

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

Thamiris Correia Gomide

**Análise bioquímica do estresse de captura em fêmeas de
Potamotrygon amandae (Condrictes: Myliobatiformes:
Potamotrygonidae)**

Ilha Solteira – SP
Dezembro de 2023



**Análise bioquímica do estresse de captura em fêmeas de
Potamotrygon amandae (Condrictes: Myliobatiformes:
Potamotrygonidae)**

Orientada: Thamiris Correia Gomide

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

Dezembro de 2023

FICHA CATALOGRÁFICA
Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

G633a Gomide, Thamiris Correia.
Análise bioquímica do estresse de captura em fêmeas de *Potamotrygon amandae* (Condrictes: Myliobatiformes: Potamotrygonidae) / Thamiris Correia Gomide. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2023
33 f. : il.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Ciências Biológicas) -
Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, 2023

Orientador: Cristiéle da Silva Ribeiro

Inclui bibliografia

1. Fisiologia da conservação. 2. Homeostase. 3. Corticosterona. 4. Alto Rio
Paraná.


Amanda Sertori dos Santos
Bibliotecária - CRB/8-9061
Seção Técnica de Referência, Atendimento ao
Usuário e Documentação
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação

ATA DE DEFESA DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

"ANÁLISE BIOQUÍMICA DO ESTRESSE DE CAPTURA EM FÊMEAS DE POTAMOTRYGON AMANDAE (CONDRICTES: MYLIOBATIFORMES: POTAMOTRYGONIDAE)"

THAMIRIS CORREIA GOMIDE

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

Cristiele S. Ribeiro

2ª EXAMINADORA

Nome: Zootecnista Gaby Soares de Freitas

Gaby Soares de Freitas

3ª EXAMINADORA

Nome: Bióloga Ana Caroline da Silva Gomes

Ana Caroline da S. Gomes

CONCEITO

☒ Aprovado(a)

☐ Reprovado(a)

Ilha Solteira-SP, 21 de dezembro de 2023.

“ Vigiai e Orai seus pensamentos e suas ações. ”

Mateus 26:41

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por nunca ter me deixado desistir de mim mesma, pois eu e ele sabemos o quanto foi árdua a caminhada e quantas vezes eu pensei em desistir, agradeço pela força e orientação nos momentos difíceis e pelas oportunidades na vida que me fizeram chegar até o final.

Agradeço de coração a minha orientadora Prof.a Dra. Cristiéle, que me acolheu desde a primeira vez, acreditou em mim, me ajudou do começo ao fim, obrigada pela paciência e orientação, a minha admiração é enorme por você e pelo seu trabalho e começou dentro da sala de aula, você tem o dom de ensinar, para mim sempre foi uma das melhores aulas do curso todo. Uma honra poder ser sua orientada, com certeza é a minha maior referência como profissional e pessoa.

Agradeço aos meus pais, Leila e Wesley, pelo o apoio e por toda a confiança durante o caminho todo desde o início, vocês são um dos motivos para eu ter chego até aqui. Agradeço aos meus irmãos Júlia e Luan por serem a minha força, vocês também são um dos motivos que me fizeram ir até o fim, sempre foi por vocês e para vocês.

Agradeço a minha querida Vó Antônia que infelizmente não está em presença, mas certamente me acompanha de onde estiver, a senhora nunca deixou de acreditar em mim e foi pela senhora também que cheguei até aqui, pois sei que deve estar orgulhosa de neste momento.

Agradeço a minha filha pet Mahu, é o meu maior apoio e amor dessa vida e se cheguei até aqui foi por ela também, é a minha riqueza, agradeço pelo privilégio de poder cuidar e amar você.

Agradeço aos meus amigos, Nicole, Ceguim, Fran, Perdida, Poranga, Potranca, irmãos que a vida me deu e muitos foram através da faculdade, tanto da UFMS quanto da UNESP, fiz amizades que levarei para sempre na vida, obrigada por sempre me apoiarem, me darem força e muito amor, e principalmente pelo companheirismo e a amizade.

Agradeço as meninas da minha bancada, vocês são mulheres da ciência de referência para mim, admiro cada uma e me sinto honrada de ter a amizade de vocês duas. Agradeço ao pessoal do laboratório LEFISA pela troca de

experiências e conhecimentos, e a guarda municipal de Ilha Solteira pelas coletas.

Agradeço pela vida dos animais que serviram como objeto de estudo da pesquisa, por fim agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para eu chegar até aqui, e para a pesquisa desenvolver, agradeço de coração.

Resumo

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. 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 que podem estimular ou inibir funções celulares. Para a realização do trabalho, fêmeas grávidas e não grávidas de *Potamotrygon amandae* foram capturadas no Rio Paraná (UHE Engenheiro Souza Dias – Ilha Solteira/SP) com o uso de tarrafas. Imediatamente após a captura dos exemplares, realizou-se a primeira coleta de sangue. Em seguida, os animais foram acondicionados em caixas plásticas. Após o intervalo de 60 minutos de captura ou após o evento de aborto, coletou-se a segunda amostra de sangue. Com as amostras de sangue, foi realizada a análise do hematócrito. Analisou-se também, a concentração de glicose e lactato do plasma sanguíneo através de kits comerciais. Os parâmetros foram estatisticamente comparados utilizando o Teste T de Student. Os valores biométricos não mostraram diferenças entre as fêmeas em diferentes estágios reprodutivos. O tempo médio para aborto foi de $57,5 \pm 27,5$ minutos a partir do momento de captura e alocação dos espécimes no barco. O hematócrito não se mostrou responsivo ao estresse. A ausência de alterações significativas em muitas variáveis do sangue, como contagem de hemácias e hematócrito, podem indicar que esta espécie não responde da mesma forma a síndrome do estresse. As concentrações de proteínas e ureia plasmáticas decaíram durante o estresse para os dois grupos analisados, mostrando que ambos podem ser adotados como biomarcadores de estresse em *Potamotrygon amandae*. Referências hematológicas e bioquímicas do sangue são importantes para estabelecer o estado fisiológico das populações de arraias de água doce e podem elucidar os padrões de vulnerabilidade e resiliência à pesca.

Palavras-chave: Fisiologia da Conservação; Homeostase; Corticosterona; Alto Rio Paraná.

Abstract

Stress can be defined as a condition in which homeostasis is threatened or disrupted due to the action of intrinsic and/or extrinsic stimuli called stressors. The physiological aspects of this response are mediated by the endocrine system, which acts as a control and homeostatic regulation system through the production and release of hormones that can stimulate or inhibit cellular functions. For the study, pregnant and non-pregnant females of *Potamotrygon amandae* were captured in the Paraná River (UHE Engenheiro Souza Dias – Ilha Solteira/SP) using casting nets. Immediately after capturing the specimens, the first blood collection was performed. Subsequently, the animals were placed in plastic boxes. After a 60-minute interval from capture or after the abortion event, the second blood sample was collected. Hematocrit analysis was conducted with the blood samples. Additionally, the concentration of glucose and lactate in the blood plasma was analyzed using commercial kits. The parameters were statistically compared using the Student's t-test. Biometric values showed no differences between females at different reproductive stages. The average time for abortion was 57.5 ± 27.5 minutes from the moment of capture and allocation of specimens in the boat. Hematocrit did not respond to stress. The absence of significant changes in many blood variables, such as red blood cell count and hematocrit, may indicate that this species does not respond in the same way to the stress syndrome. Plasma protein and urea concentrations decreased during stress for both analyzed groups, indicating that both can be adopted as stress biomarkers in *Potamotrygon amandae*. Hematological and biochemical references of blood are important for establishing the physiological state of freshwater stingray populations and can elucidate patterns of vulnerability and resilience to fishing.

