



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Câmpus de Ilha Solteira

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE ENGENHARIA
CAMPUS DE ILHA SOLTEIRA**

Gabriela Garcia de Almeida

**Análise bioquímica do estresse de captura em machos de
Potamotrygon amandae (Chondrichthyes: Myliobatiformes:
Potamotrygonidae)**

Análise bioquímica do estresse de captura em machos de *Potamotrygon amandae*
(Chondrichthyes: Myliobatiformes: Potamotrygonidae)

Orientada: Gabriela Garcia de Almeida
Orientadora: Profa. Dra. Cristiële da Silva Ribeiro

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Engenharia, Campus de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, como parte das exigências para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Ilha Solteira - SP
2025

FICHA CATALOGRÁFICA
Desenvolvida pela Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação

A447a Almeida, Gabriela Garcia de.
Análise bioquímica do estresse de captura em machos de *Potamotrygon amandae* (Chondrichthyes: Myliobatiformes: Potamotrygonidae) / Gabriela Garcia de Almeida . -- Ilha Solteira: [s.n.], 2025
23 f. : il.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, 2025

Orientador: Crístiele da Silva
Ribeiro Inclui bibliografia

1. Hematócrito. 2. Lactato. 3. Glicose . 4. Fisiologia de arraias.

Elaborada por Raiane da Silva Santos - CRB-8/9999

ATA DE DEFESA DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

"ANÁLISE BIOQUÍMICA DO ESTRESSE DE CAPTURA EM MACHOS DE *Potamotrygon amandae* (CHONDRICHTHYES: MYLIOBATIFORMES: POTAMOTRYGONIDAE)"

GABRIELA GARCIA DE ALMEIDA

REGULAMENTO SOBRE A AVALIAÇÃO:

Artigo 25º - § 2º A apresentação pública do trabalho de TCC deverá ser de no mínimo 20 (vinte) minutos e máxima de 40 (quarenta) minutos. Após um intervalo de 5 (cinco) minutos, haverá a arguição do Trabalho pelos examinadores. O tempo de arguição, será de até 15 (quinze) minutos para cada examinador, e até 15 (quinze) minutos o tempo para a resposta do(a) aluno(a) a cada examinador ou no caso de se optar pelo diálogo o tempo conjunto entre examinador e acadêmico(a) será de no máximo 30 (trinta) minutos.

Artigo 24º - No julgamento do TCC, a banca examinadora deverá avaliar a apresentação oral, escrita e a defesa do trabalho durante a arguição. O conceito final será APROVADO(A) ou REPROVADO(A).

COMISSÃO EXAMINADORA

1ª EXAMINADORA (Orientadora-Presidente)
Nome: Profa. Dra. Cristiele da Silva Ribeiro

Documento assinado digitalmente
CRISTIELE DA SILVA RIBEIRO
Data: 03/12/2025 18:52:38-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

2ª EXAMINADORA
Nome: Ms. Julia Kaori Kuriyama Ramos

Documento assinado digitalmente
JULIA KAORI KURIYAMA RAMOS
Data: 03/12/2025 19:51:49-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

3ª EXAMINADORA
Nome: Ms. Ariadyne dos Santos Soares

Documento assinado digitalmente
ARIADYNE SANTOS SOARES
Data: 03/12/2025 19:10:52-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

CONCEITO

(X) Aprovado(a)

() Reprovado(a)

Ilha Solteira-SP, 03 de dezembro de 2025.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente meus pais, Neuci e Carlos, que sempre acreditaram e confiaram em mim, não me deixaram desistir e fizeram o impossível pra que eu conseguisse estudar. Sem vocês nada seria possível e é por vocês que cheguei até aqui! Mesmo diante de tantas dificuldades enfrentadas, nós vencemos e este trabalho é a prova disso. Agradeço também a minha tia Nair, que sempre me apoiou e me ajudou durante toda minha trajetória, tornando-se uma segunda mãe pra mim. Obrigada!

A minha orientadora Cristiële por sempre ser muito paciente comigo durante todos esses anos. Orientando minha trajetória da maneira mais gentil e atenciosa possível, me mostrou que sou capaz e consigo. Cris, você me acolheu desde a nossa primeira conversa e eu sempre vou ser grata por isso, por me mostrar que eu também tenho meu lugar dentro da pesquisa, por me incentivar e me mostrar que tenho capacidade, quando nem eu acreditava que tinha. Muito obrigada Cris, você marcou minha trajetória e sempre será lembrada com muita admiração.

As minhas irmãs de república, obrigada pelos longos anos de convivência. Vocês foram minha família em Ilha Solteira, que sempre será lembrada com muito carinho!

Por fim, agradeço aos membros dos laboratórios que de alguma forma contribuíram para este trabalho e especialmente ao Douglas Ribeiro, por todo auxílio e aprendizagem durante as coletas de animais em campo. Agradeço também a Guarda Municipal de Ilha Solteira pelo auxílio nas coletas.

