

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL

**VARIÁVEIS HEMATOLÓGICAS, HORMONAIS,
BIOQUÍMICAS SÉRICAS E FAUNA PARASITÁRIA EM
QUATRO ESPÉCIES DE RAIAS DO GÊNERO
Potamotrygon GARMAN, 1877 (MYLIOBATIFORMES,
POTAMOTRYGONIDAE) DE VIDA LIVRE**

Fernando Moraes Machado Brito
Médico Veterinário

JABOTICABAL – SÃO PAULO - BRASIL
Fevereiro 2012

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL

**VARIÁVEIS HEMATOLÓGICAS, HORMONAIS,
BIOQUÍMICAS SÉRICAS E FAUNA PARASITÁRIA EM
QUATRO ESPÉCIES DE RAIAS DO GÊNERO
Potamotrygon GARMAN, 1877 (MYLIOBATIFORMES,
POTAMOTRYGONIDAE) DE VIDA LIVRE**

Fernando Moraes Machado Brito

Orientador: Prof. Dr. Flávio Ruas de Moraes

Co-orientador: Dr. Marcos Tavares Dias

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária (Patologia Veterinária).

JABOTICABAL – SÃO PAULO - BRASIL

Fevereiro 2012

B862v Brito, Fernando Moraes Machado
Variáveis hematológicas, hormonais, bioquímicas séricas e fauna
parasitária em quatro espécies de raias do gênero *Potamotrygon*
Garman, 1877 (Myliobatiformes, Potamotrygonidae) de vida livre. /
Fernando Moraes Machado Brito. – – Jaboticabal, 2012
xiv, 49 f. : Il. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias, 2012

Orientador: Flávio Ruas de Moraes

Banca examinadora: Marco Antonio de Andrade Belo, Antonio
Vicente Mundim, Sérgio Henrique Canello Schalch, Fabiana Garcia.

Bibliografia

1. Hematologia. 2. Bioquímica sérica 3. *Potamotrygon*. 4.
Tiroxina. 5. Triiodotironina. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:616-072:597.317.1

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

FERNANDO MORAES MACHADO BRITO – nasceu na cidade do Rio de Janeiro – RJ, no dia 05 de março de 1977, filho de Ignacio Aureliano Machado Brito e Lisete Fernandes Moraes Brito. Em janeiro de 2002 graduou-se em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Uberlândia. Especialista em Meio Ambiente pela Universidade Federal do Rio de Janeiro em outubro de 2005. Em dezembro de 2006 se graduou-se em Gestão de Agronegócios no Centro Universitário do Triângulo. Teve o título de Mestre em Ciências Veterinárias – Saúde Animal na Universidade Federal de Uberlândia defendido em abril de 2007. Em março de 2008 ingressou no curso de Doutorado no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal.

“Deixa tudo mais de lado e apegate a poucas verdades. E lembra-te de que vivemos o momento presente, esse instante infinitesimal, pois todo o restante ou já passou ou ainda é incerto.

Esta vida mortal é algo muito pequeno e transitório, vivida num pequeno canto do mundo, e pequena é também a maior fama, poder, glória e fortuna que se possa ter, que depende da memória de homens que também perecem rapidamente e não tem sequer a exata noção de suas próprias vidas, quanto mais daqueles que já morreram há muito tempo, pois o tempo é implacável como um rio, um fluxo eterno de todos os seres vivos. Assim que algo acontece, logo passa e outra coisa sobrevém e logo esta passará também.”

Marco Aurélio Antonino - Imperador Romano (121-180 d.C.)

A meu pai, prof. Ignacio Brito, com
todo o meu amor e saudades...