Keywords: Conservation Physiology; Homeostasis; Corticosterone; Upper Paraná River.

SUMÁRIO

Introdução	7
Material e Métodos	16
Resultados e Discussão	20
Considerações Finais	25
Referências Bibliográficas	26

INTRODUÇÃO

Arraías de água doce

Os Elasmobrânquios apresentam grande diversidade de espécies, dentre estas os grupos dos tubarões, as raias (ou arraías) e quimeras, que pertencem a classe Chondrichthyes, animais que possuem o esqueleto cartilaginoso. Os Elasmobrânquios são em sua maioria animais marinhos, apenas os animais da família Potamotrygonidae, objeto do presente estudo, são adaptados e vivem exclusivamente em ambiente dulcícola. Da ordem Myliobatiformes, são consideradas um grupo de predadores do topo de cadeia na região Neotropical (COMPAGNO; COOK, 1995).

Atualmente, são descritas 1154 espécies de Elasmobranchii, e somente 56 são exclusivamente adaptadas à água doce, dessas, 30 pertencem à família Potamotrygonidae (LUCIFORA et al., 2015; CARVALHO, 2016). Esta família é composta e distribuída em quatro gêneros, *Heliotrygon*, *Plesiotrygon*, *Paratrygon* e *Potamotrygon* (CARVALHO et al., 2003). O gênero *Potamotrygon* possui a maior diversidade e número de espécies dentro da família Potamotrygonidae, 16 a 18, que apresentam grandes variações específicas e individuais. (MARQUES, 2000).

As informações da biologia básica sobre esse grupo são escassas e limitam-se aos aspectos relacionados à ecologia, reprodução, sistemática, citogenética, alimentação, descrição de habitat de espécie, distribuição e abundância (ARAÚJO, 1998; LONARDONI et al., 2006; RINCÓN, 2006; VALENTIM et al., 2006; ALMEIDA et al., 2009).

Há muito o que pesquisar e estudar sobre a família Potamotrygonidae para o melhor conhecimento científico, destes, dentre estes estudos relacionados aos aspectos fisiológicos, por este motivo, o laboratório ao qual pertencemos e onde o presente trabalho foi desenvolvido- LEFISA (Laboratório de Estudos de Fisiologia Animal)- já investigou e publicou artigos sobre aspectos da fisiologia reprodutiva investigada e publicada por Lucas Spada (SPADA et al., 2020), sobre a dieta investigada e publicada por Cibele Pagliarini (PAGLIARINI et al., 2020), e evento de estresse de aborto por captura investigado e publicado por Bianca Rangel (RANGEL et al., 2020). No trabalho sobre a fisiologia reprodutiva, o tema principal “Metabolismo lipídico da raia vivípara *Potamotrygon falkneri* Castex & Maciel, 1963 durante a

reprodução” teve como objetivo investigar o padrão de armazenamento, mobilização e utilização de substratos lipídicos e a estrutura de membrana envolvida com a reprodução da espécie *P. falkneri* em diferentes fases do ciclo reprodutivo.

No trabalho sobre a dieta, com tema principal “Ecologia trófica e metabolismo de duas espécies de arraias não nativas de água doce (Chondrichthyes: Potamotrygonidae)” o objetivo foi avaliar a composição da dieta, a amplitude do nicho trófico e as concentrações lipídicas e proteicas de duas espécies de arraias do gênero *Potamotrygon* na bacia do Alto Paraná, testando as seguintes hipóteses: (1) devido às variações morfológicas, tais como quanto ao tamanho do corpo e da boca, entre as espécies, a dieta e a amplitude do nicho diferem entre elas; e (2) devido à diferente composição da dieta das espécies, seus perfis metabólicos musculares e hepáticos (lipídios e proteínas) diferem e são específicos para cada espécie.

No trabalho sobre o evento de estresse de aborto por captura, que teve como tema principal “Efeitos de características biológicas no parto induzido por captura em uma arraia de água doce e perspectivas para o manejo de espécies” o objetivo foi de contribuir para o conhecimento sobre a vulnerabilidade ao aborto em elasmobrânquios dados de parto induzido por captura em duas estações reprodutivas consecutivas para abordar duas hipóteses principais sobre quais fatores podem influenciar o aborto/nascimento prematuro evento, sendo elas: (1) a resposta ao aborto/nascimento prematuro está associada ao tamanho da ninhada? Se sim, são fêmeas com ninhadas maiores, mais suscetíveis a eventos de parto induzidos por captura? (2) é o estágio de gestação relacionado ao tempo até o aborto? Este estudo melhora nossa compreensão de como o processo de aborto varia em resposta às características reprodutivas. Além desses trabalhos publicados pelo laboratório LEFISA, existem outros trabalhos a serem publicados, onde estão sendo investigados questões relacionadas a fisiologia e a bioquímica dos Potamotrigonídeos.

Sobre a anatomia, a maioria das espécies de *Potamotrygon* apresentam ocelos bicolores com centro branco, mancha cinza claro ou amarelo claro, circundados por um anel preto, e a coloração ventral predominantemente cinza, cobrindo quase toda a região ventral. Possui dentículos dérmicos em forma de estrela, espalhada por toda a região dorsal do disco (LOBODA; CARVALHO, 2013, LASSO et al., 2016, RAMOS, 2017). São consideradas vivíparas, não placentárias, em que os embriões são mantidos no útero até que estejam totalmente desenvolvidos (SPADA et al., 2020). Os membros da família Potamotrygonidae pertencem a um grupo monofilético com

características únicas, dentre elas a baixa concentração de ureia no sangue e a redução da glândula retal.

Distribuição geográfica e Habitat

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) (LASSO et al., 2013). As arraiais de água doce exploram diversos habitats, que vão desde praias, rios, pequenas enseadas de fundo rochoso ou barrento, folhiço, lagos até as florestas inundadas (CARVALHO et al., 2003). De acordo com Almeida et al. (2009), as arraiais de água doce apresentam preferências quanto à ocupação e uso de habitat associados às condições ambientais, assim como observados em outros elasmobrânquios.

Em relação ao habitat, estudos demonstram que diferentes fatores podem refletir nas propriedades sanguíneas e na bioquímica plasmática das espécies, sendo o ambiente um fator determinante nas distintas estratégias adotadas, pois possui fatores como variações sazonais, alterações nas propriedades químicas presentes na água (sais e íons), e a variação na disponibilidade de alimentos, por exemplo, Lonardoni et al. (2006), observou variação sazonal na quantidade e frequência de ocorrência dos recursos alimentares entre o período de seca e cheia no alto rio Paraná para *P. falkneri* e *P. motoro*, assim como Pagliarini et al. (2020), destacou para as espécies *P. Falkneri* e *P. amandae* uma significativa plasticidade alimentar, ou seja, consumo de uma elevada diversidade de recursos alimentares ofertados no ambiente, como insetos, gastrópodes, camarões, detritos, vegetais e peixes como já foi demonstrado em outros estudos (LONARDONI et al., 2006, SILVA; UIEDA, 2007, VASCONCELOS; OLIVEIRA, 2011, GAMA; ROSA, 2015), a mudança de itens alimentares, portanto, refletem nos aspectos metabólicos dessas espécies.