Resumo

Objetivo: Examinar como o estresse de captura afeta a fisiologia de machos de *Potamotrygon amandae* em ambiente não nativo. **Métodos:** Foram capturados dez machos de *P. amandae* no rio Paraná com o uso de tarrafas. As coletas foram realizadas a montante do reservatório de Jupia, no município de Ilha Solteira (SP). Após a captura, realizaram-se duas coletas de sangue por indivíduo, a primeira no momento da captura e a segunda após 60 minutos. Os animais foram transportados vivos ao laboratório e eutanasiados por resfriamento. Foram aferidos dados biométricos (massa total, comprimento total, comprimento e largura de disco). As amostras de sangue foram analisadas quanto ao hematócrito e às concentrações plasmáticas de glicose e lactato. **Resultados:** Os exemplares apresentaram massa média de 1,59 kg, comprimento total de 51,3 cm, comprimento de disco de 33,75 cm e largura de disco de 31,2. Entre os parâmetros analisados, o hematócrito apresentou declínio significativo ($p=0,011$) entre o momento da captura e após 60 minutos. Por outro lado, glicose e lactato plasmáticos aumentaram significativamente ($p=0,042$ e $p=0,001$), indicando maior mobilização de substratos energéticos. **Conclusões:** O lactato mostrou-se um indicador confiável de estresse em *P. amandae*. Seu aumento ao longo do tempo reflete a mudança para metabolismo anaeróbico e o consequente acúmulo de lactato como subproduto do estresse de captura. Apesar das alterações significativas nos níveis de glicose, sua variabilidade sugere a influência de outros fatores fisiológicos; portanto, a glicose deve ser usada com cautela como biomarcador de estresse. A redução no hematócrito após 60 minutos também pode estar associada à mudança para vias anaeróbicas, como indicado pelo aumento concomitante do lactato plasmático.

Palavras-chave: hematócrito; lactato; glicose; fisiologia de arraia.

Abstract

Objectives: This study aimed to evaluate the physiological effects of capture stress on male *Potamotrygon amandae* maintained in a non-native environment. **Methods:** Ten male specimens were collected from the Paraná River using cast nets. Sampling occurred upstream of the Jupia Reservoir, located in Ilha Solteira, São Paulo state, with an average capture rate of three individuals per month. Two blood samples were obtained from each specimen: the first immediately after capture and the second 60 minutes later. The animals were transported alive to the laboratory and euthanized by cooling. Biometric measurements, including body mass, total length, disc length, and disc width, were recorded. Blood samples were analyzed for hematocrit, plasma glucose, and lactate concentrations. **Results:** The specimens exhibited an average body mass of 1.59 kg, total length of 51.3 cm, disc length of 33.75 cm, and disc width of 31.25 cm. Hematocrit levels showed a significant decrease between capture and post-capture, whereas plasma glucose and lactate concentrations increased over the same period. **Conclusions:** Lactate concentration proved to be a reliable physiological indicator of stress in *P. amandae*. The observed increase suggests a transition to anaerobic metabolism and lactate accumulation under stress conditions. Although glucose levels also changed significantly, this variable may be influenced by additional metabolic factors. Therefore, further research is recommended before using glucose as a sole stress indicator. The decline in hematocrit at the second sampling point may be related to the shift toward anaerobic metabolism, as supported by the concurrent rise in blood lactate concentration.

Keywords: hematocrit; lactate; glucose; stingray physiology.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. OBJETIVOS	13
2.1 <i>Geral</i>	13
2.2 <i>Específicos</i>	13
3. MATERIAIS E MÉTODOS	13
4. RESULTADOS	15
5. DISCUSSÃO	16
6. CONCLUSÕES	18
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19

1. Introdução

O estresse pode ser definido como uma condição em que a homeostase é ameaçada ou perturbada em decorrência da ação de estímulos intrínsecos e/ou extrínsecos, denominados estressores. Quando um animal detecta um estressor, se inicia uma cascata de respostas fisiológicas e comportamentais na tentativa de retomar a homeostase (SKOMAL e MANDELMAN, 2012). Os aspectos fisiológicos dessa resposta são mediados pelo sistema endócrino, que atua como sistema de controle e regulação homeostática, através da produção e liberação de hormônios, produzidos por glândulas endócrinas, neurônios especializados e células endócrinas em tecidos não endócrinos, que podem estimular ou inibir funções celulares. De modo geral os hormônios atuam na reprodução, crescimento, regulação da taxa metabólica e respostas ao estresse (RANDALL et al., 1992).

Durante a resposta ao estresse são liberados dois grupos de hormônios: as catecolaminas e os corticosteroides (ZANUZZO et al., 2019). As catecolaminas são aminas ativas que possuem em sua estrutura o anel catecol (SILVA et al., 2007), e atuam na mobilização de substratos energéticos para o sistema nervoso central e tecido muscular durante a reação de estresse, como também, na inibição de captação de glicose por tecidos cuja função não é essencial durante a exposição ao estressor (CHROUSOS, 1998). Os corticosteroides, são subdivididos em duas classes: os glicocorticoides e mineralocorticoides. Os glicocorticoides, como o cortisol e a corticosterona, influenciam na utilização periférica da glicose. Os mineralocorticoides, como a aldosterona, afetam os mecanismos de transporte de sódio e potássio nos néfrons renais (NORRIS, 2007).

Quando há um agente estressor, o indivíduo fica em estado de alerta, caracterizado pela liberação de catecolaminas e o hormônio liberador de corticotropinas (CRH) ver se falei CHR no resto tem que ficar abreviado. O CRH atinge a adenohipófise, é reconhecido por receptores e desencadeia a liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH). Por fim, o ACTH atinge a glândula inter-renal ou adrenais, através da corrente sanguínea, ocasionando a liberação dos corticosteroides e mineralocorticoides (ROBERTS et al., 2014; FULLER et al., 2020).

