

## Dimorfismo sexual de las aletas pélvicas en *Potamotrygon motoro* (Batoidea: Potamotrygonidae)

Sexual dimorphism of the pelvic fins in *Potamotrygon motoro*  
(Batoid: Potamotrygonidae)

Dante Pérez<sup>1\*</sup>, Gabriela Olea<sup>1,2,3</sup>, Tania Blanco Cohene<sup>1,3</sup>,  
Evelyn Rodríguez Florencia<sup>4</sup>, Carolina Flores Quintana<sup>1,2</sup>

### RESUMEN

Los claspers en los condriictios son alargamientos especializados en el lado posterior de las aletas pélvicas de los machos que se utilizan para la transferencia de esperma durante la cópula. El objetivo del presente estudio fue la descripción y caracterización de la morfología externa y los componentes esqueléticos en aletas pélvicas del clasper de *Potamotrygon motoro* (Batoidea: Potamotrygonidae). Se trabajó con tres ejemplares juveniles (2 machos y 1 hembra) y dos ejemplares adultos (1 macho y 1 hembra) provenientes del Río Paraná, Corrientes Capital. Las muestras se fijaron en formol al 10%, y procesadas mediante la técnica de diafanización. El material fue conservado en glicerol

<sup>1</sup> Cátedra de Histología y Embriología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina

<sup>2</sup> Cátedra de Histología y Embriología, Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Nacional del Chaco Austral, Chaco, Argentina

<sup>3</sup> Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET), Argentina

<sup>4</sup> Laboratorio de Investigaciones Bioquímicas, Facultad de Medicina (LIBIM), Instituto de Química Básica y Aplicada del Nordeste (IQUIBA-NEA), CONICET, Corrientes, Argentina

\* E-mail; carofloresq@gmail.com

Fuente de Financiamiento: PI22B005 y PI18B005 (SGCyT-UNNE). PI145 (SGCyT UNCAUS)

Recibido: 30 de diciembre de 2022

Aceptado para publicación: 12 de septiembre de 2023

Publicado: xxx

©Los autores. Este artículo es publicado por la Rev Inv Vet Perú de la Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0) [<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>] que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada de su fuente original

para su observación. Macroscópicamente, el dimorfismo sexual se hace evidente en machos, mediante una estructura en la región posterior denominada clasper, de forma cónica ligeramente ahusada, visible dorsal y ventralmente. En muestras diafanizadas se puede distinguir los elementos cartilagosos posteriores, diferenciándose un propterigio y un basipterigio, que unidos a este se localizan los segmentos basales y los cartílagos radiales de las aletas pélvicas; sin embargo, solo los machos desarrollan un clasper o mixopterigio. En las hembras, las únicas estructuras esqueléticas posteriores al basipterigio son pequeños elementos nodulares (cartílagos terminales). Se evidenció que estos ejemplares en sus primeros días de vida ya presentan el dimorfismo sexual asociado a la presencia de clasper en machos y su ausencia en hembras; sin embargo, los machos juveniles no presentan el desarrollo total del mixopterigio que forma el clasper.

**Palabras clave:** claspers, reproducción, batoideos, peces cartilagosos

## ABSTRACT

Claspers in chondrichthyans are specialized elongations on the posterior side of the pelvic fins of males that are used for sperm transfer during copulation. The aim of this study was the description and characterization of the external morphology and skeletal components of the pelvic fin clasper of *Potamotrygon motoro* (Batoidea: Potamotrygonidae). The study included three juvenile specimens (2 males and 1 female) and two adult specimens (1 male and 1 female) from the Paraná River, Corrientes Capital. The samples were fixed in 10% formalin and processed using the diaphanization technique. The material was preserved in glycerol for observation. Macroscopically, sexual dimorphism is evident in males, through a structure in the posterior region called a clasper, with a slightly tapered conical shape, visible dorsally and ventrally. In diaphanous samples, the posterior cartilaginous elements can be distinguished, differentiating a propterygium and a basipterygium, which together with it are located the basal segments and the radial cartilages of the pelvic fins; however, only males develop a clasper or mixopterygian. In females, the only skeletal structures posterior to the basipterygium are small nodular elements (terminal cartilages). It was evidenced that these specimens in their first days of life already present the sexual dimorphism associated with the presence of clasper in males and its absence in females; however, juvenile males do not present the full development of the mixopterygian that forms the clasper.