Estresse, Animal e Ambiente

O termo “estresse” refere-se a uma condição na qual a homeostase (equilíbrio entre animal/ambiente) é ameaçada ou rompida devido a circunstâncias conhecidas como “estressores” (SKOMAL; MANDELMAN, 2012). Esses estressores produzem efeitos que podem ameaçar, e/ou interromper esse equilíbrio animal/ambiente, o que gera respostas comportamentais e fisiológicas podendo ser compensativas ou adaptativas, assim fazendo com que o animal supere essas adversidades. Neste contexto, as variações ambientais como mudanças rápidas ou extremas na temperatura, na concentração de oxigênio dissolvido, no pH, na concentração e nos tipos de íons, podem ocasionar diferentes níveis de estresse, e reduzir a habilidade dos organismos em manter a homeostase (BONGA, 1997; MARIANO et al., 2009). Geralmente a resposta dos organismos aos agentes estressores depende do grau e da duração do estímulo. Em regiões tropicais a maioria das espécies de peixes estão adaptadas às flutuações ambientais moderadas, apresentando mecanismos compensatórios para minimizar o estresse crônico (ANDRADE-TALMELLI et al., 1999; SIMPLENDORFER et al., 2011; DUNCAN, 2015; SPEERS-ROESCH et al., 2012).

Portanto, em resposta ao estresse ambiental os organismos podem procurar novos ambientes, ou desenvolver mudanças teciduais, fisiológicas e comportamentais (MUUSZE et al., 1998; ZENI et al., 2016). E, a partir destas adaptações, podem assegurar sua sobrevivência, reprodução, desenvolvimento, distribuição geográfica e até mesmo a diversificação das espécies (RANDALL et al., 2006; ZENI et al., 2016).

O sistema endócrino regula e influencia diversas funções nos organismos e está ligado diretamente ao sistema nervoso. Os neurônios estabelecem contato sináptico com as células secretoras que, ao despolarizarem, transmitem suas informações químicas. A resposta ao estresse, assim como outros processos fisiológicos modulados por hormônios, resulta em um efeito cascata de ativação, em que a secreção de uma molécula ativa outra, e assim por diante, levando a uma propagação do sinal a cada etapa. Os mecanismos de transdução envolvendo segundos mensageiros promovem essa propagação, fazendo com que o controle do processo possa ser realizado à custa de variações muito discretas de hormônios (GASPAROTTO, 2011).

Durante a resposta ao estresse ocorrem alterações fisiológicas no organismo, direcionadas a garantir a sobrevivência do animal em uma situação de crise ou alerta. Diferentes causas de estresse podem ativar diferentes componentes tornando a resposta específica, no entanto, qualquer causa de estresse que seja suficientemente potente, poderá desencadear uma resposta de estresse generalizada com ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e sistema simpático. A adenohipófise é controlada de uma maneira “indireta”, as células neuroendócrinas no hipotálamo secretam hormônios em uma rede capilar (sistema porta-hipofisário), que atingem as células endócrinas presentes na adenohipófise. Esta responde aos hormônios liberadores com a secreção de outros hormônios tróficos que atuam nos tecidos, incluindo outras glândulas endócrinas, que podem ser estimuladas ou inibidas (GASPAROTTO, 2011). A resposta ao estresse pode ser dividida em duas fases a partir do momento em que o animal é exposto ao estresse.

A resposta de caráter inicial é neuroendócrina, e está associada a períodos curtos de estresse caracterizados pelos níveis de catecolaminas e corticosteroides no sangue (SKOMAL; MANDELMAN, 2012), o que resulta em uma série de alterações em diversos parâmetros, como glicose, lactose, osmolalidade e pH plasmático (FULLER et al., 2020). As catecolaminas são secretadas rapidamente em resposta ao estresse agudo e causam alterações nas funções cardiorrespiratórias (SKOMAL; MANDELMAN, 2012), com o objetivo de manter níveis adequados de substratos energéticos e fornecer oxigênio durante toda a exposição ao estresse e recuperação metabólica (RANDAL; PERRY, 1992). A segunda fase é ativada em situações de estresse prolongado, sendo caracterizada pela liberação de glicocorticoides, como o cortisol e a corticosterona. Os glicocorticoides também são liberados na exposição ao estresse agudo intenso, mas diminui em algumas horas.

A resposta ao estresse em elasmobrânquios é integrada e ocorre em cascata semelhante à de outros vertebrados, porém os mecanismos e respostas compensatórias se diferem (SKOMAL; MANDELMAN, 2012). Em mamíferos, mais de um hormônio esteroide regulam o equilíbrio soluto/solvente e a resposta ao estresse, em teleósteos e elasmobrânquios é utilizado apenas um tipo de esteroide para regular ambos os processos, a 1- α -hidroxicorticosterona (EVANS, 2008) em elasmobrânquios e o cortisol em teleósteos. Após situações estressantes, os níveis plasmáticos de 1- α -hidroxicorticosterona aumentam, juntamente com glicólise e

glicogenólise, em tecidos que necessitam de energia na primeira hora de exposição (RUIZ-JARABO, et al., 2019). Tanto o eixo hipotálamo-hipófise-inter-renal quanto esse hormônio têm recebido pouca atenção até o momento (SKOMAL; MANDELMAN, 2012). Todas essas alterações demandam uma grande quantidade de energia, que nessa situação é direcionada para manter o funcionamento adequado do cérebro e para o esforço físico realizado. Os efeitos completos dos corticoides nos tecidos alvo podem ser detectados aproximadamente uma hora após a resposta ao estresse ter iniciado, caracterizando assim a segunda fase do processo.

Certas variáveis sanguíneas, como hematócrito e hemoglobina, são utilizadas como indicadores auxiliares da resposta ao estresse (MORGAN; IWANA, 1997, TAVARES-DIAS; MORAES, 2004). Em vertebrados, os efeitos estimuladores das catecolaminas e do cortisol promovem um aumento da demanda de oxigênio nos tecidos (MORGAN; IWANA, 1996), necessitando de rápida diferenciação e proliferação de eritrócitos. Sabemos pela literatura que a condição induzida por um fator estressante induz uma resposta endócrina que pode ser tanto benéfica quanto desvantajosa, pois quando a resposta ao estresse resulta no retorno oportuno às condições pré-estresse e na restauração das regulações homeostáticas, discernimos o que é chamado de eustresse, ou seja, nem todo estresse é ruim. A capacidade de um animal lidar com o estresse imposto é determinada pela interação animal/ambiente, se o ambiente fornece condições favoráveis para o seu desenvolvimento, maior será a sua capacidade de adaptação e sobrevivência, quando o ambiente oferece condições desfavoráveis, menor será a capacidade de lidar com estresse.

A reprodução de tubarões e arraias é fortemente influenciada pelo estresse, de modo que situações estressoras podem causar desordem no eixo hipotálamo-hipófise- inter-renal e no hipotálamo-hipófise-gônadas, que são responsáveis pela regulação fisiológica da reprodução (AWRUCH, 2013), além disso, na condição de vivíparos, são mais vulneráveis a interrupções no ciclo reprodutivo causadas pelo estresse de captura, pois seus períodos de gestação longos aumentam a probabilidade de mortalidade pós- soltura ou efeitos reprodutivos sub-letais causados pela captura durante a gravidez (WOSNICK et al., 2019).

O estresse de captura é o principal fator que induz o parto prematuro/aborto no grupo dos elasmobrânquios. Este distúrbio pode ser causado, por exemplo, por traumas físicos (arpões, lesões), asfixia, encalhe ou administração de anestésicos.

Vale ressaltar que as respostas variam de acordo com a espécie observada (ADAMS et al., 2018). O aborto corresponde também a uma grande perda de investimento materno e ainda não se sabe ao certo a magnitude do efeito sobre as populações, tampouco as causas deste fenômeno, no entanto, atribui-se ao estresse de captura, devido a constatações de alterações na química do sangue, desequilíbrio osmótico, aumento da concentração de combustíveis metabólicos e metabolismo anaeróbico em espécies congênicas (RANGEL et al., 2020).