No grupo dos condrictes, os animais utilizam um único esteroide para regular o equilíbrio hidromineral e a resposta ao estresse, a 1- α -hidroxicorticosterona (EVANS, 2008), produzida e secretada pela inter-renal. A liberação deste hormônio é estimulada por níveis elevados do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH). Após situações estressoras os níveis plasmáticos de 1- α -hidroxicorticosterona aumentam, paralelamente ao aumento dos processos de glicólise e glicogenólise em tecidos que demandam energia na primeira hora de exposição ao estressor, como observado por Ruiz-Jarabo et al. (2019), ao quantificar a 1- α -hidroxicorticosterona no plasma de *Scyliorhinus canicula*, analisando a resposta deste hormônio a uma situação de estresse agudo. Os resultados demonstraram

que o aumento da 1- α -hidroxicorticosterona em tubarões apresenta uma correlação positiva com a glicose, pois os níveis de ambos os parâmetros aumentaram minutos após a exposição ao estressor. Adicionalmente, o aumento dos níveis plasmáticos de 1- α -hidroxicorticosterona em conjunto com ativação das vias de glicólise e gliconeogênese ocorreram, provavelmente, para abastecer tecidos que exigem energia (RUIZ-JARABO et al., 2019).

A resposta de estresse em elasmobrânquios é integrada, ocorrendo em uma cascata semelhante à dos outros vertebrados e classificada em primária, secundária e terciária. A primária é caracterizada pelo aumento de catecolaminas e corticosteroides, que interferem diretamente no metabolismo de glicose e lactato, osmolalidade e pH plásmico (FULLER et al., 2020). A resposta secundária é classificada como uma fase de resistência e tentativa de adaptação, que é resultado dos níveis de catecolaminas e cortisol em circulação (CARNEIRO, 2001). De forma terciária, um estresse crônico pode originar mudanças no comportamento, crescimento, reprodução e aumento da suscetibilidade a doenças, podendo acarretar graves consequências a nível populacional (SKOMAL e MANDELMAN, 2012).

Peixes estressados iniciam a produção de catecolaminas e corticosteroides como resposta primária (SKOMAL e MANDELMAN, 2012), com a liberação de glicocorticoides, em especial o cortisol e a 1- α -hidroxicorticosterona. Devido a isso, alterações nos níveis circulantes de glicose e lactato, juntamente com o hematócrito são indicadores da resposta secundária pois sob efeito da 1- α -hidroxicorticosterona, o metabolismo do animal começa a se alterar, estimulando a hidrólise das reservas de glicogênio no fígado, aumentando os níveis de glicose no sangue para mobilizar energia para os tecidos do corpo (CARNEIRO, 2001). O lactato, por sua vez, advém da demanda energética requerida nos eventos de estresse, que é parcialmente suportada através da respiração anaeróbica no músculo branco (BONE, 1988; HOFFMAYER e PARSONS, 2001). Uma consequência imediata do metabolismo anaeróbico é a liberação de ácido láctico devido ao processo de quebra da glicose a partir do glicogênio, liberando prótons H^+ e ânions La^- (lactato) (ALBERS, 1970). Os valores do hematócrito alteram-se devido a uma maior demanda na capacidade do transporte de oxigênio no sangue em uma situação de estresse.

Devido às consequências geradas por agentes estressores diversos, populações de muitas espécies de condrictes foram reduzidas (STEVENS et al., 2000), resultando em cerca de um quarto de todas as espécies aparecendo na Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas da IUCN (DULVY et al., 2014). A pesca acidental, fruto de uso de artes de pesca sem discriminação de alvo, como as redes de arrasto, resulta em captura de elasmobrânquios e outros grupos de organismos aquáticos, que costumam ser soltos após captura. Contudo, pouco se sabe sobre os efeitos fisiológicos e a mortalidade, imediata e pós-soltura, associada à captura e soltura. Independentemente do estilo de pesca, os peixes capturados estão expostos a vários graus de estresse, que incluem os impactos cumulativos de trauma físico e

estresse fisiológico, cuja magnitude depende dos métodos de captura e manejo (SKOMAL e MANDELMAN, 2012).

As arraias pertencem à classe Chondrichthyes, dos peixes cartilaginosos, dividida em duas subclasses: Subterbranchialia (Holocephali), que inclui as quimeras, e Elasmobranchii, representada por tubarões e arraias (RICHTER et al., 2000). Atualmente, os elasmobrânquios são representados por aproximadamente 22 famílias e cerca de 535 espécies. Destas, as arraias da família Potamotrygonidae (Myliobatiformes) compreendem o único grupo de elasmobrânquios exclusivamente de ambiente dulciaquícola (CARVALHO et al., 2003), com adaptações para vida em água doce, tais como baixa concentração de ureia no sangue, captação de eletrólitos pelos rins e brânquias, modificações das Ampolas de Lorenzini para operação nesse ambiente e redução da glândula retal (RASCHI e MACKANOS, 1989, LUCIFORA et al., 2015). A família Potamotrygonidae é composta por quatro gêneros, sendo eles: *Potamotrygon*, *Paratrygon*, *Plesiotrygon* e *Heliotrygon* (CARVALHO et al., 2003). O gênero *Potamotrygon* possui o maior número de espécies, atualmente 42 (FRICK et al., 2010), mas somente 19 destas estão listadas pela CITES Convention e 22 constam da IUCN REDLIST (IUCN, 2023). A maioria das espécies formalmente descritas de arraias de água doce neotropicais ainda não estão protegidas, listadas ou tiveram sua inclusão rejeitada devido a dados insuficientes sobre comércio e situação populacional (JERIKHO et al., 2023).