**Key words:** claspers, reproduction, batoids, cartilaginous fish

## INTRODUCCIÓN

El dimorfismo sexual representa una fuente importante, aunque a veces pasada por alto, de variación intraespecífica, sobre la cual pueden actuar tanto la selección sexual como la natural (Lande 1980). Las implicaciones de la divergencia morfológica basada en el sexo son aún más importantes cuando los

rasgos involucrados son funcionalmente importantes (Shaffer *et al.*, 2001; McGee y Wainwright, 2013). Las evaluaciones comparativas del dimorfismo de forma son menores en número, pero enfatizan cómo la diferenciación específica del sexo y las características morfológicas pueden servir como un componente integral para patrones más grandes de diversidad (Sanger *et al.*, 2013; Kaliontzopoulou *et al.*, 2015).

El dimorfismo sexual de las aletas pectorales de las rayas se ha documentado en varias especies (Oddone y Vooren, 2004; Ebert y Bizzarro, 2007; Orlov y Cotton, 2011; Martínez *et al.*, 2016b). Actualmente no hay evidencia de que el dimorfismo pectoral esté asociado con factores ecológicos como la utilización del hábitat específica del sexo o las diferencias en la movilidad. Más bien, se sugiere que es causado por el desarrollo de claspers (Martínez *et al.*, 2016b).

Los claspers evolucionaron a partir de modificaciones en las aletas pélvicas y se consideran una de las principales sinapomorfias que caracterizan a los peces condriictios (Grogan y Lund, 2004). Sin embargo, existe una variación considerable en el tamaño relativo y la morfología de los órganos entre clados. Se han identificado dos morfotipos de clasper en batoideos, una forma alargada que tiene forma deprimida distalmente y se encuentra principalmente en Rayiformes y una forma acortada y más cilíndrica que ocurre principalmente en rayas del orden Myliobatiformes (McEachran y Aschliman, 2004).

La investigación sobre el dimorfismo presente en los batoideos sugiere que la variación morfológica en las rayas podría estar subestimada, lo que sugiere una mayor diversidad de estilos de vida de lo que se conoce actualmente (Martínez *et al.*, 2016a). La presencia de dimorfismo en una parte funcionalmente vital del plan corporal de la raya, pues sus aletas pectorales la convierten en un recurso prometedor para mejorar la comprensión de la diversidad del grupo. Estudios anatómicos comparativos de *claspers* en rayas se limitan principalmente al orden Rayiformes, ya que la estructura esquelética y externa del clasper es muy útil en su identificación y ayuda a aclarar sus interrelaciones (Weigmann *et al.*, 2014). Recientemente, se ha publicado una cantidad considerable de artículos que describen nuevos taxones de potamotrygonides, muchos de los cuales incluyen descripciones de sus

*claspers*, pero sin una investigación descriptiva más exhaustiva (Silva y Carvalho, 2015; Carvalho y Araújo, 2016; Fontenelle y Carvalho, 2017).

Los Potamotrygonidae son un grupo de rayas de agua dulce que consta de cuatro géneros (*Heliotrygon*, *Paratrygon*, *Plesiotrygon* y *Potamotrygon*) y al menos 25 especies (Lasso *et al.*, 2014). Si bien se desconocen descripciones detalladas sobre el desarrollo y la morfología de los clasper en especies de esta familia, los conocimientos sobre el dimorfismo sexual de las aletas pélvicas en ejemplares juveniles y adultos son escasos en la región del Nordeste Argentino. Ante esto, el objetivo del presente trabajo fue la descripción y caracterización de la morfología externa y los componentes esqueléticos del clasper de *Potamotrygon motoro* a fin de comprender su variación morfológica y su utilidad como herramienta en la determinación del dimorfismo sexual a partir de un análisis morfológico en diafanizaciones de aletas pélvicas de individuos juveniles y adultos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los muestreos fueron realizados quincenalmente entre septiembre a diciembre de 2021 en cuerpos de aguas lóxicas cercanos a la ciudad de Corrientes, 10 km en dirección NE (Paraje Perichón: 27° 26' 36.6" S - 58° 45' 14.0" W), Argentina. Fito-geográficamente, el sitio de muestreo se ubica en el Chaco Húmedo (Cabrera, 1976). El clima es subtropical o mesotermal (Carnevali, 1994), con un gradiente de temperatura media anual que oscila de norte a sur entre los 21 y 19.5 °C, siendo enero el mes más cálido (media anual: 27 °C) y julio el mes más frío (media anual; 14 °C).