Osmorregulação e Ureia

A osmorregulação pode ser definida como a capacidade dos organismos de controlarem as concentrações de sais nos tecidos a fim de manter a regularidade das atividades necessárias para seu funcionamento, ou seja, a regulação é fundamental para a sobrevivência dos animais. Sabemos através da literatura que os elasmobrânquios apresentam estratégias osmorregulatórias distintas dos demais grupos, em ambientes diluídos, como águas dulcícolas, a necessidade maior é manter os íons no organismo, pois o influxo de água e efluxo de íons e de ureia em excesso são observados, sendo necessária a reabsorção de íons de forma ativa pelas brânquias e rins, diferente das espécies marinhas onde a necessidade maior é secretar os íons no organismo. Sabemos também que peixes cartilaginosos possuem uma concentração elevada de ureia no sangue, essa ureia faz com que a concentração de solutos no meio seja semelhante à concentração de solutos no interior do corpo, como essa concentração é isotônica, não há perda ou ganho de água. Os Potamotrigonídeos são estenoalinos e hiperosmóticos em relação ao meio, não concentram ureia e nem trietilaminas como fazem seus parentes eurialinos (marinhos) que são iso-osmótico ou ligeiramente hiperosmótico em relação ao meio (THORSON et al. 1967; GRIFFITH et al. 1973; TREBERG et al. 2006) e a distinção entre ambos são diferenças osmorregulatórias importantes.

Sobre a ureia, sabemos que é um composto orgânico resultante do metabolismo das proteínas ingeridas, sua síntese ocorre nas células do fígado e em menor parte, nos rins. Inicia-se na mitocôndria e segue para o citosol da célula, onde se dá a maior parte do seu ciclo. Sua função principal é eliminar o nitrogênio indesejado do organismo. O ciclo da ureia é ligado ao ciclo de Krebs, as reações dos dois ciclos são relacionadas e alguns produtos intermediários formados no ciclo de Krebs são

precursores de reações para o ciclo da ureia. O ciclo da ureia consiste em cinco reações, sendo duas no interior da mitocôndria e três no citosol. Cada etapa é catalisada por uma enzima, assim, há cinco enzimas envolvidas no ciclo da ureia: carbamil-fosfato sintetase, ornitina-transcarbamilase, arginino-succinato sintetase, arginino-succinato liase e arginase.

Potamotrygon Amandae

Reino: Animallia

Filo: Chordata

Classe: Chondrichthyes

Subclasse: Elasmobranchii

Ordem: Myliobatiformes

Família: Potamotrygonidae (Garman 1877)

Gênero: Potamotrygon (Garman 1877)

Espécie: *Potamotrygon Amandae* (Loboda & Carvalho 2013)

P. amandae possui ampla distribuição nas bacias Amazônica e Paraná-Paraguai abrangendo Argentina, Brasil, Bolívia e Paraguai (Loboda et al., 2016). Esta espécie apresenta comprimento de disco subcircular variando de 208 a 380 mm e largura de disco variando de 192 a 341 mm. A abertura bucal varia entre 15 e 30 mm (LOBODA; CARVALHO, 2013)

Em meados de 1980 as arraías do gênero *Potamotrygon* não haviam colonizado a região do Alto Rio Paraná, pois a cachoeira Sete Quedas (PR) atuava como uma barreira geográfica natural para esta migração. Com a construção da Usina Hidrelétrica de Itaipu, a cachoeira Sete Quedas sofreu uma inundação, e junto desse desastre natural, ocorreu a migração desses animais e a colonização destes na região do Alto Rio Paraná, onde atualmente são encontrados em abundância, então por isso, a espécie *P. amandae* é denominada espécie não nativa, mas se adaptou muito bem em um ambiente que não é de sua origem (CARVALHO et al., 2003).

E outro fator importante para a sua abundância neste território, é que não possuem predadores, e por não ser um costume cultural o consumo da carne de arraías em nossa região, não há a exploração de pesca para esta espécie. Um fato

curioso e importante sobre esta espécie, é a presença de sementes de soja e milho na composição da dieta, demonstrando a atração por alimentos utilizados na pesca esportiva e artesanal e, atração por ambientes com populações humanas devido a oferta de recursos alimentares. Com sua abundância e expansão territorial, infelizmente se aumenta o risco de incidência de acidentes causados entre a espécie e os humanos.

Figura 1 – *Potamotrygon amandae* Loboda & Carvalho 2013. Fêmea adulta.



Visto o apresentado, o objetivo deste trabalho foi examinar como o estresse atua na concentração plasmática de ureia, proteínas e hematócrito em fêmeas grávidas e não grávidas de *Potamotrygon amandae* em ambiente não-nativo, com finalidade de abranger o conhecimento sobre a biologia básica da espécie, como também agregar para o embasamento científico e construção de futuros manejos de conservação da espécie. Há também uma possibilidade de descobrirmos através dos resultados cerca da ureia e proteínas se podemos encontrar um marcador de estresse para a espécie, que potencialmente possa ser extrapolado para Potamotrigonídeos.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de trabalho e métodos de coleta

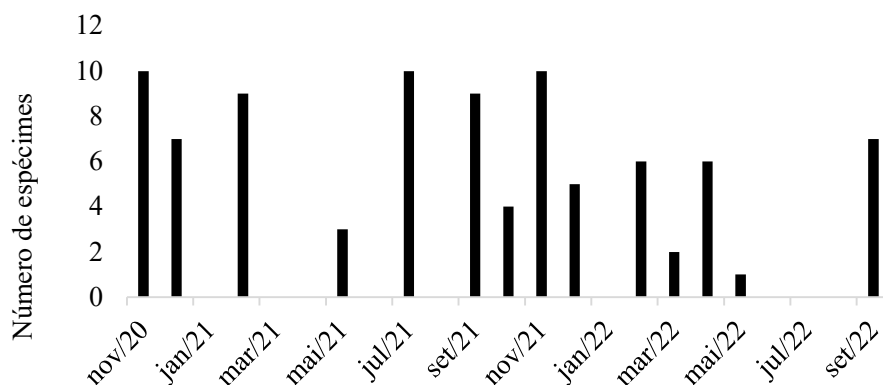
As coletas de fêmeas de *Potamotrygon amandae* foram realizadas entre novembro de 2020 e setembro de 2022, à montante do Reservatório da Usina Hidrelétrica Engenheiro Souza Dias (Reservatório de Jupia), localizado no município de Ilha Solteira-SP (Figura 2). A Figura 3 mostra a distribuição de coletas e número de espécimes. Os animais foram capturados utilizando-se tarrafas como arte de pesca. O esforço amostral em cada coleta foi de 5 horas (autorização SISBIO 72788-1, CEUA-FEIS 15/2016 e 03/2021 e cadastro SisGen A001CBE).

Figura 2 – Reservatório de Jupia – CTG Brasil, município de Ilha Solteira/SP, Brasil.

Fonte: Google Imagens.



Figura 3 – Disposição das coletas e número de espécimes coletados por mês.



