI: Recursos, tecnologias, aspectos socioeconômicos e institucionais. Belém: Universidade Federal do Pará, 2006, p.1-188.

- LESSA, R.P.; NÓBREGA, M.F.; BEZERRA, J.R.; BEZERRA, J.L.; MUNIZ, B.; TRAVASSOS, P.; HAZIN, F.H.V.; LINSOLIVEIRA, J. **Dinâmica das frotas Pesqueiras da Região Nordeste do Brasil**. 1. ed. Fortaleza: Martins & Cordeiro LTDA, 2009. 164p.
- LIRA, L.; MESQUITA, B.; SOUZA, M.M.C.; LEITE, A.P.A.; FARIAS, A.M.; GALVÃO, C. **Diagnóstico da pesca artesanal do litoral de Pernambuco**. Volume I. Recife: Instituto Oceanário de Pernambuco: Departamento de Pesca e Aquicultura da UFRPE, 2010. 120p.
- MANSO, V.A.V.; COUTINHO, P.N.; GUERRA, N.C.; JUNIOR, C.F.A.S. Erosão e Progradação do litoral Brasileiro: Pernambuco. In: MUEHE, D.. Erosão e Progradação no litoral brasileiro. Brasília: MMA, 2006. 179 -196p.
- MARIANO, E.F.; ROSA R.S. Caracterização da pesca artesanal no litoral da Paraíba: embarcações, procedimentos e capturas da pesca embarcada. **Boletim Técnico-Científico do CEPENE**, Tamandaré – PE, v. 18, p.61-74, 2010.
- MARION, C. Função da Baía de Todos Os Santos no ciclo de vida da arraia branca, *Dasyatis guttata* (Elasmobranchii: Dasyatidae). 2015. 181p. **Tese (Doutorado)** – Universidade de São Paulo, São Paulo.
- MARTIN, L.K.; CAILLIET, G.M. Age and Growth Determination of the Bat Ray, *Myliobatis californica* Gill, in Central California. **Copeia**, v.3, p.762-773, 1988.
- McEACHRAN, J.D.; CARVALHO, M.R. Myliobatidae. In: CARPENTER, K.E.. The living marine resources of the Western Central Atlantic. Rome, FAO, 2002. p. 578-582.
- MELO, A.C.M. Biologia Reprodutiva e Pesca da Raia *Dasyatis guttata* (Bloch & Schneider, 1801) (Elasmobranchii: Dasyatidae) na Plataforma Continental de Pernambuco, Brasil. 2016. 99p. **Dissertação (Mestrado)** – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.
- MENANI, C.R. Linha Lateral e morfologia dentaria de *Aetobatus narinari* e *Dasyatis marianae* (Myliobatiformes) como mecanismos de predação. 2019. **Dissertação (Mestrado)** - Universidade Federal de Pernambuco, Recife.
- NÓBREGA, M.F.; LESSA, R.P. Descrição e composição das capturas da frota pesqueira artesanal da região nordeste do Brasil. **Arquivos de Ciências do Mar**, v.40, p.64-74, 2007.
- PIORSKI, M.N.; SERPA, S.S.; NUNES, J.L.S. Análise comparative da pesca de curral na Ilha de São Luiz, estado do Maranhão, Brasil. **Arquivos de Ciência do Mar**, v.42, p.1-7, 2009.
- QUEIROZ, A.P.N. Ecologia alimentar de *Dasyatis guttata* (Bloch & Schneider, 1801) (dasyatidae: myliobatoidei) capturada pela pesca artesanal no litoral de Pernambuco, Brasil. 2017. **Dissertação (Mestrado)** - Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

RICHARDS, V.P.; HENNING, M.; WITZELL, W.; SHIVJI, M.S. Species Delineation and Evolutionary History of the Globally Distributed Spotted Eagle Ray (*Aetobatus narinari*). **Journal of Heredity**, v.100, p.273-283, 2009.

SALES, J.B.; OLIVEIRA, C.N.; SANTOS, W.C.; ROTUNDO, M.M.; FERREIRA, Y.D.; READY, J.L.; SAMPAIO, I.C.; OLIVEIRA, C.; CRUZ, V.P.; LARA-MENDOZA, R.E.; RODRIGUES-FILHO, L.F. Phylogeography of eagle rays of the genus *Aetobatus*: *Aetobatus narinari* is restricted to the continental western Atlantic Ocean. **Hydrobiologia**, v. 836, p. 169-183, 2019.

SANTANDER NETO, J. História de Vida de *Urotrygon microphthalmum* na costa de Pernambuco, nordeste do Brasil. 2015. 141. **Tese (Doutorado)** - Universidade Federal de Pernambuco.

SCHLUESSEL, V.; BENNETT, M.B.; COLLIN, S.P. Diet and reproduction in the white-spotted eagle ray *Aetobatus narinari* from Queensland, Australia and the Penghu Islands, Taiwan. **Marine and Freshwater Research**, v.61, p.1278-1289, 2010.

SELLAS, A.B.; BASSOS-HULL, K.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.C.; ANGULO-VALDÉS, J.A.; BERNAL, M.A.; HUETER, R.E. Population Structure and Seasonal Migration of the Spotted Eagle Ray, *Aetobatus narinari*. **Journal of Heredity**, v.106, p.266-275, 2015.

SERRANO-FLORES, F.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.C.; MÉNDEZ-LOEZA, I.; BASSOS-HULL, K.; AJEMIAN, M.J. Comparison between the feeding habits of spotted eagle ray (*Aetobatus narinari*) and their potential prey in the southern Gulf of Mexico. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, v. 99, p. 661- 672, 2019.

SHERIEF, P.M.; JOSEPH, R.; THOMAS, S.N.; EDWIN, L. Design and general features of Ray gillnets used in Kanyakumari coast. **International Journal of Engineering Trends and Technology (IJETT)**, v.25, p.150-155, 2015.

SPARRE, P.; VENEMA, S.C. **Introdução à avaliação de mananciais de peixes tropicais**. Parte 1: Manual. Roma: FAO Documento Técnico sobre as pescas, 1997. 404p.

SWIDER, D.A.; CORWIN, A.L.; KAMERMAN, T.Y.; ZIMMERMAN, S.L.; VIOLETTA, G.C.; DAVIS, J.; JANSE, M. Chapter 42: Reproduction of spotted eagle rays, *Aetobatus narinari*, in aquaria. In: SMITH, M.; WARMOLTS, D.; THONEY, D.; HUETER, R.; MURRAY, M.; EZURRA, J.. *The Elasmobranch Husbandry Manual II: Recent Advances in the Care of Sharks, Rays and their Relatives*, Special Publication of the Ohio Biological Survey, 2017. p.433-442.

TAGLIAFICO, A.; RAGO, N.; RANGEL, S.; MENDOZA, J. Exploitation and reproduction of the spotted eagle ray (*Aetobatus narinari*) in the Los Frailes Archipelago, Venezuela. **Fishery Bulletin**, v.110, p.307-316, 2012.

WHITE, W.T.; LAST, P.R.; NAYLOR, G.J.P.; JENSEN, K.; CAIRA, J.N. Clarification of *Aetobatus ocellatus* (Kuhl, 1823) as a valid species, and a comparison with *Aetobatus narinari* (Euphrasen, 1790) (Rajiformes: Myliobatidae). **CSIRO Marine and Atmospheric Research Paper**, v.32, p.141-164, 2010.

WHITE, W.T.; NAYLOR, G.J.P. Resurrection of the family Aetobatidae (Myliobatiformes) for the pelagic eagle rays, genus *Aetobatus*. **Zootaxa**, v.4139, p.435–438, 2016.

YOKOTA, L.; LESSA, R.P. A nursery area for sharks and rays in Northeastern Brazil. **Environmental Biology of Fishes**, v.75, p.349-360, 2006.

## CAPÍTULO 2

### **Age and growth of the Whitespotted eagle ray *Aetobatus narinari* (Myliobatiformes) caught in the Northeast of Brazil**

Artigo submetido ao periódico *Journal of Fish Biology* (Online ISSN:1095-8649)

Age and growth of the Whitespotted eagle ray *Aetobatus narinari* (Myliobatiformes) caught in the Northeast of Brazil

P. R. V. ARAÚJO \* AND R. LESSA†

\**Departamento de Pesca e Aquicultura (DEPAq), Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Dois Irmãos, Recife, PE, CEP 52171-900, Brazil, † Departamento de Pesca e Aquicultura (DEPAq), Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Dois Irmãos, Recife, PE, CEP 52171-900, Brazil*

### Abstract

This work aimed to study the growth of Whitespotted eagle ray *Aetobatus narinari* (Aetobatidae) caught by artisanal fishing off the coast of Paraíba and Pernambuco (07°30' S; 34°49' W / 07°47' S; 34°51'W), Northeast Brazil. The samples were monthly collected in Autumn 2015 and between Autumn 2016 and Winter 2018 by artisanal fishing in the region. The individuals were identified, the disc width ( $W_D$  mm) measured, the sex determined and age estimated by counting the translucent bands of the vertebrae. Age was determined in 50 individuals, 26 females ( $W_D$ : 532 - 1550 mm) and 24 males ( $W_D$ : 442 - 1360 mm). Individuals whose vertebrae had only the birth mark was between 442 and 606 mm  $W_D$ . Females were mature between 4 and 9 years and males were mature between 4 and 8 years. The marginal increment ratio ( $R_{MI}$ ) presented the lowest quarterly value in the second trimester of the study period. Among the five models studied, the Akaike information criterion (AIC) showed that von Bertalanffy had the best fit for both sexes. Growth parameters for females were  $W_\infty = 1642$  mm;  $k = 0.18 \text{ year}^{-1}$  e  $t_0 = -2.4$ ; and for males  $W_\infty = 1533$  mm;  $k = 0.25 \text{ year}^{-1}$  e  $t_0 = -1.9$ . The oldest individuals in the sample were a female with nine years and 1550 mm  $W_D$  and a male with five years and 1360 mm  $W_D$ . The present study may contribute to fishery management and conservation of the species.

Key words: Aetobatidae; artisanal fishing; growth; Myliobatiformes; Northeast of Brazil; vertebrae.

### Introduction

The Whitespotted eagle ray *Aetobatus narinari* (Euphrasen 1790) belongs to the family Aetobatidae (White and Naylor, 2016), which groups large pelagic rays with a rhomboid wing-shaped disc, narrow head, pectoral fins at eye level, dorsolateral spiracles, ventral and wide mouth. The genus *Aetobatus* currently has five species distributed in tropical regions of the world: longhead eagle ray *Aetobatus flagellum* (Bloch and Schneider 1801), Pacific eagle ray *Aetobatus laticeps* (Gill 1865), Whitespotted eagle ray *A. narinari*, naru eagle ray

*Aetobatus narutobiei* (White, Furumitsu and Yamaguchi 2013), and spotted eagle ray *Aetobatus ocellatus* (Kuhl 1823).

Previously considered a species of circunglobal distribution in tropical and warm-temperate coastal areas (Bigelow and Schroeder, 1953), variations in the color pattern of *A. narinari* as well as parasitological and genetic evidence indicated that it is a species complex comprising the least three distinct lineages with no genetic exchange between individuals (Richards *et al.*, 2009; Schluessel *et al.*, 2010). Recently a phylogeographic study of *A. narinari* indicated that the species occurs only in the western Atlantic (Sales *et al.*, 2019). Since part of information on the biology of the species was obtained from Indo-Pacific populations, the taxonomic redefinition significantly reduced its scientific literature (Tagliafico *et al.*, 2012). The reproductive biology, population structure, phylogeography, diet and fishing of *A. narinari* have been studied in Gulf of Mexico, Venezuela, Cuba, Southeastern United States, Bermuda, Brazil (Cuevas-Zimbrón *et al.*, 2011; Tagliafico *et al.*, 2012; Ajemian *et al.*, 2012; Janse *et al.*, 2013; Bassos-Hull *et al.*, 2014; Newby *et al.*, 2014; Sellas *et al.*, 2015; Serrano-Flores *et al.*, 2019; Sales *et al.*, 2019).

Studies on age and growth of Myliobatiformes rays have been performed around the world, being observed slow growth and considerable longevity (Martin and Cailliet, 1988; Neer and Thompson, 2005; Yamaguchi *et al.*, 2005; Gianeti *et al.*, 2019). For the species *Aetobatus narinari*, there is little information on age and growth only from areas of the North Atlantic; in addition the growth parameters are quite different from each other, as well as the periodicity of formation of the growth rings (Dubick, 2000; Bassos-Hull *et al.*, 2014; López, 2015). To properly assess the impact of the exploitation of rays, it is necessary to know, among other parameters, the growth rates, age of maturity and fertility (Martin and Cailliet, 1988).

The vulnerability of the Whitespotted eagle ray to fishing gear as well as its biological characteristics (slow growth, late sexual maturity, annual reproductive cycle, low fertility) possibly leads the species to a world list for signs of population decline (Bassos-Hull *et al.*, 2014). According to Sellas *et al.* (2015), in areas where *A. narinari* is targeted, a conservative approach should be taken when identifying stock units for fisheries management. Myliobatiformes rays as *A. narinari* occur throughout Brazil (Lessa *et al.*, 1999), in Northeast region of the country, in Caiçara do Norte, the Whitespotted eagle ray seems to use the area as nursery (Yokota and Lessa, 2006), and in Pernambuco it is a resident species that occurs in coastal regions near estuaries (ETEPE, 1995). On the coast of Paraíba and Pernambuco *A. narinari* is captured by artisanal fishery such as fishing weirs, bottom gillnets, caçoieira net

(directed to the capture of sharks), and ray net (also directed to the capture of southern stingray *Hypanus americanus* (Hildebrand and Schroeder 1928)) (Lessa et al., 1999; ICMBIO, 2016). However, the captured amount of elasmobranchs species is unknown due to the lack of a fishing statistics system (ICMBIO, 2016). Due to lack of information on its biology, population trends, capture by artisanal fishing and environmental degradation of coastal areas, the conservation status of *A. narinari* for Brazil is DD – Data Deficient (ICMBIO, 2016). Therefore, further investigation is required on whitespotted eagle ray biology on the coast of Pernambuco and Paraíba, thus, the present study aimed to estimating the age, the growth parameters, seeks to contribute to fisheries management and conservation of the species in the region.

### **Materials and methods**

No ethics approval was required for this study since no experimentation was performed on live animals. The samples were derived from artisanal fishery whose specimens of *Aetobatus narinari* were landed dead. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBIO) permanent License nº 49663-1.

The study was conducted in four artisanal fishing landing areas: on the southern coast of Paraíba in Acaú (07°30'51"S; 34°49'11"W) in the Pitimbu city; and on the northern coast of Pernambuco, in the Barra de Catuama (07°40'31"S; 34°49'48"W) in the Goiana city, in Jaguaribe (07°47'7"S; 34°51'22"W) in the Itamaracá city, and in Cais do Apolo in Recife city (08°3'29"S; 34°51'41"W) (Figure 1).

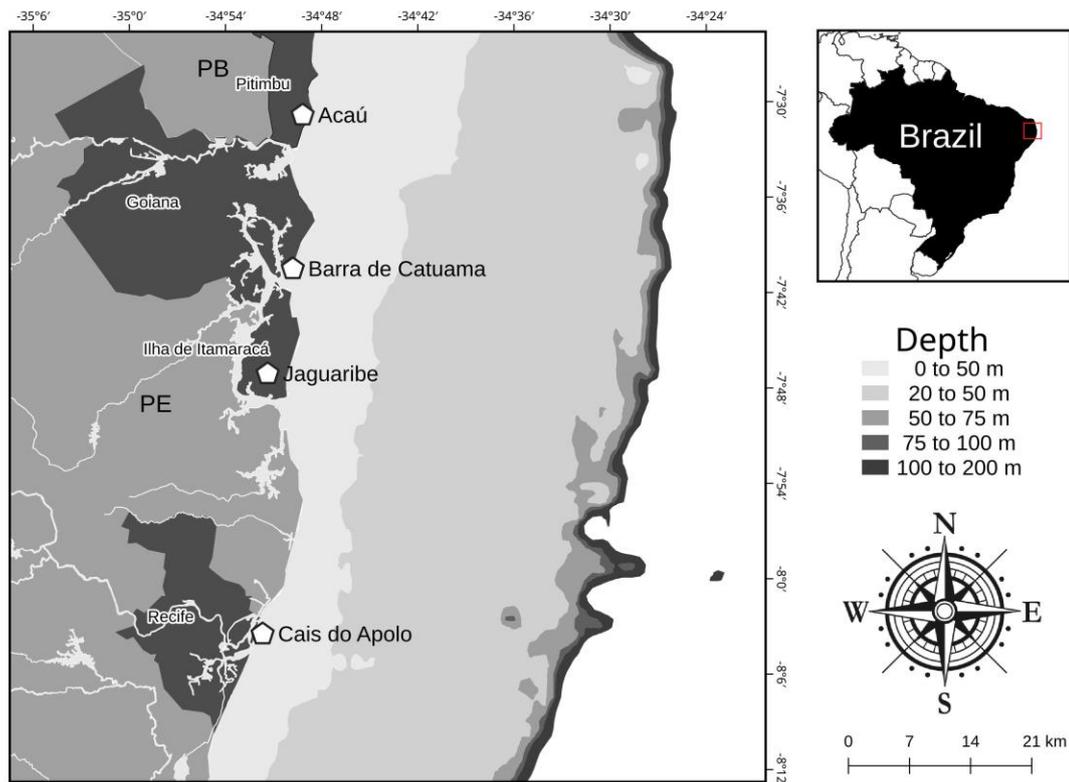


Figure 1. Map of the study area indicating the landing sites (Acaú, Barra de Catuama, Jaguaribe, Cais do Apolo) of the artisanal fishery that captured the specimens of *Aetobatus narinari* on the coast of Paraíba and Pernambuco, Brazil.

In Pernambuco, the raieira is a bottom gill nets used for catching rays and sharks (Lira *et al.*, 2010), made of silk nylon, which allows greater malleability in the water, preventing the mesh from being tensioned. In the present study, during fishing operations the nets (one to nine nets per boat, with mesh measures between 180 and 270 mm between opposed knots; 3.85 to 5.4 m high; and 58.1 to 107.8 m in length) were launched at the end of the day, at depths up to 25 m, and retrieved in the morning, remained immersed for 12 h. In this process the rays are caught by the sting, teeth, jaws, fins or other protrusions without having penetrated the mesh (Sparre and Venema, 1997; Sherief *et al.*, 2015), therefore the mesh size does not select individuals. As for the vessels used in the study area, in Barra de Catuama, a 7 m long fiber-coated wooden baiteira with a 7 hp engine was used; in Itamaracá, a 6 m long sailing raft was used with a 7 hp engine; and in Acaú a boat with a cabin with a 25 hp engine and 8 m long.

To monitor fishing operations and collect individuals, field samples were taken in May and July 2015 and monthly between April 2016 and August 2018. Mesh size between opposed knots (mm), net length (m), net height (m) of the net were measured, and the number of

individuals caught per fishing operation. The specimens were identified by species (Bigelow and Schroeder, 1953; Gomes *et al.*, 2000; McEachran and Carvalho, 2002; White *et al.*, 2010; Bonfil, 2016; Carpenter and De Angelis, 2016; Last *et al.*, 2016) and sex, were photographed, the disc width ( $W_D$ ) was recorded in millimeters. Biological materials, as gonads, vertebrae, stomachs and viscera were processed at the laboratory.

Four to six thoracic vertebrae were removed from each individual and then preserved in 70% ethanol for 1-2 weeks after the removal of excess tissue (Lessa *et al.*, 2004). Vertebrae were inserted into resin and longitudinally sectioned with a low speed saw (Isomet). Based on the pattern of opaque (wide) and translucent (narrow) bands, the birth mark identified (Cailliet, 2006), growth rings along the *corpus calcareum* were counted under a stereoscopic microscope using transmitted light (Cailliet and Goldman, 2004) (Figure 2).

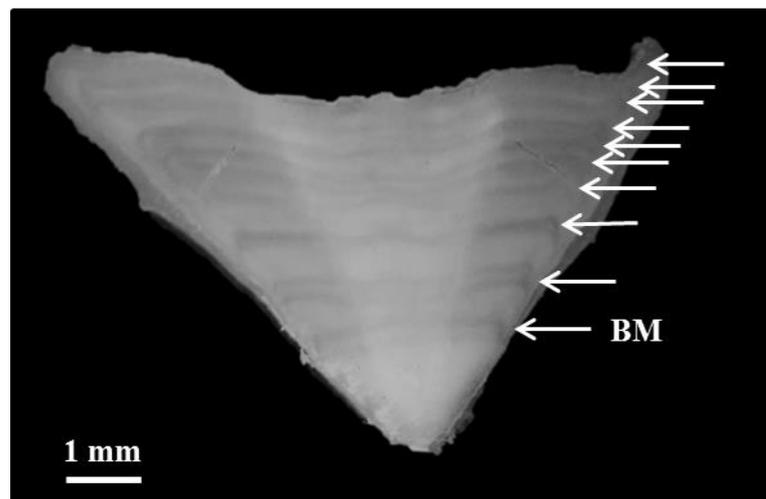


Figure 2. Vertebra section of a 1550 mm  $W_D$  female from *Aetobatus narinari* estimated to have 10 rings including birth mark (BM) captured off the Northeast coast of Brazil.

Vertebral readings were made by two readers without the knowledge of disc width (Goldman, 2005). The variability between readings was estimated by age bias plot analysis and by the average percent error (APE). Individuals for which there was no consensus between readers a third consensual reading was carried out. To estimate the error per ring

class APE was estimated following Campana (2001):  $APE = 100\% \times \frac{1}{R} \times \sum_{i=1}^R \frac{|X_{ij} - \overline{X}_j|}{\overline{X}_j}$ ,  $X_{ij}$  is

the reading  $i$  of the individual  $j$ ,  $\overline{X}_j$  is the average of readings of individual  $j$  and  $R$  is the number of readings compared.

The radius of the vertebra ( $V_R$ ) recorded as a straight line (mm), from the focus to the outer margin of the *corpus calcareum* and the distance from the focus to each ring were recorded to the beginning of the translucent band. The relationship between  $V_R$  and  $W_D$  was calculated by sex to determine the proportional relationship between somatic and vertebral growth (Cailliet and Goldman, 2004) and significant differences between the sexes using ANCOVA (Charvet *et al.*, 2018).

The back calculated disc widths corresponding to previous ages were estimated by the equation of Fraser-Lee (Francis, 1990)  $W_t = \frac{D_n}{V_R} \times (W_D - a) + a$ , where  $W_t$  is the back calculated disc width corresponding to age  $t$ ;  $D_n$  is the distance from the vertebra nucleus to the ring  $n$ ;  $V_R$  is the distance between the nucleus and the edge of the vertebra;  $W_D$  is the disc width of the individual; and  $a$  is the intercept value of the relationship between  $V_R$  and  $W_D$ .

To verify the periodicity of ring formation, the marginal increment was calculated according to Natanson *et al.* (1995)  $R_{MI} = \frac{V_R - R_n}{R_n - R_{n-1}}$ , where  $R_{MI}$  is the relative marginal increment,  $V_R$  is the radius of the vertebra,  $R_n$  is the radius of the last age ring and  $R_{n-1}$  is the radius of the penultimate to the last fully formed ring. The quarterly variation of opaque rings ( $R_{MI} > 0.3$ ), translucent rings ( $R_{MI} > 0$  a 0.3) and rings that begin to form ( $R_{MI} = 0$ ) was evaluated according to Charvet *et al.* (2018).

From the number of rings and disc width data five growth models were adjusted: Von Bertalanffy (VBGF) (Beverton and Holt, 1957)  $W_t = W_\infty \times [1 - e^{-k(t-t_0)}]$ ; a modified form of the VBGF (VBGF mod) proposed by Fabens (1965)  $W_t = W_0 + (W_\infty - W_0) \times (1 - e^{-k_1 t})$ ; Gompertz (1825) (Ricker, 1979)  $W_t = W_\infty * (e^{-ae^{-k_2 t}})$ ; the logistics function (Schnute, 1981)  $W_t = W_\infty \times (1 + e^{-k_3 \times (t-t_1)})^{-1}$ ,  $t_0$  is the tipping point of the sigmoidal curve; and the two-phase growth model (Araya and Cubillos, 2006)  $W_t = W_\infty [1 - e^{-k_4 A_t (t-t_2)}]$ . In these models, the parameter  $W_t$  is the predicted disc width at age  $t$ ,  $W_\infty$  is the mean asymptotic disc width,  $k$  is the relative growth coefficient,  $t$  is the age,  $t_0$  is the theoretical age for a null  $W_t$ ,  $W_0$  is the size at birth,  $k_1$  is the growth coefficient, interpretation of  $k_1$  is similar to that of  $k$ ,  $t_2$  is the inflection point of the sigmoidal curve,  $A_t$  is a factor that changes  $k$  as age increases,  $A_t = 1 - \{(h)[(t - t_h)^2 + 1]^{-1}\}$ ,  $t_h$  is the age at which occurs the transition between the two phases,  $h$  determines the magnitude of the maximum disc width difference in age between von Bertalanffy growth model and the two-phase growth model at the  $t_h$  point.

The Akaike Information Criterion was estimated (AIC) (Akaike, 1973) to indicate which model presented the best fit to the data. The Akaike difference calculations ( $\Delta_i$ ) and weight of Akaike ( $w_i$ ) were also estimated as part of the multi model inference (Burnham and Anderson, 2002)  $\Delta_i = AIC_i - AIC_{\min}$  and  $w_i = \frac{1}{\sum_{i=1}^m (w_i \times W_{\infty}, i)}$  to select the most suitable models. When calculating the AIC values the best models was considered that models with  $\Delta_i < 2$  have substantial support, while models with  $4 < \Delta_i < 7$  have considerably less support and models with  $\Delta_i > 10$  are not supported and should be omitted (Katsanevakis, 2006). After selecting the model with the highest support for grouped sexes, it was verified by the Chi-square test ( $\chi^2$ ) based on likelihood values whether there was a significant difference for the same model between separate males and females and grouped sexes (kimura, 1980).

The periodicity of the growth band pairs was verified following Okamura e Semba (2009) using three models with different growth band formation periodicities: an annual cycle, a semiannual cycle or no seasonal cycle, so that the model with the lowest Akaike information criterion (AIC) (Akaike, 1973) is preferred because it is estimated to be closer to the unknown reality that generated the models. Vertebrae with only one band (birth band) were excluded from the analysis.

## Results

Throughout the year fishing with the raieira net was monitored in Goiana, Acaú and Itamaracá. However, it was not possible to obtain monthly samples in all places simultaneously. *A. narinari* was caught in 87.8% of monitored fishing operations. A total of 72 individuals (34 males, 32 females and six rays of unidentified sex, due to the absence of pelvic fins) were captured in: Goiana (n = 18) in January and from March to July; Acaú (n = 13) in March and September, and in Itamaracá (n = 41) from January to December (except April and June) (Table 1). The number of *A. narinari* captured ranged from 0 to 7 individuals; the highest values were from September to November 2017 (Figure 3). The sex ratio showed no significant difference for each sampling site (Goiana,  $X^2 = 1.31$ ; Acaú,  $X^2 = 0.07$ ; Itamaracá,  $X^2 = 1.81$ ) (Table 1), however variations observed by location are due to the small sample size.

Table 1. Comparison of fishing methods and catch composition of *Aetobatus narinari* by fishing between three localities of Northeast Brazil. N is number of individuals.

	Goiana	Acaú	Itamaracá
<b>Mesh size between opposed nodes (mm)</b>	180	255 - 270	270
<b>Net Height (m)</b>	3.85	5.4	4
<b>Net length (m)</b>	107.8	58.1 – 132.8	103.2
<b>Range <math>W_D</math> Females (cm) / N</b>	45 – 128 / 7	80 – 144 / 7	84 – 155 / 18
<b>Range <math>W_D</math> Males (cm) / N</b>	44.2 – 136 / 11	124 – 141 / 6	100.5 - 131.6 / 17
<b>Sex ratio (Males : Females)</b>	1:0.58	1:1.16	1:1.7
<b>N / operation</b>	0 – 3	3 – 5	0 – 7

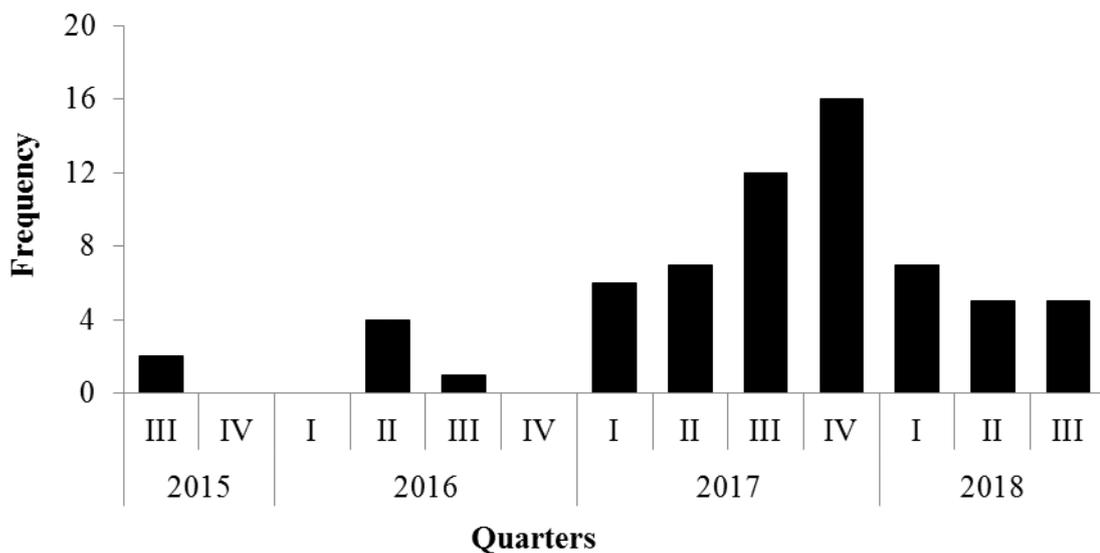


Figure 3. Number of individuals of *Aetobatus narinari* by quarter of the year by artisanal fishing in Autumn 2015 and Autumn 2016 to Winter 2018 on the Northeast coast of Brazil.