Se efectuó la captura manual de tres individuos juveniles (2 machos y 1 hembra) y dos adultos (1 macho y 1 hembra) de *Potamotrygon motoro*, provenientes del río Paraná, provincia de Corrientes. Para el

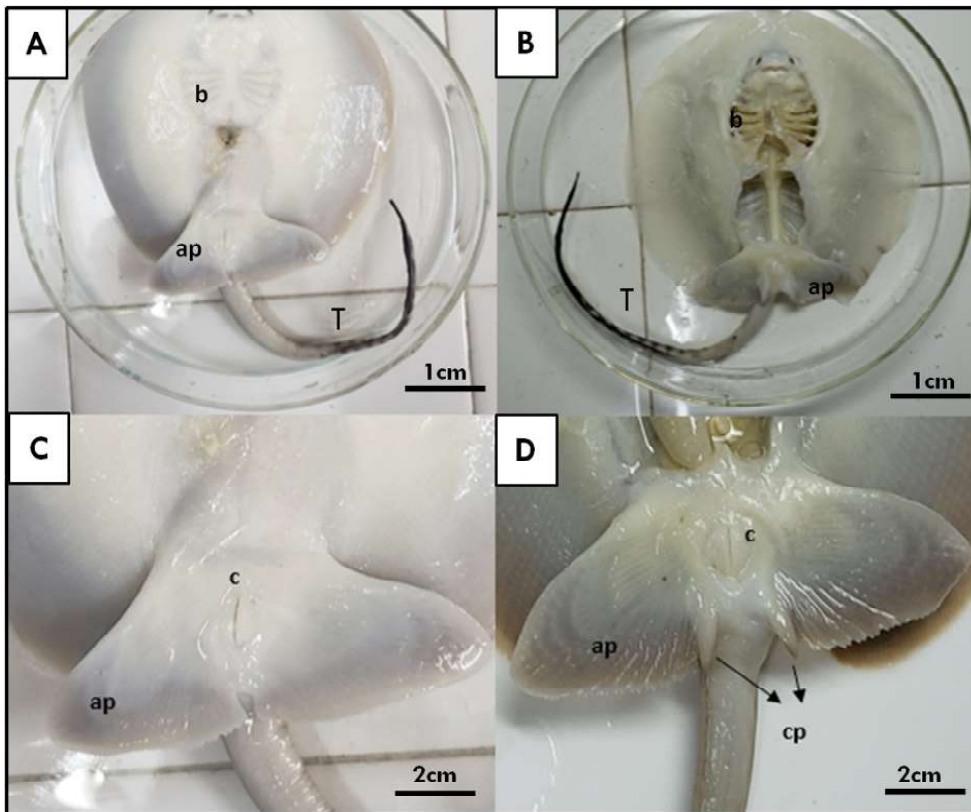


Figura 1. Imagen macroscópica panorámica de ejemplares *Potamotrygon motoro*. A) Juvenil hembra con (C) detalle a nivel de la región caudal; B) Juvenil macho con (D) detalle de la región caudal y el clasper. *ap*: aleta pélvica; *b*: branquias; *c*: cloaca; *cp*: clasper; *rc*: región cefálica

sexado se tuvo en cuenta la presencia de claspers en los machos. Los animales fueron trasladados al laboratorio en bolsas plásticas, donde se procedió a la eutanasia con sobredosis de lidocaína al 0.2%, siguiendo el protocolo establecido en la Guía para la Eutanasia Animal propuesta por la IACUC (*The Institutional Animal Care and Use Committee*) bajo las normas del Comité de Ética de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Nordeste (UNNE) (Underwood *et al.*, 2013), Resolución N.º 471/2009-CD.

Para el análisis macroscópico de las aletas pélvicas de los ejemplares capturados se procedió a su disección y observación bajo microscopio estereoscópico, aislando las aletas pélvicas y región caudal. Los ejemplares juveniles y las aletas y región caudal de los ejemplares adultos fueron fijados en formol al 10% con pH 7.4. Se siguió la técnica convencional de diafanización (Figura 3B, D), para lo cual se retiró piel y órganos internos de las muestras, sin afectar el material, seguido de inmersión en una solución de Azul Alcían por dos días para la coloración de los