Os Potamotrigonídeos são endêmicos da América do Sul, ocorrendo em várias bacias hidrográficas que drenam para o Mar do Caribe e o Oceano Atlântico (LAST et al., 2016). Os principais locais de distribuição são as bacias hidrográficas da Argentina, Bolívia, Colômbia, Equador, Guiana, Guiana Francesa, Paraguai, Peru, Suriname, Uruguai e Venezuela e as bacias localizadas em território brasileiro (Amazonas, Pindaré-Mearim, Tocantins-Araguaia, Paraná e Parnaíba) (ROSA et al., 2013). Até o final da década de 1970, as arraias não haviam colonizado a região do Alto Paraná, pois a cachoeira Sete Quedas, localizada no município de Guaíra, no estado do Paraná, atuava como uma barreira geográfica natural. No entanto, com a construção da Usina Hidrelétrica de Itaipu, em 1982, Sete Quedas foi submersa, ocasionando a saída desses animais da jusante e a colonização do trecho localizado à montante de Guaíra, ou seja, a região do Alto Paraná (região de Ilha Solteira-SP, área de estudo deste projeto) (GARRONE NETO, 2010). Devido à escassez de informações sobre aspectos da biologia do grupo, há grande dificuldade em criar um plano de conservação e manejo, que seja adequado ao ambiente em que esses animais colonizaram e se tornaram uma espécie invasora, como na região do alto Rio Paraná.

O Programa de Biologia do Instituto de Pesquisa de Recursos Biológicos Alexandre von Humboldt (IAvH) propôs em 2012 a inclusão de espécies de raias de água doce no status de “provavelmente em perigo” no apêndice III da CITES (Comércio Internacional de Espécies Ameaçadas de Fauna e Flora Silvestre), devido à escassez de estudos com o grupo, visando mitigar uma possível superexploração,

regulamentação do comércio e tentativa de converter a pesca ornamental em atividade sustentável, visto que o principal impacto das raias dulciaquícolas deriva de sua relevância como peixes ornamentais, alimentos e também advindos de impacto na saúde pública (LASSO et al., 2016). A partir da data de inclusão na lista da CITES, em 2017, para a exportação de raias do gênero *Potamotrygon* será exigida a licença CITES outorgada pelo Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) e a não observância poderá acarretar multa e apreensão dos espécimes. Ademais, *Potamotrygon amandae* é classificada na Lista Vermelha da IUCN (International Union for Conservation of Nature) como “Data Deficient”, ou seja, sem dados suficientes para classificação do estado de conservação.

Potamotrygon amandae Loboda & Carvalho, 2013 (Figura 1), é conhecida popularmente como raia de fogo e apresenta coloração dorsal predominantemente cinzenta ou castanho escuro, a maioria dos espécimes apresentam ocelos bicolors com uma mancha central branca, cinza clara ou amarela claro, cercado por um anel preto, enquanto a coloração ventral é predominantemente cinzenta, cobrindo quase todo o disco ventral. Adicionalmente, apresenta denticulos dérmicos pequenos em forma de estrela, espalhada por toda a região dorsal do disco (LOBODA e CARVALHO, 2013, LASSO et al., 2016).



Figura 1 – Macho adulto de *Potamotrygon amandae* Loboda & Carvalho 2013. Fonte: próprio autor.

Visto a disponibilidade de captura de espécimes na região de estudo deste trabalho e a escassez de informações sobre a espécie, estudos sobre a fisiologia do estresse de captura tornam-se relevantes, pois as informações obtidas possibilitariam a implantação de um plano de conservação e manejo adequado ao ambiente em que a espécie é invasora, como é o caso de *P. amandae*.

2. Objetivos

2.1. Geral

Examinar como o estresse de captura atua na fisiologia de machos de *Potamotrygon amandae* em ambiente não-nativo.

2.2. Específicos

- Mensurar dados biométricos dos espécimes capturados;
- Analisar variáveis plasmáticas e sanguíneas: hematócrito;
- Analisar parâmetros bioquímicos de estresse: glicose e lactato plasmáticos.

3. Materiais e Métodos

Para a realização do trabalho, dez machos adultos de *Potamotrygon amandae* foram capturados no Rio Paraná com o uso de tarrafas método de captura (CEUA –FEIS/UNESP 03/2021 e Licença ICMBio 81165-2) entre julho de 2022 e março de 2023. As coletas dos espécimes foram realizadas à montante do reservatório de Jupia, que se localiza no município de Ilha Solteira/SP (Figura 2), capturando em média 3 machos/mês.



Figura 2 – Localização geográfica da área de coletas de exemplares. Alto rio Paraná (reservatório de Jupia, Ilha Solteira/SP). Ponto 1: Ilha Solteira e Ponto 2: Ilha da Ferradura.