Comparing the three locations studied, in Acaú and Itamaracá the nets are launched in deeper areas between 10 and 25 m and farther from the coast, while in Goiana fishing operations are carried out in shallower areas (up to 8 m) near the coast and in estuarine areas. Regarding the fishing gear, the largest nets were found in Acaú and the smallest in Goiana; and in relation to size of the individuals, in Goiana the smallest males and females were captured, in Itamaracá the largest females and in Acaú the largest males (Table 1).

The vertebrae of 50 individuals were used (24 males and 26 females) for the growth study. The  $V_R - W_D$  relationship for females was described by the equation  $W_D = 21,039 V_R + 29,839$  ( $R^2 = 0.92$ ) and for males  $W_D = 21,576 V_R + 31,145$  ( $R^2 = 0.86$ ) (Figure 4). According to the ANCOVA test for  $V_R - W_D$  relation there was no significant difference for males and females ( $F = 1.33$ ;  $p = 0.25$ ).

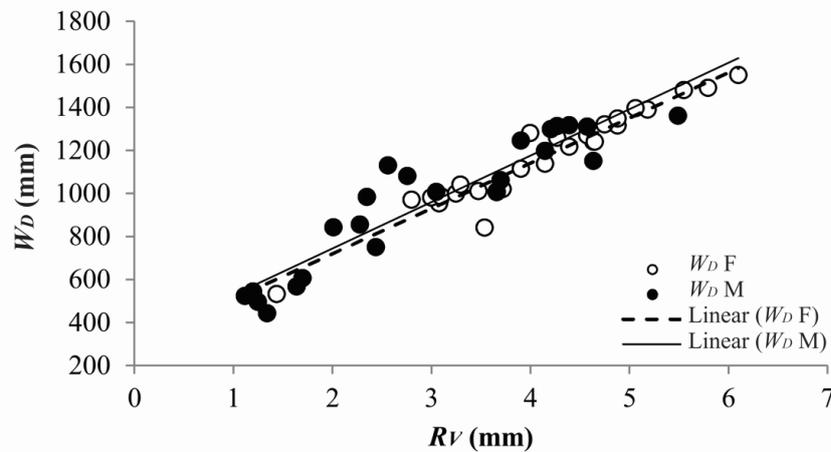


Figure 4. Relationship between the radius of the vertebrae ( $V_R$ ) and disc width ( $W_D$ ) of *Aetobatus narinari* captured off the Northeast coast of Brazil.

From 1 to 10 rings were counted, ring 1 being equivalent to the birth mark, thus the ages of the sampled individuals ranged from zero to nine years. Vertebrae readings showed low APE value (1.39%). Zero year individuals presented only birth marks and were represented by a female of 532 mm  $W_D$  and males with  $W_D$  between 442 and 606 mm (n= 6) (Table 2), thus, for the modified von Bertalanffy model the  $W_0$  was 530 mm  $W_D$  which corresponds to the average size of males and females at age 0. Largest and oldest individuals were represented by a female with 1,550 mm  $W_D$  and nine years old and by a male with 1,360 mm  $W_D$  and five years old.

Table 2. Number of individuals, range and average disc width ( $W_D$ ) by age for each sex of *Aetobatus narinari* captured off the Northeast coast of Brazil. N is number of individuals.

Age (years)	Females			Males		
	N	$W_D$ range (mm)	$W_D$ mean (mm)	N	$W_D$ range (mm)	$W_D$ mean (mm)
0	1	532	532	6	442 - 606	529
1	2	953 - 970	961.5	4	750 - 983	857
2	7	840 - 1040	982	4	1005 - 1130	1050.3
3	2	1114 - 1138	1126	3	1008 - 1197	1095
4	3	1240 - 1270	1256	2	1150 - 1245	1197
5	4	1240 - 1320	1288	5	1298 - 1360	1319
6	3	1216 - 1480	1347			
7	1	1395	1395			
8	2	1395 - 1490	1442			
9	1	1550	1550			

The lowest quarterly  $R_{MI}$  value occurred in the second trimester of the study period, when 41.7% of individuals had the newly formed translucent band at the border (Figure 5). Due to the low number of individuals analyzed, the results based on the  $R_{MI}$  were not sufficient to validate the periodicity of ring formation. The proportion of translucent bands (Figure 6) tended to increase from December, peaking in April, decreasing in September. The results of the statistical analysis of Okamura e Semba (2009) indicated that the annual cycle of band formation was more plausible, since the model with this periodicity presented the lowest AIC (no seasonal cycle: 57.78; annual cycle: 52.71; biennial cycle: 60.92). Therefore, we assume that *A. narinari* forms one ring per year.

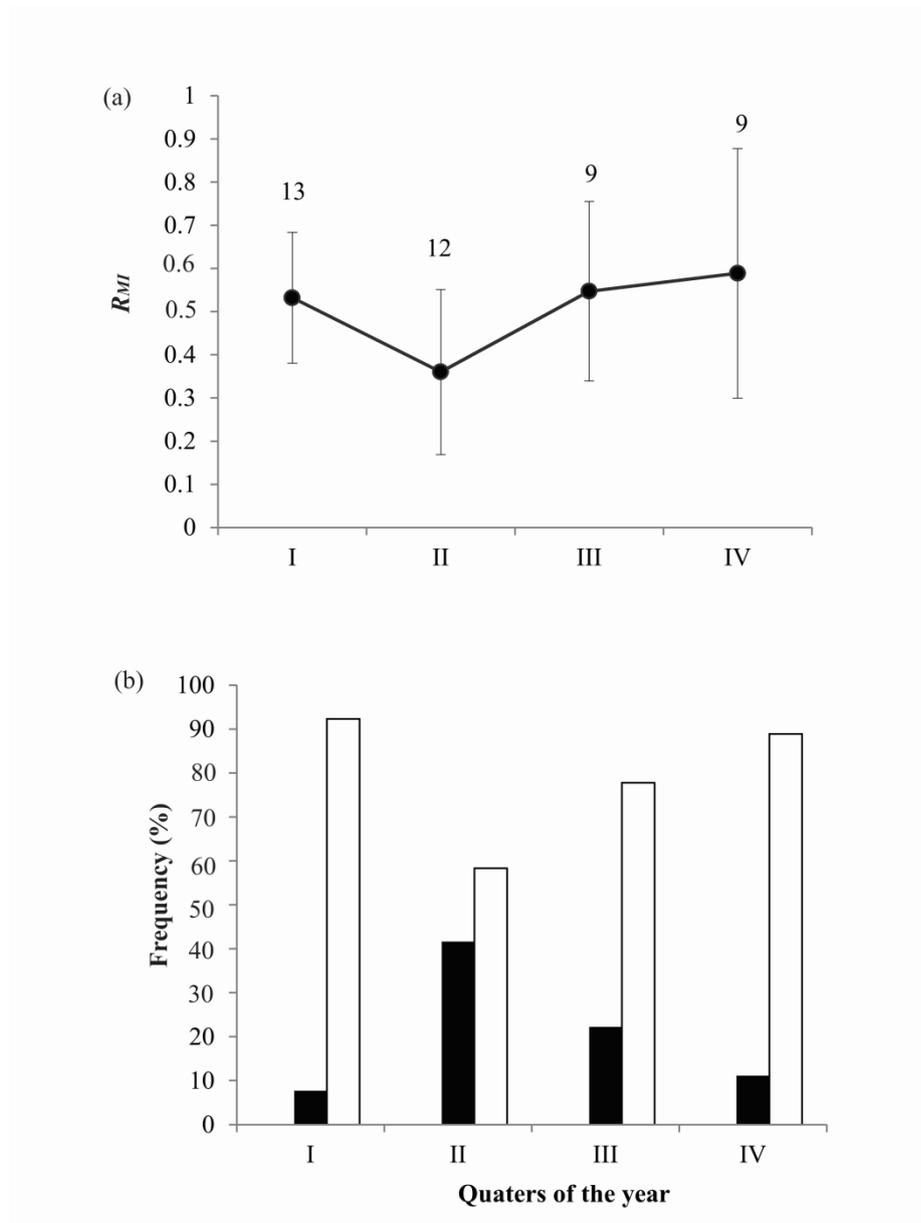


Figure 5. (a) Average per quarter of the year SD of the marginal increment ratio ( $R_{MI}$ ) for the entire sample and (b) frequency distribution of IMR values by quarter of the year (■,  $R_{MI} = 0-0.3$ ; □,  $R_{MI} > 0.3$ ) of *Aetobatus narinari* captured off the Northeast coast of Brazil.

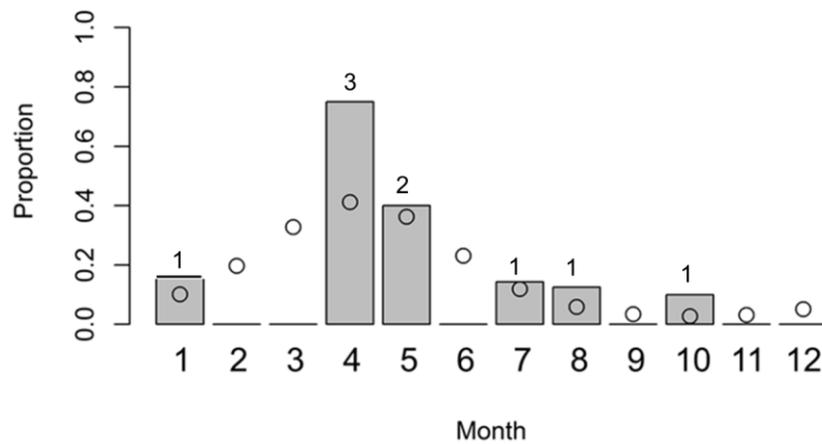


Figure 6 - Opaque bands observed in *Aetobatus narinari* captured off the Northeast coast of Brazil. The circles denote the likelihood of an annual growth band formation cycle, predicted by Okamura and Semba (2009) model.

The averages of the back-calculated disc widths at the ages of zero and one year were: for females 608 mm and 804 mm  $W_D$  (with increase of 196 mm in one year), and for males 620 mm and 808 mm  $W_D$  (with increase of 188 mm in one year) (Table 3). While older individuals presented: five years of age for males with back calculated mean  $W_D$  of 1287 mm (with increase of 119 mm in one year); and nine years of age for females with back calculated mean  $W_D$  of 1,525 mm (with increase of 92 mm in one year) (Table 3). Thus, in the first years of life, individuals of both sexes increased annually between zero and three years around 140 mm of  $W_D$ , showing fastest growth at this stage compared to other ages (Table 3).

Table 3. Observed and back calculated disc width ( $W_D$ ) in mm - age for females and males of *Aetobatus narinari* captured off the Northeast coast of Brazil.

<b>Females</b>											
<i>t</i>	<i>n</i>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>
		26	25	23	16	14	11	7	4	3	1
<i>Back calculated <math>W_D</math></i>											
<b>0</b>	1	493									
<b>1</b>	2	637	868								
<b>2</b>	7	571	783	919							
<b>3</b>	2	606	789	988	1082						
<b>4</b>	3	590	865	1048	1130	1200					
<b>5</b>	4	604	801	924	1021	1136	1240				
<b>6</b>	3	596	773	933	1006	1132	1201	1300			
<b>7</b>	1	619	773	889	991	1107	1184	1248	1332		
<b>8</b>	2	614	773	935	1006	1089	1172	1256	1320	1391	
<b>9</b>	1	636	812	962	1087	1187	1237	1300	1412	1475	1525
<i>Mean <math>W_D</math></i>		<b>608</b>	<b>804</b>	<b>950</b>	<b>1046</b>	<b>1142</b>	<b>1207</b>	<b>1276</b>	<b>1355</b>	<b>1433</b>	<b>1525</b>
<i>SD</i>		2.1	3.8	4.9	5.3	4.4	3.1	2.8	5.0	5.9	0.0
<i>Observed <math>W_D</math></i>											
<i>Mean <math>W_D</math></i>		<b>532</b>	<b>961.5</b>	<b>982</b>	<b>1126</b>	<b>1256</b>	<b>1288</b>	<b>1347</b>	<b>1389</b>	<b>1442</b>	<b>1550</b>
<i>SD</i>		0	1.2	6.6	1.7	1.5	3.7	13.2	0	6.7	0

<b>Males</b>							
<i>t</i>	<i>n</i>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
		24	18	14	10	7	5
<i>Back-calculated <math>W_D</math></i>							
<b>0</b>	6	491					
<b>1</b>	4	599	792				
<b>2</b>	4	651	817	990			
<b>3</b>	3	591	803	927	1047		
<b>4</b>	2	635	813	932	1067	1148	
<b>5</b>	5	626	816	980	1093	1189	1287
<i>Mean <math>W_D</math></i>		<b>620</b>	<b>808</b>	<b>957</b>	<b>1069</b>	<b>1168</b>	<b>1287</b>
<i>SD</i>		2.5	1.1	3.2	2.3	2.9	0
<i>Observed <math>W_D</math></i>							
<i>Mean <math>W_D</math></i>		<b>530</b>	<b>858</b>	<b>1050</b>	<b>1095</b>	<b>1198</b>	<b>1319</b>
<i>SD</i>		5.7	9.6	5.9	9.5	6.7	2.4

The model with the lowest estimated AIC value for the grouped sexes of *A. narinari* was the von Bertalanffy (VBGM); for females von Bertalanffy was followed by the two-phases model and for males von Bertalanffy was followed by Gompertz (Table 4). Adjusted

von Bertalanffy growth curves for *A. narinari* males and females had no significant difference ( $\chi^2 = 2.47$ ; d.f. = 1;  $p > 0.05$ ), however, the growth parameters of the model were estimated for the separated sexes (Figure 7), in order to better compare with the values available in the literature.

Table 4. Estimated growth parameters for *Aetobatus narinari* by models indicating the Akaike information criterion (AIC), ( $k$  / year = growth coefficient;  $W_\infty$  = asymptotic size;  $t_0$  = theoretical age at zero).

Sample	Model	Parameters	AIC	$\Delta i$	Wi %	LL
GROUPED SEX	VBGF	$W_\infty = 1526$ mm; $k = 0.23$ ; $t_0 = -2.1$	1383.1	<b>0.0</b>	73.2	687.5
	TPGF	$W_\infty = 1535$ mm; $k = 0.24$ ; $t_0 = -2.08$ ; $h = 0.05$ ; $th = 4.3$	1385.2	2.1	25.2	686.6
	Gompertz	$W_\infty = 1433$ mm; $k = 0.36$ ; $a = 0.84$	1390.7	7.5	1.6	691.3
	Logistics	$W_\infty = 1383$ mm; $k = 0.48$ ; $t_0 = 0.43$	1399.9	16.8	0.0	696.0
	VBGF mod	$W_0 = 530$ mm; $W_\infty = 1411$ mm; $k = 0.33$	1446.0	62.8	0.0	720.0
FEMALES	VBGF	$W_\infty = 1562$ mm; $k = 0.21$ ; $t_0 = -2.3$	866.6	<b>0.0</b>	50.9	429.3
	TPGF	$W_\infty = 1469$ mm; $k = 0.23$ ; $t_0 = -2.2$ ; $h = -0.73$ ; $th = 9.1$	866.7	<b>0.17</b>	46.7	427.4
	Gompertz	$W_\infty = 1461$ mm; $k = 0.32$ ; $a = 0.87$	872.7	6.2	2.3	432.4
	Logistics	$W_\infty = 1409$ mm; $k = 0.44$ ; $t_0 = 0.54$	879.8	13.2	0.1	435.9
	VBGF mod	$W_0 = 530$ mm; $W_\infty = 1442$ mm; $k = 0.29$	897.6	31.0	0.0	445.8
MALES	VBGF	$W_\infty = 1540$ mm; $k = 0.24$ ; $t_0 = -1.9$	522.0	<b>0.0</b>	52.3	257
	Gompertz	$W_\infty = 1400$ mm; $k = 0.41$ ; $a = 0.85$	523.5	<b>1.4</b>	25.2	257.7
	TPGF	$W_\infty = 1348$ mm; $k = 0.32$ ; $t_0 = -1.7$ ; $h = -0.5$ ; $th = 5.63$	524.9	2.8	12.8	256.4
	Logistics	$W_\infty = 1336$ mm; $k = 0.58$ ; $t_0 = 0.36$	525.4	3.3	9.7	258.7
	VBGF mod	$W_0 = 530$ mm; $W_\infty = 1399$ mm; $k = 0.35$	539.6	17.6	0.0	266.8

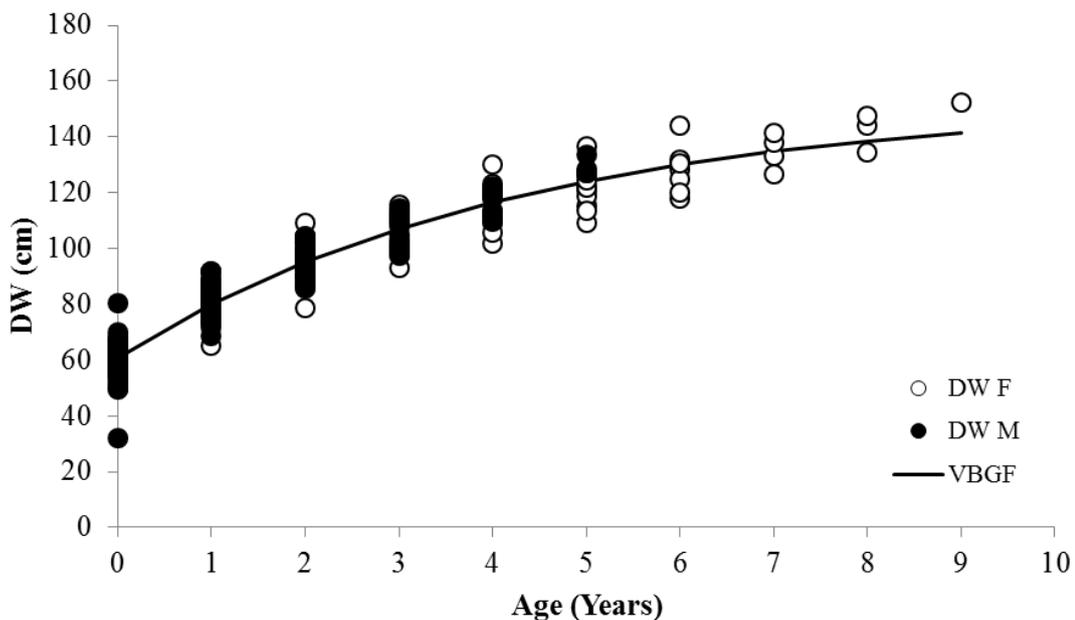


Figure 7. Von Bertalanffy model (VBGF) for the separate sexes (● males; ○ females; — VBGF) of *Aetobatus narinari* captured off the Northeast coast of Brazil.

## Discussion

The raieira net off the coast of Paraíba and Pernambuco captures *Aetobatus narinari*, *Hypanus americanus* and other rays species year round. Whitespotted eagle ray fishing has been reported for other regions as in Baía de Todos os Santos and in Pernambuco, Brazil (Marion, 2015; Melo, 2016); in Venezuela (during the year) (Tagliafico *et al.*, 2012); and in Mexico (between January and July) (Cuevas-Zimbrón *et al.*, 2011).

Sex ratio of *Aetobatus narinari* in the catches did not show a pattern in the present study. Differences in sex ratio also were observed in the capture of this species in Venezuela, with more females than males (Tagliafico *et al.*, 2012); and in Mexico, where in one locality there were more males ( $n = 105$ ) than females ( $n = 52$ ) and in another the opposite was observed ( $n = 221$ , for males and  $n = 383$  for females) (Cuevas-Zimbrón *et al.*, 2011).

In the studied area no large males were observed. It is possible that larger males do not use shallow areas where the raieira fishing activities are carried out. Net and mesh size of this fishing gear do not select the size of individuals, but the depth at which the net is placed. According to Sparre and Venema (1997) in this type of fishing gear, fish cannot be gilled, but they can become entangled in the net by teeth, jaws, fins or other protrusions, without having penetrated the mesh. According to Bassos-Hull *et al.* (2014), in southwest Florida males and smaller individuals tended to be found in shallower coastal waters, while more females and

larger individuals were found farther offshore in deeper waters. In northeastern Brazil, *A. narinari* neonates and juveniles were captured near the coast at depths less than 10 m (Yokota and Lessa, 2006). In Venezuela, for both sexes, individuals smaller than 1000 mm  $W_D$  were rarely found in the fishery, due to the height (8-10 m) of the net that prevents its use in shallower waters or due to the differential distribution of juveniles and adults (Tagliafico et al., 2012).

The von Bertalanffy growth model best described the growth of *A. narinari* captured off the coast of Paraíba and Pernambuco. Several models and model variations exist to estimate fish growth parameters, Von Bertalanffy growth function is used to describe fish growth more generally, while the Gompertz model have been most widely used for Myliobatiformes rays (Goldman, 2005). Previous age and growth studies of Myliobatiformes rays also used the growth function of von Bertalanffy and Gompertz (Table 5). Our results showed no significant difference between males and females growth curves, however females were represented by older and larger individuals. The same was observed for other Myliobatiformes species (Table 5).

Table 5. Back-calculated growth studies performed for Myliobatiformes rays. All disc width measurements are in mm. N is number of individuals, M are males and F are females.

Species	Author / local	N	Growth Function	Growth parameters	$W_D$ range	Maximum age (years)
<i>Aetobatus narinari</i>	Present study	26 F	von Bertalanffy	$W_\infty = 1642; k = 0.18; t_0 = -2.4$	532 - 1550	9
		24 M		$W_\infty = 1533; k = 0.25; t_0 = -1.9$	442 - 1360	5
<i>Aetobatus flagellum</i>	Yamaguchi <i>et al.</i> (2005) / Japan	158 M *	von Bertalanffy	$W_\infty = 1318; k = 0.13; t_0 = -2.09$	1000 (maximum $W_D$ )	9
		121 F *		$W_\infty = 1527; k = 0.11; t_0 = -2.1$	1500 (maximum $W_D$ )	19
<i>Aetobatus narinari</i>	Dubick (2000) / Puerto Rico	38 M	von Bertalanffy	$W_\infty = 1465; k = 0.08; t_0 = -4.09$	414 - 1362	21
		84 F		$W_\infty = 2459; k = 0.03; t_0 = -7.04$	439 - 1654	25
<i>Aetobatus narinari</i>	Bassos-Hull <i>et al.</i> (2014) / Florida	16 M	von Bertalanffy	$W_\infty = 1903; k = 0.26$		20
		6 F		$W_\infty = 1814; k = 0.76$		20
<i>Aetobatus narinari</i>	López (2015) / México	163 M	Gompertz	$W_\infty = 1400; k = 0.17; t_0 = -1$	315 - 1420	12
		107 F	von Bertalanffy	$W_\infty = 2000; k = 0.13; t_0 = -2$	550 - 1860	11
<i>Aetobatus ocellatus</i>	Schluessel (2008) / Australia and Taiwan	55 M	Gompertz	$W_\infty = 2749; k = 0.03; W_0 = 532$	1920 (maximum $W_D$ )	18 (33 +)
		56 F		$W_\infty = 3655; k = 0.02; W_0 = 558$	1677 (maximum $W_D$ )	34 +
<i>Myliobatis californica</i>	Martin and Cailliet (1988) / California	60 M	von Bertalanffy	$W_\infty = 1004; k = 0.22$	800 (maximum $W_D$ )	6
		104 F		$W_\infty = 1587; k = 0.09$	1400 (maximum $W_D$ )	23
<i>Hypanus guttatus</i>	Gianeti <i>et al.</i> (2019) / Bazil	95 M	von Bertalanffy	$W_\infty = 602; k = 0.219$	127 - 570	9
		101 F		$W_\infty = 986; k = 0.112$	130 - 885	14
<i>Rhinoptera bonasus</i>	Neer and Thompson (2005) / Golfo do México	106 M	Gompertz ♂♀	$W_\infty = 1100; k = 0.13; t_0 = -0.25$	338 - 960	16
		121 F	von Bertalanffy ♂♀	$W_\infty = 1238; k = 0.07; t_0 = -5.4$	336 - 1025	18

\* Sample size after back calculation; + indicates overestimated ages due to the inclusion of false growth bands in the ring count; ♂♀ sexes combined.

According to Yamaguchi *et al.* (2005) *A. flagellum* in Japan forms the birth mark (first ring) soon after birth. In the present study, from one to 10 rings were counted; thus, the first ring is equivalent to the birth mark. In the present study, due to the small sample size, the  $R_{MI}$  values were inconclusive, however, it was possible to suggest through the model of Okamura and Semba (2009) that annual growth is the more acceptable pattern for the species, therefore

we assumed that growth rings form in one year, and the formation period is suggested to occur in the second quarter of the year.

When comparing the results of the present study with the age and growth data of the whitespotted eagle ray in other regions, there are uncertainties regarding the periodicity of ring formation and the accuracy of age and growth parameters. This discrepancy can be explained by individual growth variability, biased samples and / or age estimation error; therefore validation studies are needed to verify whether there are false bands making the age estimate more reliable (Bassos-Hull *et al.*, 2014). For the whitespotted eagle rays in Puerto Rico, Dubick (2000) also considered that the  $R_{MI}$  was not sufficient to indicate the period of ring formation, and observed that the values tended to increase from December to May, suggesting that ring is accomplished in late Summer. In Mexico, for the same species, opaque borders were formed in June, and translucent borders in May and October, however the small sample size in certain months also made it difficult to identify a clearer pattern for border formation (López, 2015).

Our results found that *A. narinari* has slow growth, is relatively long-lived, and males and females had no difference in growth curves, also mainly young individuals are captured. In Pernambuco, in a study on species of elasmobranchs in the region, *A. narinari* and *H. guttatus* were the most abundant species in gillnet fishing, corresponding to 70% of the captures (ETEPE, 1995). Therefore, from the estimated growth parameters of *A. narinari* captured on the coast of Paraíba and Pernambuco, this study can contribute to the management of these fishing activities in the region by identifying the degree of vulnerability of this species and defining its conservation status.

### **Acknowledgments**

The financial support provided by Capes (PhD scholarship granted to Priscila Rocha Vasconcelos Araújo) and CNPq (Rosangela Lessa Pq 1 Productivity Grant, nº 306672 / 2015-4) for the cooperation of fishers in providing information and collaboration in obtaining samples, to ICMBIO for authorization to conduct the study under Permanent License nº 49663-1; to Cícero Diogo Lins de Oliveira for collaborating with the second reading of the vertebrae and to Leandro Augusto de Souza Junior for making the study area map.