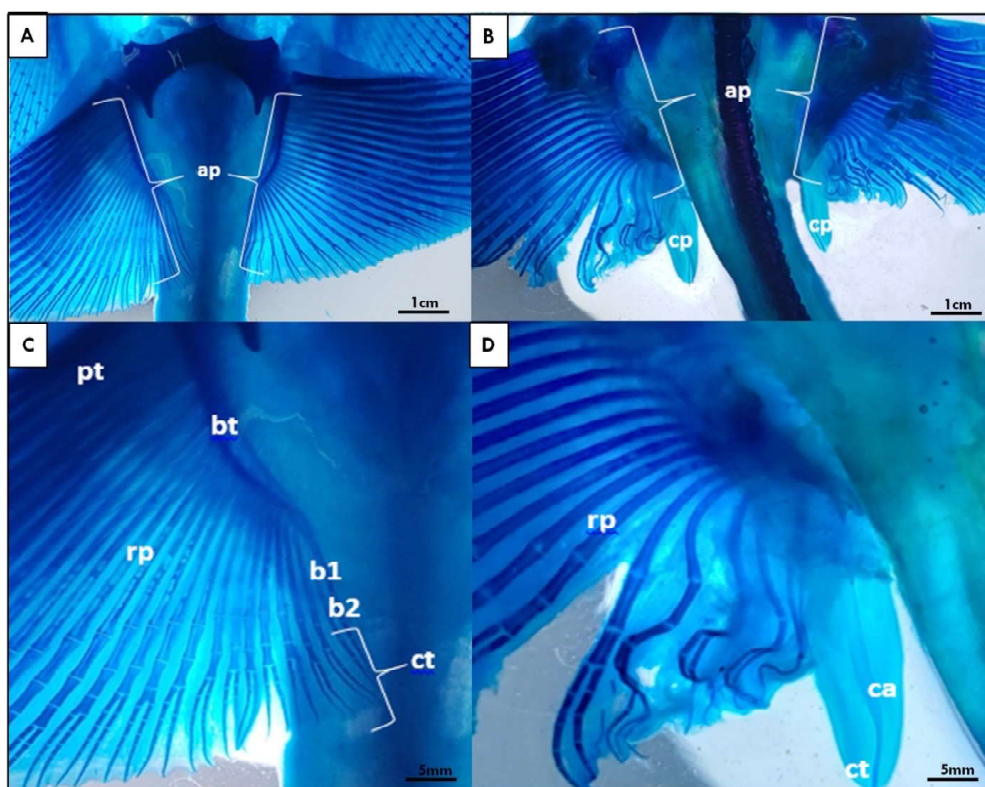


Figura 2. Imagen macroscópica panorámica diafanizada de ejemplares *Potamotrygon motoro*. A) Juvenil hembra con detalle (C) a nivel de la región caudal; B) Juvenil macho con detalle (D) de la región caudal y el clasper. *ap*: aleta pélvica; *bt*: basipterigio; *b1*: primer segmento basal; *b2*: segundo segmento basal; *cp*: clasper; *ct*: cartílago terminal; *pt*: propterigio; *rp*: radiales pélvicos

elementos cartilaginosos. Luego se realizó un baño en alcohol al 96% durante no menos de 4 h, y tinción por dos días con una solución de Rojo de Alizarina para evidenciar los elementos óseos. Para la transparentación se dejó los ejemplares en una solución de hidróxido de potasio hasta observar las estructuras óseas y cartilaginosas. Finalmente, el material fue conservado en glicerol para su observación y fotografiado en microscopio estereoscópico.

## RESULTADOS

En las hembras juveniles se pueden observar aletas pélvicas sin presencia de claspers (Figura 1A,C). Por otro lado, en el

caso de los machos juveniles se pudo observar un pequeño par de lóbulos laterales a la cola y posteriores a las aletas pélvicas, que corresponden a los claspers (Figura 1B,D). Asimismo, mediante la tinción con azul alcian fue posible diferenciar la formación de los segmentos intermedios que se originan posteriores al basipterigio y que son seguidos por el cartílago axial (Figura 2B,D). En las hembras, esta estructura no está presente, y suele desarrollarse el eje del basipterigio con una segmentación en la zona posterior (Figura 2A,C). Sin embargo, en los machos, los claspers muestran un desarrollo más significativo de los cartílagos (Figura 2D), donde el basipterigio se modifica en su extremo posterior, originando el mixopterigio o clasper.