Imediatamente após a captura dos exemplares, realizou-se a primeira coleta de sangue. O sangue foi retirado da parte ventral dos animais, abaixo das fendas branquiais. Os espécimes coletados foram acondicionados em caixas plásticas individuais. Uma vez nas caixas, os animais foram mantidos sem qualquer intervenção, além da renovação da água para que a temperatura e os níveis de oxigênio sejam

mantidos semelhantes ao ambiente natural, padronizando metodologicamente todos os espécimes. Em seguida, após o intervalo de 60 minutos de captura, foi coletada a segunda amostra de sangue (Figura 3).



Figura 3 - Coleta de machos *Potamotrygon amandae*. Na sequência esquerda para direita, primeira imagem: lançamento de tarrafa; segunda imagem: captura de exemplares; terceira imagem: primeira coleta de sangue; quarta imagem: acondicionamento dos animais em caixas plásticas para posterior coleta de sangue.

Os animais foram transportados vivos para o Laboratório de Estudos em Fisiologia Animal (LEFISA) UNESP/Ilha Solteira e no laboratório, realizou-se eutanásia dos animais por resfriamento (CEUA FEIS 03/2021). Os espécimes foram fotografados, com registro de dados biométricos: massa, comprimento total (CT), comprimento de disco (CD) e largura de disco (LD) (Figura 4).

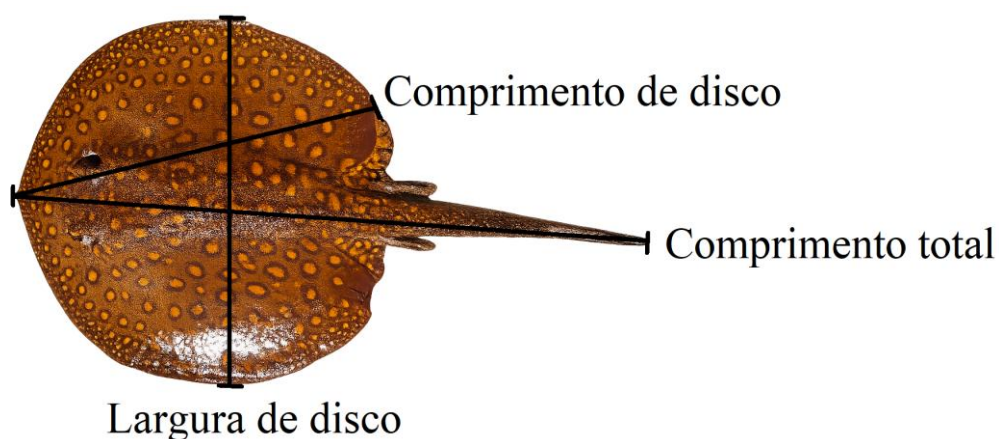


Figura 4 – Aferição de dados biométricos de *Potamotrygon amandae*: comprimento do disco (CD), largura do disco (LD) e comprimento total (CT).

Com as amostras de sangue total, realizou-se a análise de hematócrito. O sangue foi transferido para tubos microcapilares e centrifugados a 12.000 rotações por minuto durante 5 minutos. Os resultados

foram calculados em relação a porcentagem de células vermelhas presentes na amostra (GOLDENFARB et al., 1971).

O sangue total foi centrifugado (3000 rpm por 5 minutos) para a separação do plasma; este foi removido dos tubos com auxílio de pipeta pasteur, acondicionado em tubos de 2ml e congelados imediatamente a -80°C . Posteriormente, as amostras de plasma foram descongeladas para quantificação de componentes bioquímicos.

Os componentes bioquímicos analisados foram glicose e lactato, medidos em amostras de plasma utilizando-se kits comerciais (Labtest Diagnóstica®), em ensaio colorimétrico, utilizando-se espectrofotômetro ELISA (Spectra Max 250, Molecular Devices).

Para verificar a normalidade dos dados realizou-se o teste de Shapiro-Wilk. Após atestada a normalidade os dados foram comparados utilizando-se o Teste t-pareado (mesmos espécimes: momento da coleta x após 60 minutos). Foi adotado o nível de significância 0,05. Para isso, utilizou-se o programa SigmaStat 3.1. Para estatística descritiva foi utilizado Microsoft Excel (2021).

4. Resultados

Os 10 machos de *Potamotrygon amandae* apresentaram média da massa total de $1,59 \pm 0,27$ Kg, comprimento total de $51,3 \pm 9,8$ cm, comprimento de disco de $33,75 \pm 1,95$ cm e largura de disco de $31,25 \pm 1,77$ cm.

O hematócrito se alterou significativamente ao longo do experimento ($p = 0,011$), diminuindo de $30 \pm 3,25\%$ no momento da coleta para $27,5 \pm 0,02\%$ após 60 minutos de captura (Figura 5).

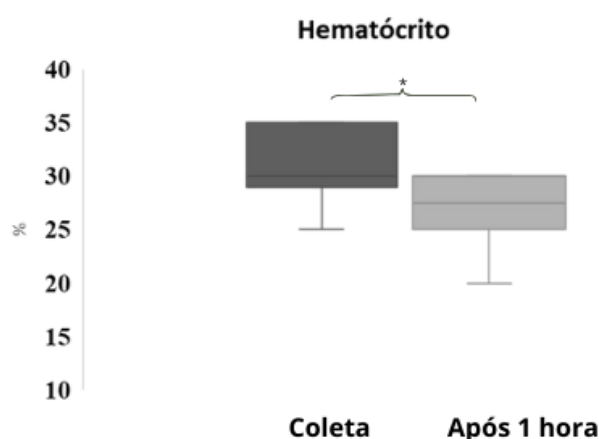


Figura 5 – Hematócrito (% de células vermelhas) de machos adultos de *Potamotrygon amandae*, coletados no Alto Rio Paraná (reservatório de Jupiá, Ilha Solteira/SP). * mostra diferença estatística significativa ($P < 0,05$) entre momentos de coleta.