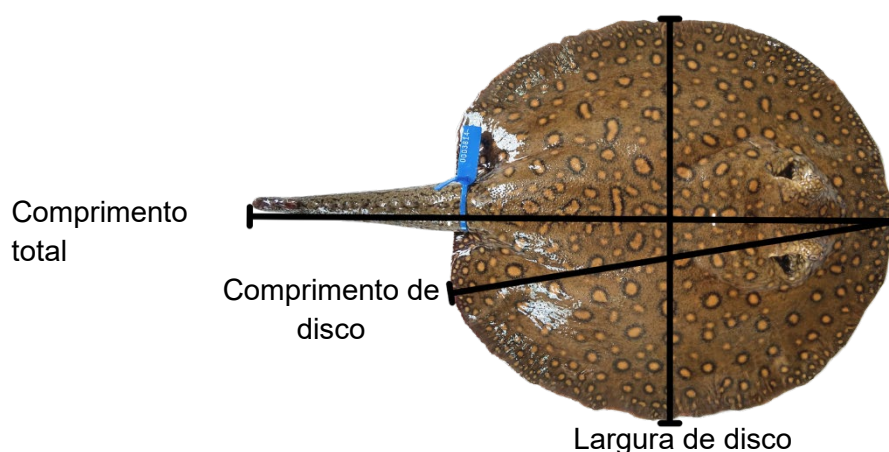
Após a captura foi realizada a primeira coleta de sangue, com o uso de seringas heparinizadas. No caso de fêmeas grávidas, a segunda coleta foi realizada no momento do abortamento de filhotes; já com as fêmeas não grávidas, a segunda coleta foi realizada no intervalo de uma hora após a captura (Figura 4). Os momentos pós aborto e após uma hora da captura configurarão o grupo estressado.

Figura 4 – Coleta de espécimes de *Potamotrygon amandae* no Reservatório de Jupia; Alto Rio Paraná. Ilha Solteira-SP.



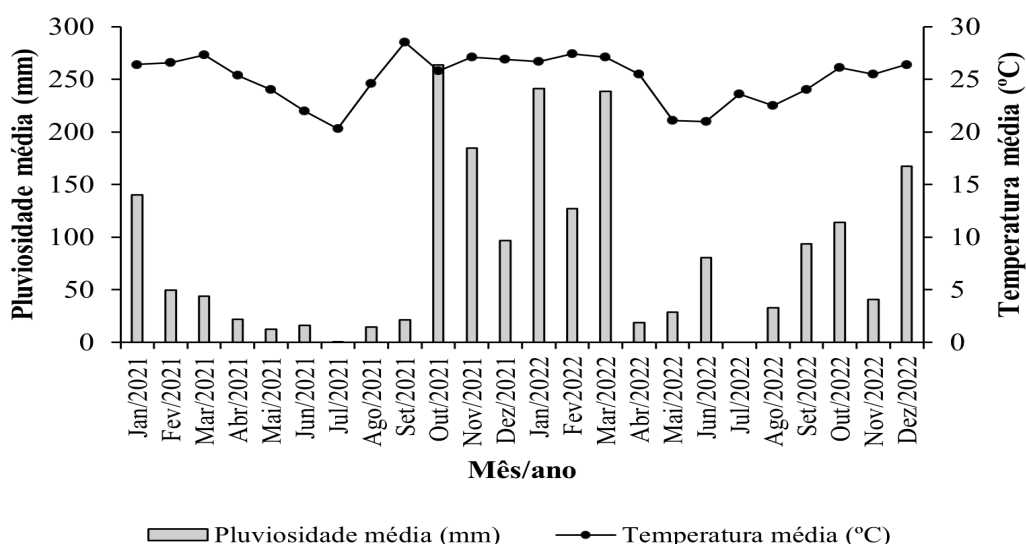
Os espécimes foram anestesiados com Eugenol 0,2 g.L⁻¹ por via respiratória, individualizados em caixas de polietileno e transportados vivos para o Laboratório de Estudos em Fisiologia Animal (LEFISA) UNESP/Ilha Solteira, onde foram aferidos os dados biométricos (massa do animal, comprimento de disco (CD), comprimento total (CT), largura de disco (LD)) (Figura 5).

Figura 5 – Aferição de dados biométricos de *Potamotrygon amandae*, comprimento do disco (CD), largura do disco (LD) e comprimento total (CT).



Pluviosidade e temperatura

De forma geral, no local de coleta, o outono e o inverno (março a setembro) correspondem a época de seca e a primavera e o verão (setembro a março) a de chuva. Em 2021 a temperatura teve média anual foi de $25,41^{\circ}\text{C} \pm 2,36$ e em 2022 de $24,74^{\circ}\text{C} \pm 2,26$. A média anual pluviométrica foi de $72,11 \text{ mm} \pm 83,26$ em 2021 e de $98,61 \text{ mm} \pm 82,36$ em 2022. Dentre os meses de coleta, outubro, novembro, dezembro, fevereiro e março de 2022 foram de chuva e julho e setembro de 2021 e abril, maio e setembro de 2022 foram de seca (Figura 5). Os dados de temperatura e pluviosidade foram adquiridos na Rede Agrometeorológica do Noroeste Paulista (<http://clima.feis.unesp.br/>).

Figura 6 – Pluviosidade e temperatura média na região do local de coleta.

Análises laboratoriais

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 da glicose, lactato, corpos cetônicos e corticosterona.

Foram quantificados os substratos proteínas e ureia, utilizando kits da marca Labtest. As leituras de placas foram realizadas em leitora de microplacas ELISA (Spectra Max 250, Molecular Devices).

Análises estatísticas

Todos os valores serão apresentados como média $\pm$ desvio padrão (DP). Foi aplicado teste de Normalidade Shapiro-Wilk em todas as comparações. Após atestada a normalidade os dados foram comparados utilizando-se o Teste t-pareado para mesmos espécimes: momento da coleta x após 60 minutos ou momento do aborto, e o Teste t para comparações entre grupos diferentes: fêmeas grávidas x fêmeas não grávidas. 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).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados gerais relacionados aos dados biométricos mensurados (tabela 1), como a largura de disco e a massa entre os dois grupos estudados não mostraram diferença significativa, com $P > 0,05$ para as duas comparações.

Tabela 1- Dados biométricos de fêmeas adultas de *Potamotrygon amandae*, coletadas no Alto Rio Paraná (reservatório de Jupia, Ilha Solteira/SP).

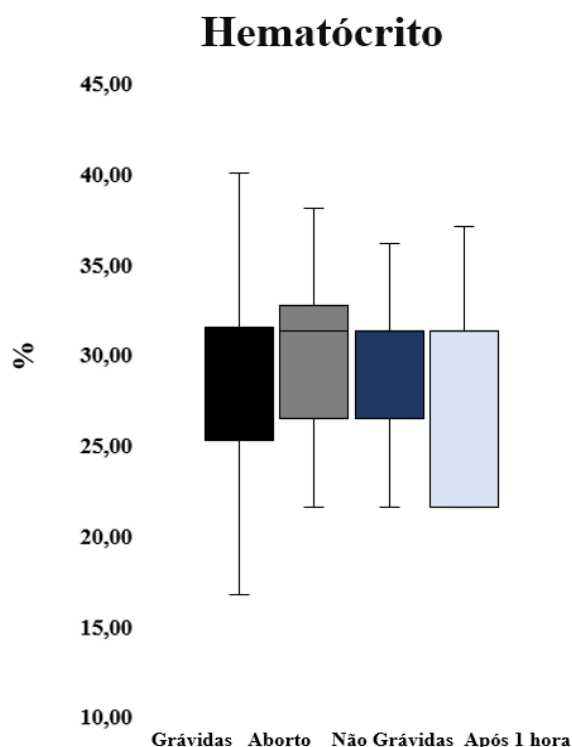
Dados Biométricos	Grávidas	Não-grávidas
Largura de disco (cm)	$36,8 \pm 4,9$	$39,5 \pm 3,67$
Massa (g)	$2,8 \pm 1,28$	$2,7 \pm 0,94$

Geralmente esperamos que fêmeas grávidas apresentem resultados de massa maiores que fêmeas não-grávidas, pela sua fase gestacional, porém há questões que podem estar relacionadas à oferta e disponibilidade de alimentos no ambiente e os efeitos de estação, nossos resultados corroboram com os resultados e discussão de Spada, (2021) que diz, de acordo com os dados de temperatura e pluviosidade, que foi possível identificar que o período de cheia corresponde aos meses de gravidez e o período de seca corresponde aos meses de repouso e vitelogênese das espécimes.