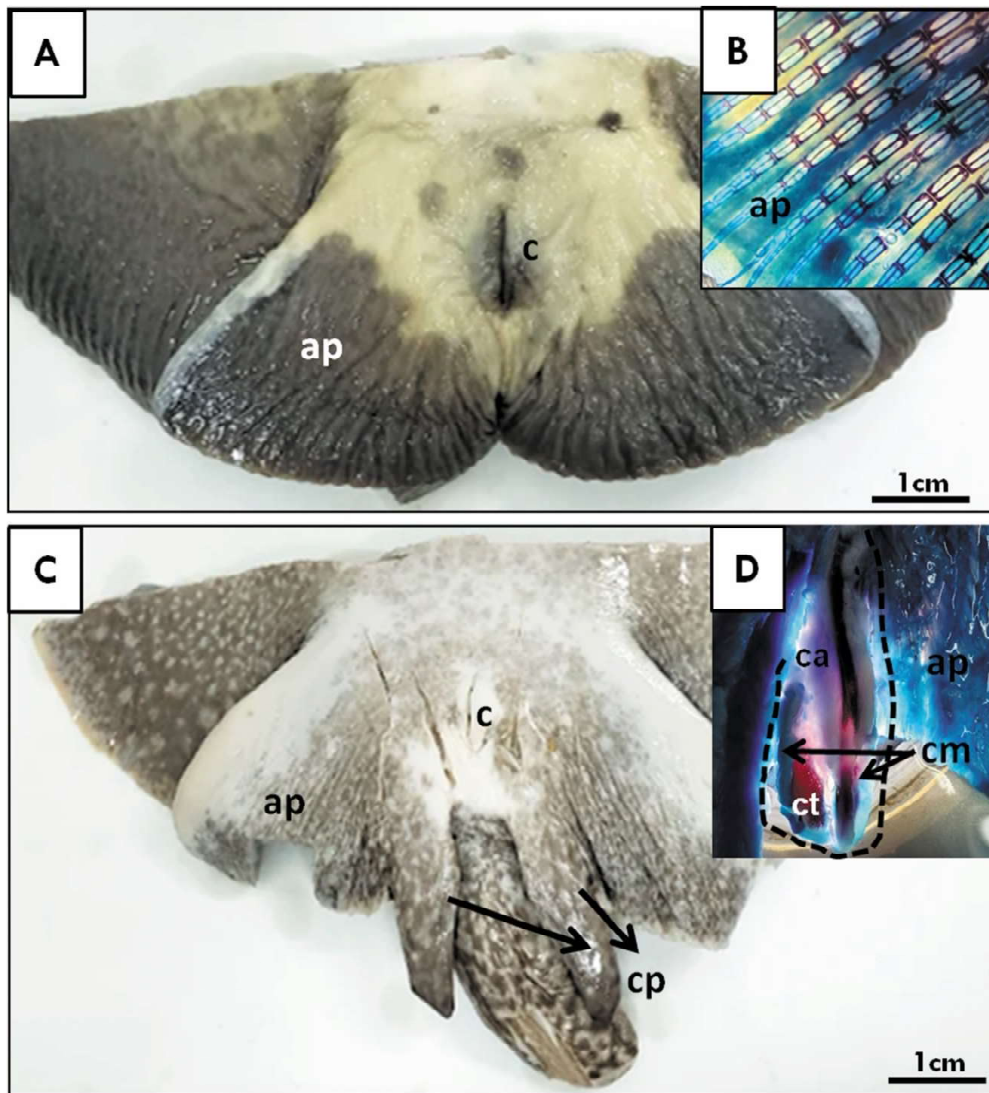


Figura 3. Imagen macroscópica panorámica de ejemplares *Potamotrygon motoro*. A) Adulto hembra con detalle diafanizado a nivel de la región caudal (B); C) Adulto macho con detalle diafanizado de la región caudal y el clasper (D). *ap*: aleta pélvica; *ca*: cartílago anterior; *cm*: cartílago medial; *cp*: clasper; *ct*: cartílago terminal

La conformación de la aleta pélvica en las hembras adultas no mostró modificaciones respecto a la observada en los juveniles (Figura 3A,B), mientras que en los machos se observaron los claspers completamente desarrollados, sobrepasando el borde posterior de la aleta pélvica con lóbulos conspicuos y prominentes (Figura 3C,D). En el esqueleto diafanizado se pudo evidenciar que

el cartílago axial se ubica medialmente a lo largo del clasper, extendiéndose hasta el cartílago terminal, con un extremo distal no calcificado con una punta delgada (Figura 3D). Los cartílagos marginales dorsal y ventral forman el surco espermático lateral y se extienden casi en toda la longitud del cartílago axial. El cartílago marginal dorsal es una estructura plana en forma de varilla (Figura 3D).