Obteve-se um padrão de aumento dos substratos plasmáticos analisados. Os níveis de glicose na captura foram de $23,33 \pm 1,57$ mg/dL e após 60 minutos subiram para $32,5 \pm 0,02$ mg/dL mg/dL ($p=0,042$). O lactato foi de $6,6 \pm 7,72$ mg/dL no momento da coleta para $34,17 \pm 2,46$ mg/dL após 60 minutos de captura ($p= 0,011$), ocorrendo aumento de 417,72% entre a primeira e a segunda coleta de sangue como demonstra a figura 6.

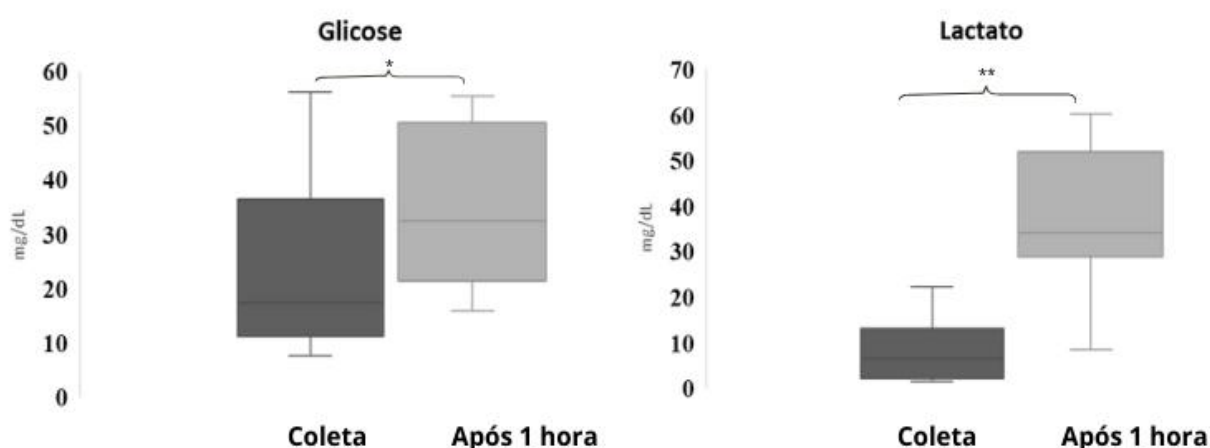


Figura 6 – Concentração de glicose e lactato (mg/dL) plasmático de machos adultos de *Potamotrygon amandae*, coletados no Alto Rio Paraná (reservatório de Jupia, Ilha Solteira/SP). * mostra diferença estatística significativa ($P < 0,05$) entre momentos de coleta; ** mostra diferença estatística significativa ($P < 0,001$) entre momentos de coleta.

5. Discussão

Os resultados obtidos deixam claro que a captura promoveu uma resposta fisiológica aguda e intensa em *Potamotrygon amandae*.

Nossos resultados acerca da glicose corroboram com a literatura existente para condrictes. É descrito na literatura um declínio significativo na concentração de hematócrito após a administração de um protocolo repetido de amostragem de sangue, sugerindo que a hemodiluição seja uma consequência da extração repetida de sangue (FRICK et al., 2010). Cicia et al., (2012) também não encontraram diferenças para este parâmetro para a raia *Leucoraja erinacea* em todos os tratamentos do estudo: 0, 15 e 50 minutos de exposição aérea.

Entretanto, o declínio no valor do hematócrito no segundo tempo de amostra, advém de uma

decorrente mudança para a respiração anaeróbica, como indicado pelo aumento de 417,72% de lactato sanguíneo entre os tempos de amostragem. Neste trabalho, o lactato plasmático mostrou-se responsivo ao estresse de captura, e foi significativamente diferente quando comparados os dois momentos de amostragens. O sistema cardiorrespiratório de elasmobrânquios não é considerado totalmente eficaz em atender às demandas de oxigênio durante exercícios extenuantes (BRILL et al., 2008), consequentemente, uma fração considerável da demanda de energia é atendida anaerobicamente, resultando no aumento dos níveis de lactato no sangue e acidose metabólica (BRILL et al., 2008; GALLAGHER et al., 2014).

A glicose também é utilizada como combustível metabólico durante a resposta ao estresse para manutenção da homeostase do indivíduo (LAMBERT et al., 2018), está é um dos substratos mais responsivos à liberação de catecolaminas (RUIZ-JARABO et al., 2019). Cicia et al., (2012) em estudo sobre as variações na resposta fisiológica ao estresse a exposição aérea na raia *Leucoraja erinacea*, encontrou resultados muito semelhantes aos obtidos neste estudo, uma vez que a análise deste substrato após 50 minutos da exposição ao ar, os níveis de glicose se elevaram. Considerando nossos resultados, na captura ($23,33 \pm 1,57$ mg/dL) e após 60 minutos ($32,5 \pm 0,02$ mg/dL mg/dL), pode-se dizer que a resposta observada em *L. eurinacea* foi detectada também em *P. amandae*.