O tempo de aborto correspondeu em média a $57,5 \pm 27,5$ minutos a partir do momento de captura e alocação dos espécimes no barco. Nossos resultados corroboram com os estudos relacionados, em que se descreve que o parto induzido pela captura pode ocorrer a qualquer momento durante o processo de pesca, mas é mais frequentemente observado quando os animais são trazidos para o convés (ADAMS et al., 2018).

Os resultados acerca do hematócrito (figura 7) não mostraram diferença significativa entre grávidas e não grávidas nos dois momentos de coleta, sendo o $P > 0,05$ para todas as comparações.

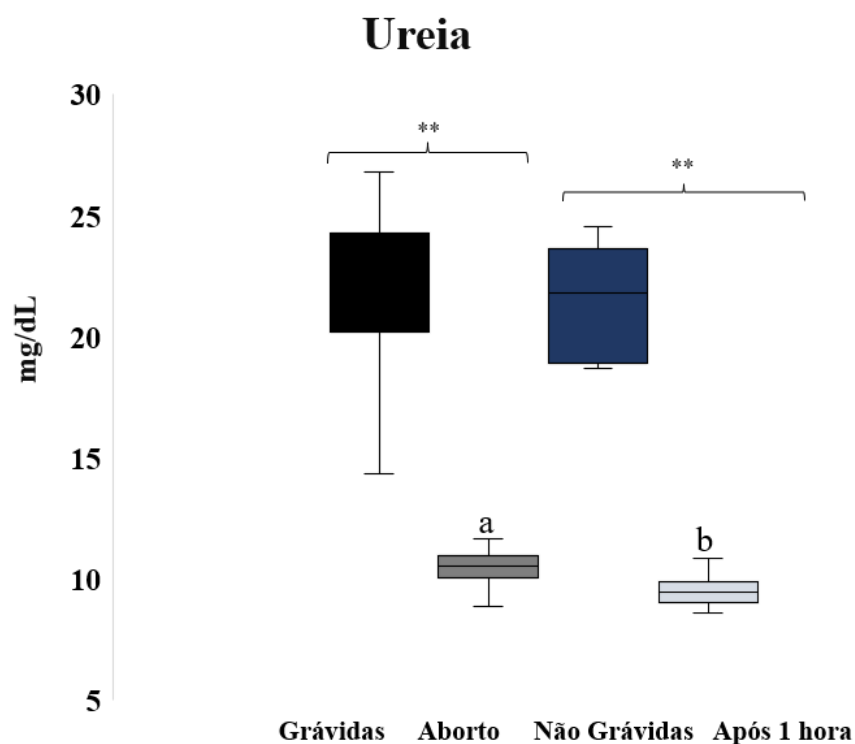
Figura 7- Hematócrito (% de células vermelhas) de fêmeas adultas de *Potamotrygon amandae*, coletadas no Alto Rio Paraná (reservatório de Jupiá, Ilha Solteira/SP).



Sabemos que a função principal das hemácias é o transporte de oxigênio obtido pelo sistema respiratório até os tecidos (SANTOS, 2023) e sabe-se também que episódios de estresse demandam energia extra para o organismo (MORGAN; IWANA, 1996), em relação aos valores estáveis do hematócrito, dois componentes podem estar ligados ao padrão encontrado: o tempo e o grau do estresse, em relação ao tempo nossos resultados mostram que $57,5 \pm 27,5$ minutos de estresse não tenha sido o suficiente para levar à estimulação de produção de novas hemácias, e em relação ao grau do estresse, este pode não ter sido o suficiente para gerar tal resposta.

Nos resultados relacionados a ureia (figura 8), podemos observar um decaimento na taxa do composto nos dois grupos de fêmeas, grávidas e não-grávidas, mostrando ser um marcador responsivo ao estresse. A taxa de decaimento foi maior para o grupo de fêmeas não-grávidas, com diferença estatística para a coleta pós-estresse entre os dois grupos.

Figura 8- Concentração de ureia plasmática (mg/dL) em fêmeas adultas de *Potamotrygon amandae*, coletadas no Alto Rio Paraná (reservatório de Jupiá, Ilha Solteira/SP). a,b mostra diferença estatística significativa entre os grupos experimentais ($P < 0,05$) ** mostra diferença estatística significativa ($P < 0,001$) entre momentos de coleta.



Comparando nossos resultados com os dados do trabalho de Pérez-Rojas et al. (2022) (compilados na tabela 2), observamos que nossos dados médios são bastante distintos entre os períodos de estresse e não estresse, variando aproximadamente 10 mg/dL entre os dois momentos. Esta grande flutuação coloca *P. amandae* entre as espécies *P. falkneri*, *P. motoro*, *P. orbignyi*, *P. scobina*, *P. aiereba* e *P. schroederi*.

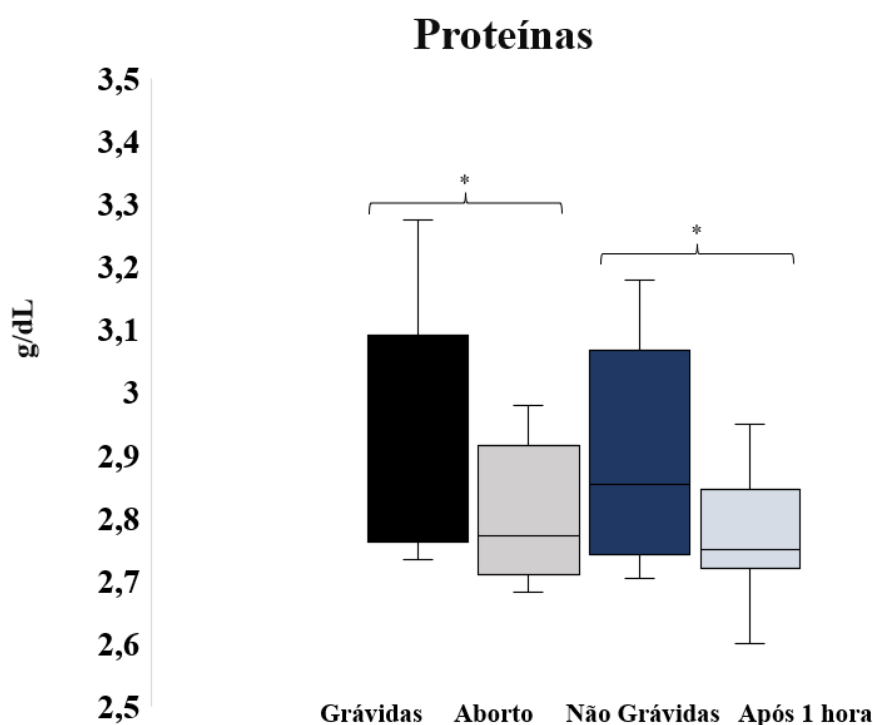
A coleta de sangue durante o momento de estresse mostrou diferença entre os dois grupos, grávidas e não grávidas ($P=0,042$), em que as fêmeas grávidas mostraram maiores médias para este, segundo Amazonas et al. (2020), valores maiores de ureia durante a gravidez são explicados pela atividade ureogênica materna e embrionária que se somam durante a gestação.