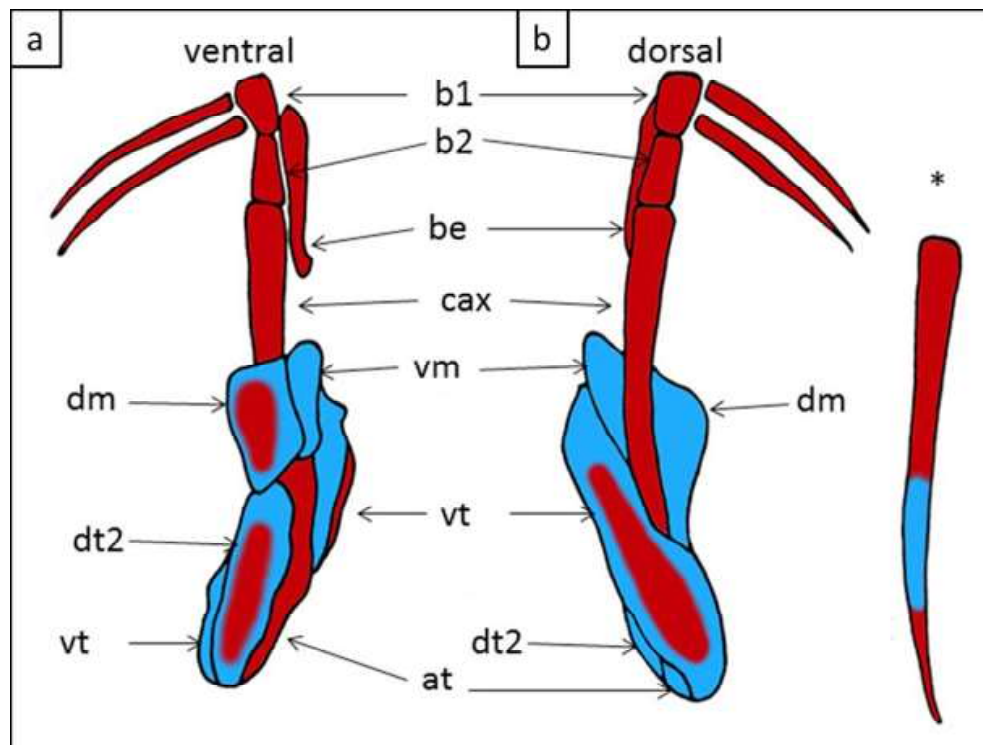


Figura 4. *Potamotrygon motoro*. Vistas dorsal y ventral de estructuras esqueléticas clasper. La coloración diferencial muestra elementos cartilaginosos (azul) y óseos (rojo). at: terminal de accesorios; ax: cartílago axial; be:  $\beta$ -cartílago; b1: segmento basal 1; b2, segmento basal 2; dm: cartílago marginal dorsal; dt2: cartílago dorsal terminal 2; vm: cartílago marginal ventral; vt: cartílago terminal ventral

Los clasper tienen un cartílago axial alargado, delgado y ligeramente curvado distalmente. El segmento basal 1 conecta el cartílago axial con el basipterigio y el segmento basal 2 se articula con la parte proximal del cartílago axial. El cartílago beta es alargado, se estrecha distalmente y se extiende desde el segmento basal 1 hasta cerca de la mitad de la longitud del cartílago axial. El cartílago dorsal terminal 2 es rectangular y aplanado, con un surco en la región proximal. Los bordes exteriores de los cartílagos dorsal marginal y dorsal terminal 2 delimitan externamente el surco del clasper. El margen interno de la parte posterior del cartílago marginal dorsal delimita externamente el pseudosifón. El cartílago ventral terminal es grande y de forma rectangular a ovalado. El cartílago margi-

nal ventral es largo y estrecho con un extremo posterior puntiagudo. El cartílago terminal accesorio es arqueado y fusiforme, delimitando su borde exterior externamente el pseudosifón ventral (Figura 4A,B).

## DISCUSIÓN

El presente trabajo aporta información sobre el vínculo entre la presencia de dimorfismo sexual en *Potamotrygon motoro* desde el estadio juvenil hasta los individuos adultos, brindando información de este patrón morfológico con un evento importante en la evolución de la biología reproductiva de los batoideos.

Los resultados permiten inferir que los claspers de *P. motoro* son similares a algunos myliobatiformes al tener una morfología externa corta, robusta y cilíndrica (Aschliman *et al.*, 2012). El cartílago marginal dorsal con un reborde medial y el cartílago terminal dorsal en la superficie del cierre ventral descrito aquí, también se informan en rinopristiformes y myliobatiformes (Aschliman *et al.*, 2012, Moreira *et al.*, 2018). El cartílago terminal ventral situado dorsolateralmente en el clasper de todas las rayas eléctricas es identificado como terminal 3 por Jungersen (1899), Ishiyama (1958) y Hulley (1972) como terminal accesorio 1 y por McEachran y Aschliman (2004). En el presente trabajo se pudieron identificar dichos elementos en los individuos adultos, mientras que en los juveniles solo se logró diferenciar el cartílago terminal dorsal.