### **References**

Ajemian, M. J., Powers, S. P. & Murdoch, T. J. T. (2012). Estimating the potential impacts of large mesopredators on benthic resources: integrative assessment of spotted eagle ray foraging ecology in Bermuda, *PLoS One*, **7**, e40227

- Akaike, H. (1973). A new look at the statistical model identification. *IEEE Transactions on Automatic Control*, **19**, 716– 723
- Araya, M. & Cubillos, L. A. (2006). Evidence of two-phase growth in elasmobranchs. *Environmental Biology of Fishes*, **77**, 293- 300
- Bassos-Hull, K., Wilkinson, K. A., Hull, P. T., Dougherty, D. A., Omori, K. L., Ailloud, L. E., Morris, J. J. & Hueter, R. E. (2014). Life history and seasonal occurrence of the spotted eagle ray, *Aetobatus narinari*, in the eastern Gulf of Mexico. *Environmental Biology of Fishes*, **97**, 1039- 1056
- Beverton, R. J. H.; Holt, S. J. (1957). *On the Dynamics of Exploited Fish Populations*, Fishery Investigations Series II Volume XIX, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food.
- Bigelow, H. B. & Schroeder, W. C. (1953). Sawfishes, Guitarfishes, Skates And Rays. In J. Teevan, C. M. Breder, A. E. Parr, W. C. Schroeder & L. P. Schultz (Eds.), *Fishes of the western North Atlantic* (pp. 2- 588). New Haven: Memoir Sears Foundation for Marine Research
- Bonfil, R. (2016). *Identification Guide to Common Sharks and Rays of the Caribbean*. Rome: FAO FishFinder Programme
- Burnham, K. P. & Anderson, D. R. (2002). *Model Selection and Multimodel Inference: A Practical Information-Theoretic Approach*, 2nd edn. New York, NY: Springer.
- Cailliet, G. M. & Goldman, K. J. (2004). Age determination and validation in chondrichthyan fishes. In J. C. Carrier, J. A. Musick & M. R. Heithaus (Eds.), *Biology of Sharks and their Relatives* (pp. 399- 447). New York, NY: CRC Press
- Cailliet, G. M., Smith, W. D., Molet, H. F. & Goldman, J. (2006). Age and growth studies of chondrichthyan fishes: the need for consistency in terminology, verification, validation, and growth function fitting. *Environmental Biology of Fishes*, **77**, 211– 228
- Campana, S. E. (2001). Accuracy, precision and quality control in age determination, including a review of the use and abuse of age validation methods. *Journal of Fish Biology*, **59**, 197-242
- Carpenter, K. E. & De Angelis, N. (2016). *The living Marine Resources of the Eastern Central Atlantic: Bivalves, gastropods, hagfishes, sharks, batoid fishes, and chimaeras*. Rome: FAO Species Identification Guide for Fisheries Purposes
- Charvet, P., Santana, F. M., De Lima, K. L. & Lessa, R. (2018). Age and growth of the endemic Xingu River stingray *Potamotrygon leopoldi* validated using fluorescent dyes. *Journal of Fish Biology*, **92**, 1985- 1999
- Cuevas-Zimbrón, E., Pérez-Jiménez, J. C. & Méndez-Loeza, I. (2011). Spatial and seasonal variation in a target fishery for spotted eagle ray *Aetobatus narinari* in the southern gulf of Mexico. *Fisheries Science*, **77**, 723– 730

- Dubick, J. D. (2000). Age and growth of the spotted eagle ray, *Aetobatus narinari* (Euphrasen, 1790), from southwest Puerto Rico with notes on its biology and life history (Masters thesis).
- ETEPE. (1995). *Ecologia dos Tubarões no litoral do Estado de Pernambuco*. Scientific Technical Report. Recife, PE: UFRPE - Departamento de Pesca
- Fabens, A. J. (1965). Properties and fitting of the von Bertalanffy growth curve. *Growth*, **29**, 265- 289
- Francis, R. I. C. C. (1990). Back-calculation of fish length: a critical review. *Journal of Fish Biology*, **36**, 883- 902
- Gianeti, M.D., Santana, F.M., Yokota, L., Vasconcelos, J.E., Dias, J.F. & Lessa, R.P. (2019). Age structure and multi-model growth estimation of longnose stingray *Hypnus guttatus* (Dasyatidae: Myliobatoidei) from north-east Brazil. *Journal of Fish Biology*, **94**, 481-488
- Goldman, K. J. (2005). Age and growth of elasmobranch fishes. In J. A. Musick & R. Bonfil (Eds.), *Elasmobranch Fisheries Management Techniques* (pp.97-132). Singapore: Asia Pacific Economic Cooperation and IUCN.
- Gomes, U. L., Rosa, R. S. & Gadig, O. B. F. (2000). *Dasyatis macrophthalmalma* sp. n.: a new species of stingray (Chondrichthyes: Dasyatidae) from the southwestern Atlantic. *Copeia*, **2**, 510- 515
- Gompertz, B. (1825). XXIV. On the nature of the function expressive of the law of human mortality, and on a new mode of determining the value of life contingencies. In a letter to Francis Baily, Esq. FRS &c. *Philosophical transactions of the Royal Society of London*, **115**, 513-583
- Harmon, T. S., Kamerman, T. Y., Corwin, A. L. & Selas, A. B. (2016). Consecutive parthenogenetic births in a spotted eagle ray *Aetobatus narinari*. *Journal of Fish Biology*, **88**, 741- 745
- ICMBIO. (2016). *Avaliação do risco de extinção dos elasmobrânquios e quimeras no Brasil: 2010-2012*. Itajaí: ICMBIO / MMA / CEPSUL
- Janse, M., Kappe, A. L. & Van Kuijk, B. L. M. (2013). Paternity testing using the poisonous sting in captive white-spotted eagle rays (*Aetobatus narinari*): a non-invasive tool for captive sustain ability programmes. *Journal of Fish Biology*, **82**, 1082- 1085
- Katsanevakis, S. (2006). Modelling fish growth: model selection, multi-model inference and model selection uncertainty. *Fisheries Research*, **81**, 229– 235
- Kimura, D. K. (1980). Likelihood methods for the von Bertalanffy growth curve. *Fishery Bulletin*, **77**, 765– 776
- Last, P. R., Naylor, G. J. P. & Manjaji-Matsumoto, B. M. (2016). A revised classification of the family Dasyatidae (Chondrichthyes: Myliobatiformes) based on new morphological and molecular insights. *Zootaxa*, **4139**, 345–368
- Lessa, R., Santana, F. M. & Hazin, F. H. V. (2004). Age and growth of the blue shark *Prionace glauca* (Linnaeus, 1758) off north-eastern Brazil. *Fisheries Research*, **66**, 19- 30

- Lessa, R., Vooren, C. M., Araújo, M. L. G., Kotas, J.E., Almeida, P.C., Filho, G.R., Santana, F.M., Gadig, O. B. F., Sampaio, C., Almeida, Z., Almeida, M. & Rosa, R. S. (2005). *Plano Nacional para Conservação e Manejo dos Estoques de Peixes Elasmobrânquios no Brasil*. Recife: Sociedade Brasileira para o Estudo de Elasmobrânquios – SBEEL
- Lessa, R., Santana, F. M., Rincon Filho, G., Gadig, O. B. & El-Deir, A. C. (1999). *Biodiversidade de Elasmobrânquios do Brasil*. Recife: Programa Nacional da Diversidade Biológica (PRONABIO), Relatório de pesquisa - Research Report
- Lira, L., Mesquita, B., Souza, M. M. C., Leite, A. P. A., Farias, A. M. & Galvão, C. (2010). *Diagnóstico da pesca artesanal do litoral de Pernambuco*. Volume I. Recife: Instituto Oceanário de Pernambuco: Departamento de Pesca e Aquicultura da UFRPE
- López, N. U. (2015). Estimación de la edad y crecimiento de la raya águila *Aetobatus narinari* (EUPHRASEN, 1790) en el sur del Golfo de México (Undergraduate thesis) – Available from UABCS Library <http://biblio.uabcs.mx/tesis/te3332.pdf>
- Martin, L. K. & Cailliet, G. M. (1988). Age and Growth Determination of the Bat Ray, *Myliobatis californica* Gill, in Central California. *Copeia*, **3**, 762- 773
- McEachran, J. D. & Carvalho, M.R. (2002). Myliobatidae. In K. E. Carpenter (Ed), *The living marine resources of the Western Central Atlantic* (pp. 578- 582). Rome: FAO
- Natanson, L. J., Casey, J. G & Kohler, N. E. (1995). Age and growth estimates for the dusky shark *Carcharhinus obscurus* in the western North Atlantic Ocean. *Fishery Bulletin- National Oceanic and Atmospheric Administration*, **93**, 116- 126
- Neer, J. A., & Thompson, B. A. (2005). Life history of the cownose ray, *Rhinoptera bonasus*, in the northern Gulf of Mexico, with comments on geographic variability in life history traits. *Environmental Biology of Fishes*, **73**, 321-331
- Newby, J., Darden, T. & Shedlock, A. M. (2014). Population Genetic Structure of Spotted Eagle Rays, *Aetobatus narinari*, off Sarasota, Florida and the Southeastern United States. *Copeia*, **2014**, 503- 512
- Okamura, H. & Semba, Y. (2009). A novel statistical method for validating the periodicity of vertebral growth band formation in elasmobranch fishes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **66**, 771– 780
- Richards, V. P., Henning, M., Witzell, W. & Shivji, M. S. (2009). Species Delineation and Evolutionary History of the Globally Distributed Spotted Eagle Ray (*Aetobatus narinari*). *Journal of Heredity*, **100**, 273- 283
- Ricker, W. E. (1979). Growth rates and models. In W. S. Hoar, D. J. Randall & J. R. Brett (Eds.), *Fish Physiology* (pp. 677– 743). New York, NY: Academic Press

- Sales, J. B., Oliveira, C. N., Santos, W. C., Rotundo, M. M., Ferreira, Y. D., Ready, J. L., Sampaio, I. C., Oliveira, C., Cruz, V. P., Lara-Mendoza, R. E. & Rodrigues-Filho, L. F. (2019). Phylogeography of eagle rays of the genus *Aetobatus*: *Aetobatus narinari* is restricted to the continental western Atlantic Ocean. *Hydrobiologia*, **836**, 169- 183
- Schluessel, V., Broderick, D., Collin, S. P. & Ovenden, J. R. (2010). Evidence for extensive population structure in the white-spotted eagle ray within the Indo-Pacific inferred from mitochondrial gene sequences. *Journal of Zoology*, **281**, 46– 55
- Schluessel, V. (2008). *Life History, Population Genetics and Sensory Biology of the White Spotted Eagle Ray Aetobatus narinari (Euphrasen, 1790) with Emphasis on the Relative Importance of Olfaction* (Doctoral thesis, University of Queensland, QLD). Retrieved from <https://espace.library.uq.edu.au/view/UQ:151742>
- Schnute, J. (1981). Aversatile growth model with statistically stable parameters. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **38**, 1128– 1140
- Sellas, A. B., Bassos-Hull, K., Pérez-Jiménez, J. C., Angulo-Valdés, J. A., Bernal, M. A. & Hueter, R. E. (2015). Population Structure and Seasonal Migration of the Spotted Eagle Ray, *Aetobatus narinari*. *Journal of Heredity*, **106**, 266- 275
- Serrano-Flores, F., Pérez-Jiménez, J. C., Méndez-Loeza, I., Bassos-Hull, K. & Ajemian, M. J. (2019). Comparison between the feeding habits of spotted eagle ray (*Aetobatus narinari*) and their potential prey in the southern Gulf of Mexico. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. **99**, 661- 672
- Sherief, P. M., Joseph, R., Thomas, S. N. & Edwin, L. (2015). Design and general features of Ray gillnets used in Kanyakumari coast. *International Journal of Engineering Trends and Technology (IJETT)*, **25**, 150- 155
- Sparre, P. & Venema, S.C. (1997). *Introdução à avaliação de mananciais de peixes tropicais*. Parte 1: Manual. Roma: FAO Fisheries Technical Paper
- Tagliafico, A., Rago, N., Rangel, S. & Mendoza, J. (2012). Exploitation and reproduction of the spotted eagle ray (*Aetobatus narinari*) in the Los Frailes Archipelago, Venezuela. *Fishery Bulletin*, **110**, 307- 316
- Von Bertalanffy, L. (1938). A quantitative theory of organic growth. *Human Biology*, **10**, 181- 123
- White, W. T., Last, P. R., Naylor, G. J. P., Jensen, K. & Caira, J. N. (2010). Clarification of *Aetobatus ocellatus* (Kuhl, 1823) as a valid species, and a comparison with *Aetobatus narinari* (Euphrasen, 1790) (Rajiformes: Myliobatidae). *CSIRO Marine and Atmospheric Research Paper*, **32**, 141- 164
- White, W. T. & Naylor, G. J. P. (2016). Resurrection of the family Aetobatidae (Myliobatiformes) for the pelagic eagle rays, genus *Aetobatus*. *Zootaxa*, **4139**, 435– 438

Yamaguchi, A., Kawahara, I. & Ito, S. (2005). Occurrence, growth and food of longheaded eagle ray, *Aetobatus flagellum*, in Ariake Sound, Kyushu, Japan. *Environmental Biology of Fishes*, **74**, 229–238

Yokota, L. & Lessa, R. (2006). A nursery area for sharks and rays in Northeastern Brazil. *Environmental Biology of Fishes*, **75**, 349–360

## CAPÍTULO 3

### **Reprodução e dieta da raia *Aetobatus narinari* (Myliobatiformes) capturada no Litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil**

## **Reprodução e dieta da raia *Aetobatus narinari* (Myliobatiformes) capturada no Litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil**

**Priscila Rocha Vasconcelos Araújo e Rosângela Lessa**

### **Resumo**

O presente estudo, realizado entre maio e julho de 2015 e mensalmente de abril de 2016 a agosto de 2018, caracterizou aspectos da biologia reprodutiva com base em estruturas macroscópicas e hábitos alimentares através dos conteúdos estomacais da raia pintada, *Aetobatus narinari*, capturada pela pesca artesanal na costa da Paraíba e Pernambuco (07°30'S; 34°49'O / 07°47'S; 34°51'O), Nordeste do Brasil. Dos 54 indivíduos da amostra 50% foram fêmeas (Largura de disco (LD): 53,2 - 155 cm) e 50% machos (LD: 39,5 - 141 cm). Para os machos o tamanho em que 50% da população atingiu a maturidade ( $L_{50}$ ) foi de 116,42 cm; o comprimento do clássper variou entre 2,4 e 18,4 cm. Para as fêmeas o  $L_{50}$  foi de 130,15 cm; o diâmetro do maior folículo vitelogênico variou entre 1,1 e 3,1 cm; e apenas o ovário e útero esquerdos foram funcionais. Para machos o maior índice hepatossomático (IHS) médio e índice gonadosomático (IGS) médio ocorreram no terceiro bimestre do ano, enquanto para as fêmeas os valores mais altos de IHS médio e IGS médio foram no sexto bimestre e o no quarto bimestre do ano, respectivamente. *Aetobatus narinari* apresentou uma dieta especialista com presas do grupo Chordata e Mollusca, onde fêmeas se alimentaram principalmente de Teleostei (IRI %: 46,4) e Ascídia (IRI %: 27,9); e os machos de Ascídia (IRI %: 57,2) e Gastropoda (IRI %: 20,3). Uma vez que a pesca na área estudada tem capturado principalmente indivíduos jovens, as informações sobre reprodução e dieta da *A. narinari* podem contribuir para o manejo adequado e proteção dessa espécie.

**Palavras-chave:** Chondrichthyes, Aetobatidae, dieta, reprodução, nordeste do Brasil.

### **Abstract**

The present study, carried out between May and July 2015 and monthly from April 2016 to August 2018, characterized aspects of reproductive biology based on macroscopic structures and feeding habits based on the stomach contents of *Aetobatus narinari* captured by artisanal fishing off the coast of Paraíba and Pernambuco (7 ° 30'S; 34 ° 49'W / 7 ° 47'S; 34 ° 51'W), Northeast Brazil. Of the 54 individuals in the sample, 50% were female (Disc Width - DW: 53.2 - 155 cm) and 50% male (DW): 39.5 - 141 cm). Males had body size at which 50% of the individuals are mature ( $DW_{50}$ ) of 116.42 cm; the clasper length varied between 2.4 and 18.4 cm. Females had  $DW_{50}$  of 130.15 cm; the diameter of the largest vitellogenic follicle varied between 1.1 and 3.1 cm; and only the left ovary and uterus were functional. In males, the highest hepatosomatic index (IHS) average and gonadosomatic index (IGS) average occurred in the third bimester of the year, while in females the highest values of IHS average and IGS average were in the last bimester and in the fourth bimester of the year, respectively. The whitespotted eagle ray has a specialist diet based on prey of the Chordata and Mollusca taxa, where females feed mainly on Fish (IRI%: 46.4) and Ascidians (IRI%: 27.9); and the males on Ascidians (IRI%: 57.2) and Gastropoda (IRI%: 20.3). Since fishing in the area

studied has mainly caught young individuals, information on reproduction and diet of *A. narinari* can contribute to the proper management and protection of this species.

**Key words:** Chondrichthyes, Aetobatidae, growth estimation, reproduction, northeast of Brazil.

## Introdução

*Aetobatus narinari* (Euphrasen, 1970) é registrada no Atlântico ocidental da Carolina do Norte ao Sul do Brasil (BIGELOW e SCHROEDER, 1953), ocupando áreas costeiras, como baías, recifes de corais e estuários (TAGLIAFICO et al., 2012) em profundidades de até 60 m (AJEMIAN et al., 2012). Anteriormente era considerada uma espécie de distribuição circunglobal (BIGELOW e SCHROEDER, 1953), no entanto variações no padrão de cores, bem como evidências parasitológicas e genéticas indicaram se tratar de um complexo de espécies composta por pelo menos três linhagens distintas com nenhuma troca genética entre indivíduos (RICHARDS et al., 2009; SCHLUESSEL et al., 2010a). Atualmente sabe-se que *Aetobatus ocellatus* é uma espécie válida do Pacífico Indo-oeste, *A. laticeps* ocorre no Pacífico oriental e *A. narinari* ocorre no Atlântico ocidental (WHITE et al., 2010; LAST et al., 2016; WHITE e NAYLOR, 2016; SALES et al., 2019).

O tamanho máximo registrado para a raia pintada é de 241 cm de largura de disco (LD) (CORDOVÉS et al., 2013); jovens variam de 18 a 36 cm de LD ao nascer, fêmeas produzem cerca de 4 jovens por gestação (BIGELOW e SCHROEDER, 1953), enquanto indivíduos aquários podem nascer entre 35,5 e 58 cm de LD (SWIDER et al., 2017). Reproduz-se por viviparidade matrotrofica com histotrofia lipídica, com embriões se nutrendo a partir de secreções uterinas (HAMLETT e KOOB, 1999); e ainda são capazes de realizar partenogênese quando em cativeiro – forma de reprodução assexuada em que o embrião se desenvolve a partir de um ovo não fertilizado – (HARMON et al., 2016). Alimentam-se de gastrópodes, bivalves, crustáceos, poliquetas, equinodermos, cefalópodes e pequenos Teleostei (McEACHRAN e CARVALHO, 2002; LÉOPOLD, 2004; AJEMIAN et al., 2012; LAST et al. 2016; SERRANO-FLORES et al., 2019).

Atualmente o *status* global de conservação da *A. narinari* é “Near Threatened” (NT), Quase ameaçada, pela IUCN (União Internacional para a Conservação da Natureza) (KYNE et al., 2006). Porém, esse *status* precisa ser revisado devido às recentes mudanças

taxonômicas (WHITE et al., 2010). No Atlântico (México, Porto Rico, Venezuela, Cuba) a raia pintada é capturada por diferentes artes de pesca artesanal e industrial e a comercialização aumenta a pressão de pesca, levando ao declínio da população (DUBICK, 2000; CUEVAS-ZIMBRÓN et al., 2011; TAGLIAFICO et al., 2012; BASSOS-HULL et al., 2014). No nordeste do Brasil, no estado do Rio Grande do Norte em Caçara do Norte *Aetobatus narinari* usa a área como berçário (YOKOTA e LESSA, 2006); e em Pernambuco é uma espécie residente que ocorre em regiões costeiras próximas a estuários (ETEPE, 1995). A raia pintada no estado da Paraíba e Pernambuco é capturada pela pesca de raieira como alvo de pesca, juntamente com outras raias Myliobatiformes, e incidentalmente por outras artes de pesca (curral, emalhe e caçoeira).

Quase todos os estudos realizados sobre a raia pintada têm se limitado às populações do hemisfério norte, enquanto que no Brasil, onde essa espécie é capturada por diferentes artes de pesca artesanal (redes de emalhe, curral, espinhel) (LESSA et al., 1999; ICMBIO, 2016), não se tem dados específicos sobre sua biologia básica que ajudem no manejo adequado. Além disso, no Brasil essa espécie é classificada como “Data Deficient” (DD), Dados Insuficientes, (ICMBIO, 2016). Portanto, o objetivo do presente estudo foi descrever o desenvolvimento sexual, estimar o tamanho médio de primeira maturação, estudar a composição da dieta e o hábito alimentar da raia *A. narinari* para os estados da Paraíba e Pernambuco no nordeste do Brasil, a fim de contribuir para a sua conservação.

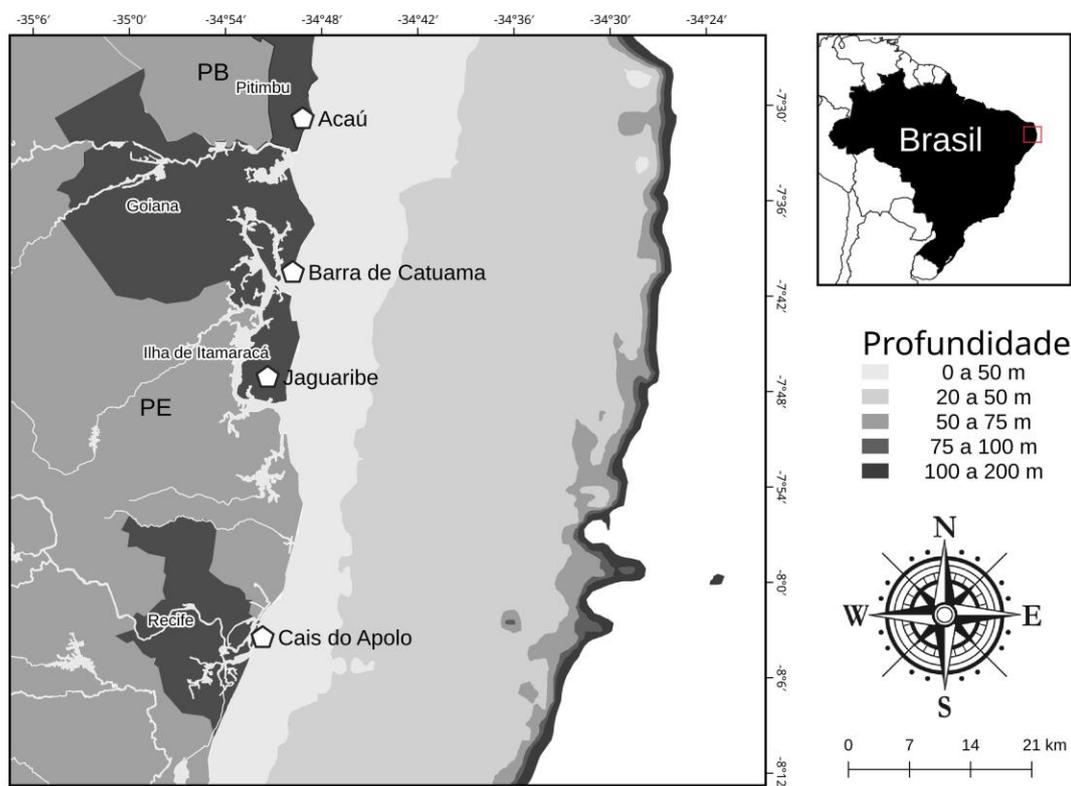
## Material e métodos

### Área de estudo

O estudo foi realizado em quatro áreas de desembarque de pesca artesanal no litoral sul da Paraíba, em Acaú (07°30'51"S; 34°49'11"W) no município de Pitimbu; e o litoral norte de Pernambuco, nas localidades de Barra de Catuama (07°40'31"S; 34°49'48"W) no município de Goiana, Jaguaribe (07°47'7"S; 34°51'22"W) no município de Itamaracá, e no Cais do Apolo na cidade de Recife (08°3'29"S; 34°51'41"W) (Figura 1).

As amostras foram obtidas através dos desembarques da pesca que utiliza a rede raieira na área estudada. Essa arte de pesca captura de raias: *Hypanus guttatus* (BLOCH & SCHNEIDER, 1801), *H. americanos* (HILDEBRAND & SHROEDER, 1928), *Aetobatus narinari* e dessa forma são confeccionadas com nylon de seda, que permite maior maleabilidade dentro da água, cuja malha entre 180 a 270 mm entre nós opostos; 3,85 a 5,4 m de altura; e 58,1 a 107,8 m de comprimento. Na operação de pesca as redes (de uma a nove

por embarcação) são lançadas no final do dia, em profundidades de até 25 m, e despescadas pela manhã, permanecendo em torno de 12 horas submersas.



**Figura 1.** Mapa da área de estudo indicando os locais de desembarque (Acaú, Barra de Catuama, Jaguaribe, Cais do Apolo) da pesca artesanal que capturou os espécimes de *Aetobatus narinari* no litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil.

A área estudada é uma plataforma continental estreita, com quebra em torno de 32 km entre 50 e 60 m de profundidade (MICHELLI et al., 2001). Apresenta como tipos de fundo recifes em linhas de arenito, areia quartzosa, lama (concentrada em pequenas manchas em rios costeiros), e fundo de algas calcárias (KEMPF, 1967 a). Afloramentos calcários ocorrem nas praias de Jaguaribe e Ponta de Pedras, nesta última formam recifes emergidos na praia bem próximos da costa, e ainda corais vivos se encontram em frente ao local; a ilha de Itamaracá não é afastada da costa, mas é isolada por um braço de mar; nessa região há uma linha recifal paralela à costa, delimitando uma área muito rasa (5 – 2 m de profundidade) (KEMPF, 1967 b). O clima da região é quente e úmido com estação seca entre agosto e janeiro e chuvas entre fevereiro e julho, além disso, com os ventos alísios de sudeste do Atlântico Sul soprando durante todo o ano, a temperatura média anual varia em torno de 24° C com a maior média mensal de 27° C (KÖPPEN, 1948; GUERRA, 1955).

### *Biologia reprodutiva*

Para ambos os sexos, os estágios de maturidade foram determinados de acordo com a escala de maturidade proposta pelo ICES (2013) (Tabela 1). Nos machos foram registrados: o comprimento interno do cláster (CCL, medido da inserção do cláster esquerdo e cauda até a extremidade do cláster) e comprimento da glândula do cláster (CGCL), em cm, e peso dos testículos (PTE), em g. Uma vez que as amostras foram consideradas normais por meio do Teste de Shapiro-Wilk, foi usado o teste *t* de *Student* para verificar se havia diferença entre estruturas pareadas (ZAR, 2009). Como não houve diferença significativa, em todos os estágios de desenvolvimento, para as estruturas esquerda e direita (comprimento da glândula do cláster:  $t = -0,297$ ;  $df = 8$ ;  $P = 0,773$ ; peso dos testículos:  $t = -1,133$ ;  $df = 12$ ;  $P = 0,279$ ), neste estudo foram utilizados para CGCL valores do órgão esquerdo e para PTE valores somados dos órgãos esquerdo e direito de cada indivíduo.

**Tabela 1.** Descrição dos estágios de maturação para vivíparos matrotrofos baseada no Workshop sobre Classificação de Maturidade Sexual de Elasmobrânquios do Conselho Internacional de Exploração do Mar (ICES 2013).

	<b>Estágios de maturidade</b>	<b>Características</b>
<b>MACHOS</b>	<b>Imaturo</b> - estágio 1	Cláster flexível não calcificado e mais curto que as nadadeiras pélvicas, testículos não desenvolvidos, dutos retos e afilados.
	<b>Em maturação</b> - em desenvolvimento ou estágio 2	Cláster flexível parcialmente calcificado e tão longo quanto ou maior que as nadadeiras pélvicas, testículos em desenvolvimento com lóbulos visíveis, mas não ocupando toda a superfície, dutos em desenvolvimento e começando a se enovelar.
	<b>Maduro</b> - capaz de reproduzir ou estágio 3	Cláster rígido (completamente calcificado) e ultrapassando as nadadeiras pélvicas, testículos completamente desenvolvidos, e dutos bem enrolados e cheios de esperma.
<b>FÊMEAS</b>	<b>Imatura</b> - estágio 1	Ovários esbranquiçados, glândula oviducal usualmente não visível e úteros afilados e estreitos.
	<b>Em maturação</b> - em desenvolvimento ou estágio 2	Ovários com folículos de diferentes estágios de desenvolvimento, glândula oviducal distinguível e em desenvolvimento e úteros alargando, apresentando pouca vascularização e trofonemas pouco desenvolvidos.
	<b>Madura</b> - capaz de reproduzir ou estágio 3	Ovários com folículos vitelogênicos pré-ovulatórios, glândulas oviducal e úteros completamente desenvolvidos, apresentando trofonemas bastante vascularizados.
	<b>Grávida</b> - maternal ou estágio 4	Úteros bem cheios e arredondados contendo ovos uterinos ou embriões.

Nas fêmeas foram registrados: largura da glândula oviducal (LGO); largura do útero (LU); diâmetro do maior folículo vitelogênico (DFV), em cm, e peso dos ovários (POV), em g. Embora apenas o ovário esquerdo tenha sido funcional, foi usada para o presente estudo a

soma das duas gônadas para cada indivíduo. Não houve diferença entre a largura das glândulas oviduciais direita e esquerda ( $t = -1,167$ ;  $df = 23$ ;  $P = 0,255$ ), sendo utilizada a medida da largura da glândula esquerda de cada indivíduo. Apenas a largura do útero esquerdo foi considerada, o qual foi o único funcional.

Todas as medidas tomadas das estruturas macroscópicas observadas foram correlacionadas com a largura de disco (LD) como variável independente por meio de regressão linear, a fim de identificar, com base no desenvolvimento de tais estruturas, os intervalos de LD correspondentes a cada estágio de maturação.

O peso do fígado (PF) foi analisado em relação a LD para machos e fêmeas. A relação peso total (PT) e LD foi calculada separadamente para machos e fêmeas e os valores testados por meio de uma análise de covariância (ANCOVA) para verificar se havia diferença entre os sexos. Os índices gonadossomáticos (IGS) e hepatossomático (IHS) de indivíduos maduros foram calculados (KING, 1995):

$$\text{IGS} = (\text{PG}/\text{PT}) * 100,$$

onde PG é o peso das gônadas e PT é o peso total e

$$\text{IHS} = (\text{PF}/\text{PT}) * 100,$$

onde PF é o peso do fígado.

Comparações entre médias bimestrais de IHS, IGS e maior folículo vitelogênico foram realizadas para cada sexo usando ANOVA 'unidirecional', e um teste de Tukey *post hoc* quando a ANOVA detectou diferenças significativas ( $P < 0,05$ ). Um nível de significância de 0,05 foi considerado, e “n”, é, em todos os casos, o tamanho da amostra.