Tabela 2- Comparação da concentração de ureia plasmática em arraias de água doce, mostrando valores de média e desvio padrão (DP) (modificado de PÉREZ-ROJAS et al. (2022)).

Espécies	Concentração de Ureia (mg/dL)
<i>Potamotrygon sp.</i>	6,6±0,6
<i>P. wallacei</i>	1,2±0,6
<i>P. falkneri</i>	29,0±3,1
<i>P. motoro</i>	30,1±3,1
<i>P. orbignyi</i>	38,3±17,6
<i>P. scobina</i>	24,1±4,6
<i>P. aiereba</i>	19,2±17,4
<i>P. schroederi</i>	16,22±12,61
<i>P. madalena</i>	5,1±2,2
<i>P. amandae</i> (antes do estresse)	21,9±2,7
<i>P. amandae</i> (durante o estresse)	10,6±0,8

Nossos resultados acerca das proteínas totais (figura 9) apresentaram decaimento nos valores para o momento de estresse nos dois grupos de fêmeas adultas, grávidas e não-grávidas, mostrando ser um marcador responsivo ao estresse.

Figura 9- Concentração de proteínas plasmáticas (g/dL) em fêmeas adultas de *Potamotrygon amandae*, coletadas no Alto Rio Paraná (reservatório de Jupia, Ilha Solteira/SP).



Sabemos que a utilização das proteínas totais como energia para as células ocorre somente se necessário, nossos resultados mostram que este substrato pode estar sendo usado como energia no momento pós coleta, pois sabemos que o metabolismo de aminoácidos é uma importante fonte de energia para os elasmobrânquios como combustível oxidativo (SPEERS-ROESCH; TREBERG, 2010). A ordem metabólica consiste em proteínas para produzir ATP's, logo temos um gasto de energia para esta produção, a ureia é um dos subprodutos da metabolização dos substratos proteicos, e observando nossos resultados acerca da ureia, também obtivemos um decaimento, ou seja, os decaimentos tanto da ureia quanto das proteínas estão relacionados entre si, associando o gasto energético das proteínas com a perda da ureia plasmática.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

- 1- Os valores biométricos não mostraram diferenças entre as fêmeas em diferentes estágios reprodutivos;
- 2- O tempo médio para aborto foi de $57,5 \pm 27,5$ minutos a partir do momento de captura e alocação dos espécimes no barco;
- 3- O hematócrito não se mostrou responsivo ao estresse. A ausência de alterações significativas em muitas variáveis do sangue, como contagem de hemácias e hematócrito, podem indicar que esta espécie não responde da mesma forma a síndrome do estresse;
- 4- As concentrações de proteínas e ureia plasmáticas decaíram durante o estresse para os dois grupos analisados, mostrando que ambos podem ser adotados como biomarcadores de estresse em *Potamotrygon amandae*.

Referências Bibliográficas

ADAMS, K. R.; FETTERPLACE, L. C.; DAVIS, A. R.; TAYLOR, M. D.; KNOTT, N. A. Sharks, rays and abortion: the prevalence of capture-induced parturition in elasmobranchs. *Biological Conservation*. 217, 11–27, 2018.

ALMEIDA, M.P.; BARTHEM, R.B.; VIANA, A.S.; CHARVET-ALMEIDA, P. Factors affecting the distribution and abundance of freshwater stingrays (Chondrichthyes: Potamotrygonidae) at Marajó Island, mouth of the Amazon River. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, v. 4 n. 1, p. 1-11, 2009.

AMAZONAS, M.G.F.M. Fisiologia das fêmeas de *Potamotrygon wallacei* Carvalho, Rosa e Araújo (2016): gonadotrofinas, hormônios esteroides, condição corporal e perfil bioquímico. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2019, 45 p.

ANDRADE-TALMELLI, E. F.; FENERICH-VERANI, N.; VERANI, J.R. Fator de condição relativa (Kn): um critério para selecionar a reprodução de piabanha, *Brycon insignis*, para indução reprodutiva. *Bol. Inst. Pesca*, São Paulo, v.25, n.1, p.95-99, 1999.

ARAÚJO, M.L.G. Biologia reprodutiva e pesca de *Potamotrygon* sp. (Chondrichthyes - Potamotrygonidae) no médio Rio Negro, Amazonas. 1998. 171 p. Dissertação (Mestrado). Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia /INPA, Manaus, 1998.

AWRUCH, C. A. Reproductive endocrinology in chondrichthyans: the present and the future. *General and Comparative Endocrinology*. 192, 60–70, 2013.

BONGA, S.E.W. The stress response in fish. *Physiological Reviews*, v.77, n.3, p.591-625, 1997.

CARVALHO, M. R.; LOVEJOY, N. R.; ROSA, R. S. Family Potamotrygonidae (river stingrays). In: REIS, R.; KULLANDER, S. O.; C.J, F. J. (Ed.). *Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America*. Porto Alegre: Edipucrs, p. 22–28, 2003.

CARVALHO, M. R. XV. Rayas de agua dulce (Potamotrygonidae) de suramérica. parte II Colombia, Brasil, Perú, Bolivia, Paraguay, Uruguay y Argentina. Bogotá:

Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt (IAvH), 2016.

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

DUNCAN, W. P.; SILVA, M.I.; FERNANDES, M. N. Gill dimensions in near-term embryos of Amazonian freshwater stingrays (Elasmobranchii: Potamotrygonidae) and their relationship to the lifestyle and habitat of neonatal pups. *Neotropical Ichthyology*, 13, 123–136, 2015.

EVANS, A. N. Evidence supporting a dual glucocorticoid and mineralocorticoid role for the elasmobranch steroid 1- α hydroxycorticosterone. *Teses (Doutorado) Universidade do Texas*, 2008.

FULLER, L.; STELL, E.; LEARY, C.; PARSONS, G. Circulating adrenocorticotrophic hormone levels, lactate levels, hematocrit and osmolality in relation to capture stress in Atlantic sharpnose sharks, *Rhizoprionodon terraenovae*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, v. 243, p. 110655, 2020.

GAMA, C.S.; ROSA, R.S. Uso de recursos e dieta das arraias de água doce (Chondrichthyes, Potamotrygonidae) da Reserva Biológica do Parazinho, AP. *Biota Amazônica* 5: 90-98, 2015.

GASPAROTTO, O.C. [et al.]. *Fisiologia animal comparada*. - Florianópolis: Biologia/Ead/UFSC, 2011. 238 p.: il.

GOLDENFARB, B.; BOWIER, F.; HALL, E.; BROSIUS, E. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. *American Journal of Clinical Pathology*, 56, 35-39, 1971.

GRIFFITH, R. W.; PANG, P. K. T.; SRIVASTAVA, K.; PICKFORD, G. E. Serum composition of freshwater stingrays (Potamotrygonidae) adapted to freshwater and dilute seawater. *The Biological Bulletin*, 144, 304–320, 1973.

LISSO, C. A.; ROSA, R.; MORALES BETNACOURT, M. A.; GARRONE-NETO, D.; CARVALHO, M. R. XV. Rayas de agua dulce (Potamotrygonidae) de suramérica. parte II Colombia, Brasil, Perú, Bolivia, Paraguay, Uruguay y Argentina. Bogotá:

Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt (IAvH), 2016.

LAST, P.; NAYLOR, G.; SÉRET, B.; WHITE, W.; CARVALHO, M.; STEHMANN, M. Rays of the World. Csiro Publishing, 2016.

LOBODA, T. S.; CARVALHO, M. R. Systematic revision of the *Potamotrygon motoro* (Müller & Henle, 1841) species complex in the Paraná-Paraguay basin, with description of two new ocellated species (Chondrichthyes: Myliobatiformes: Potamotrygonidae). Neotropical Ichthyology, v. 11, n. 4, p. 693-737, 2013.