Se ha propuesto que el rápido alargamiento de los cartílagos del clasper en las rayas machos y, en particular, sus efectos en el desarrollo de otras características esqueléticas, es el factor subyacente del dimorfismo de la aleta pectoral (Martínez *et al.*, 2016b). De acuerdo con otros trabajos, los individuos inmaduros de *Fenestraja plutonia* son similares en morfologías de aletas, pero divergen en la maduración debido principalmente al cambio de forma del macho (Figura 3C). Esto mismo fue observado en los ejemplares de *P. motoro* del presente estudio.

Si bien existe una creciente evidencia de que la aparición del dimorfismo sexual a partir de las aletas pélvicas en las rayas está relacionada con la presencia de cartílagos alargados que conforman el clasper, no está completamente claro la causa de variación en la magnitud de las diferencias de forma entre hembras y machos entre especies. Un estudio sobre los perfiles de crecimiento de clasper en siete especies de rayas mostró diferencias sustanciales en las tasas de crecimiento de clasper con el tamaño corporal (Sosebee, 2005). Si bien fue notorio el alargamiento del clasper en la especie en estu-

dio, dichas diferencias no pudieron ser evidenciadas en el presente trabajo entre juveniles y adultos.

Si bien se ha publicado un número considerable de artículos sobre la morfología del clasper en condriactios (Carvalho, 2016; Fontenelle y de Carvalho, 2017; Moreira *et al.*, 2017, 2018), datos sobre las estructuras de los claspers en especies de batoideos en individuos juveniles y adultos son escasos, por lo que el presente trabajo es un aporte a la historia natural de los batoideos de agua dulce.

## CONCLUSIONES

- Los claspers de *Potamotrygon motoro* son similares a algunos myliobatiformes en tener una morfología externa corta, robusta y cilíndrica.
- En especímenes juveniles solo se logró diferenciar el cartílago terminal dorsal, mientras que en los adultos se diferenciaron todos los elementos encontrados en otras especies de rayas.

## LITERATURA CITADA

1. **Aschliman NC, Nishida M, Miya M, Inoue JG, Rosana KM, Naylor G. 2012.** Body plan convergence in the evolution of skates and rays (*Chondrichthyes*: Batoidea). *Mol Phylogenet Evol* 63: 28-42. doi: 10.1016/j.ympev.-2011.12.012
2. **Cabrera L. 1976.** Regiones fitogeográficas de Argentina. Enciclopedia de agricultura y jardinería II. Argentina. 85 p.
3. **Carnevali R. 1994.** Fitogeografía de la provincia de Corrientes. Gobierno de la Provincia de Corrientes- INTA. 324 p.
4. **Carvalho MR. 2016.** *Potamotrygon rex*, a new species of Neotropical freshwater stingray (*Chondrichthyes*: Potamotrygonidae) from the middle and upper Rio Tocantins, Brazil, closely allied to