Para o cálculo do tamanho em que 50% da população atingiu a maturidade ( $L_{50}$ ), para machos e fêmeas separadamente, foi considerado o número total de indivíduos por classe de tamanho (ARAÚJO et al., 2016). O modelo linear generalizado (GLM) foi aplicado e as estimativas de probabilidade da média da amostra ( $\beta_0$  e  $\beta_1$ ) e  $\log [p_i (1 - p_i) - 1] = \beta_0 + \beta_1 (x_i - x_{\text{média}})$  foram calculadas onde  $p_i$  é a probabilidade de uma fêmea na classe  $i$  ser madura,  $x_i$  é o ponto médio da classe  $i$ ,  $x_{\text{média}}$  é a média das classes de tamanho, e  $\beta_0$  e  $\beta_1$  são dois parâmetros desconhecidos, que também têm uma distribuição da probabilidade posterior. Assim, foram obtidas as variáveis necessárias para calcular o  $L_{50}$ ,  $L_{50} = (-\beta_0 * \beta_1^{-1}) + x_{\text{média}}$ . Para calcular os intervalos de credibilidade de 95% (ICr95), foi utilizada a inferência bayesiana (regressão logística) para o cálculo das distribuições posteriores de  $L_{50}$  da Cadeia

de Markov Monte-Carlo (MCMC) (KINAS e ANDRADE, 2010). O software RStudio.Version (3.5.1) foi utilizado para as análises.

#### *Análise da Dieta*

Após a dissecação do estômago de cada indivíduo, o conteúdo estomacal foi fixado em formol a 10% por 72h e preservado em álcool 70%. Para a triagem do material foi usada uma malha de 1 mm para selecionar o conteúdo a ser analisado. Os itens alimentares do conteúdo estomacal foram então identificados até o menor nível taxonômico possível usando a literatura (RIOS, 1985; SERRANO-FLORES, 2017), depois foram contados e pesados.

Foi utilizada uma curva de diversidade trófica para determinar se um número adequado de estômagos havia sido examinado para descrever a dieta. A ordem em que o estômago foi analisado foi randomizada 100 vezes para minimizar o viés resultante da ordem de amostragem. Foram plotados em relação ao número total de estômagos analisados, a curva de rarefação e desvio padrão para a amostra geral, e índice de diversidade de Shannon e seu desvio padrão para machos e fêmeas separados (BIZZARRO et al., 2007), usando o software EstimateS (COLWELL, 2013). Uma vez que a curva atinge a assíntota o tamanho amostral da espécie é considerado suficiente para o estudo da dieta.

Para o estudo da composição taxonômica da dieta foram utilizados os métodos descritos por Hyslop (1980) para o cálculo da porcentagem de frequência de ocorrência (FO%), porcentagem numérica (FN%) e a gravimetria porcentual (FG%) dos diferentes itens alimentares e posteriormente calculado o Índice de Importância Relativa (IRI) (PINKAS et al., 1971):  $IRI = (\%FN + \%FG) * \%FO$ . O índice percentual de importância relativa (%IRI) também foi calculado  $\%IRI = (IRI/\sum IRI) * 100$  (CORTÉS, 1997).

A estratégia de alimentação foi estimada usando o IRI% calculando os índices de Levin e Shannon-Wiener (KREBS, 1999). Ambos os índices são complementares, pois o primeiro atribui maior importância às presas abundantes, enquanto o segundo atribui maior importância às presas raras.

Índice de Levin (KREBS, 1999):

$$B_i = \frac{1}{n - [(1/\sum P_{ij}) - 1]}$$

onde  $B_i$  é o índice de Levin,  $P_{ij}$  é a proporção de cada presa, e  $n$  o número total de presas. Os valores do índice variam de 0 a 1, de modo que os valores  $< 0,6$  representam um predador especialista e valores  $> 0,6$  um predador generalista.

Índice de Shannon-Wiener (KREBS, 1999):

$$H = -\sum_{i=1}^s (P_{ij})(\ln P_{ij})$$

onde  $H$  é o índice Shannon – Wiener,  $S$  é o número total de presas,  $P_{ij}$  é a proporção de cada presa, e  $\ln$  é o logaritmo do número total de presas. Os valores do índice variam entre 0 e 6; com valores  $< 3$  indicando uma dieta especialista e valores  $> 3$  uma dieta generalista.

A fim de comparar as similaridades na composição da dieta entre machos e fêmeas, jovens (machos  $< 116$  cm e fêmeas  $< 130$  cm de LD) e adultos (machos  $\geq 116$  cm e fêmeas  $\geq 130$  cm de LD) foram realizadas análises multivariadas no programa Past3 v. 3.12 (HAMMER et al., 2001). Matriz de similaridade foi obtida usando o coeficiente de similaridade de Bray–Curtis após a transformação da raiz quadrada dos valores de FG% dos itens alimentares. Depois foi realizada uma análise de variância permutacional multivariada de uma via (PERMANOVA) para examinar os efeitos de grupos de sexo e tamanho (fatores) na contribuição de FG% de espécies de presas em todos os indivíduos com itens alimentares, o teste foi permutado 999 vezes. Para identificar as categorias de presas que mais contribuíram para a dissimilaridade entre os grupos, caracterizando a dieta dos indivíduos, foi realizado o SIMPER (percentuais de similaridade) (CLARKE, 1993).

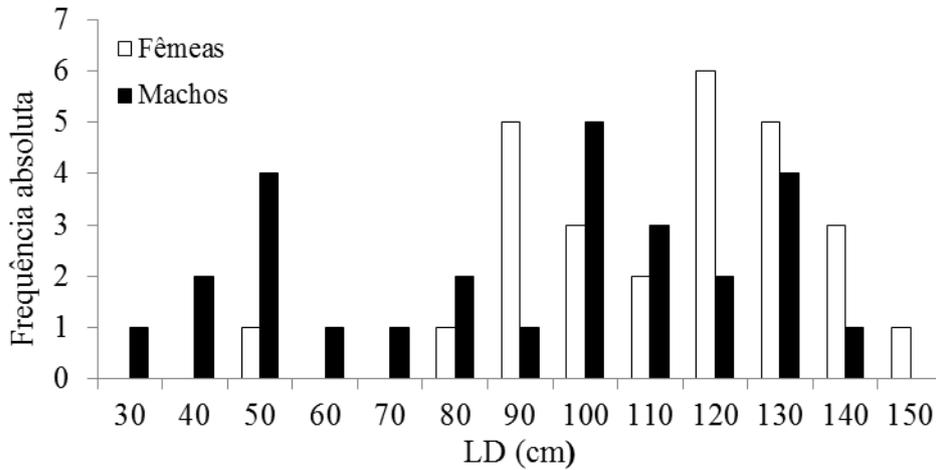
## Resultados

### *Biologia Reprodutiva*

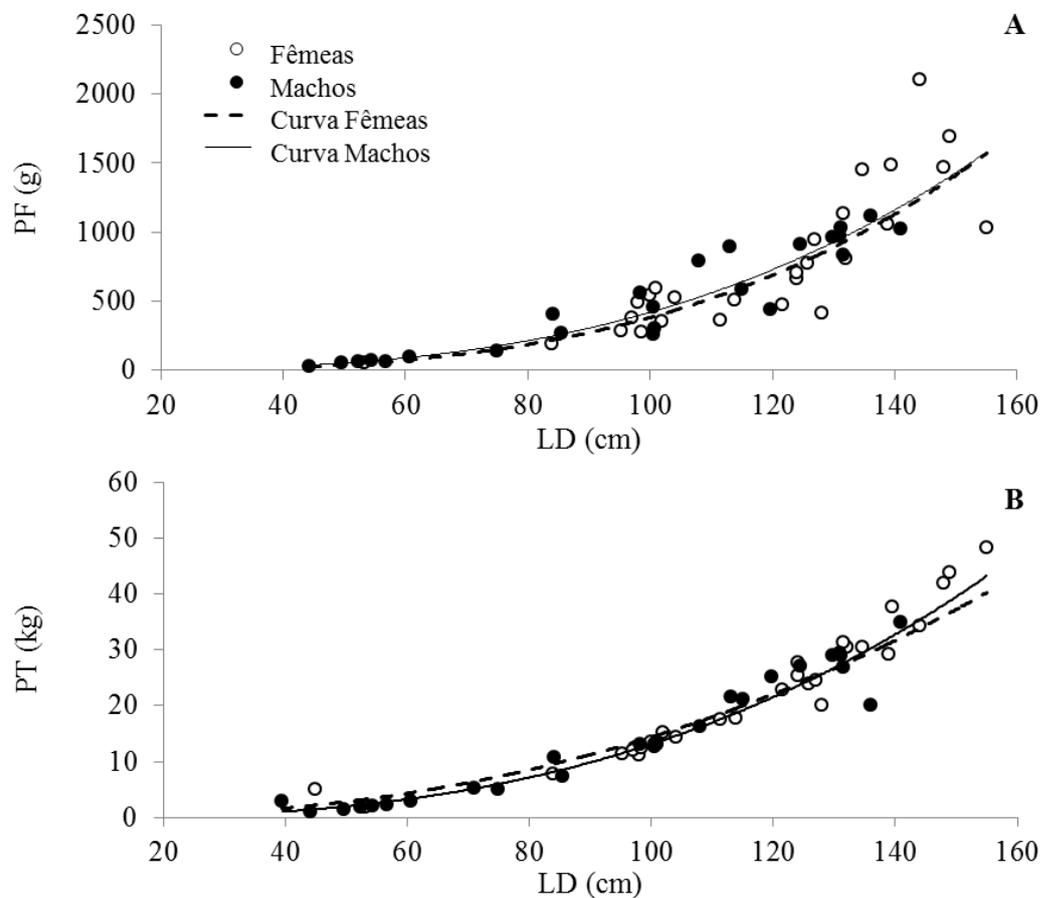
Para o estudo da biologia reprodutiva foram analisados 27 machos e 27 fêmeas. Os machos variaram de 39,5 a 141 cm LD (Figura 2); o PF (n= 24) de 30 g (para um LD de 44,2 cm) a 1115,2 g (para um LD de 136 cm); e a relação PF-LD foi descrita pela equação  $PF = 0,0004 * LD^{3,0308}$  ( $R^2 = 0,95$ ) (Figura 3A). O tamanho das fêmeas foi de 53,2 a 155 cm LD (Figura 2); o PF (n= 27) variou de 51,88 g (para um LD de 53,2 cm) a 2105 g (para um LD de 144 cm); e a relação PF-LD foi descrita por  $PF = 0,0001 * LD^{3,2277}$  ( $R^2 = 0,85$ ) (Figura 3A).

De acordo com a ANCOVA para a relação PT-LD, as estimativas dos parâmetros para os dois sexos tiveram diferença significativa ( $P < 0,05$ ), porém não houve diferença entre os declives ( $F = 1,31$ ;  $P = 0,292$ ). Para os machos, o PT variou de 1,07 kg (para um LD de 44,2 cm) a 34,95 kg (para um LD de 141 cm), e a relação foi descrita por  $PT = 0,00001 * LD^{2,977}$  ( $R^2 = 0,984$ , n= 26) (Figura 3B). Para as fêmeas, o PT variou de 1,97 kg (para um LD de 53,2

cm) a 48,27 kg (para um LD de 155 cm), e a relação foi descrita por  $PT = 0,0003 * LD^{2,343}$  ( $R^2 = 0,89$ ;  $n = 27$ ) (Figura 3B).



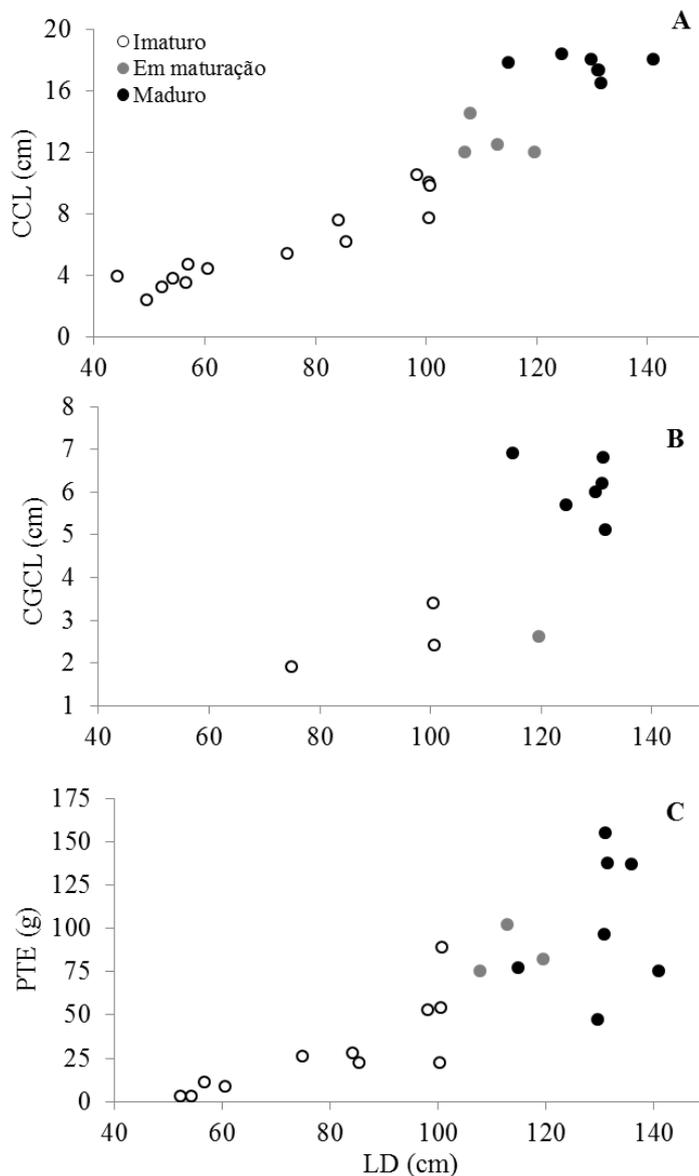
**Figura 2.** Frequência absoluta de fêmeas e machos de *Aetobatus narinari* capturadas pela pesca artesanal no litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil, com classes de largura de disco (LD) de 10 cm.



**Figura 3.** Relação entre o peso do fígado (PF), em gramas, e a largura do disco (LD), em cm, para machos e fêmeas de *Aetobatus narinari* (A) relação entre o peso total (PT), em quilogramas, e a largura do disco (LD), em cm, para machos e fêmeas de *A. narinari* (B) capturadas pela pesca artesanal no litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil. A curva potencial foi ajustada apenas para machos (linha preta) e fêmeas (linha tracejada).

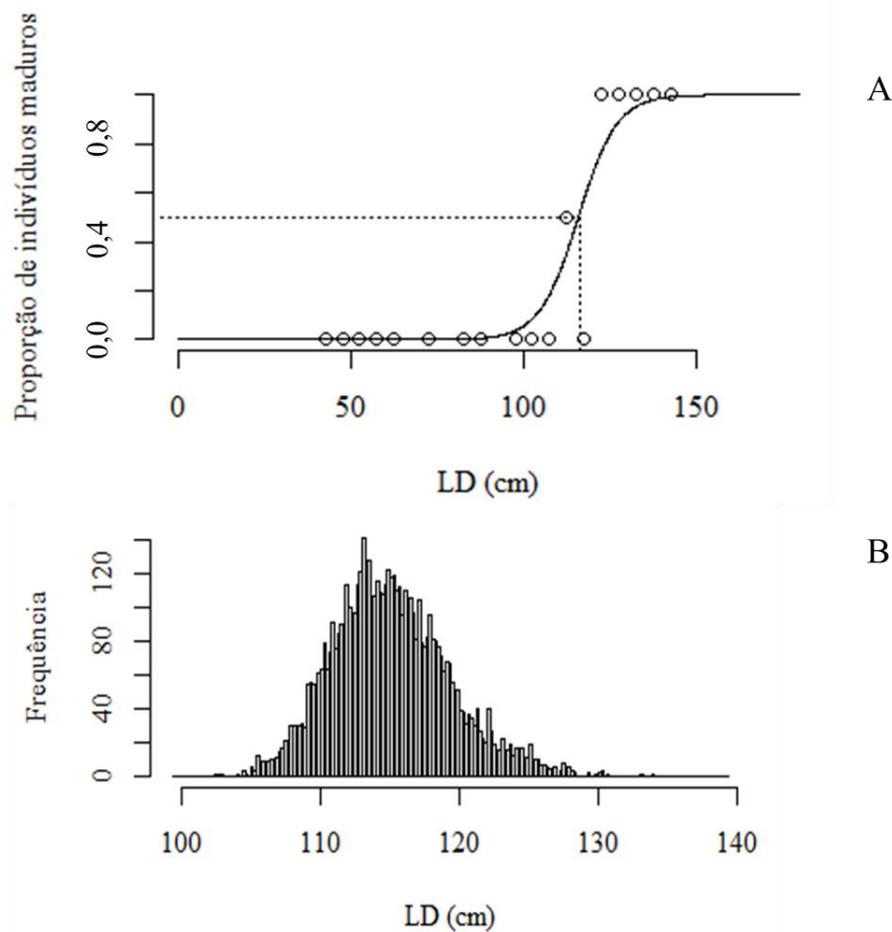
#### *Machos*

Os machos imaturos variaram entre 44,2 e 108 cm de LD; machos em maturação entre 108 e 119,7 cm de LD e machos maduros entre 115 e 141 cm de LD. O CCL variou entre 2,4 a 10,5 cm (imaturos, n= 14); de 12 a 14,5 cm (em maturação, n= 4); e de 16,5 a 18,4 cm (maduros, n= 7) (Figura 4A). O CGCL variou de 1,9 a 3,4 cm (imaturos, n= 3); foi de 2,6 cm (em maturação, n= 1); e variou de 5,1 a 6,9 cm (maduros, n= 6) (Figura 4B). E o PTE variou de 3 a 88,82 g (imaturos, n= 11), de 75 a 102 g (em maturação, n= 3), e de 47,12 a 155 g (maduros, n= 7) (Figura 4C).



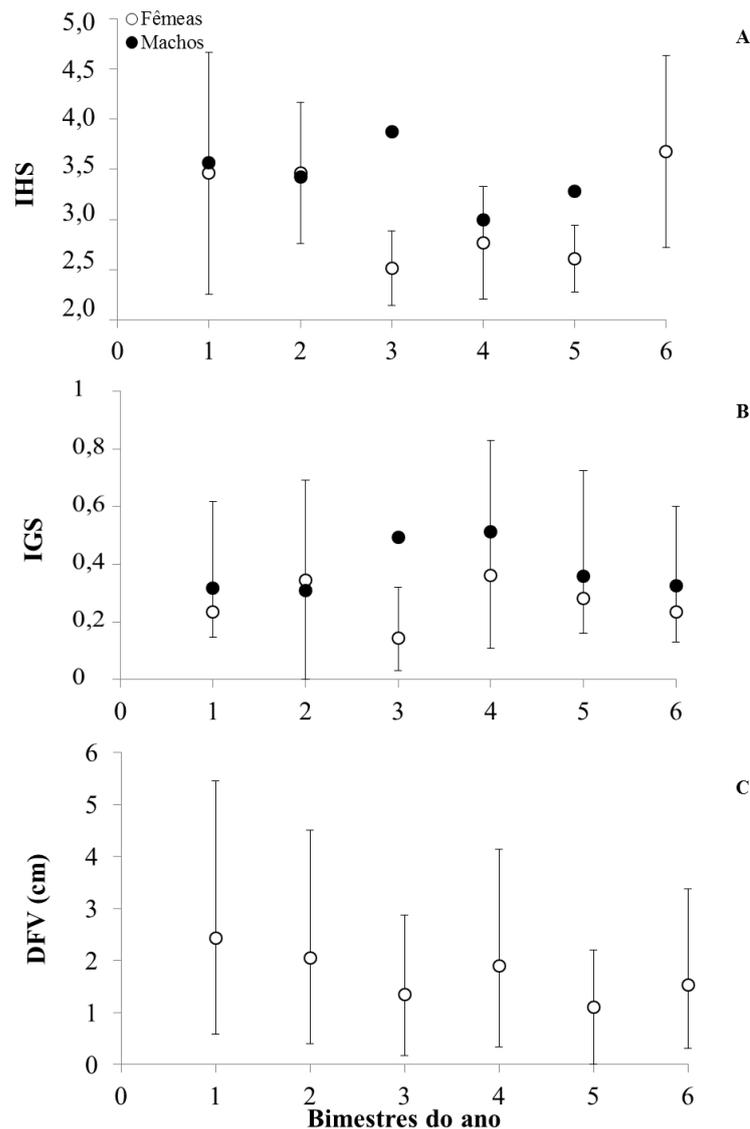
**Figura 4.** Relação entre a largura do disco (LD) e o comprimento do cláspere (CCL) (A); comprimento da glândula do cláspere (CGCL) (B) e peso dos testículos direito e esquerdo juntos (PTE) (C) por estágio de maturação para machos de *Aetobatus narinari* capturados pela pesca artesanal no litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil.

Os machos atingiram a primeira maturação ( $L_{50}$ ) com 116,42 cm, correspondendo a 82,5% da LD máxima (Figura 5A). O  $ICr_{95}$  foi entre 107,9 e 124,5 cm de LD (Figura 5B). O maior macho em maturação apresentou 119,7 cm de LD e menor indivíduo maduro tinha 115 cm de LD, a partir de 124,5 cm de LD todos os indivíduos foram considerados maduros.



**Figura 5.** Relação entre a largura do disco (LD) e a proporção de machos maduros (A); e o intervalo de credibilidade de 95% das distribuições posteriores do  $L_{50}$  (B) para machos de *Aetobatus narinari* capturados pela pesca artesanal no litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil.

Ao longo dos meses, o IHS variou de 1,74 (dezembro) a 5,58 (maio); e o IGS de 0,16 (janeiro) a 0,68 (maio). Ao comparar os valores médios bimestrais foi observado que o IHS médio não variou significativamente ( $F = 0,179$ ;  $P = 0,682$ ) (Figura 6A); já o IGS médio apresentou diferença significativa ( $F = 16,577$ ;  $P < 0,001$ ) e o teste de Tukey foi significativo ( $p < 0,01$ ) entre o segundo e quarto bimestres do ano (Figura 6B).

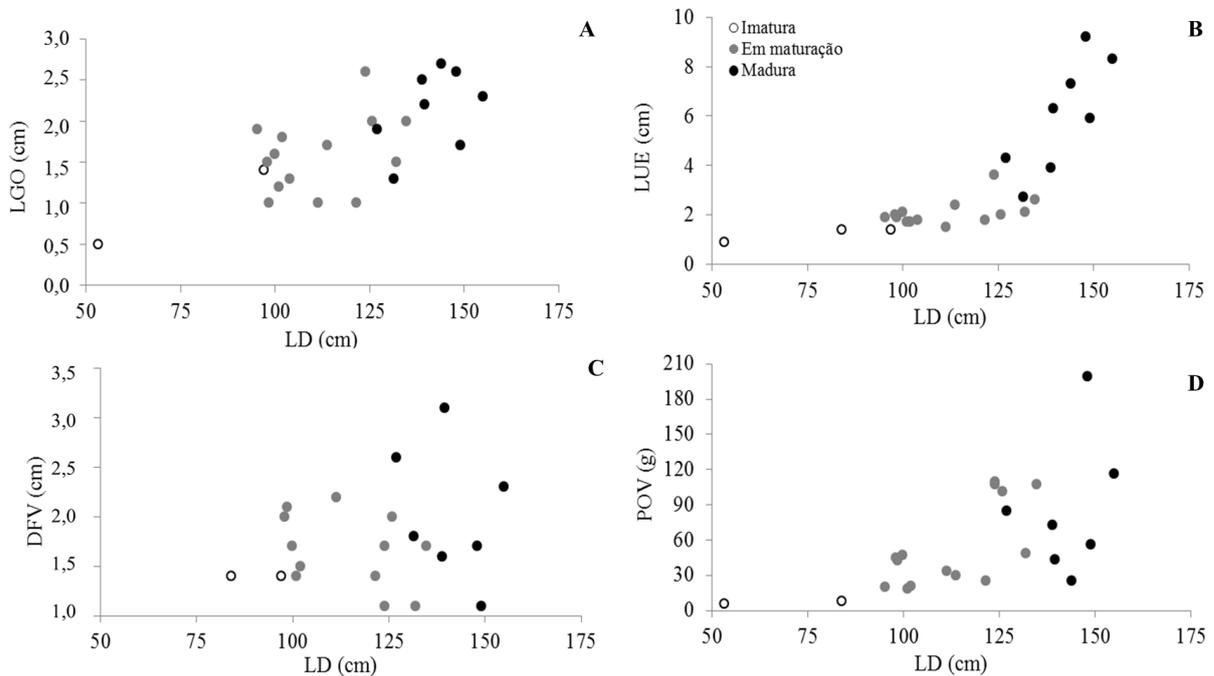


**Figura 6.** Valores médios bimestrais e desvio padrão do índice hepatossomático (IHS) para machos e fêmeas (A); índice gonadossomático (IGS) para machos e fêmeas (B) e maior diâmetro do folículo vitelogênico (DFV) (C) para fêmeas de *Aetobatus narinari* capturadas pela pesca artesanal no litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil.

### Fêmeas

As fêmeas imaturas variaram entre 53,2 e 97 cm de LD; fêmeas em maturação entre 95,3 e 134,7 cm de LD e maduras entre 127 e 155 cm de LD. A LGO variou de 0,5 a 1,4 cm (imaturas, n= 3); de 1 a 2,6 cm (em maturação, n= 14); e de 1,3 a 2,7 cm (maduras, n= 7) (Figura 7A). A LUE variou de 0,9 a 1,4 cm (imaturas, n= 3); de 1,7 a 3,6 cm (em maturação, n= 14); e de 2,7 a 9,2 cm (maduras, n= 8) (Figura 7B). O DFV foi de 1,4 cm (imaturas, n= 2); variou de 1,1 a 2,2 cm (em maturação, n= 12); e de 1,1 a 3,1 cm (maduras, n= 7) (Figura 7C).

E o POV variou de 6,01 a 8,25 g (imaturas, n= 2); de 18,56 a 110 g (em maturação, n= 14); e de 25 a 199 g (maduras, n= 7) (Figura 7D).

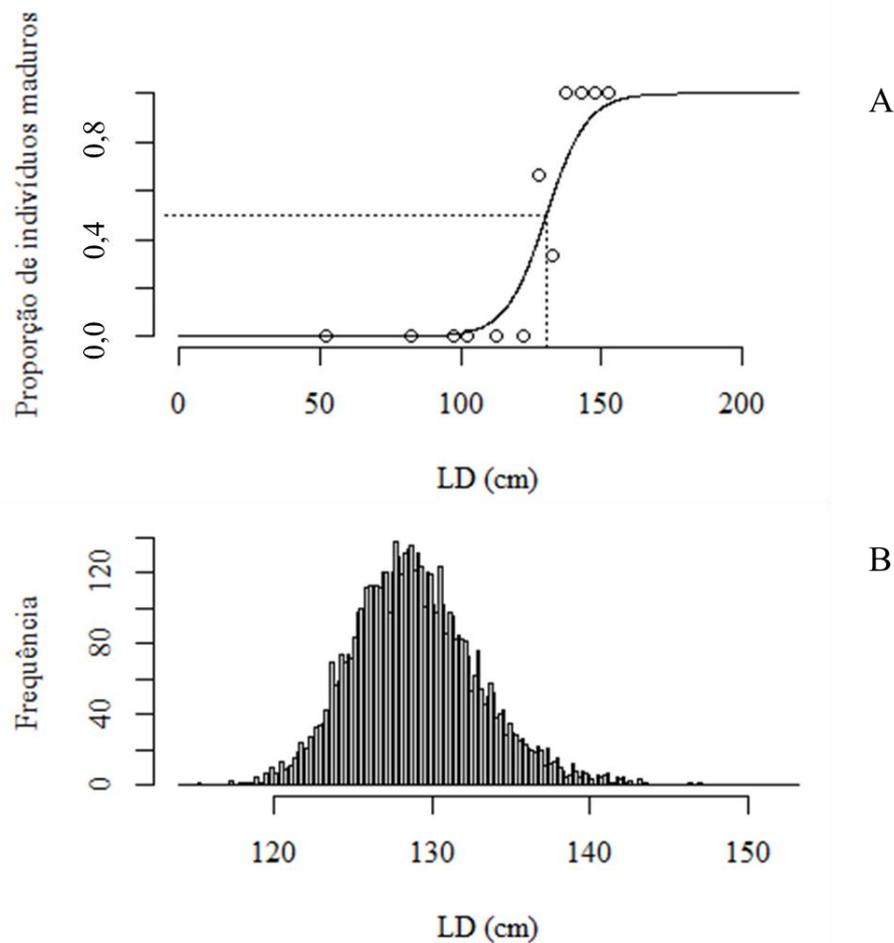


**Figura 7.** Relação entre a largura do disco (LD) e a largura da glândula oviducal (LGO) (A); largura do útero esquerdo (LUE) (B); diâmetro do maior folículo vitelogênico (DFV) (C) e peso dos ovários direito e esquerdo juntos (POV) (D) por estágio de maturação para fêmeas de *Aetobatus narinari* capturadas pela pesca artesanal no litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil.