LONARDONI, A.; OLIVEIRA, E. F.; ABELHA, M.C.; GOULART, E. Hábitos alimentares e sobreposição trófica das arraias *Potamotrygon falkneri* e *Potamotrygon motoro* (Chondrichthyes: Potamotrygonidae) na planície alagável do alto rio Paraná; Brasil. Acta Scientiarum Biological Sciences. 28, 195– 202, 2006.

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

MARIANO, W. S.; OBA, E. T.; SANTOS, L. R. B.; FERNADES, M.N. Respostas fisiológicas de jeju *Hoplerethrinus unitaeniatus* (Characiformes, Erythrinidae) expostos ao ar atmosférico. Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal, Salvador, v.10, n.1, p.210-223, 2009.

MARQUES, F.P.L. Evolution of Neotropical freshwater stingrays and their parasites: taking into account space and time. 2000. 325 p. Tese PhD, University of Toronto, 2000.

MORGAN, J. D.; IWAMA, G. K. Measurements of stressed states in the field. In: SEMINAR SERIES-SOCIETY FOR EXPERIMENTAL BIOLOGY. Cambridge University Press, 1997. p. 247–268.

MUUSZE, B.; MARCON J, V.T. G.; ALMEIDA-VAL V. M. F. Hypoxia tolerance of Amazon fish: Respirometry and energy metabolism of the cichlid *Astronotus ocellatus*. Comp Biochem Physiol, Amsterdam, v.120, n.1, p.151-156, 1998.

PAGLIARINI, C. D.; RIBEIRO, C. S.; SPADA, L.; DELARIVA, R. L.; CHAGAS, J.M.A.; ANJOS, L.A.; RAMOS, I. Trophic ecology and metabolism of two species of nonnative Potamotrygonidae). Hydrobiologia. 47, 2895– 2908, 2020.

- PÉREZ-ROJAS, J.G.; MEJÍA-FALLA, P.A.; NAVIA, A.F.; TARAZONA, A.M.; PARDO-CARRASCO, S.C. Hematology and blood biochemistry profile of the freshwater stingray *Potamotrygon magdalenae* as a tool for population assessment in artificial environments. *Brazilian Journal of Biology*, 2022, vol. 82, e233780.
- RAMOS, H.A.C. Commercial species of Freshwater Stingrays in Brazil. Brasília, 2017.
- RANDALL, D.J.; PERRY, S.F. Catecholamines. *Fish Physiology*, 12, 255–300, 1992.
- RANDALL, D.J.; PERRY, S.F. Catecholamines. In: HOAR, W.S. et al. (Eds.). *Fish physiology*. San Diego: Academic, 1992. p.255-300.
- RANGEL, B.S.; RIBEIRO, D.C.; CHAGAS, J.M.A.; SPADA, L.; MOREIRA, R.G.; RIBEIRO, C.S. Effects of biological traits on capture-induced parturition in a freshwater stingray and perspectives for species management. *Journal of Fish Biology*. 97, 546–551, 2020.
- RINCON FILHO, G. Aspectos taxonômicos, alimentação e reprodução da raia de água doce *Potamotrygon orbignyi* (Castelnau) (Elasmobranchii: Potamotrygonidae) no Rio Paranã-Tocantins. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Biológicas, Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", Rio Claro, 2006, 145 p.
- RUIZ-JARABO, I.; BARRAGÁN-MÉNDEZ, C.; JEREZCEPA, I., FERNÁNDEZ-CASTRO, M.; SOBRINO, I.; MANCERA, J. M.; AERTS, J. Plasma 1 α -hydroxycorticosterone as biomarker for acute stress in catsharks (*Scyliorhinus canicula*). *Frontiers in Physiology*, v. 10, p.1217, 2019.
- SANTOS, V.S. "O que são hemácias?"; Brasil Escola. Disponível em: <https://brasilecola.uol.com.br/o-que-e/biologia/o-que-sao-hemacias.htm>. Acesso em 08 de novembro de 2023.
- SILVA, T. B.; S. UIEDA. 2007. Preliminary data on the feeding habits of the freshwater stingrays *Potamotrygon falkneri* and *Potamotrygon motoro* (Potamotrygonidae) from the Upper Paraná River basin, Brazil. *Biota Neotropica*. 7, 221–226, 2007.
- SIMPLENDORFER, C. A.; HEUPEL M. R.; WHITE W. T.; DULVY N. K. The importance of research and public opinion to conservation management of sharks and rays: a synthesis. *Marine and Freshwater Research*, Canberra, v.62, n.6, p.518-527, 2011.

SKOMAL, G. B.; MANDELMAN, J. W. The physiological response to anthropogenic stressors in marine elasmobranch fishes: a review with a focus on the secondary response. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 162, 146-155, 2012.

SPADA, L. Aspectos metabólicos do ciclo reprodutivo de fêmeas de *Potamotrygon amandae* (Chondrichthyes: Myliobatiformes: Potamotrygonidae), em área de ocorrência não-natural (Reservatório de Jupia, Ilha Solteira. 2021. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo.

SPADA, L.; RIBEIRO, D. C.; CHAGAS, J. M.A.; HOROIWA, A. Y.; SOARES, A. S.; RIBEIRO, C. S. Metabolismo lipídico da raia vivípara *Potamotrygon falkneri* Castex & Maciel, 1963 durante a reprodução. *Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais*. 11, 186–197, 2020.

SPEERS-ROESCH, B.; RICHARDS, J. G.; BRAUNER, C. J.; FARRELL, A. P.; HICKEY, A. J. R.; WANG, Y. S.; RENSHAW, G.M.V. Hypoxia tolerance in elasmobranchs. I. Critical oxygen tension as a measure of blood oxygen transport during hypoxia exposure. *The Journal of Experimental Biology*, London, v.215, p.93-102, 2012.

SPEERS-ROESCH, B.; TREBERG, J. R. The unusual energy metabolism of elasmobranch fishes. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 155, 417– 434, 2010.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F.R., 2004. Hematologia de peixes teleósteos. Villimpres Complexo Gráfico. 144p.

THORSON, T.B.; COWAN, C.M.; WATSON, D.E. *Potamotrygon* spp.: elasmobranchs with low urea content. *Science*, v. 158, p. 375 -377, 1967.

TREBERG, J. R.; SPEERS-ROESCH, B.; PIERMARINI, P. M.; IP, Y. K.; BALLANTYNE, J. S.; DRIEDZIC, W. R. The accumulation of methylamine counteracting solutes in elasmobranchs with differing levels of urea: a comparison of marine and freshwater species. *Journal of Experimental Biology*. 209, 860–870, 2006.

VALENTIM, F.C.A.; FALCÃO, J.N.; PORTO, J.I.R.; FELDBERG, E. Chromosomes of three freshwater stingrays (Rakiformes Potamotrygonidae) from the Rio Negro basin, Amazon, Brazil. *Genetica*, v. 128, p. 33-39, 2006.

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

WOSNICK, N.; AWRUCH, K. R.; ADAMS, S. M. M.; GUTIERRE, H.; BORNATOWSKI, A. C. PRADO, C.; FREIRE C. A. Impacts of fisheries on elasmobranch reproduction: high rates of abortion and subsequent maternal mortality in the shortnose guitarfish. *Animal Conservation*. 22, 198–206, 2019.

ZENI, T. O.; OSTRENSKY, A.; WESTPHAL, G. G. C. Respostas adaptativas de peixes a alterações ambientais de temperatura e de oxigênio dissolvido. *Archives of Veterinary Science*, Curitiba, v.21, n.3, p.01-16, 2016.