Por fim, a fisiologia do estresse em arraia de água doce envolve uma cascata hormonal e metabólica que busca manter o equilíbrio do organismo, mas que pode ter efeitos negativos se o estressor for muito intenso ou prolongado. Monitorar marcadores como glicose, lactato e hematócrito ajuda a entender o impacto do estresse nesses animais, fornecendo informações que possibilitam a implantação de sistemas adequados de manejo nos ecossistemas em que as espécies são alóctones, como é o caso de *P. amandae* neste trabalho e a preservação da espécie nas localidades originais.

6. Conclusões

Conclui-se,

- O estresse de captura desencadeou uma resposta fisiológica aguda em *Potamotrygon amandae*, evidenciada por alterações significativas nos marcadores sanguíneos avaliados.
- A redução do hematócrito sugere hemodiluição e possível redistribuição sanguínea, reforçando que o manejo e a captura afetam diretamente a fisiologia das arraia e devem ser considerados em protocolos de conservação e manejo da espécie.

- O lactato mostrou-se o indicador mais sensível e consistente, apresentando aumento expressivo após 60 minutos, confirmando a mudança para metabolismo anaeróbico diante do estressor.
- A glicose também aumentou após a captura, porém com maior variabilidade individual, indicando que, embora responsiva ao estresse, não deve ser utilizada isoladamente como biomarcador principal.

7. Referências bibliográficas

- Albers, C., 1970. Acid-base balance. In: Hoar, W.S. & Randall, D.J. (eds). *Fish Physiol.*, 4. New York: Academic Press, 173–205.
- Bone, R.A., Landrum, J.T., Fernandez, L. & Tarsis, S.L., 1988. Analysis of macular pigment by HPLC: retinal distribution and age study. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 29(6), 843–849.
- Brill, R.W., Bushnell, P.G., Schroff, S., Seifert, R. & Galvin, M., 2008. Effects of anaerobic exercise accompanying catch-and-release fishing on blood-oxygen affinity of the sandbar shark (*Carcharhinus plumbeus*). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 354(1), 132–143.
- Brinn, R.P., Marcon, J.L., McComb, D.M., Gomes, L.C., Abreu, J.S. & Baldisseroto, B., 2012. Stress responses of the endemic freshwater cururu stingray (*Potamotrygon cf. hystrix*) during transportation in the Amazon region. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.*, 162, 139–145.
- Carneiro, P.C.F., 2001. Estresse provocado pelo transporte e respostas fisiológicas do matrinxã, *Brycon cephalus*. Tese (Doutorado), UNESP, Jaboticabal, 136 p.
- Carvalho, M.R., Lovejoy, N.R. & Rosa, R.S., 2003. Family Potamotrygonidae (river stingrays). In: Reis, R.E., Kullander, S.O. & Ferraris Jr., C.J. (eds). *Check List Freshwater Fishes South Central America*. Porto Alegre: Edipucrs, 22–28.

- Cicia, A.M., Schlenker, L.S., Sulikowski, J.A. & Mandelman, J.W., 2012. Seasonal variations in the physiological stress response to aerial exposure in the little skate, *Leucoraja erinacea*. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.*, 162(2), 130–138.
- Chrousos, G.P., 1998. Stressors, stress, and neuroendocrine integration of the adaptive response. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 851, 311–335.
- Dulvy, N.K., Fowler, S.L., Musick, J.A., Cavanagh, R.D., Kyne, P.M., Harrison, L.R. & Pollock, C.M., 2014. Extinction risk and conservation of the world's sharks and rays. *eLife*, 3, e00590.
- Evans, A.N., 2008. Evidence supporting dual glucocorticoid/mineralocorticoid role for 1α -hydroxycorticosterone in elasmobranchs. Tese (Doutorado), Univ. Texas.
- Fuller, L., Stell, E., Leary, C. & Parsons, G.R., 2020. ACTH, lactate, hematocrit and osmolality in relation to capture stress in *Rhizoprionodon terraenovae*. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.*, 243, 110655.
- Frick, L.H., Reina, R.D. & Walker, T.I., 2010. Stress-related physiological changes and post-release survival of Port Jackson and gummy sharks after capture. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 385(1–2), 29–37.
- Frick, L.H., Walker, T.I. & Reina, R.D., 2012. Effects of gill-net capture on acid–base balance and lactate of *Mustelus antarcticus*. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.*, 162, 88–93.
- Gallagher, A.J., Serafy, J.E., Cooke, S.J. & Hammerschlag, N., 2014. Physiological stress, reflex impairment and survival of five shark species after experimental capture. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 496, 207–218.
- Garrone Neto, D., 2010. Considerações sobre a reprodução de duas espécies de arraias no Alto Rio Paraná. *Pan-Am. J. Aquat. Sci.*, 1, 101–111.
- Goldenfarb, P.B., Bowyer, F.P., Hall, E. & Brosious, E., 1971. Reproducibility in microhematocrit determination. *Am. J. Clin. Pathol.*, 56, 35–39.