As fêmeas atingiram a primeira maturação ( $L_{50}$ ) com 130,15 cm, correspondendo a 83,9% da LD máxima (Figura 8A). O ICr 95 foi entre 121,9 e 138,2 cm de LD (Figura 8B). A maior fêmea em maturação apresentou 134 cm de LD, a menor fêmea madura tinha 127 cm de LD, e a partir de 138,9 cm de LD todas as fêmeas foram consideradas maduras. A paridade funcional dos úteros não foi confirmada, pois, embora as fêmeas tenham apresentado ambos os úteros revestidos por trofonemas, no esquerdo o desenvolvimento destes foi mais conspícuo ( $t= 2,180$ ;  $df= 15$ ;  $P= 0,045$ ), sendo mais compridos que os do direito e mais vascularizados. Além disso, a parede uterina de indivíduos maduros apresentou-se mais larga (0,4 - 2,9 cm) que a de fêmeas imaturas (0,1 - 0,9 cm), e não houve diferença significativa entre a largura da parede do útero esquerdo e o direito ( $t= 1,780$ ;  $df= 13$ ;  $P= 0,098$ ).

Na amostra, uma raia foi considerada grávida, apesar da ausência de ovo uterino ou embrião, devido à parede uterina esquerda apresentar-se bastante hipertrofiada. A fêmea grávida tinha 148 cm de LD, foi capturada em julho de 2017 em Itamaracá, e apresentou a parede do útero esquerdo (2,9 cm) quase duas vezes mais larga que a do direito (1,5 cm),

indicando a hipertrofia da camada muscular pelo acúmulo de água, o que é normal no período de gestação. E, portanto, os embriões ou ovos uterinos presentes foram provavelmente abortados devido ao estresse da captura, logo não foi possível determinar o estágio da gestação.



**Figura 8.** Relação entre a largura do disco (LD) e a proporção de machos maduros (A); e o intervalo de credibilidade de 95% das distribuições posteriores do  $L_{50}$  (B) para fêmeas de *Aetobatus narinari* capturadas pela pesca artesanal no litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil.

Ao longo dos meses do ano o IHS variou de 2,07 (maio) a 4,76 (novembro); o IGS variou de 0,10 (maio) a 0,47 (julho) e o DFV variou de 1,1 (dezembro e agosto) a 3,1 (janeiro). Ao comparar os valores médios bimestrais foi observado que o IHS não variou significativamente ( $F = 0,254$ ;  $P = 0,629$ ) (Figura 6A); o IGS apresentou diferença significativa ( $F = 17,882$ ;  $P < 0,001$ ) e o teste de Tukey foi significativo ( $p < 0,01$ ) entre o terceiro e quarto bimestres do ano (Figura 6B), e o DFV também variou significativamente ( $F = 5,037$ ;  $P = 0,004$ ) e o teste de Tukey foi significativo ( $P < 0,05$ ) entre o primeiro e quinto bimestres (Figura 6C).

### Análise da Dieta

Dos 52 indivíduos analisados, 51,9% apresentaram estômago vazio. Além disso, três estômagos foram excluídos das análises, dois por apresentarem apenas um isópoda, parasita externo das fendas branquiais, provavelmente ingerido acidentalmente; e um que continha apenas material digerido não identificado. Sendo assim, o conteúdo estomacal dos 29 indivíduos foi utilizado nas análises subsequentes. As raias analisadas apresentaram um total de 440 itens alimentares com uma massa de 213,48 g. A curva de acumulação foi plotada para a amostra global e para sexos separados, mas devido ao pequeno tamanho amostral, em ambos os casos a curva não atingiu a assíntota, de modo que a amostra não é suficiente para descrever a dieta da espécie estudada. No entanto, as análises foram realizadas a fim de caracterizar a composição da dieta e verificar a existência de similaridades das dietas por sexo e maturidade.

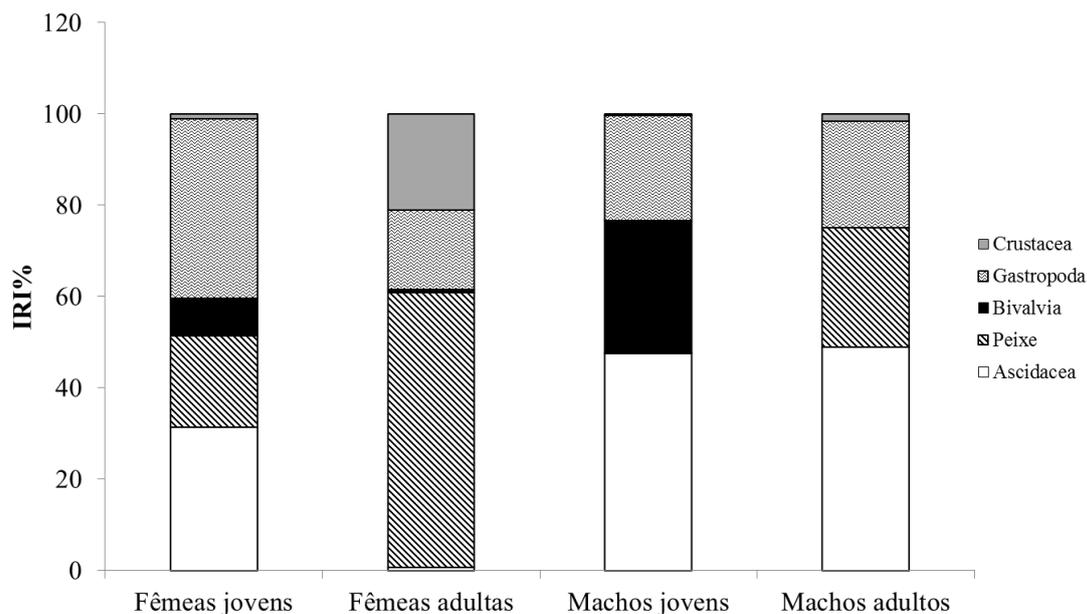
Os estômagos analisados apresentaram 16 tipos de presas diferentes pertencentes quatro filos e sete classes. Foi possível encontrar no conteúdo estomacal de cada indivíduo de um a quatro tipos de presas diferentes. A dieta das fêmeas (N= 17) de *A. narinari* foi representada principalmente por Teleostei (IRI %: 46,4) e Ascídia (IRI %: 27,9); destacando-se Ascídia em frequência numérica (FN%: 44) e Teleostei em frequência gravimétrica (FG%: 38,4) e de ocorrência (FO%: 47,1) (Tabela 2). Ao analisar a dieta por estágio de maturação, fêmeas jovens (N= 9) se alimentaram principalmente de Gastropoda (IRI%: 32,2), seguido de Ascídia (IRI%: 31,4) e Teleostei (IRI%: 20,1); e as fêmeas adultas (N= 8) de Teleostei (IRI%: 60,3) (Figura 9).

Os machos de *A. narinari* (N= 12) tiveram a dieta composta principalmente por Ascídia (IRI %: 57,2) e Gastropoda (IRI %: 20,3) e; destacando-se Bivalve lamelibrânquio em frequência numérica (FN%: 47,7), Gastropoda em frequência de ocorrência (FO%: 66,7) e Ascídia em frequência gravimétrica (FG%: 63,9) (Tabela 2). Ao analisar por estágio de maturação, a dieta dos machos jovens (N= 7) foi representada por Ascídia (IRI%: 47,5) seguida de Bivalve lamelibrânquio (IRI%: 28) e Gastropoda (IRI%: 19,8); enquanto os machos adultos (N= 5) se alimentaram principalmente de Ascídia (IRI%: 48,9), Teleostei (IRI%: 26,2) e Gastropoda (IRI%: 20,2) (Figura 9).

**Tabela 2.** Composição da dieta de *Aetobatus narinari* coletada no nordeste do Brasil. FO% frequência de ocorrência; FN% frequência numérica, FG% gravimetria porcentual, IRI% percentual de índice de importância relativa; F1 fêmeas jovens; F2 fêmeas adultas; M1 machos jovens; M2 machos adultos. Para cada filo e classe foi feito o somatório do grupo.

Presas	Fêmeas				Machos				F1	F2	MI	M2	
	FO%	FN%	FW%	IRI%	FO%	FN%	FW%	IRI%	IRI%				
<b>Anelídio</b>				0,08						0,2			
Poliqueta tubícola	5,9	0,5	0,01	0,08						0,2			
<b>Mollusca</b>				<b>19,5</b>				<b>32,0</b>	<b>47,5</b>	<b>18,1</b>	<b>52,0</b>	<b>23,3</b>	
<b>Bivalvia</b>				2,6				9,9	8,3	0,6	<b>29,0</b>		
<i>Mytella</i> sp,	5,9	9,2	5,0	1,9	8,3	1,6	0,3	0,3	6,6		1,0		
<i>Brachidontes exustus</i>	5,9	0,5	0,09	0,09						0,6			
Bivalve não identificado	5,9	3,8	0,4	0,6					1,7				
Bivalve lamelibrânquio					8,3	47,7	4,9	9,5			28,0		
<b>Gastropoda</b>				<b>16,9</b>				<b>22,1</b>	<b>39,2</b>	<b>17,5</b>	<b>23,0</b>	<b>23,3</b>	
<i>Stramonita haemastoma</i>	17,6	6,0	3,7	4,0					1,3	5,6			
Gastropoda não identificado	29,4	9,2	4,7	<b>9,5</b>	66,7	6,6	7,4	20,3	32,2		19,8	20,2	
<i>Lithopoma americanum</i>	5,9	11,4	2,5	1,9						11,9			
<i>Voluta ebraea</i>	5,9	0,5	0,5	0,1					0,5				
Ooteca espiralis - desova de Gastropoda					8,3	0,4	4,4	0,9			3,2		
<i>Lobatus gallus</i>	5,9	6,0	4,7	1,4	8,3	0,4	4,5	0,9	5,2			3,1	
<b>Crustacea</b>				6,1				0,5	1,1	<b>2,1</b>	0,3	1,6	
<b>Maxillopoda</b>				0,8				0,1	1,1	5,1	0,3		
Cirripedia	17,6	1,6	0,4	0,8	8,3	0,4	0,2	0,1		5,1	0,3		
<b>Malacostraca</b>				5,2				0,4		<b>15,8</b>		1,6	
Decápoda Misidáceo	17,6	1,6	1,2	1,2						2,3			
Paguridae	11,8	1,1	13,9	4,1	8,3	0,4	1,9	0,4		13,5		1,6	
<b>Chordata</b>				<b>74,3</b>				<b>67,5</b>	<b>51,5</b>	<b>60,9</b>	<b>47,7</b>	<b>75,1</b>	
<b>Urochordata</b>				<b>27,9</b>				<b>57,2</b>	<b>31,4</b>	0,6	<b>47,5</b>	<b>48,9</b>	
Ascídia	17,6	44,0	24,4	27,9	25,0	41,0	63,9	<b>57,2</b>	<b>31,4</b>	0,6	<b>47,5</b>	<b>48,9</b>	
<b>Vertebrata</b>				<b>46,4</b>				10,3	<b>20,1</b>	<b>60,3</b>	0,2	<b>26,2</b>	
Teleostei	47,1	4,3	38,4	46,4	33,3	1,6	12,7	10,3	<b>20,1</b>	<b>60,3</b>	0,2	<b>26,2</b>	

Os valores mais altos de IRI% estão em negrito.



**Figura 9.** Contribuição do índice percentual de importância relativa (IRI%) de cada grupo de presas da dieta de fêmeas jovens e adultas, machos jovens e adultos de *Aetobatus narinari* capturadas pela pesca artesanal no litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil.

Os índices de Levin e Shannon-Wiener indicaram que indivíduos imaturos e maduros de ambos os sexos apresentam uma dieta especialista baseada em baixa diversidade de presas. Não houve diferença significativa na composição da dieta com base na gravimetria porcentual por sexo e maturidade (PERMANOVA,  $P > 0,05$ ). Com base na análise de Bray-Curtis houve diferença significativa na dieta de machos imaturos e fêmeas maduras. Além disso, a Ascídea e Teleostei foram os itens que mais contribuíram para a dieta de machos e fêmeas de *Aetobatus narinari*, de acordo com o SIMPER.

## Discussão

### *Biologia Reprodutiva*

Machos e fêmeas de *Aetobatus narinari* coocorreram em todos os meses do ano na área de estudo. As fêmeas apresentaram maiores valores de LD, PF e PT que os machos, e demonstraram valores de  $b$  nas relações PF-LD e PT-LD bastante diferentes, indicando que as fêmeas apresentam maiores tamanhos e desenvolvimento diferente dos machos, como tem sido relatado para a mesma espécie em Porto Rico (DUBICK, 2000), México (CUEVAS-ZIMBRÓN et al., 2011) e Venezuela (TAGLIAFICO et al., 2012), e outras espécies de raias Myliobatiformes como *Myliobatis goodei* e *M. ridens* (ARAÚJO et al., 2016); *Urolophus bucculentus* (TRINNIE et al., 2012) e *Gymnura micrura* (YOKOTA et al., 2012). Nos

machos, o IHS e IGS coincidiram com maior valor no terceiro bimestre do ano, enquanto nas fêmeas esses picos ocorreram em épocas diferentes, sendo o IHS no último bimestre do ano e o IGS no quarto bimestre. Essa diferença observada nas fêmeas pode demonstrar que existe uma relação entre fígado e ovários, onde o fígado desencadeia o processo de vitelogênese (ARAÚJO et al., 2016).

No litoral da Paraíba e Pernambuco os machos (LD: 39,5 a 141 cm) de *A. narinari* apresentaram  $L_{50}$  de 116,4 cm (ICr95: 107,9 a 124,5 cm) e fêmeas (LD: 53,2 a 155 cm) apresentaram  $L_{50}$  de 130,1 cm (ICr95: 121,9 a 138,2 cm), sendo observada uma fêmea grávida de 148 cm de LD. Na Venezuela, Tagliafico et al. (2012) observaram machos com LD entre 97 - 190 cm e  $L_{50}$  de 129,2 cm e fêmeas com LD entre 64 - 226 cm com  $LD_{50}$  de 134,9 cm; além disso, o menor tamanho registrado para fêmeas não grávidas foi 106 cm de LD, para grávidas foi 150 cm de LD e pós-grávidas 167 cm LD. Em Porto Rico, Dubick (2000) observou para os machos que a maturidade foi totalmente atingida aos 122 cm de LD e para as fêmeas aos 124 cm de LD. No leste do Golfo do México, Bassos-Hull et al. (2014) observaram machos com LD entre 42 e 185 cm e  $LD_{50}$  de 127 cm, e fêmeas com LD de 41,4 a 203 cm. No estado do Maranhão, no Brasil, machos entre 110 e > 153 cm de comprimento total eram imaturos, enquanto fêmeas ocorreram entre < 75 a 163 cm de comprimento total (MENNI e LESSA, 1998). Para *A. narinari* observadas em aquários, machos e fêmeas maduros tiveram LD mínimo de 110 cm e 140 cm, respectivamente, e em média 133,6 cm e 152,2 cm de LD, respectivamente (SWIDER et al., 2017). Schluessel et al. (2010b) observaram que o tamanho de primeira maturação da *A. ocellatus* da Austrália e Taiwan foi de ~ 130 cm de LD para os machos e > 150 cm de LD para as fêmeas.

Comparando os tamanhos das raias do presente estudo com os da literatura é possível inferir que no nordeste do Brasil os indivíduos atingem a maturidade com tamanhos menores e provavelmente se desenvolvem sexualmente mais rápido que em outras regiões. Vários fatores podem influenciar as variações de comprimento de primeira maturação, como diferenças entre populações, diferenças na avaliação dos estágios de maturidade e métodos de estimativa (TAGLIAFICO et al., 2012). Além disso, as informações discrepantes sobre a biologia reprodutiva de *A. narinari* podem estar relacionadas a fatores como a temperatura, uma vez que, com base em dados de aquários, infere-se que este fator influencia o crescimento embrionário, tamanho de maturidade e períodos de gestação (mais longo em temperaturas mais baixas que em temperaturas mais elevadas), atuando como um fator

provável de diferenças regionais de tamanhos de maturidade (SCHLUESSEL et al., 2010b; SWIDER et al., 2017).

Os machos do presente estudo não apresentaram diferença significativa entre as estruturas pareadas (testículos e glândulas do cláspere). Os dois lados do trato reprodutivo dos machos de *A. narinari* foram funcionais, sendo o maior valor observado para comprimento do cláspere de 18,4 cm; para o comprimento da glândula do cláspere de 6,9 cm; e para o peso dos testículos de 155 g. Os machos Myliobatiformes, em geral, apresentam ambos os testículos funcionais havendo pouca diferença de tamanho ou peso, como observado para *Rhinoptera steindachneri* (BURGOS-VÁSQUEZ et al., 2018), *Myliobatis ridens* e *Myliobatis goodei* (ARAÚJO et al., 2016); *Rhinoptera bonasus* (POULAKIS, 2013); *Hypanus guttatus* (MELO, 2016).

Apenas o ovário esquerdo foi funcional apresentando folículos vitelogênicos para fêmeas maduras. Swider et al. (2017) também observaram que nessa espécie o oviduto e útero esquerdos são funcionais. As fêmeas de *A. narinari* de Porto Rico apresentaram desenvolvimento folicular apenas no ovário esquerdo atingindo até 1,5 cm de diâmetro, enquanto o direito parecia flácido e atrofiado (DUBICK, 2000). Na Austrália e Taiwan as massas dos ovários direito e esquerdo das fêmeas juvenis de *A. ocellatus* foram semelhantes, mas em todas as fases o ovário esquerdo foi consideravelmente maior e com oócitos imaturos e/ou vitelogênicos (0,6 a 4,5 cm de diâmetro); além disso, a presença de oócitos e embriões maduros no mesmo indivíduo indicaram que a vitelogênese ocorre paralelamente à gestação, e a ovulação logo após o parto (SCHLUESSEL et al., 2010b).

Ambos os úteros apresentaram parede uterina revestida por trofonemas, e para as fêmeas maduras, a largura do útero esquerdo e direito apresentou diferença significativa, bem como o tamanho dos trofonemas, indicando que o útero esquerdo é o mais desenvolvido, e provavelmente o único funcional. Fêmeas grávidas de *A. narinari* na Venezuela apresentaram apenas um útero funcional onde todos os embriões se desenvolviam (TAGLIAFICO et al., 2012). Ambos os úteros de *A. ocellatus* foram desenvolvidos, no entanto, enquanto o útero esquerdo teve mais que o dobro do tamanho do direito, apresentando abundantes trofonemas e secretando um histótrofo esbranquiçado, nenhum trofonema revestiu o útero direito, apresentando paredes internas com alto grau de vascularização (SCHLUESSEL et al., 2010b).

No presente estudo, a parede uterina de fêmeas maduras (0,4 – 2,5 cm) foi mais larga que a de fêmeas imaturas (0,1 – 0,9 cm), mas não houve diferença significativa entre os úteros esquerdo e direito. No entanto, foi observada uma fêmea grávida com 148 cm de LD, que

apresentou a largura da parede do útero esquerdo duas vezes maior que a do direito. Segundo Colonello et al. (2013), quando a fêmea está grávida, a parede uterina aumenta a camada muscular devido ao aumento da vascularização e à água do tecido conjuntivo (similar aos mamíferos superiores).

Na Venezuela, Tagliafico et al. (2012) observaram que *A. narinari* (Venezuela) pode gerar de 1 a 5 embriões, com no máximo 44,5cm de LD, sugerindo um tamanho de nascimento > 40 cm de LD; e que fêmeas podem copular logo depois de dar à luz (de fevereiro a maio e de julho a outubro), assim, é possível que o período de maiores capturas coincida com o período reprodutivo dessa espécie. Dubick (2000) presumiu que em Porto Rico o período de parto dessa espécie seria do final do verão para o início do outono. Segundo Schluessel et al. (2010b), *A. ocellatus* realiza o parto no final do verão e o acasalamento ocorre imediatamente depois. O ciclo reprodutivo da *A. narinari* é contínuo, em que a vitelogênese ocorre concomitante à gestação (SCHLUESSEL et al., 2010b; SWIDER et al., 2017), por conseguinte, fêmeas no final da gestação apresentam maiores folículos vitelogênicos. No presente estudo, embora não tenham sido encontrados embriões ou ovos uterinos nas fêmeas maduras, a única fêmea grávida coletada foi capturada em Julho e os maiores folículos vitelogênicos da amostra foram registrados no primeiro bimestre do ano, em vista disso é possível inferir que nos primeiros meses do ano as raias utilizem essa área para dar à luz e reproduzir, coincidindo com o período de captura pela pesca. Dessa forma, são necessárias medidas de manejo de pesca a fim de evitar a captura nesse momento, o que favorece o recrutamento futuro.

#### *Análise da Dieta*

Com base na análise do conteúdo estomacal foi possível observar que no estado da Paraíba e Pernambuco *Aetobatus narinari* tem uma dieta especialista e restrita, com baixa diversidade de itens alimentares. A maior parte da dieta, para ambos os sexos, foi composta por Cordados (IRI%: 67,5 para machos; IRI%: 74,3 para fêmeas), seguido de Mollusca (IRI%: 32 para machos; IRI%: 19,5 para fêmeas). Dentro do grupo dos Cordados, Ascídia foi mais consumida pelos machos e Teleostei pelas fêmeas; já para o táxon Mollusca o maior consumo foi de Gastropoda para ambos os sexos.

Embora *A. narinari* apresente um aparato bucal adaptado ao consumo de presas duras, durofagia, no presente estudo, foi possível observar o comportamento oportunista da espécie

ao consumir itens como Ascídia e Teleostei. De acordo com Bigelow e Schroeder (1953), embora *A. narinari* se alimentem principalmente de moluscos bivalves, como mexilhões e ostras, que quebram com suas placas dentárias, também foi relatado como conteúdo estomacal da espécie fragmentos de Teleostei, vermes marinhos, camarões e polvos.

Segundo Serrano-Flores et al. (2018) *A. narinari* (México) é um predador especializado e seletivo que se alimenta principalmente de gastrópodes, sem diferenças significativas na dieta entre sexos e tamanhos. Nas Bermudas, *A. narinari* apresenta uma dieta composta principalmente de bivalves e alguns gastrópodes (AJEMIAN et al., 2012). De acordo com Schluessel et al. (2010b) na Austrália e Taiwan *Aetobatus ocellatus* é um especialista em presas duras, que se alimenta principalmente de gastrópodes, moluscos e ermitões (Diogenidae). No Japão, Yamaguchi et al. (2005) observou que *A. flagellum* se alimentaram apenas de bivalves. Na Patagonia *Myliobatis goodei* se comporta como um predador generalista com uma dieta composta principalmente por bivalves (MOLINA e CAZORLA, 2015). No Uruguai e Argentina, Ruocco e Lucifora (2017) observaram para *Myliobatis ridens* uma dieta durofágica composta por bivalves e gastrópodes, para *M. goodei* uma dieta baseada em poliquetas e decápodes, e para *Dasyatis hypostigma* uma alimentação composta por anfípodes e decápodes, havendo diferenças ontogenéticas e sazonais nas dietas das três espécies.

Embora os resultados do presente estudo não tenham indicado diferença significativa na dieta entre os sexos e tamanhos foi possível observar que o grupo Mollusca foi mais importante na dieta dos imaturos que dos maduros, destacando-se Gastropoda para as fêmeas e Bivalvia para os machos. Portanto, o hábito alimentar indicou a preferência de indivíduos imaturos por presas menores e de maduros por presas maiores, como também foi observado por Serrano-Flores et al. (2018) para a mesma espécie no México. Variação ontogenética da dieta também foi sugerida para *A. narinari* nas Bermudas (AJEMIAN et al., 2012) e para *A. ocellatus* na Austrália e Taiwan (SCHLUESSEL et al., 2010b). Tal diferença pode estar relacionada à habilidade do indivíduo, estratégia de predação utilizada, preferência por presas mais energéticas para ajudar no crescimento, ou mesmo a disponibilidade de presas em diferentes áreas de forrageio. Ao estudar a dieta de *Hypanus guttatus* (GIANETI et al., 2019) e *H. marianae* (QUEIROZ et al., 2019) no Brasil observaram que raias maiores provavelmente apresentam maior capacidade física e experiência para capturar certos tipos de presas (Teleostei, Brachyura e Sipuncula).

A identificação do conteúdo estomacal da raia pintada no presente estudo foi bastante desafiadora para itens alimentares como moluscos, devido à ausência de conchas. Isso se deve à habilidade que raias que se alimentam por durofagia têm de expelir quase completamente a concha das presas restando apenas as partes moles e algumas estruturas como opérculo e rádula, que possibilitam a identificação da espécie. Essa habilidade consiste em controlar a entrada de água pela boca por meio de movimentos da boca e das fendas branquiais selecionando o que será ingerido e expelido, por meio de uma peneiração hidráulica (SUMMERS, 2000; DEAN et al., 2005; SASKO et al., 2006; REZENDE et al., 2015). Segundo Bigelow e Schroeder (1953) é possível que usem a placa dentária inferior projetada como uma pá para cavar moluscos do fundo arenoso, de modo que a nadadeira subrostral serve como auxílio, mantendo a água turva com a areia que é perturbada ao se alimentar em águas rasas durante a maré alta.

### **Agradecimentos**

À CAPES pelo apoio financeiro (bolsa de doutorado concedida a Priscila Rocha Vasconcelos Araújo) e ao CNPq (Bolsa de Produtividade Rosângela Lessa Pq 1, nº 306672 / 2015-4); aos pescadores pela cooperação no fornecimento de informações obtenção de amostras; ao ICMBIO pela autorização para realização do estudo sob Licença Permanente nº 49663-1; ao Prof. Dr. José Carlos Barros do Departamento de Pesca da UFRPE pela colaboração para identificação dos itens alimentares; e a Leandro Augusto de Souza Junior pelo mapa da área de estudo.

### **Referências**

- AJEMIAN, M.J.; POWERS, S.P.; MURDOCH, T.J.T. Estimating the potential impacts of large mesopredators on benthic resources: integrative assessment of spotted eagle ray foraging ecology in Bermuda. **PLoS One**, v. 7, e40227, 2012.
- ARAÚJO, P.R.V.; ODDONE, M.C.; VELASCO, G. Reproductive biology of the stingrays, *Myliobatis goodei* and *Myliobatis ridens* (Chondrichthyes: Myliobatidae), in southern Brazil. **Journal of Fish Biology**, v.89, p.1043-1067, 2016.
- BASSOS-HULL, K.; WILKINSON, K.A.; HULL, P.T.; DOUGHERTY, D.A.; OMORI, K.L.; AILLOUD, L.E.; MORRIS, J.J.; HUETER, R.E. Life history and seasonal occurrence of the spotted eagle ray, *Aetobatus narinari*, in the eastern Gulf of Mexico. **Environmental Biology of Fishes**, v. 97, p.1039-1056, 2014.

- BIGELOW, H.B.; SCHROEDER, W.C. Sawfishes, guitarfishes, skates and rays. In: TEEVAN, J.; BREDER, C.M.; PARR, A.E.; SCHROEDER, W.C.; SCHULTZ, L.P. Fishes of the western North Atlantic. New Haven: Memoir Sears Foundation for Marine Research, 1953. p.2-588.
- BIZZARRO, J.J.; ROBISON, H.J.; RINEWALT, C.S.; EBERT, D.A. Comparative feeding ecology of four sympatric skate species off central California, USA. **Environmental Biology of Fishes**, v. 80, p.197–220, 2007.
- BURGOS-VÁZQUEZ, M.I.; CHÁVEZ-GARCÍA, V.E.; CRUZ-ESCALONA, V.H.; NAVIA, A.F.; MEJÍA-FALLA, P.A. Reproductive strategy of the Pacific cownose ray *Rhinoptera steindachneri* in the southern Gulf of California. **Marine and Freshwater Research**, v. 70, p.93-106, 2018.
- CLARKE, K.R. Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. **Australian Journal of Ecology**, v. 18, p.117–143, 1993.
- COLONELLO, J.H.; CHRISTIANSEN, H.E.; COUSSEAU, M.B.; MACCHI, G.J. Uterine dynamics of the southern eagle ray *Myliobatis goodei* (Chondrichthyes: Myliobatidae) from the southwest Atlantic Ocean. **Italian Journal of Zoology**, v. 80, p.187–194, 2013.
- COLWELL, R.K. EstimateS: statistical estimation of species richness and shared species from samples, Version 9. User's Guide and Application (published at: <http://purl.oclc.org/estimates>), 2013.
- CORDOVÉS, M.; RON, E.; CORDOVÉS, P.; TAVARES, R. Caracterización de las capturas comerciales del chucho pintado, *Aetobatus narinari* (Elasmobranchii: Myliobatidae), procedentes del Archipiélago de Los Frailes. **Anartia**, v. 25, p.47-63, 2013.
- CORTÉS, E. A critical review of methods of studying fish feeding based on analysis of stomach contents: application to elasmobranch fishes. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 54, p.726-738, 1997.
- CUEVAS-ZIMBRÓN, E.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.C.; MÉNDEZ-LOEZA, I. Spatial and seasonal variation in a target fishery for spotted eagle ray *Aetobatus narinari* in the southern Gulf of Mexico. **Fisheries Science**, v. 77, p.723–730, 2011.
- DEAN, M.N., WILGA, C.D.; SUMMER, A.P. Eating without hands or tongue: specialization, elaboration and the evolution of prey processing mechanisms in cartilaginous fishes. **Biological Letters**, v.1, p.357–361, 2005.
- DUBICK, J.D. Age and growth of the spotted eagle ray, *Aetobatus narinari* (Euphrasen, 1790), from southwest Puerto Rico with notes on its biology and life history. 2000. 91p. **Dissertação (Mestrado)** - Universidade de Porto Rico, Mayaguez.