- Potamotrygon henlei* (Castelnau, 1855). Zootaxa 4150: 537-565. doi: 10.11646/zootaxa.4150.5.2
5. **Carvalho Rosa, Araujo 2016.** Biología e história natural de *Potamotrygon wallacei* (Carvalho, Rosa E Araújo, 2016) Na Bacia Do Rio 11. Negro, Amazônia Central, Brasil. En: Rayas de agua dulce (Potamotrygonidae) de Suramérica. Colombia: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. p.289-302.
  6. **Ebert DA, Bizzarro JJ. 2007.** Standardized diet compositions and trophic levels of skates (Chondrichthyes: Rajiformes: Rajoidei). Biology of Skates. Environ Biol Fish 80: 221-237. doi: 10.1007/s10641-007-9227-4
  7. **Fontenelle JP, Carvahlo MR. 2017.** Systematic revision of the *Potamotrygon scobina* Garman, 1913 species-complex (Chondrichthyes: Myliobatiformes: Potamotrygonidae), with the description of three new freshwater stingray species from Brazil and comments on their distribution and biogeography. Zootaxa 4310: 1-63. doi: 10.11646/zootaxa.4310.1.1
  8. **Grogan ED, Lund R. 2004.** The origin and relationships of early chondrichthyes. In: Biology of sharks and their relatives. CRC Press. p. 3-23.
  9. **Kaliontzopoulou A., Carretero MA, Adams DC. 2015.** Ecomorphological variation in male and female wall lizards and the macroevolution of sexual dimorphism in relation to habitat use. J Evolution Biol 28: 80-94. doi: 10.1111/jeb.12540
  10. **Hulley PA. 1972.** The origin, interrelationships and distribution of southern African Rajidae (Chondrichthyes, Batoidei). PhD Thesis. South Africa: University of Cape Town. 6 p.
  11. **Ishiyama R. 1958.** Studies on the rajid fishes (Rajidae) found in the waters around Japan. J Shimonoseki Coll Fish 7: 193-394.
  12. **Jungersen H. 1899.** On the appendices genitales in the Greenland shark, *Somniosus microcephalus* (Bl. Schn.), and other selachians. In: The Danish Ingolf Expedition. Copenhagen: 99 p.
  13. **Lande R. 1980.** Sexual dimorphism, sexual selection, and adaptation in polygenic characters. Evolution 34: 292-305.
  14. **Lasso CA, Rial A, Colonnello G, Machado-Allison A, Trujillo F. 2014.** Humedales de la Orinoquia (Colombia-Venezuela). Serie Editorial Recursos Hidrobiológicos y Pesqueros Continentales de Colombia. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt (IAvH). Bogotá DC. 301 p.
  15. **Martinez CMM, Rohlf F, Frisk M. 2016a.** Re-evaluation of batoid pectoral morphology reveals novel patterns of diversity among major lineages. J Morphol 277: 482-493. doi: 10.1002/jmor.20513
  16. **Martínez, CM, Rohlf, FJ y Frisk, MG 2016b.** Sexual dimorphism in sister species of *Leucoraja* skate and its relationship to reproductive strategy and life history. Evol Dev 18: 2: 105-115. doi: 10.1111/ede.12175
  17. **McEachran JD, Aschliman N. 2004.** Phylogeny of Batoidea. In: Biology of sharks and their relatives. CRC Press. p. 79-108
  18. **McGee MD, Wainwright PC. 2013.** Sexual dimorphism in the feeding mechanism of three spine stickleback. J Exp Biol 216: 835-840. doi: 10.1242/jeb.074948
  19. **Moreira RA, Loboda TS, de Carvalho MR. 2018.** Comparative anatomy of the clasper of the subfamily *Potamotrygoninae* (Chondrichthyes: Myliobatiformes). J Morphol 279: 598-608. doi: 10.1002/jmor.20795
  20. **Moreira RA, Gomes UL, de Carvalho MR. 2017.** Clasper morphology of skates of the tribe Riorajini (Chondrichthyes: Rajiformes: Arhynchobatidae) and its systematic significance.

- J Morphol 278: 1185-1196. doi: 10.1002/jmor.20703
21. **Oddone MC, Vooren CM. 2004.** Distribution, abundance and morphometry of *Atlantoraja cyclophora* (Regan, 1903) (Elasmobranchii: Rajidae) in southern Brazil, Southwestern Atlantic. Neotrop Ichthyol 2: 137-144. doi: 10.1590/S1679-62252004000300005
  22. **Orlov AM, Cotton CF. 2011.** Sexually dimorphic morphological characters in five north atlantic deepwater skates (Chondrichthyes: Rajiformes). J. Marine Sci 2011: 18. doi: 10.1155/2011/842821
  23. **Sanger TJ, Sherratt E, McGlothlin JW, Brodie ED, Losos JB, Abzhanov A. 2013.** Convergent evolution of sexual dimorphism in skull shape using distinct developmental strategies. Evolution 67: 2180-2193. doi: 10.1111/evo.12100
  24. **Shaffer SA, Weimerskirch H, Costa DP. 2001.** Functional significance of sexual dimorphism in wandering albatrosses, *Diomedea exulans*. Funct Ecol 15: 203-210. doi: 10.1046/j.1365-2435.2001.00514.x
  25. **Silva JP, Carvalho MR. 2015.** Systematics and morphology of *Potamotrygon orbignyi* (Castelnau, 1855) and allied forms (Chondrichthyes: Myliobatiformes: Potamotrygonidae). Zootaxa 3982: 1. doi: 10.11646/zootaxa.3982.1.1
  26. **Sosebee KA. 2005.** Are density-dependent effects on elasmobranch maturity possible? J. Northw. Atl Fish Sci 35: 115-124. doi: 10.2960/J.v35.m492
  27. **Underwood W, Anthony R, Gwaltney-Brant S, Poison ASPCA, Meyer R. 2013.** AVMA guidelines for the euthanasia of animals. USA: American Veterinary Medical Association. 102 p.
  28. **Weigmann S, Stehmann M, Theil R. 2014.** Complementary redescription of *Anacanthobatis ori* (Wallace, 1967) and its assignment to *Indobatis* n. g. (Elasmobranchii, Anacanthobatidae), with comments on other legskates. Zootaxa 3779: 101-132. doi: 10.11646/zootaxa.-3779.2.1