- Hoffmayer, E.R., Hendon, J.M. & Parsons, G.R., 2012. Seasonal modulation in the secondary stress response of *Rhizoprionodon terraenovae*. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.*, 162(2), 81–87.
- Hoffmayer, E.R. & Parsons, G.R., 2001. Capture-handling stress in Atlantic sharpnose shark. *Fish Physiol. Biochem.*, 25, 277–285.
- IUCN, 2023. The IUCN Red List of Threatened Species. Retrieved from: <https://www.iucnredlist.org/>
- Jerikho, R., Akmal, S.G., Hasan, V., Yonvitner, Novák, J., Magalhães, A.L.B., Maceda-Veiga, A., Tlustý, M.F., Rhyne, A.L., Slavík, O. & Patoka, J., 2023. Foreign stingers: freshwater stingrays *Potamotrygon* spp. established in Indonesia. *Sci. Rep.*, 13, (artigo – inclua DOI se tiver).
- Lambert, F.N., Treberg, J.R., Anderson, W.G., Brandt, C. & Evans, A.N., 2018. Stress response of the Atlantic stingray to aerial exposure. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.*, 219, 38–43.
- Lasso, C.A., Rosa, R.S., Morales-Betancourt, M.A., Garrone-Neto, D. & Carvalho, M.R., 2016. Rayas de agua dulce (Potamotrygonidae) de Suramérica. Bogotá: Instituto Humboldt.
- Last, P.R., Naylor, G., Séret, B., White, W., Carvalho, M.R. & Stehmann, M., 2016. Rays of the World. CSIRO Publishing.
- Loboda, T.S. & Carvalho, M.R., 2013. Revision of *Potamotrygon motoro* complex with two new species. *Neotrop. Ichthyol.*, 11(4), 693–737.
- Lucifora, L.O., Carvalho, M.R., Kyne, P.M. & White, W.T., 2015. Freshwater sharks and rays. *Curr. Biol.*, 25, 971–973.
- Mandelman, J.W.; Farrington, M.A., 2007. Physiological status and mortality of *Squalus acanthias* after trawl capture. *ICES J. Mar. Sci.*, 64(1), 122–130.
- Marshall, H., Field, L., Afradata, A., Sepulveda, C., Skomal, G. & Bernal, D., 2012. Hematological indicators of stress in longline-caught sharks. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.*, 162(2), 121–129.

- Morgan, J.D.; Iwama, G.K., 1997. Measurements of stressed states in the field. *Semin. Ser. Soc. Exp. Biol.*, 62, 247–268.
- Moyes, C.D., Fragoso, N., Musyl, M.K. & Brill, R.W., 2006. Predicting post-release survival in large pelagic fish. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 135(5), 1389–1397.
- Norris, D.O., 2007. *Vertebrate Endocrinology*. 4th ed. Amsterdam: Elsevier.
- Randall, D.J. & Perry, S.F., 1992. Catecholamines. *Fish Physiol.*, 12, 255–300.
- Rangel, B. S.; Rodrigues, A.; Moreira, R. G., 2021. Capture and handling stress in incidentally captured rays from small-scale fishing: A physiological approach. *Oecologia Australis*. 25, 190–196.
- Raschi, W. ; Mackanos, L.A., 1989. Structure of ampullae of Lorenzini in *Dasyatis garouaensis*. *J. Exp. Zool.*, 252, 101–111.
- Richter, M., Viana, M.S.S. & Malabarba, M.C.S.L., 2000. Agnatos e peixes. In: Carvalho, I.S. (ed.). *Paleontologia*. Rio de Janeiro: Interciência, 497–524.
- Roberts, B.W., Didier, W., Johnson, N.S., Libants, S., Yong-Seok, S. & Close, D.A., 2014. Regulation of putative corticosteroids in sea lamprey. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 196, 17–25.
- Rosa, R.S. & Lasso, C.A., 2013. Biogeografía de las rayas de agua dulce (Potamotrygonidae). In: IX Rayas. Bogotá: Instituto Humboldt, 39–72.
- Ruiz-Jarabo, I., Barragán-Méndez, C., Jerez-Cepa, I., Fernández-Castro, M., Sobrino, I., Mancera, J.M. & Aerts, J., 2019. Plasma 1 α -hydroxycorticosterone as biomarker of acute stress in catsharks. *Front. Physiol.*, 10, 1217.
- Silva, D.A.F., Menezes, M.L. & Kempinas, W.G., 2007. Determinação simultânea de catecolaminas por HPLC-ED. *Eclética Quim.*, 32, 35–42.

Soares, A.S. 2023. Fisiologia do parto induzido por captura em *Potamotrygon amandae* (Elasmobranchii: Myliobatiformes: Potamotrygonidae). Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo.

Skomal, G.B. & Mandelman, J.W., 2012. Physiological responses to anthropogenic stressors in elasmobranchs. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.*, 162, 146–155.

Stevens, J.D., Bonfil, R., Dulvy, N.K. & Walker, P.A., 2000. Effects of fishing on chondrichthyans. *ICES J. Mar. Sci.*, 57, 476–494.

Tavares-Dias, M. & Moraes, F.R., 2004. Hematologia de peixes teleósteos. Villipress, 144 p.

Zanuzzo, F.S., Sabione, R.E., Marzocchi-Machado, C.M. & Urbinati, E.C., 2019. Modulation of stress and innate immunity by corticosteroids in pacu. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.*, 231, 39–48.