- ETEPE. **Ecologia dos Tubarões no litoral do Estado de Pernambuco**. Relatório Técnico Científico, UFRPE: Departamento de Pesca, 1995. 213p.
- GIANETTI, M.D.; YOKOTA, L.; LESSA, R.P.T.; DIAS, J.F. Diet of longnose stingray *Hypanus guttatus* (Myliobatiformes: Dasyatidae) in tropical coastal waters of Brazil. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, p.1–9, 2019.
- GUERRA, I.A.L.T. Tipos de clima do Nordeste. **Revista Brasileira de Geografia**, v. 17, p. 449–496, 1955.
- HAMLETT, W. C.; KOOB, T. J. Female reproductive system. In: Hamlett, W.C.. *Sharks, Skates and Rays: Biology of Elasmobranch Fishes*. Baltimore, MD: The Johns Hopkins University Press, 1999, p. 398–444.
- HAMMER, Ø.; HARPER, D.A.T.; RYAN, P.D. PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia electronica* 4.1, 2001.
- HARMON, T.S.; KAMERMAN, T.Y.; CORWIN, AL.; SELLAS, A.B. Consecutive parthenogenetic births in a spotted eagle ray *Aetobatus narinari*. **Journal of Fish Biology**, v.88, p.741-745, 2016.
- HYSLOP, E.J. Stomach contents analysis – a review of methods and their application. **Journal of Fish Biology**, v. 17, p.411–429, 1980.
- ICES. **Report of the workshop on Sexual Maturity Staging of Elasmobranchs (WKMSSEL)**, 11-14 December 2012. Lisbon: ICES CM 2012/ACOM: 59, 2013. 66p.
- ICMBIO. **Avaliação do risco de extinção dos elasmobrânquios e quimeras no Brasil: 2010-2012**. Itajaí: ICMBIO / MMA / CEPSUL, 2016. 67p.
- JANSE, M.; KAPPE, A.L.; VAN KUIJK, B.L.M. Paternity testing using the poisonous sting in captive white-spotted eagle rays (*Aetobatus narinari*): a non-invasive tool for captive sustain ability programmes. **Journal of Fish Biology**, v. 82, p.1082-1085, 2013.
- KEMPF, M. A Plataforma Continental de Pernambuco (Brasil): Nota Preliminar sobre a Natureza do Fundo. **Trabalhos Oceanográficos da Universidade Federal de Pernambuco**, v.9, 10, 11, p.111-124, 1967 a.
- KEMPF, M. Nota Preliminar Sobre Fundos Costeiros da Região de Itamaracá (Norte do Estado de Pernambuco, Brasil). **Trabalhos Oceanográficos da Universidade Federal de Pernambuco**, v. 9, 10, 11, p.95-110, 1967 b.
- KINAS, P. G; ANDRADE, H. **Introdução à Análise Bayesiana (com R)**. Porto Alegre: MaisQnada, 2010. 258p.
- KING, M. **Fisheries Biology, Assessment and Management**. Oxford: Fishing Books News. 1995. 400p.

- KÖPPEN, W. **Climatologia: Con un estudio de los climas de la tierra.** Versión de Pedro R. Heindrichs, México: Fonte de Cultura Económica, 1948. 496p.
- KREBS, C.J. **Ecological Methodology.** 2nd ed. Benjamin Cummings, Menlo Park, California, 1999. 620 p.
- KYNE, P.M.; ISHIHARA, H.; DUDLEY, S.F.J.; WHITE, W.T. *Aetobatus narinari*. **The IUCN Red List of Threatened Species 2006:** e.T39415A10231645, 2006. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2006.RLTS.T39415A10231645.en>>. Acesso em: 20 agosto 2018.
- LAST, P. R.; WHITE, W. T.; DE CARVALHO, M. R.; SÉRET, B.; STEHMANN, M. F. W.; NAYLOR, G. J. P. **Rays of the World.** Ithaca, NY: Cornell University Press, 2016, 789p.
- LÉOPOLD, M. **Guide des poissons de mer de Guyane.** Plouzané: Ifremer, 2004. 216p.
- LÓPEZ, N.U. Estimación de la edad y crecimiento de la raya águila *Aetobatus narinari* (EUPHRASEN, 1790) en el sur del Golfo de México. 2015. 77p. **Monografía (Graduação)**–Universidad Autónoma de Baja California Sur, La Paz.
- McEACHRAN, J.D.; CARVALHO, M.R. Myliobatidae. In: CARPENTER, K.E.. The living marine resources of the Western Central Atlantic. Rome, FAO, 2002. p. 578-582.
- MELO, A.C.M. Biologia Reprodutiva e Pesca da Raia *Dasyatis guttata* (Bloch & Schneider, 1801) (Elasmobranchii: Dasyatidae) na Plataforma Continental de Pernambuco, Brasil. 2016. 99p. **Dissertação (Mestrado)**–Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.
- MENNI, R.C.; LESSA, R.P. The chondrichthyan community off Maranhão (Northeastern Brazil). II, Biology of species. **Acta zoologica Lilloana**, v. 44, p.69-89, 1998.
- MICHELLI, M.; ARAÚJO, T.C.M.; MAIDA, M.; VITAL, H. Indicatives of ancient conditions of sea level stability on the southern Pernambuco continental shelf. **Revista Pesquisas em Geociências**, v. 28, p. 25 – 33, 2001.
- MOLINA, J.M.; LOPEZ CAZORLA, A. Biology of *Myliobatis goodei* (Springer, 1939), a widely distributed eagle ray, caught in northern Patagonia. **Journal of Sea Research**, v. 95, p.106–114, 2015.
- NEWBY, J.; DARDEN, T.; SHEDLOCK, A.M. Population Genetic Structure of Spotted Eagle Rays, *Aetobatus narinari*, off Sarasota, Florida and the Southeastern United States. **Copeia**, v. 2014, p.503-512, 2014.
- PINKAS, L.; OLIPHANT, M.S.; IVERSON, I.L.K. Food habits of albacore, bluefin tuna and bonito in Californian waters. **California Fish and Game**, v. 152, p.1-105, 1971.

POULAKIS, G.R. Reproductive Biology of the Cownose Ray in the Charlotte Harbor Estuarine System, Florida. **Marine and Coastal Fisheries: Dynamics, Management, and Ecosystem Science**, v. 5, p.159–173, 2013.

QUEIROZ, A.P.N.; ARAUJO, M.L.G.; LESSA, R.P.T. Dietary composition and trophic level of *Hypanus marianae* (Myliobatiformes: Dasyatidae), captured off Pernambuco coast, Brazil. **Latin American Journal of Aquatic Research**, v. 47, p.808-817, 2019.

REZENDE, G.A.; CAPITOLI, R.R.; VOOREN, C.M. Dieta e morfologia da cabeça, boca e dentição de duas raias simpátricas, *Myliobatis goodei* e *M. ridens* (Batoidea: Myliobatiformes). **Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão**, v. 37, p.255-270, 2015.

RICHARDS, V.P.; HENNING, M.; WITZELL, W.; SHIVJI, M.S. Species Delineation and Evolutionary History of the Globally Distributed Spotted Eagle Ray (*Aetobatus narinari*). **Journal of Heredity**, v.100, p.273-283, 2009.

RIOS, E.C. **Seashells of Brazil**. Fundação Cidade do Rio Grande, Brazil, 1985. 328p.

RUOCCO, N.L.; LUCIFORA, L.O. Ecological singularity of temperate mesopredatory myliobatoid rays (Chondrichthyes: Myliobatiformes). **Marine and Freshwater Research**, v. 68, p.1098-1111, 2017.

SALES, J.B.; OLIVEIRA, C.N.; SANTOS, W.C.; ROTUNDO, M.M.; FERREIRA, Y.D.; READY, J.L.; SAMPAIO, I.C.; OLIVEIRA, C.; CRUZ, V.P.; LARA-MENDOZA, R.E.; RODRIGUES-FILHO, L.F. Phylogeography of eagle rays of the genus *Aetobatus*: *Aetobatus narinari* is restricted to the continental western Atlantic Ocean. **Hydrobiologia**, v. 836, p. 169-183, 2019.

RSTUDIO TEAM. RStudio: Integrated Development for R. RStudio, PBC, Boston, MA. 2020. URL <http://www.rstudio.com/>.

SASKO, D.E.; DEAN, M.N. & MOTTA, P.J.; HUETER, R.E. Prey capture behavior and kinematics of the Atlantic cownose ray, *Rhinoptera bonasus*. **Zoology**, v. 109, p.171–181, 2006.

SCHLUESSEL, V.; BRODERICK, D.; COLLIN, S.P.; OVENDEN, J.R. Evidence for extensive population structure in the white-spotted eagle ray within the Indo-Pacific inferred from mitochondrial gene sequences. **Journal of Zoology**, v. 281, p.46–55, 2010 a.

SCHLUESSEL, V.; BENNETT, M.B.; COLLIN, S.P. Diet and reproduction in the white-spotted eagle ray *Aetobatus narinari* from Queensland, Australia and the Penghu Islands, Taiwan. **Marine and Freshwater Research**, v.61, p.1278-1289, 2010 b.

SELLAS, A.B.; BASSOS-HULL, K.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.C.; ANGULO-VALDÉS, J.A.; BERNAL, M.A.; HUETER, R.E. Population Structure and Seasonal Migration of the Spotted Eagle Ray, *Aetobatus narinari*. **Journal of Heredity**, v.106, p.266-275, 2015.

SERRANO-FLORES, F. Hábitos alimentarios de la raya pinta (*Aetobatus narinari*) y caracterización de sus posibles presas en el sur del Golfo de México. 2017. 98p. **Dissertação (Mestrado)** - El Colegio de la Frontera Sur, Campeche.

SERRANO-FLORES, F.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.C.; MÉNDEZ-LOEZA, I.; BASSOS-HULL, K.; AJEMIAN, M.J. Comparison between the feeding habits of spotted eagle ray (*Aetobatus narinari*) and their potential prey in the southern Gulf of Mexico, *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, v. 99, p. 661- 672, 2019.

SUMMERS, A. P. Stiffening the stingray skeleton: an investigation of durophagy in myliobatid stingrays (Chondrichthyes, Batoidea, Myliobatidae). **Journal of Morphology**, v. 243, p.113–126, 2000.

SWIDER, D.A.; CORWIN, A.L.; KAMERMAN, T.Y.; ZIMMERMAN, S.L.; VIOLETTA, G.C.; DAVIS, J.; JANSE, M. Chapter 42: Reproduction of spotted eagle rays, *Aetobatus narinari*, in aquaria. In: SMITH, M.; WARMOLTS, D.; THONEY, D.; HUETER, R.; MURRAY, M.; EZURRA, J.. *The Elasmobranch Husbandry Manual II: Recent Advances in the Care of Sharks, Rays and their Relatives*, Special Publication of the Ohio Biological Survey, 2017. p.433-442.

TAGLIAFICO, A.; RAGO, N.; RANGEL, S.; MENDOZA, J. Exploitation and reproduction of the spotted eagle ray (*Aetobatus narinari*) in the Los Frailes Archipelago, Venezuela. **Fishery Bulletin**, v.110, p.307-316, 2012.

TRINNIE, F.I.; WALKER, T.I.; JONES, P.L.; LAURENSEN, L.J. Biennial reproductive cycle in an extensive matrotrophic viviparous batoid: the sandyback stingaree *Urolophus bucculentus* from south-eastern Australia. **Journal of Fish Biology**, v.80, p.1267–1291, 2012.

WHITE, W.T.; LAST, P.R.; NAYLOR, G.J.P.; JENSEN, K.; CAIRA, J.N. Clarification of *Aetobatus ocellatus* (Kuhl, 1823) as a valid species, and a comparison with *Aetobatus narinari* (Euphrasen, 1790) (Rajiformes: Myliobatidae). **CSIRO Marine and Atmospheric Research Paper**, v.32, p.141-164, 2010.

WHITE, W.T.; NAYLOR, G.J.P. Resurrection of the family Aetobatidae (Myliobatiformes) for the pelagic eagle rays, genus *Aetobatus*. **Zootaxa**, v.4139, p.435–438, 2016.

YAMAGUCHI, A.; KAWAHARA, I.; ITO, S. Occurrence, growth and food of longheaded eagle ray, *Aetobatus flagellum*, in Ariake Sound, Kyushu, Japan. **Environmental Biology of Fishes**, v.74, p.229–238, 2005.

YOKOTA, L.; GOITEIN, R.; GIANETI, M.D.; LESSA, R.T.P. Reproductive biology of the smooth butterfly ray *Gymnura micrura*. **Journal of Fish Biology**, v.81, p.1315–1326, 2012.

YOKOTA, L.; LESSA, R.P. A nursery area for sharks and rays in Northeastern Brazil. **Environmental Biology of Fishes**, v.75, p.349-360, 2006.

ZAR, J. H. **Biostatistical Analysis**, 5 ed. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ, 2009. 944 p.

## CAPÍTULO 4

**Morfometria e estrutura populacional de *Aetobatus narinari* (Myliobatiformes) capturada no Litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil**

**Morfometria e estrutura populacional de *Aetobatus narinari* (Myliobatiformes) capturada no Litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil****Priscila Rocha Vasconcelos Araújo e Rosangela Lessa****Resumo**

No Brasil, *Aetobatus narinari* é considerada como espécie Dados insuficientes (DD). Apesar da escassez de informações básicas sobre sua biologia e ecologia, essa espécie é capturada pela pesca artesanal em todo o país, principalmente no Nordeste. Portanto, o estudo foi realizado no litoral da Paraíba e Pernambuco (07°30'S; 34°49'W / 07°47'S; 34°51'W), Nordeste do Brasil, a fim de verificar se os espécimes de *A. narinari* capturados pela pesca nessa região apresentam diferenças morfológicas entre si, estudando a morfometria linear e geométrica, e se pertencem a uma mesma população, estudando a estrutura populacional dos indivíduos. Desse modo, as amostras foram coletadas mensalmente de abril de 2016 a agosto de 2018 pela pesca artesanal da região. Para a morfometria linear, 54 indivíduos foram identificados quanto ao sexo e a largura do disco (LD, cm) e mais 29 medidas morfométricas foram tomadas para comparação entre machos e fêmeas. As Análises de Covariância (ANCOVA) realizadas para os sexos separados demonstrou diferença significativa nas regressões lineares entre cada medida e a LD dos indivíduos. Para a morfometria geométrica foram utilizadas fotografias dos condrocânios da vista dorsal (17 marcos anatômicos) e ventral (16 marcos anatômicos) de 38 indivíduos (15 machos e 23 fêmeas). Conforme as análises de Componentes Principais e Discriminante houve diferença significativa para os sexos em ambas as vistas dorsal e ventral em relação à região da fontanela (dorsal), processos pré-orbital e supraorbital (dorsal, ventral) e cápsula nasal (ventral). As diferenças morfométricas entre machos e fêmeas de *A. narinari* podem estar relacionadas a diferenças na ecologia e comportamento desses indivíduos. Finalmente, para estudar a estrutura populacional, 42 indivíduos foram utilizados e os genes mitocondriais Citocromo oxidase 1 (CO1), Citocromo b (Cytb) e NADH desidrogenase subunidade 4 (ND4) foram analisados por meio de sequências concatenadas COI-Cytb-ND4 com 1976 pares de base. De acordo com os resultados, a amostra apresentou 14 diferentes haplótipos, com diversidade  $h_d = 0,646$ ; baixos valores de índice de fixação ( $F_{ST}$ ) por local; indicando fraca estrutura populacional. Portanto, a área de estudo apresenta uma única população, o que indica a importância de monitorar as atividades de pesca da região evitando a sobre-exploração dessa população de *A. narinari*.

**Abstract**

In Brazil, *Aetobatus narinari* is considered a Data Deficient (DD) species. Despite the scarcity of basic information about its biology and ecology, this species is caught by artisanal fisheries throughout the country, especially in the Northeast. Therefore, the study was carried out along the coast of Paraíba and Pernambuco (07°30'S; 34°49'W / 07°47'S; 34°51'W), Northeast Brazil, in order to verify if the specimens of *A. narinari* caught by fishing in this region present morphological differences among themselves, studying the linear and geometric morphometry, and if they belong to the same population, studying the population structure of the individuals. Samples were collected monthly from April 2016 to August 2018 by artisanal fishing in the region. For linear morphometry, 54 individuals were gendered and disc width

(DW, cm) and another 29 morphometric measurements were taken to compare males and females. The results Covariance Analysis (ANCOVA) performed for the separated sexes showed a significant difference in the linear regressions between each measure and the DW of individuals. For the geometrical morphometry, photographs of the chondrocraniums dorsal (17 anatomic marcs) and ventral (16 anatomic marcs) view of 38 individuals (15 males and 23 females) were used. According to the statistical of Principal Component analysis and Linear Discriminant analysis, there was a significant difference for the sexes in both dorsal and ventral views in relation to the fontanelle (dorsal) region, pre-orbital and supraorbital (dorsal, ventral) and nasal capsule (ventral). The morphometric differences between males and females of *A. narinari* may be related to differences in the ecology and behaviour of these individuals. Finally, to study the population structure, 42 individuals were used and the mitochondrial genes Cytochrome oxidase 1 (CO1), Cytochrome b (Cytb) and NADH dehydrogenase subunit 4 (ND4) were analyzed using concatenated COI-Cytb-ND4 sequences with 1976 base pairs. According to the results the sample presented 14 different haplotypes, with diversity  $h_d = 0.646$ ; low fixation index ( $F_{ST}$ ) values per site; indicating poor population structure. Throughout the studied coast *A. narinari* is caught by small-scale artisanal fishing, so the study can contribute to the management of fishing and conservation of the species in the region. Therefore, the study area has only one population, which indicates the importance of monitoring fishing activities in the region avoiding over-exploitation of this population of *A. narinari*.

## Introdução

Antes considerada uma espécie circunglobal (BIGELOW e SCHROEDER, 1953), variações no padrão de cores, evidências parasitológicas e genéticas indicaram que *Aetobatus narinari* se tratava de um complexo de espécies composta por pelo menos três linhagens distintas com nenhuma troca genética entre indivíduos, cuja origem se deu no Indo-Oeste-Pacífico (RICHARDS et al., 2009; SCHLUESSEL et al., 2010). Atualmente estudos filogenéticos elucidaram que a espécie ocorre apenas no Atlântico (WHITE et al., 2010; SALES et al., 2019).

Essa espécie é capturada pela pesca e comercializada em vários países do Atlântico (México, Porto Rico, Venezuela, Cuba), indicando possível declínio da população e necessidade de estudos que ajudem no seu manejo e conservação (DUBICK, 2000; CUEVAS-ZIMBRÓN et al., 2011; TAGLIAFICO et al., 2012; BASSOS-HULL et al., 2014). Devido à redefinição taxonômica, o *status* de conservação da espécie, atualmente, classificada como “near threatened”, quase ameaçada, pela União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN) (KYNE et al., 2006), precisa ser revisado (WHITE et al., 2010). No Brasil essa espécie é capturada pela pesca (LESSA et al., 1999; ICMBIO, 2016), e não há informações

sobre sua biologia básica, sendo classificadas como Dados Insuficientes (DD) (ICMBIO, 2016). Assim, faz-se necessário investigar se *A. narinari* apresenta um ou mais morfotipos, portanto o uso de análises genéticas e morfometria linear e geométrica podem ser importantes ferramentas para ajudar a classificar o *status* populacional da espécie para a região.

A partir da morfometria linear e geométrica é possível identificar diferenças na forma dos indivíduos de espécies e subpopulações diferentes, ou mesmo variações ontogenéticas e dimorfismo sexual. Estudos de elasmobrânquios têm aplicado a morfometria para investigar diferenças entre espécies ou mesmo para identificar novas espécies, como, por exemplo, *Sympterygia acuta* e *S. bonapartii* (ORLANDO et al., 2015); *Rhinoptera brasiliensis* (JONES et al., 2017); *Zapteryx exasperata* (BLANCO-PARRA et al., 2009); *Rhizoprionodon porosus* (LUCENA e LESSA, 2019); *Potamotrygon limai* (FONTENELLE et al., 2014); *Potamotrygon wallacei* (DE CARVALHO et al., 2016); *Potamotrygon boesemani* (ROSA et al., 2008); *Gymnura lessae* (YOKOTA e CARVALHO, 2017). Somado a isso, definir a variação molecular e a estrutura genética da população é fundamental para a compreensão da saúde e viabilidade de espécies pouco estudadas, além de informar melhor as diretivas de conservação (SELLAS et al., 2011; NEWBY et al., 2014a, SELLAS et al., 2015).

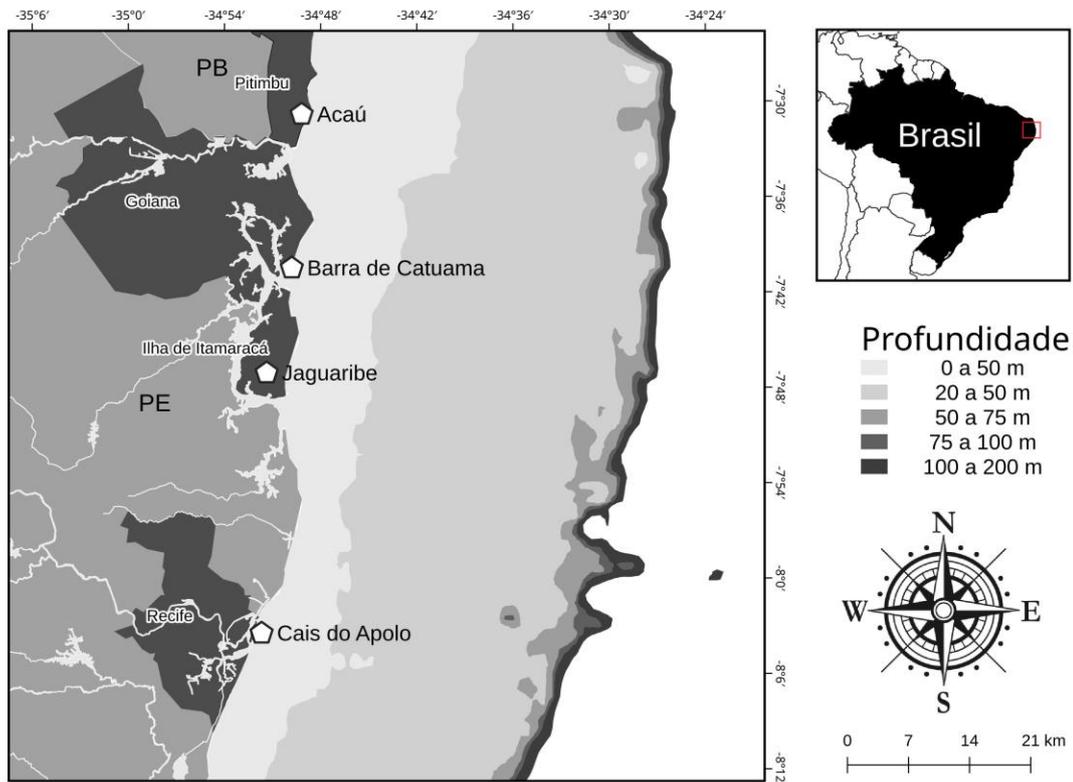
No Nordeste do Brasil, o sistema de informações sobre capturas de elasmobrânquios é deficiente e preocupante, principalmente considerando suas características biológicas e ecológicas; e a identificação das espécies que compõe um recurso pesqueiro é indispensável para sua gestão (LESSA, 1986; LESSA et al., 2005). Assim, o presente trabalho teve como objetivo estudar a estrutura populacional da raia *Aetobatus narinari* no litoral da Paraíba e Pernambuco, Nordeste do Brasil, investigando a presença de haplótipos diferentes dentre os indivíduos capturados na região, se ocorre mais de uma população na área de estudo, e se sim, se existe fluxo gênico entre elas; e analisar com base na morfometria linear e geométrica se existe diferenças morfológicas significativas entre machos e fêmeas.

## **Material e métodos**

### *Área de estudo*

O estudo foi realizado em quatro áreas de desembarque de pesca artesanal no litoral sul da Paraíba, em Acaú (07°30'51"S; 34°49'11"W) no município de Pitimbu; e o litoral norte de Pernambuco, nas localidades de Barra de Catuama (07°40'31"S; 34°49'48"W), no município de Goiana, Jaguaribe (07°47'7"S; 34°51'22"W), no município de Itamaracá, e no Cais do Apolo na cidade de Recife (08°3'29"S; 34°51'41"W) (Figura 1). As raias foram

capturadas pela pesca de raieira praticada na região. A rede de espera de fundo (malha: 180 a 270 mm entre nós adjacentes; altura: 3,85 a 5,4 m; e comprimento: 58,1 a 107,8 m) foi lançada no final do dia, em profundidades de até 25 m, e despescadas pela manhã, permanecendo em torno de 12 horas submersas, cada rede utilizada foi lançada uma vez por dia.



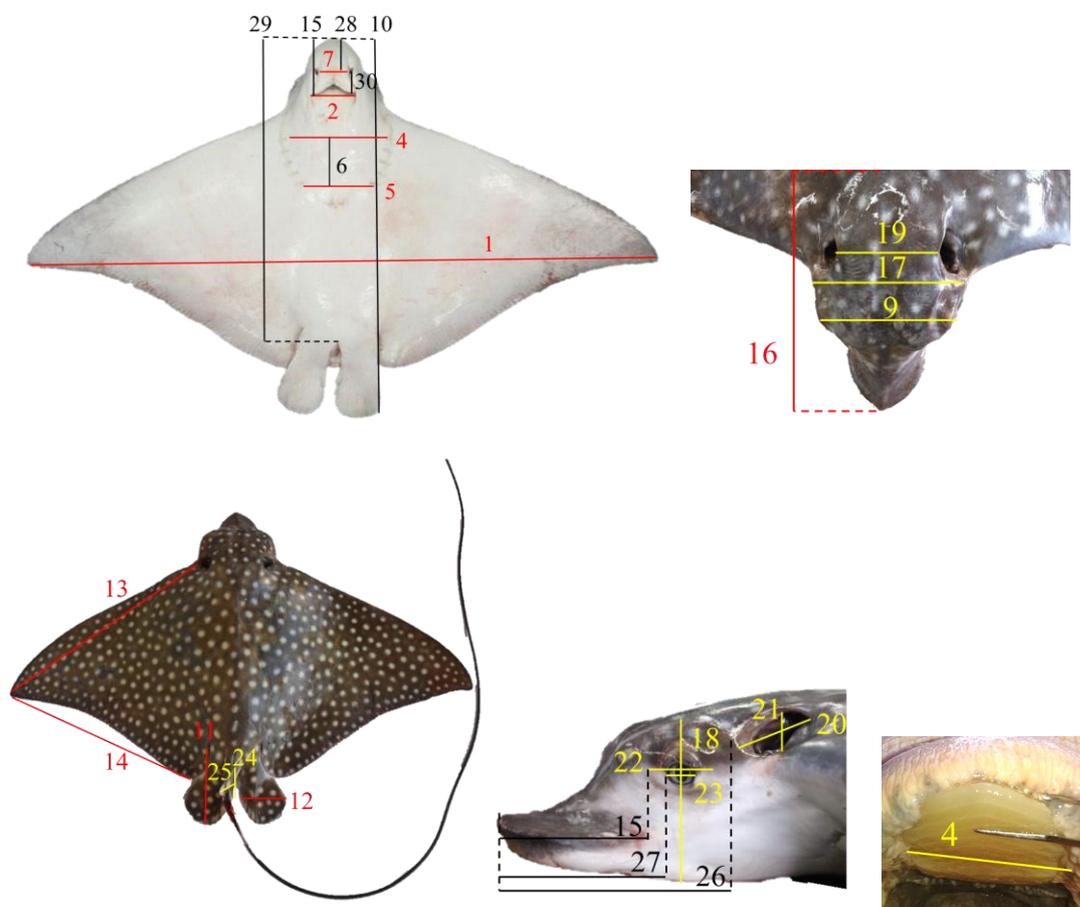
**Figura 1.** Mapa da área de estudo indicando os locais de desembarque (Acaú, Barra de Catuama, Jaguaribe, Cais do Apolo) da pesca artesanal que capturou os espécimes de *Aetobatus narinari* no litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil.

### *Morfometria Linear*

Dos espécimes de *A. narinari* capturados, foram tomadas, de acordo com White et al. (2010), a largura de disco (LD) e mais 29 medidas (Tabela 1, Figura 2), expressas como medidas proporcionais da LD, todas em centímetros.

**Tabela 1.** Definição dos caracteres morfométricos de *Aetobatus narinari* capturadas pela pesca artesanal no litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil.

<b>Medidas morfométricas</b>	<b>Especificação</b>
1- Largura do disco – LD	Distância direta entre os ápices das nadadeiras peitorais (ventral)
2- Largura da boca - LB	Largura da parte exposta da boca
3- Largura da placa dentária inferior – LPD	Largura da placa dentária inferior
4- Distância entre o 1º par de fendas branquiais – D1F	Menor distância entre as primeiras aberturas branquiais
5- Distância entre o 5º par de fendas branquiais – D5F	Menor distância entre as quintas aberturas branquiais
6- Distância entre o 1º e 5º par de fendas branquiais – D1_5F	Menor distância entre a primeira e quinta aberturas branquiais
7- Distância internasal – DIN	Menor distância entre aberturas nasais incorrentes
8- Comprimento do focinho – CF	Distância direta da ponta do focinho até a abertura da boca (ventral)
9- Distância interorbital – DIO	Distância entre as órbitas (dorsal)
10- Comprimento do disco – CD	Distância direta da ponta do focinho à ponta posterior livre da nadadeira pélvica (ventral)
11- Comprimento da nadadeira pélvica – CPV	Maior extensão das nadadeiras pélvicas quando colocadas em posição natural (não esticadas) (dorsal)
12- Largura da nadadeira pélvica – LPV	Distância direta entre as origens da nadadeira pélvica (com base nas origens visíveis e não embutidas, estruturas cartilaginosas) (dorsal)
13- Margem anterior externa do disco – MAD	Distância da origem da nadadeira peitoral ao ápice (dorsal)
14- Margem posterior externa do disco – MPD	Distância do ápice da nadadeira peitoral à ponta traseira livre (dorsal)
15- Comprimento pré-orbital - CPO	Distância direta da borda anterior da órbita à ponta do focinho
16- Comprimento da cabeça - CCB	Distância direta da ponta do focinho ao início da cartilagem sinarcual (dorsal)
17- Largura da cabeça – LCB	Largura da cabeça nas origens das nadadeiras peitorais (dorsal)
18- Altura da cabeça na medida dos olhos – ACB	Altura vertical da cabeça ao nível do meio do olho
19- Largura interespiracular - LIE	Distância entre as margens mais internas de cada espiráculo
20- Comprimento do espiráculo - CE	Maior diâmetro do espiráculo
21- Largura do espiráculo – LE	Diâmetro do espiráculo perpendicular à medição acima
22- Diâmetro orbital – DOB	Maior diâmetro da órbita (olho não exposto)
23- Diâmetro do olho – DO	Maior diâmetro do olho (sem incluir a estrutura da órbita externa)
24- Comprimento da nadadeira dorsal – CND	Distância direta da origem da nadadeira dorsal à ponta traseira livre
25- Altura da nadadeira dorsal – AND	Altura vertical da nadadeira desde a base até o ápice
26- Distância focinho espiráculo – FE	Distância direta da borda anterior do espiráculo à ponta do focinho
27- Distância focinho olho – FO	Distância direta da borda anterior do olho à ponta do focinho
28- Distância focinho narina – FN	Distância direta da borda anterior da narina à ponta do focinho
29- Distância focinho cloaca – FC	Distância direta da ponta do focinho até a borda mais anterior da cloaca
30- Distância narina boca – NB	Distância entre a borda posterior da narina e a abertura da boca

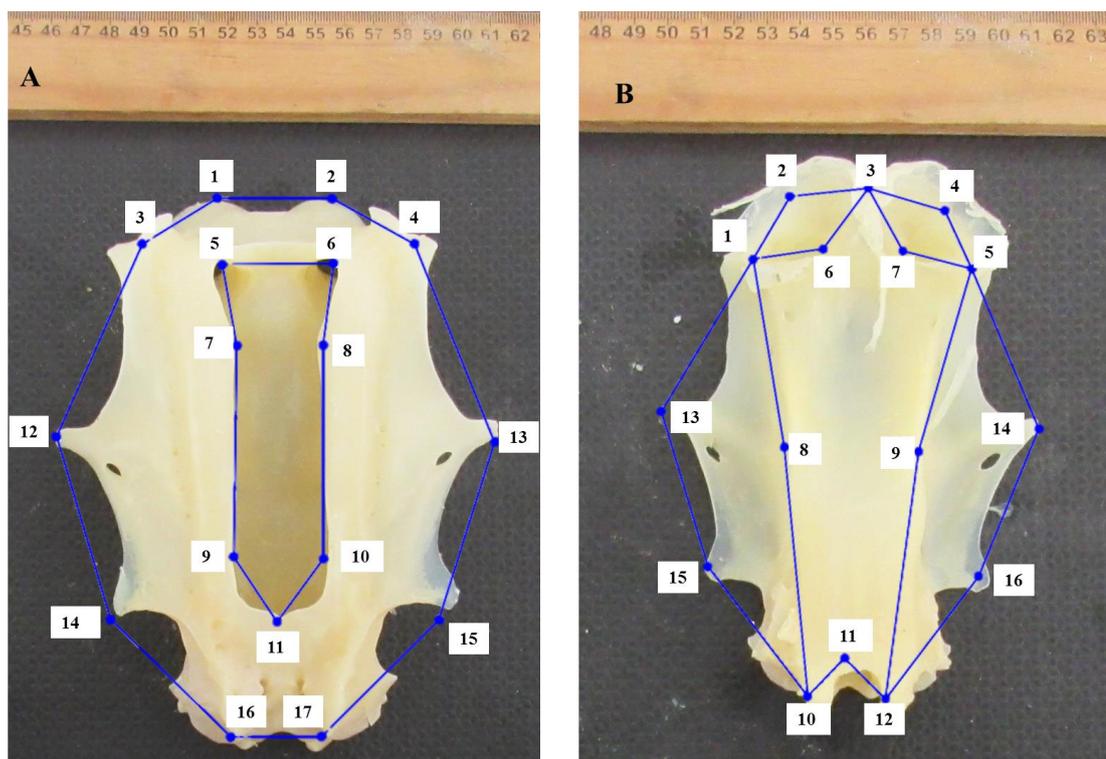


**Figura 2.** Representação das medidas morfométricas: 1- Largura do disco, 2- Largura da boca, 3- Largura da placa dentária inferior, 4- Distância entre o primeiro par de fendas branquiais, 5- Distância entre o quinto par de fendas branquiais, 6- Distância entre o primeiro e quinto par de fendas branquiais, 7- Distância internasal, 8- Comprimento do focinho, 9- Distância interorbital, 10- Comprimento do disco, 11- Comprimento da nadadeira pélvica, 12 - Largura da nadadeira pélvica, 13- Margem anterior externa do disco, 14- Margem posterior externa do disco, 15- Comprimento pré-orbital, 16- Comprimento da cabeça, 17- Largura da cabeça, 18- Altura da cabeça na medida dos olhos, 19- Largura interespiracular, 20- Comprimento do espiráculo, 21- Largura do espiráculos, 22- Diâmetro orbital, 23- Diâmetro do olho, 24- Comprimento da nadadeira dorsal, 25- Altura da nadadeira dorsal, 26- Distância focinho espiráculos, 27- Distância focinho olho, 28- Distância focinho narina, 29- Distância focinho cloaca, 30- Distância narina boca.

As relações entre largura de disco e as demais medidas morfométricas foram calculadas por regressão linear. E a análise de covariância (ANCOVA) foi empregada para determinar possíveis diferenças entre os sexos para cada regressão (BLANCO-PARRA et al., 2009). As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do software RStudio.Version (3.5.1).

*Morfometria Geométrica*

Foram fotografados 38 condrocânios de *Aetobatus narinari*, 15 machos e 23 fêmeas, para as análises de morfometria geométrica. Os espécimes foram fotografados individualmente com auxílio de câmera digital acoplada a um tripé para padronização das fotos. Para determinar a forma do condrocânio foram selecionados 17 marcos anatômicos para a vista dorsal (Figura 3A) e 16 para a vista ventral (Figura 3B) para ambos os sexos.



**Figura 3.** Descrição dos marcos anatômicos utilizados na morfometria geométrica da vista dorsal (A); e vista ventral (B) do condrocânio de *Aetobatus narinari* capturada pela pesca artesanal no litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil. A: 1 e 2 – Cápsula nasal; 5,6,7 e 8 – Fontanela pré-cerebral; 7,8,9,10 e 11 – Fontanela Frontoparietal; 12 e 13 – Processo pré-orbital; 14 e 15 – Processo supraorbital. B: 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7 – Cápsula nasal; 11 – Superfície articular para sinarcual; 13 e 14 – Processo pré-orbital; 15 e 16 – Processo supraorbital.

Os marcos anatômicos foram obtidos na mesma ordem em cada imagem, através do software TPSDig2 versão 2.10 (ROHLF, 2006). Uma Análise Generalizada de Procrustes (GPA) foi utilizada para realizar a sobreposição das coordenadas dos marcos anatômicos pelo centroide (centro de massa de uma configuração). Foi realizada uma Análise de Componentes Principais (PCA) sobre a matriz de resíduos da GPA e os escores utilizados como novas variáveis de forma, para avaliar a ocorrência de dimorfismo sexual na forma. Foi gerada uma

matriz de covariância, contendo fatores referentes aos sexos, sendo realizada com 999 permutações. Diferenças entre as formas foram testadas através de Análise de Função Discriminante, por meio do teste de Hotelling ( $p < 0,05$ ). Para avaliar diferenças estatísticas de tamanho, foi realizada uma Análise de Variância (ANOVA) de Procrustes com base no tamanho do centroide. Para as análises estatísticas foi utilizado o programa MorphoJ, versão 1.06d (KLINGENBERG, 2011).

### *Análises Genéticas*

Foram coletadas amostras de tecidos de 42 *Aetobatus narinari*, nos estados da Paraíba e Pernambuco, Brasil. Na Paraíba foram obtidas seis amostras em Acaú; e em Pernambuco 10 em Barra de Catuama e 26 em Jaguaribe (Figura 1). Para a análise genética, um pequeno pedaço da nadadeira pélvica foi coletado de cada espécime e armazenado em etanol a 95% em freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

O DNA genômico foi extraído usando DNeasy Blood and Tissue Kit (Qiagen, Valencia, CA). Para todos os genes mitocondriais as amplificações foram realizadas em reações de 25- $\mu\text{L}$  contendo 12,5  $\mu\text{L}$  de GoTaq®Green Master, 7,9  $\mu\text{L}$  de água, 1,5  $\mu\text{L}$  de cada *primer* (concentração: 10  $\mu\text{M}$ ), e 1,6  $\mu\text{L}$  do gDNA total (concentração: 10 ng/  $\mu\text{L}$ ). Citocromo oxidase 1 (CO1) foi amplificado usando *primers* desenvolvidos por Meyer (2003): dgLCO-1490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3' - para frente) e dgHCO-2198 (5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA-3' - reverso). Condições de Ciclo para CO1 foram 2 min de desnaturação inicial a  $95^{\circ}\text{C}$ , seguido de 5 ciclos de 30 segundos desnaturando a  $95^{\circ}\text{C}$ , 30 s de anelamento a  $46^{\circ}\text{C}$ , e 45 s de alongamento a  $72^{\circ}\text{C}$  e de 30 ciclos de 30 s desnaturando a  $95^{\circ}\text{C}$ , 30 s de anelamento a  $51^{\circ}\text{C}$ , e 30 s de alongamento a  $72^{\circ}\text{C}$  e 5 min a  $72^{\circ}\text{C}$  para a extensão final. O Citocromo b (Cytb) foi amplificado por PCR e sequenciado usando os *primers* AnarCBF1 (5'-GAGGGGCAACTGTCATCACTAACC-3' - para frente) e AnarCBR1 (5'-CGATTGGGAAAAGGAGGAGGAA-3' - reverso) de Richards et al, (2009). Condições de Ciclo para Cytb foram as mesmas usadas por Sellas et al. (2015): 3 min a  $94^{\circ}\text{C}$ , seguido de 35 ciclos de 30 s a  $94^{\circ}\text{C}$ , 30 s a  $53^{\circ}\text{C}$ , 45 s a  $72^{\circ}\text{C}$ . NADH desidrogenase subunidade 4 (ND4) foi amplificado usando os *primers* ND4 (5'-CACCTATGACTACCAAAAGCTCATGTAGAAGC-3' - para frente) (Arevalo, Davis & Sites, 1994) e H12293-LEU (5'-TTGCACCAAGAGTTTTTGGTTCCTAAGACC-3' - reverso) (INOUE et al., 2001). Condições de Ciclo para ND4 foram: 2 min a  $95^{\circ}\text{C}$ , seguido de 35 ciclos de 15 s a  $94^{\circ}\text{C}$ , 30 s a  $55^{\circ}\text{C}$ , e 1 min a  $72^{\circ}\text{C}$  e 5 min a  $72^{\circ}\text{C}$ . Os produtos de PCR

foram sequenciados no Pritzker Laboratory for Molecular Systematics and Evolution (Fields Museum, Chicago) em um bioanalisador AB 3730. As sequências para frente e reversa foram geradas para cada amostra e comparadas para eliminar o erro de sequenciamento e logo depois foram editadas e alinhadas no BioEdit (HALL, 1999).

Inicialmente, as árvores de junção do vizinho foram geradas usando o alinhamento específico de cada *locus* para verificar se havia incompatibilidade entre elas. Como não foram incongruentes, os três alinhamentos foram concatenados e cortados no mesmo comprimento, criando uma única sequência de CO1-Cytb-ND4.

Divergências das sequências concatenadas CO1-Cytb-ND4 dentro e entre os locais das amostras do nosso estudo foram estimadas usando distâncias médias em pares (p-distâncias) calculada no Arlequin 3.5 (EXCOFFIER e LISCHER, 2010). Para examinar as relações intraespecíficas entre localidades de amostragem, uma rede de haplótipos para cada gene mitocondrial e sequências concatenadas foram construídas com base no algoritmo TCS (CLEMENT et al., 2002) em PopART (<http://popart.otago.ac.nz>).

Para quantificar a diferenciação genética entre as localidades de amostragem, foram calculados valores do índice de fixação ( $F_{ST}$ ) Arlequin 3.5 (EXCOFFIER e LISCHER, 2010). Para determinar se os espécimes de *A. narinari* analisados estão ou não geograficamente estruturados na área de estudo, foram realizadas análises hierárquicas de variância molecular (AMOVAs) com base em diferenças dos pares com populações (1) separadas em três grupos (1 – Itamaracá e Barra de Catuama, 2 – Acaú, 3 - Recife) para determinar a quantidade de variação particionada entre e dentro dos locais e (2) agrupados em clados geográficos. Para testar se as populações evoluíram sob neutralidade, D de Tajima (TAJIMA, 1989, 1996) foi calculado com 1000 permutações no Arlequin.

## Resultados

### *Morfometria linear*

A ANCOVA usada para as regressões lineares entre cada medida morfométrica e a LD para sexos separados foi em todos os casos significativa (Tabela 2). O coeficiente de determinação ( $R^2$ ) de algumas medidas foi bastante baixo para as fêmeas (CPO; FO; AND; DO; LE; ACB) (Tabela 2). As regressões lineares foram quase idênticas para machos e fêmeas em relação à D1\_5F; CD; CF; MAD e FC; e bastante divergentes em relação à LB; CPO; CE; LE; DO; AND e FN.

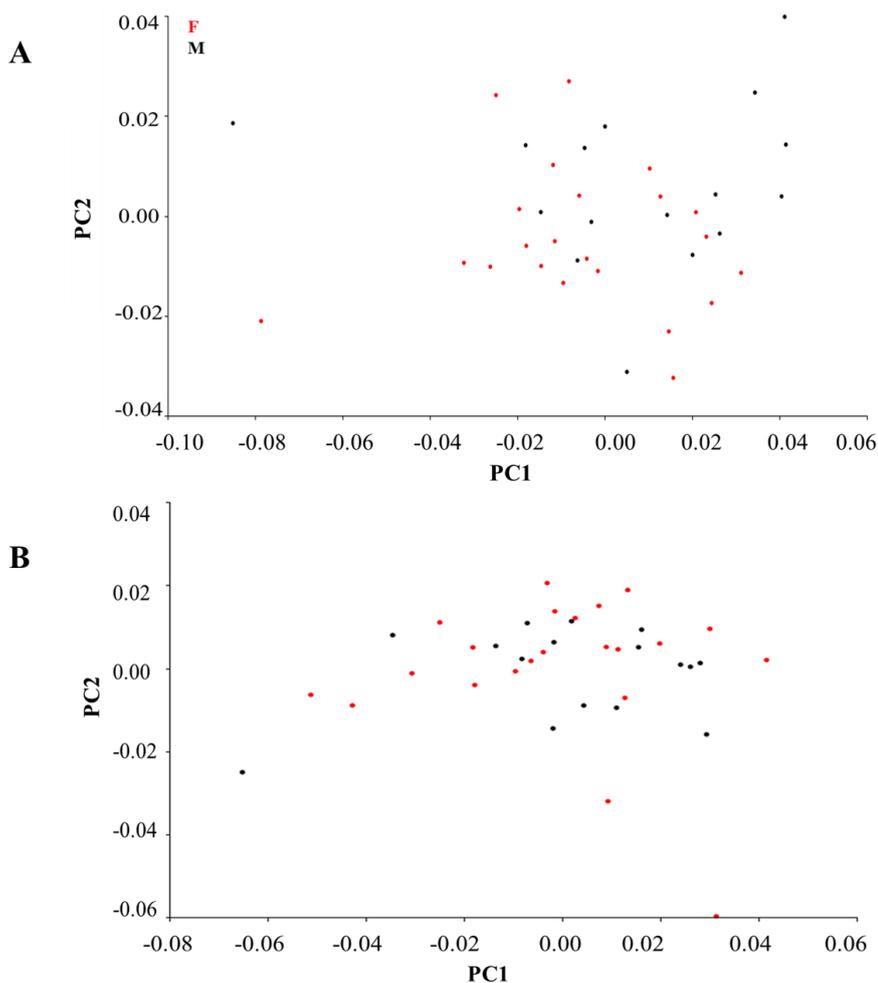
**Tabela 2.** Análise de Covariância comparando as regressões lineares entre medida morfométrica e a largura do disco para cada sexo de *Aetobatus narinari* capturadas pela pesca artesanal no litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil. MM – medidas morfométricas; M – machos; F – fêmeas; gl – graus de liberdade; LB- Largura da boca, LPD- Largura da placa dentária inferior, D1F- Distância entre o primeiro par de fendas branquiais, D5F- Distância entre o quinto par de fendas branquiais, D1\_5F- Distância entre o primeiro e quinto par de fendas branquiais, DIN- Distância internasal, CF- Comprimento do focinho, DIO- Distância interorbital, CD- Comprimento do disco, CPV- Comprimento da nadadeira pélvica, LPV - Largura da nadadeira pélvica, MAD- Margem anterior externa do disco, MPD- Margem posterior externa do disco, CPO- Comprimento pré-orbital, CCB- Comprimento da cabeça, LCB- Largura da cabeça, ACB- Altura da cabeça na medida dos olhos, LIE- Largura interespiracular, CE- Comprimento do espiráculo, LE- Largura do espiráculos, DOB- Diâmetro orbital, DO- Diâmetro do olho, CND- Comprimento da nadadeira dorsal, AND- Altura da nadadeira dorsal, FE- Distância focinho espiráculos, FO- Distância focinho olho, FN- Distância focinho narina, FC- Distância focinho cloaca, NB- Distância narina boca.

MM	Sexo	F	gl	P	R <sup>2</sup>	MM	Sexo	F	gl	P	R <sup>2</sup>
LB	M	196,30	24	<0,01	0,89	LCB	M	249,90	23	<0,01	0,91
	F	311,00	26	<0,01	0,92		F	82,94	24	<0,01	0,77
LPD	M	99,03	23	<0,01	0,80	ACB	M	46,64	23	<0,01	0,66
	F	77,75	25	<0,01	0,75		F	9,49	24	0,01	0,25
D1F	M	798,90	21	<0,01	0,97	LIE	M	447,00	24	<0,01	0,95
	F	323,80	22	<0,01	0,93		F	224,70	25	<0,01	0,90
D5F	M	366,10	21	<0,01	0,94	CE	M	202,50	23	<0,01	0,89
	F	455,70	22	<0,01	0,95		F	165,70	25	<0,01	0,86
D1_5F	M	1143,00	21	<0,01	0,98	LE	M	34,88	23	<0,01	0,59
	F	484,80	23	<0,01	0,95		F	6,14	26	0,02	0,16
DIN	M	166,30	23	<0,01	0,87	DOB	M	73,46	23	<0,01	0,75
	F	193,30	26	<0,01	0,88		F	31,90	25	<0,01	0,54
CF	M	123,70	22	<0,01	0,84	DO	M	50,88	23	<0,01	0,68
	F	66,54	23	<0,01	0,73		F	7,37	25	0,01	0,20
DIO	M	533,70	24	<0,01	0,96	CND	M	136,60	14	<0,01	0,90
	F	289,40	25	<0,01	0,92		F	32,82	10	<0,01	0,74
CD	M	967,60	18	<0,01	0,98	AND	M	79,03	13	<0,01	0,85
	F	624,90	21	<0,01	0,97		F	5,22	9	0,05	0,30
CPV	M	257,50	17	<0,01	0,93	FE	M	101,50	19	<0,01	0,83
	F	188,70	23	<0,01	0,89		F	76,87	24	<0,01	0,75
LPV	M	130,30	17	<0,01	0,88	FO	M	89,84	20	<0,01	0,81
	F	125,60	23	<0,01	0,84		F	48,19	24	<0,01	0,65
MAD	M	929,00	18	<0,01	0,98	FN	M	100,30	5	<0,01	0,94
	F	610,10	22	<0,01	0,96		F	110,60	3	<0,01	0,96
MPD	M	702,10	18	<0,01	0,97	FC	M	520,50	18	<0,01	0,96
	F	226,90	22	<0,01	0,91		F	1196,00	21	<0,01	0,98
CPO	M	106,80	23	<0,01	0,82	NB	M	103,90	13	<0,01	0,88
	F	14,04	23	<0,01	0,35		F	70,21	19	<0,01	0,78
CCB	M	227,20	23	<0,01	0,90						
	F	192,10	22	<0,01	0,89						

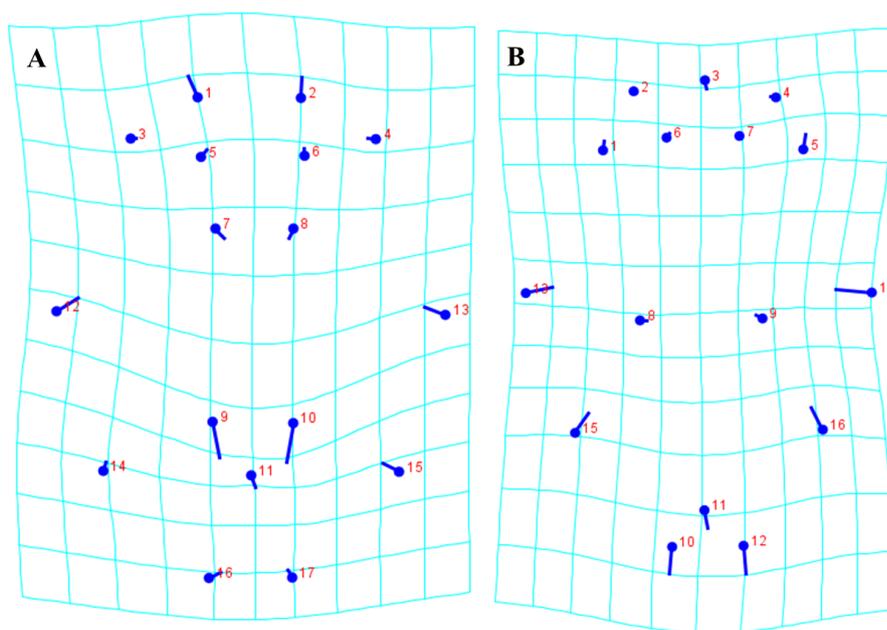
Em negrito estão os valores significativos,  $P < 0,05$ .

*Morfometria Geométrica*

Para a morfometria geométrica do condrocânio de *Aetobatus narinari* a soma dos quadrados de Procrustes foi baixa para ambas as vistas dorsal (0,07) e ventral (0,07), indicando menor erro da distância dos pontos. Na análise de componentes principais da vista dorsal do condrocânio os quatro primeiros componentes explicaram 65% da variância dos dados (PC1 – 38,1%, PC2 – 11,3%, PC3 – 8,1%, PC4 – 7,3%) (Figura 4A), e a variância total foi 0,002. Enquanto para a vista ventral os quatro primeiros componentes explicaram 61,9% da variância dos dados (PC1 – 30,7%, PC2 – 12,2%, PC3 – 10,3%, PC4 – 8,6%) (Figura 4B), e a variância total foi 0,001. Observando a placa fina de deformações (thin-plate spline - TPS) da PCA comparando machos e fêmeas, a região dorsal apresentou variações nos marcos 1 e 2 (cápsula nasal); 9 e 10 (fontanela frontoparietal), e 15 (processo supraorbital) (Figura 5A); enquanto a região ventral apresentou variações nos marcos 10, 11 e 12 (superfície articular para sinarcual), 13 e 14 (processo pré-orbital), e 15 e 16 (processo supraorbital) (Figura 5B).

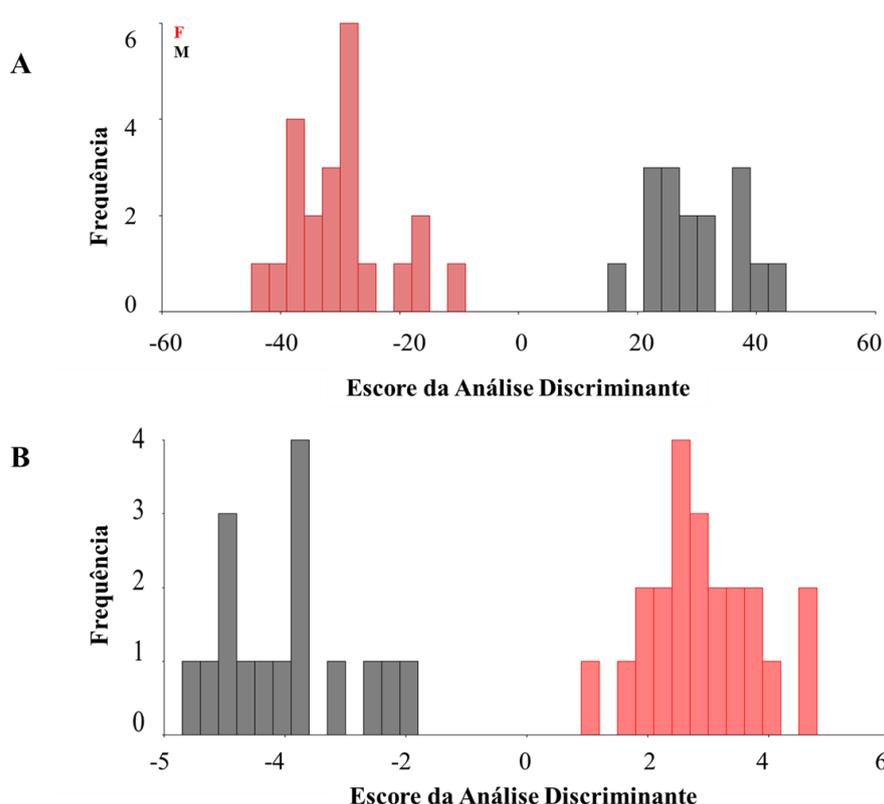


**Figura 4.** Análise de Componentes Principais da região dorsal (A) e ventral (B) do condrocânio de *Aetobatus narinari* capturadas pela pesca artesanal no litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil. PC – Componente principal.



**Figura 5.** Placa fina de deformações (thin-plate spline - TPS) da Análise de Componentes Principais da região dorsal (A) e ventral (B) do condrocânio de *Aetobatus narinari* capturada pela pesca artesanal no litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil.

A análise Discriminante também identificou diferenças significativas entre os sexos para a vista dorsal ( $P= 0,04$ ) (Figura 6A) e ventral ( $P= 0,01$ ) do condrocânio de *Aetobatus narinari* (Figura 6B). Por outro lado, a ANOVA de Procrustes para o tamanho do centroide permitiu inferir que não houve diferenças significativas entre machos e fêmeas para ambas as vistas dorsal ( $P= 0,14$ ) e ventral ( $P= 0,07$ ) do condrocânio.



**Figura 6.** Análise Discriminante da região dorsal (A) e ventral (B) do condrocrânio de *Aetobatus narinari* capturadas pela pesca artesanal no litoral da Paraíba e Pernambuco, Brasil.

### *Estrutura populacional*

Foram usadas sequências mitocondriais concatenadas COI-Cytb-ND4 de 42 espécimes de *Aetobatus narinari*. O conjunto de dados mtDNA concatenado completo continha 1976 caracteres totais, 14 haplótipos foram encontrados e o valor médio para diversidade de haplótipos foi  $h_d = 0,646$ . Dos 14 haplótipos, 10 foram encontrados em Itamaracá (N= 26; Hap\_1; Hap\_3; Hap\_5; Hap\_6; Hap\_8; Hap\_9; Hap\_10; Hap\_11; Hap\_13; Hap\_14), três em Barra de Catuama (N= 10; Hap\_1; Hap\_2; Hap\_4) e três em Acaú (N= 6; Hap\_1; Hap\_7; Hap\_12), de maneira que apenas o Hap\_1 foi compartilhado entre os locais.

### Diversidade Genética das populações de *Aetobatus narinari*

Usando sequências concatenadas, os valores do índice de fixação ( $F_{ST}$ ) foram em geral baixos, indicando considerável fluxo gênico entre os locais (Tabela 3). Os resultados sugerem fraca estrutura entre as populações da Paraíba e Pernambuco. Sendo assim, os resultados demonstram a existência de fluxo gênico entre os locais, podendo indicar que se

trata de uma única população. As AMOVAs hierárquicas atribuíram 96,88% da variação geral à variação dentro das populações e 3,37% à variação entre os grupos (Tabela 4).

**Tabela 3.** Análises populacionais para amostras de *Aetobatus narinari*,  $F_{ST}$  em pares de sequências concatenadas COI-Cytb-ND4 entre os locais de amostragem.

	<b>Itamaracá</b>	<b>Barra de Catuama</b>	<b>Acaú</b>
<b>Itamaracá</b>	0,00000		
<b>Barra de Catuama</b>	-0,00115	0,00000	
<b>Acaú</b>	0,02005	0,05703	0,00000

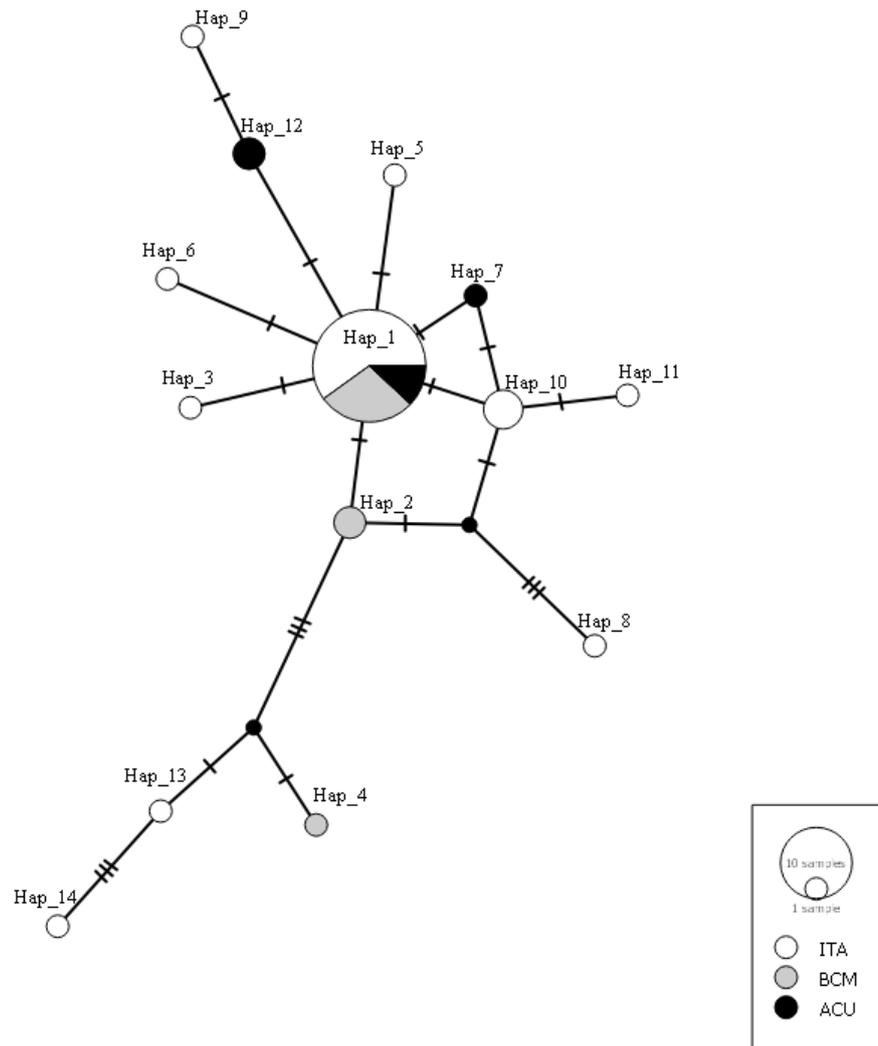
Valores significativos ( $P < 0,05$ ) são marcados com um "\*\*".

**Tabela 4.** Medidas da AMOVA de subdivisão populacional em *Aetobatus narinari* para populações de Itamaracá, Barra de Catuama, Acaú e Recife, no nordeste do Brasil.

<b>Fonte de Variação</b>	<b>g.l.</b>	<b>Soma dos quadrados</b>	<b>Componentes da Variância</b>	<b>Porcentagem de Variação</b>
<b>Entre grupos</b>	1	0,419	0,01087	3,37
<b>Entre populações dentro dos grupos</b>	1	0,300	-0,00083	-0,26
<b>Dentro das populações</b>	43	13,433	0,31240	96,88
<b>Total</b>	45	14,152	0,32245	

#### Estrutura da população genética mitocondrial

A rede de haplótipos TCS revelou uma associação entre variação de haplótipos e distribuição geográfica (Figura 7). Dos 14 haplótipos encontrados nas amostras, apenas um foi compartilhado entre os locais, o haplótipo 1. Cada local apresentou diferentes haplótipos. Quanto maior foi o número de indivíduos por local, maior foi o número de haplótipos identificados.



**Figura 7.** Redes de haplótipos TCS de *Aetobatus narinari* do nordeste do Brasil. As redes de haplótipos foram construídas com base nas sequências CO1-Cytb-ND4 concatenadas em 1976 pb. Cada círculo representa um haplótipo diferente, com seu tamanho proporcional ao número de indivíduos encontrados com esse haplótipo; traços nos galhos indicam diferenças nos pares de bases. Os locais de amostragem são indicados por cores diferentes, referindo-se ao local em que os haplótipos foram encontrados. ITA – Itamaracá; BCM – Barra de Catuama; ACU – Acaú.

## Discussão

Ao comparar a morfometria linear e geométrica de machos e fêmeas de *Aetobatus narinari* capturados na pesca artesanal no nordeste do Brasil, foi observada diferença na forma do corpo e do condrocrânio, indicando a existência de dimorfismo sexual. Diferenças entre machos e fêmeas foram observadas através da morfometria linear quanto à distância interorbital, comprimento do espiráculo e comprimento da nadadeira pélvica. As análises de

morfometria geométrica do condrocânio de machos e fêmeas de *Aetobatus narinari* apresentaram diferenças na região da fontanela, processo pré-orbital, processo supraorbital, cápsula nasal e superfície articular para sinarcual. Portanto é possível inferir que as diferenças da forma de machos e fêmeas podem estar associadas, principalmente, ao formato da cabeça.

Para o presente estudo é possível que as diferenças encontradas entre machos e fêmeas de *A. narinari* para algumas medidas morfométricas sejam adaptações relacionadas aos diferentes usos de habitats. De acordo com o estudo realizado por Bassos-Hull et al. (2014), *A. narinari* apresentou segregação espacial, de modo que os machos e indivíduos menores ocorreram mais frequentemente em águas rasas e próximas à costa, e fêmeas e indivíduos maiores foram mais comuns em águas mais profundas. Diferenças morfométricas entre os sexos são comuns também para outras espécies de elasmobrânquios e podem estar relacionada a diferenças comportamentais de reprodução ou uso do habitat. Dimorfismo sexual foi observado para a raia *Potamotrygon motoro* com base em medidas morfométricas da cabeça, cauda, nadadeiras pélvicas e disco (RINCON et al., 2019). Martins et al. (2015) observaram dimorfismo sexual para três espécies de tubarão sugerindo que estas diferenças estariam relacionadas aos seus padrões de reprodução. Segundo Rolim et al. (2015), fêmeas de *Narcine brasiliensis* apresentaram o tronco mais amplo que os machos. O dimorfismo sexual em relação ao tamanho do corpo é comum entre as espécies de elasmobrânquios que têm diferentes estratégias reprodutivas; como as fêmeas vivíparas que apresentam maiores tamanhos que os machos, uma vez que os filhotes são grandes e se desenvolvem por um longo período dentro do útero (SIMS, 2003). Um tamanho maior frequentemente observado em fêmeas de elasmobrânquios facilita a acomodação e nutrição de embriões (HAMLETT, 2005).

No litoral da Paraíba e Pernambuco, 42 espécimes de *Aetobatus narinari* capturados pela pesca artesanal da região apresentaram 14 haplótipos ( $h_d = 0,623$ ) para sequências mitocondriais concatenadas COI-Cytb-ND4. Os indivíduos de Itamaracá representaram mais da metade da amostra apresentando 10 dos 14 haplótipos encontrados. Apesar da pequena distância entre os locais estudados, apenas um haplótipo (Hap\_1) foi compartilhado entre os locais amostrados. Além disso, os valores do índice de fixação ( $F_{ST}$ ) foram em geral baixos, indicando considerável fluxo gênico entre os locais, fraca estrutura entre as populações da Paraíba e Pernambuco, indicando que a amostra estudada se trata de uma única população. Estudos realizados em outras regiões do Atlântico demonstraram que *A. narinari* apresenta fluxo gênico mesmo entre áreas mais distantes. No Golfo do México e Mar do Caribe, Sellas et al. (2015) estudaram a estrutura da população de *Aetobatus narinari* detectando alto fluxo

gênico entre Cuba - México e Cuba - Flórida, bem como fraca, porém significativa, estrutura populacional entre Flórida e México, mas com troca genética.

A migração sazonal de *A. narinari* relatada para o Atlântico Noroeste (CUEVAS-ZIMBRÓN et al., 2011; BASSOS-HULL et al., 2014) demonstra que a espécie apresenta alta vagilidade, de modo que a distância não constitui uma barreira significativa para a dispersão, podendo percorrer distâncias migratórias de pelo menos 750 km, atravessando águas com profundidades superiores a 1000 m, exibindo uma certa fidelidade ao local (NEWBY et al., 2014a; SELLAS et al., 2015). De acordo com Newby et al. (2014a), correlações entre vagilidade, distribuição, e tamanho do corpo influenciam a estrutura geográfica em populações de elasmobrânquios. O mesmo foi observado para espécies como *Carcharhinus falciformis*, que percorrem longas distâncias e ocupam diversos habitats, apresentando pouca estrutura populacional nas bacias oceânicas (CLARKE et al., 2015).

Estudos realizados no Atlântico norte para a raia pintada sugerem moderado a altos níveis de diversidade genética com altas estimativas de tamanho efetivo da população ( $N_e$ ), indicando resiliência e estabilidade genética para a espécie, por outro lado, o baixo potencial de recuperação das espécies K estrategistas (crescimento lento, maturação tardia, baixa fecundidade) significa que a remoção de biomassa significativa pela pesca podem comprometer a saúde genética de *A. narinari* (NEWBY et al., 2014a). A sobre-exploração reduz o tamanho efetivo da população, que atua como gargalo populacional, diminuindo a diversidade genética, aumentando o número de alelos deletérios e possibilitando a ocorrência de depressão endogâmica (FRANKHAM et al., 2008). De acordo com Clarke et al. (2015), indivíduos de *C. falciformis* do Indo-Pacífico apresentaram menor diversidade genética que no Atlântico ocidental (quando o esperado seria o contrário, uma vez que a espécie se originou no Indo-Pacífico), provavelmente devido à maior pressão de exploração pesqueira desses tubarões no Indo-Pacífico. No Sudeste Asiático há uma preocupação crescente com a conservação de *A. ocellatus*, uma vez que a exploração pesqueira pode esgotar as populações regionais e possivelmente isoladas a ponto de não se recuperarem (SCHLUESSEL et al., 2010).

No norte do Brasil, a captura pela pesca de *A. narinari* e outras oito espécies de raia podem levar essas populações ao colapso, sendo assim, com base na diversidade genética podem ser gerados dados robustos da população específica em relação ao efeito da pesca nos riscos de extinção dessas espécies (RODRIGUES FILHO et al., 2020). Segundo Sellas et al. (2015), especificamente, nas áreas onde *A. narinari* é capturada pela pesca, deve ser adotada

uma abordagem conservadora na identificação das unidades de gestão, visto que práticas insustentáveis de pesca podem ter efeitos significativos nas populações locais. Portanto, no nordeste do Brasil, onde *A. narinari* é capturada pela pesca, precisam ser tomadas medidas de manejo adequadas que evitem a depleção dessas populações.

### Agradecimentos

À CAPES pelo apoio financeiro (bolsa de doutorado concedida a Priscila Rocha Vasconcelos Araújo e bolsa / 194 - Programa Doutoral Sanduíche no Exterior / Processo nº {88881.189330 / 2018-01}); ao CNPq (Bolsa de Produtividade Rosângela Lessa Pq 1, nº 306672 / 2015-4), aos pescadores pela cooperação no fornecimento de informações e obtenção de amostras; ao ICMBIO pela autorização para realização do estudo sob Licença Permanente nº 49663-1; ao Msc. Kim Bassos-Hull, Dr. Matthew J. Ajemian, Dr. Demian Chapman, e Dr. Baudouin Postaire pelas análises moleculares; ao Kevin Feldheim por sequenciar os produtos de PCR no Laboratório Pritzker de sistemática molecular e evolução (Fields Museum, Chicago); e a Leandro Augusto de Souza Junior pelo mapa da área de estudo.

### Referências

- AJEMIAN, M.J.; POWERS, S.P. Towed-float satellite telemetry tracks large-scale movement and habitat connectivity of myliobatid stingrays. **Environmental Biology of Fishes**, v. 97, p. 1067-1081, 2014.
- BASSOS-HULL, K.; WILKINSON, K.A.; HULL, P.T.; DOUGHERTY, D.A.; OMORI, K.L.; AILLOUD, L.E.; MORRIS, J.J.; HUETER, R.E. Life history and seasonal occurrence of the spotted eagle ray, *Aetobatus narinari*, in the eastern Gulf of Mexico. **Environmental Biology of Fishes**, v. 97, p.1039-1056, 2014.
- BIGELOW, H.B.; SCHROEDER, W.C. Sawfishes, guitarfishes, skates and rays. In: TEEVAN, J.; BREDER, C.M.; PARR, A.E.; SCHROEDER, W.C.; SCHULTZ, L.P. Fishes of the western North Atlantic. New Haven: Memoir Sears Foundation for Marine Research, 1953. p.2-588.
- BLANCO-PARRA, M.P.; MÁRQUEZ-FARÍAS, F.; GALVÁN-MAGAÑA, F. Fishery and morphometric relationships of the banded guitarfish, *Zapteryx exasperata* (Elasmobranchii, Rhinobatidae), from the Gulf of California, Mexico. **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, v. 4, p.456-465, 2009.
- CLARKE, C.R.; KARL, S.A.; HORN, R.L.; BERNARD, A.M.; LEA, J.S.; HAZIN, F.H.; PRODÖHL, P.A.; SHIVJI, M.S. Global mitochondrial DNA phylogeography and population structure of the silky shark, *Carcharhinus falciformis*. **Marine Biology**, v. 162, p.945–955, 2015.

CLEMENT, M.; SNELL, Q.; WALKE, P.; POSADA, D.; CRANDALL, K. TCS: estimating gene genealogies. Pp. 184 in Proc 16th International Parallel and Distributed Processing Symposium 2, p. 15-19, 2002.

CUEVAS-ZIMBRÓN, E.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.C.; MÉNDEZ-LOEZA, I. Spatial and seasonal variation in a target fishery for spotted eagle ray *Aetobatus narinari* in the southern gulf of Mexico. **Fisheries Science**, v. 77, p.723–730, 2011.

DE CARVALHO, M.R.; ROSA, R.S.; DE ARAÚJO, M.L.G. A new species of Neotropical freshwater stingray (Chondrichthyes: Potamotrygonidae) from the Rio Negro, Amazonas, Brazil: the smallest species of *Potamotrygon*. **Zootaxa**, v. 4107, p.566–586, 2016.

DE MEDEIROS FILHO, S.A.; CARVALHO-NETO, F.G.; GARCIA, A.C.L.; MONTES, M.A.; DUARTE-NETO, P.J. Morphometric variability in *Artibeus planirostris* (Chiroptera: Phyllostomidae) in environments with different states of conservation in the Atlantic Forest, Brazil. **Mammalian Biology**, v. 90, p.66-73, 2018.

DUBICK, J.D. Age and growth of the spotted eagle ray, *Aetobatus narinari* (Euphrasen, 1790), from southwest Puerto Rico with notes on its biology and life history. 2000. 91p. **Dissertação (Mestrado)** - Universidade de Porto Rico, Mayaguez.

EXCOFFIER, L.; LISCHER, H.E.L. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular Ecology Resources**, v. 10, p. 564–567, 2010.

FONTENELLE, J.P.; DA SILVA, J.P.C.B.; DE CARVALHO, M.R. *Potamotrygon limai*, sp. nov., a new species of freshwater stingray from the upper Madeira River system, Amazon basin (Chondrichthyes: Potamotrygonidae). **Zootaxa**, 3765, p.249–268, 2014.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J.D.; BRISCOE, D.A. **Fundamentos de Genética da Conservação**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 2008. 262p.

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

HAMLETT, W.C. **Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes. Sharks, Batoids, and Chimaeras**, Vol. 3. Enfield, NH: Science Publishers, 2005. 562p.

ICMBIO. **Avaliação do risco de extinção dos elasmobrânquios e quimeras no Brasil: 2010-2012**. Itajaí: ICMBIO / MMA / CEPSUL, 2016.

INOUE, J.G.; MIYA, M.; TSUKAMOTO, K.; NISHIDA, M. A mitogenomic perspective on the basal teleostean phylogeny: resolving higher-level relationships with longer DNA sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 20, p.275–285, 2001.

JONES, C.M.; HOFFMAYER, E.R.; HENDON, J.M.; QUATTRO, J.M.; LEWANDOWSKI, J.; ROBERTS, M.A.; POULAKIS, GR.; AJEMIAN, M.J.; DRIGGERS, W.B.; DE CARVALHO, M.R.; RÊGO, M.G.; HAZIN, F.H.V.; MÁRQUEZ-FARÍAS, J.F. Morphological conservation of rays in the genus *Rhinoptera* (Elasmobranchii, Rhinopteridae) conceals the occurrence of a large batoid, *Rhinoptera brasiliensis* Müller, in the northern Gulf of Mexico. **Zootaxa**, v. 4286, p.499–514, 2017.

KYNE, P.M.; ISHIHARA, H.; DUDLEY, S.F.J.; WHITE, W.T. *Aetobatus narinari*. **The IUCN Red List of Threatened Species 2006**: e.T39415A10231645, 2006. Disponível em:<<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2006.RLTS.T39415A10231645.en>>. Acesso em: 20 agosto 2018.

KLINGENBERG, C.P. Morphoj: an integrated software package for geometric morphometrics. **Molecular Ecology Resources**, Manchester, v. 11, p. 353–357, 2011.

LESSA, R.P.T. Levantamento faunístico dos elasmobrânquios (Pisces, Chondrichthyes) do litoral ocidental do Estado do Maranhão. **Boletim Laboratório Hidrobiologia**, v. 7, p. 27-41, 1986.

LESSA, R.; VOOREN, C.M.; ARAÚJO, M.L.G.; KOTAS, J.E.; ALMEIDA, P.C.; FILHO, G.R.; SANTANA, F.M.; GADIG, O.B.F.; SAMPAIO, C.; ALMEIDA, Z.; ALMEIDA, M.; ROSA, R.S. **Plano Nacional para Conservação e Manejo dos Estoques de Peixes Elasmobrânquios no Brasil**. Recife: Sociedade Brasileira para o Estudo de Elasmobrânquios – SBEEL, 2005.

LUCENA, L.R.R.; LESSA, R.P.T. Shape and cluster analysis for different detector patterns of *Rhizoprionodon porosus* in Northeast coast of Brazil. **Revista Brasileira de Biometria**, v. 37, p.258-271, 2019.

MARTINS, A.P.B.; SILVA FILHO, E.; FEITOSA, L.M.; SILVA, L.P.N.; ALMEIDA, Z.S.; NUNES, J.L.S. Sexual dimorphism of sharks from the amazonian equatorial coast. **Universitas Scientiarum**, v. 20, p.297-304, 2015.

MEYER, C.P. Molecular systematics of cowries (Gastropoda: Cypraeidae) and diversification patterns in the tropics. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 79, p. 401–459, 2003.

NEWBY, J.; DARDEN, T.; SHEDLOCK, A.M. Population Genetic Structure of Spotted Eagle Rays, *Aetobatus narinari*, off Sarasota, Florida and the Southeastern United States. **Copeia**, v. 2014, p. 503-512, 2014a.

NEWBY, J.; DARDEN, T.; BASSOS-HULL, K.; SHEDLOCK, A.M. Kin structure and social organization in the spotted eagle ray, *Aetobatus narinari*, off coastal Sarasota, FL. **Environmental Biology of Fishes**, 97, p.1057–1065, 2014b.

ORLANDO, P.; GONZÁLEZ-CASTRO, M.; MABRAGAÑA, E. New insights to discriminate between *Sympterygia acuta* Garman 1877 and *Sympterygia bonapartii* Müller & Henle, 1841 (Rajidae) of the Southwest Atlantic Ocean: on the use of geometric morphometrics and spinulation patterns. **Journal of Applied Ichthyology**, p.1-9, 2015.

RICHARDS, V.P.; HENNING, M.; WITZELL, W.; SHIVJI, M.S. Species Delineation and Evolutionary History of the Globally Distributed Spotted Eagle Ray (*Aetobatus narinari*). **Journal of Heredity**, v.100, p. 273-283, 2009.

RINCON, G.; SOARES, C.E.S.; LEITE, R.D.; PEREIRA, K.M.; WOSNICK, N.; NUNES A.R.O.P.; NUNES, J.L.S. Dimorfismo sexual da raia de água doce *Potamotrygon motoro* dos Lagos de Viana, Maranhão. In: OLIVEIRA JUNIOR, J. M. B.; CALVÃO, L. B. Tópicos Integrados de Zoologia. Ponta Grossa: Atena Editora, 2019. p.15-25.

RODRIGUES FILHO, L.F.S.; FEITOSA, L.M.; NUNES, J.L.S.; PALMEIRA, A.R.O.; MARTINS, A.P.B.; GIARRIZZO, T.; CARVALHO-COSTA, L.F.; MONTEIRO, I.L.P.; GEMAQUE, R.; GOMES, F.; SOUZA, R.F.C.; SAMPAIO, I.; SALES, J. B.L. Molecular identification of ray species traded along the Brazilian Amazon coast. **Fisheries Research**, v. 223, p.1-10, 2020.

ROHLF, F.J. tpsDig, digitize landmarks and outlines. Version 2.10. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, 2006.

ROLIM, F.A.; CALTABELLOTTA, F.P.; ROTUNDO, M.M.; VASKE-JÚNIOR, T. Sexual dimorphism based on body proportions and ontogenetic changes in the Brazilian electric ray *Narcine brasiliensis* (von Olfers, 1831) (Chondrichthyes: Narcinidae). **African Journal of Marine Science**, v. 37, p.167-176, 2015.

RONQUIST, F.; HUELSENBECK, J.P. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. **Bioinformatics**, v. 19, p. 1572–1574, 2003.

ROSA, R.S.; DE CARVALHO, M.R.; DE ALMEIDA WANDERLEY, C. *Potamotrygon boesemani* (Chondrichthyes: Myliobatiformes: Potamotrygonidae), a new species of Neotropical freshwater stingray from Surinam. *Neotropical Ichthyology*, v. 6, p.1–8, 2008.

SALES, J.B.; OLIVEIRA, C.N.; SANTOS, W.C.; ROTUNDO, M.M.; FERREIRA, Y.D.; READY, J.L.; SAMPAIO, I.C.; OLIVEIRA, C.; CRUZ, V.P.; LARA-MENDOZA, R.E.; RODRIGUES-FILHO, L.F. Phylogeography of eagle rays of the genus *Aetobatus*: *Aetobatus narinari* is restricted to the continental western Atlantic Ocean. *Hydrobiologia*, v. 836, p. 169-183, 2019.

SCHLUESSEL, V.; BENNETT, M.B.; COLLIN, S.P. Diet and reproduction in the white-spotted eagle ray *Aetobatus narinari* from Queensland, Australia and the Penghu Islands, Taiwan. **Marine and Freshwater Research**, v. 61, p. 1278-1289, 2010.

SELLAS, A.B.; BASSOS-HULL, K.; HUETER, R.E.; FELDHEIM, K.A. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci from the spotted eagle ray (*Aetobatus narinari*). **Conservation Genetics Resources**, v. 3, p. 609–611, 2011.

SELLAS, A.B.; BASSOS-HULL, K.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.C.; ANGULO-VALDÉS, J.A.; BERNAL, M.A.; HUETER, R.E. Population Structure and Seasonal Migration of the Spotted Eagle Ray, *Aetobatus narinari*. **Journal of Heredity**, v. 106, p. 266-275, 2015.

SIMS, D.W. Tractable models for testing theories about natural strategies: foraging behaviour and habitat selection of free-ranging sharks. **Journal of Fish Biology**, v. 63, p.53-73, 2003.

TAGLIAFICO, A.; RAGO, N.; RANGEL, S.; MENDOZA, J. Exploitation and reproduction of the spotted eagle ray (*Aetobatus narinari*) in the Los Frailes Archipelago, Venezuela. **Fishery Bulletin**, v.110, p.307-316, 2012.

TAJIMA, F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. **Genetics**, v. 123, p. 585–595, 1989.

TAJIMA, F. The amount of DNA polymorphism maintained in a finite population when the neutral mutation rate varies among sites. **Genetics**, v. 143; p. 1457–1465, 1996.

WHITE, W.T.; LAST, P.R.; NAYLOR, G.J.P.; JENSEN, K.; CAIRA, J.N. Clarification of *Aetobatus ocellatus* (Kuhl, 1823) as a valid species, and a comparison with *Aetobatus narinari* (Euphrasen, 1790) (Rajiformes: Myliobatidae). **CSIRO Marine and Atmospheric Research Paper**, v. 32, p. 141-164, 2010.

YOKOTA, L.; LESSA, R.P. A nursery area for sharks and rays in Northeastern Brazil. **Environmental Biology of Fishes**, v. 75, p. 349-360, 2006.

YOKOTA, L.; DE CARVALHO, M.R. Taxonomic and morphological revision of butterfly rays of the *Gymnura micrura* (Bloch & Schneider 1801) species complex, with the description of two new species (Myliobatiformes: Gymnuridae). **Zootaxa**, v. 4332, p.1-74, 2017.

## **CAPÍTULO 5**

### **Considerações finais**

### Considerações finais

No litoral da Paraíba e Pernambuco indivíduos de todos os estágios de maturação de *Aetobatus narinari*, principalmente jovens, são capturados pela pesca com rede raieira durante todo o ano. Desse modo, é importante que haja maior monitoramento dessas capturas, a fim de avaliar o impacto dessas atividades pesqueiras sobre a população.

Fêmeas e machos não apresentaram diferença significativa nos parâmetros de crescimento, no entanto, machos atingiram menores tamanhos que as fêmeas da mesma idade. Além disso, a idade máxima observada para os machos foi muito menor que a das fêmeas, o que pode indicar segregação espacial, de modo que machos mais velhos não ocupam as mesmas áreas de pesca, ou ainda os machos podem apresentar mortalidade mais alta em idades precoces em relação às fêmeas.

As fêmeas atingem a maturidade com maior tamanho que os machos, como outras espécies da mesma família. Por outro lado, os tamanhos de primeira maturação no presente estudo foram menores para ambos os sexos quando comparados à literatura. Essas variações geográficas podem estar relacionadas à alta temperatura da área de estudo, que estimula o desenvolvimento mais rápido desses indivíduos.

No presente estudo não foram encontradas fêmeas com embriões ou ovos uterinos, dessa forma não foi possível determinar período de gestação, período e áreas de parto, fecundidade uterina, tamanho do embrião ao nascer, razão sexual dos embriões, e duração do ciclo reprodutivo para os indivíduos da região. Portanto, são necessários outros estudos a fim de melhor caracterizar esses aspectos da biologia reprodutiva para essa população de *A. narinari* e assim contribuir para a conservação dessa espécie.

A caracterização da dieta da raia pintada foi baseada num pequeno número de estômagos, os resultados mostraram que ambos machos e fêmeas se alimentaram de Ascídia, Teleostei e Moluscos. Não foi possível verificar estatisticamente se há diferença na dieta entre machos e fêmeas e se existe mudança ontogenética, portanto, mais estudos aprofundados são necessários para a região.

As análises de morfometria linear e geométrica identificaram diferenças para machos e fêmeas, as quais estão relacionadas ao formato da cabeça e tamanho de estruturas como o olho e o espiráculo. Visto que essa espécie exibe segregação espacial para machos e fêmeas é possível que essas diferenças na forma sejam consequência de diferentes usos de habitats.

O estudo da estrutura populacional mostrou que todos os indivíduos analisados pertencem a uma mesma população, havendo considerável diversidade genética, alto fluxo gênico entre os locais, e pequena estruturação entre os indivíduos coletados na Paraíba e Pernambuco. Embora a diversidade genética tenha sido considerável dado o tamanho da amostra, considerando que as atividades de pesca são relativamente recentes (~ 30 anos), é plausível que não tenha sido tempo suficiente para deriva genética reduzir a diversidade genética dessa espécie. Portanto, para estudos futuros, sugere-se o uso de microssatélites específicos para a espécie, a fim de estimar endogamia dos cruzamentos e verificar relações de parentesco dos indivíduos capturados.

Com base nos resultados encontrados neste estudo foi possível inferir que a captura, principalmente de jovens, pode ser uma ameaça para a população de *A. narinari* que ocorre no litoral da Paraíba e Pernambuco. Sendo assim, são, necessárias mais pesquisas sobre padrões demográficos e uso de habitat, bem como ampliar o monitoramento das capturas e conhecer áreas e épocas de captura, evitando a pesca de fêmeas grávidas e em períodos e locais de reprodução e parto, a fim de mitigar os impactos da sobre-exploração sobre a população.