AGRADECIMENTOS

À minha Mãe, por todo amor, carinho e apoio dispensados a mim durante todos esses anos;

À minha irmã Ana, meu cunhado Eduardo e minha sobrinha Olívia pelo alto astral de sempre, pela alegria nos bons momentos e pela força nos momentos difíceis;

À minha madrinha e ao meu tio Jurandir, pelo carinho durante todo o tempo que fiquei sozinho em casa. E mesmo acompanhado também;

Ao professor Flávio Ruas de Moraes, pela orientação, confiança, amizade e ensinamentos durante todo esse período;

Ao Dr. Marcos Tavares Dias, pela co-orientação, ajuda nas coletas no Estado do Amapá e pela amizade;

Ao prof. Antonio Vicente Mundim, por abrir o laboratório para as minhas pesquisas, por sua amizade e paciência;

À prof^a Julieta, por sua amizade e ajuda;

Aos colegas Gustavo, Marcello, Wilson, Marco Belo, Thalita, Neida e Hurzana por todos os bons momentos que passamos juntos;

À Sílvia, pela ajuda e pela companhia durante as coletas no rio Paraná;

Ao prof. Ricardo Takemoto, Dr^a Cláudia e Alfredo pelas coletas no rio Paraná;

Ao Sr. Sabá, Sr. Peixe Boi, Sr. José Carlos (Tiburcio) pela ajuda e pela amizade durante a minha passagem pelo rio Piririm;

Aos técnicos Felipe e Tiãozinho e ao residente Rafael Rocha, do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia;

À EMBRAPA Amapá, por me receber em suas instalações;

Ao IBAMA, pela licença concedida para a captura das raias;

Ao meu irmão prof. Paulo Brito, por me apresentar a essas fantásticas criaturas que são as raias;

À D. Márcia, por ter me dado um lar e ser minha família em Jaboticabal durante esses quatro anos;

À Andréa, por sempre ter sido alguém muito especial pra mim;

A todos os meus amigos de Araguari, que mesmo de longe, sempre torceram por mim;

À FAPESP, pela bolsa concedida;

A todos que, de uma maneira ou de outra colaboraram para que esse trabalho virasse realidade;

E A Deus, por colocar todos vocês no meu caminho.

Um último agradecimento especial à Catarina, por ter estado sempre ao meu lado, até o seu último suspiro...

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	01
2. OBJETIVOS	06
3. REVISÃO DE LITERATURA	07
4. MATERIAL E MÉTODOS	14
4.1 Material Biológico	14
4.2 Captura dos animais e coletas das amostras	15
4.3 Local de realização das análises	16
4.4 Hemogramas	17
4.5 Bioquímica	18
4.6 Exame parasitológico	19
4.7 Análise estatística	19
5. RESULTADOS	20
5.1 Biometria	20
5.2 Hemograma	21
5.3 Bioquímica	23
5.4 Parasitos	28
6. DISCUSSÃO	29
6.1 Hemograma	29
6.2 Bioquímica	33
6.3 Parasitos	36
7. CONCLUSÕES	39
8. REFERÊNCIAS	40

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fotografia da margem do rio Paraná, município de Porto Rico, PR.....	03
Figura 2 – Fotografia da margem do rio Piririm, município de Macapá, AP.	04
Figura 3 – Fotografias de quatro espécies de <i>Potamotrygon</i> : em A, <i>P.falkneri</i> .em B, <i>P.motoro</i> em C, <i>P.orbigni</i> e em D, <i>P.scobina</i>	14
Figura 4 – Fotografia de coleta de sangue por punção do vaso caudal em <i>Potamotrygon</i> sp., município de Porto Rico, PR	16
Figura 5 – Fotomicrografias de sangue periférico de <i>Potamotrygon</i> sp. Em A, Neutrófilos (seta amarela), heterófilo (seta vermelha) e trombócitos (seta preta) (40x); em B, eritrócitos (seta amarela) e linfócito (seta preta) (40x); em C, Sangue em menor aumento (10x) e em D, sangue de raias corado em Panótico Rápido (40x).....	21
Figura 6 – fotomicrografia do esfregaço sanguíneo de <i>P. orbignyi</i> mostrando um gametócito de hemogregarina no interior do eritrócito (seta), coloração MGG (May Grünwald e Giemsa) e aumento de 40x	28

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Valores médios (respectivos erro padrão médio) e análise de variância para peso, comprimento total e largura de disco em *Potamotrygon falkneri*, *P. motoro* (rio Paraná), *P. orbignyi* e *P. scobina* (rio Piririm).20
- Tabela 2 – Valores médios¹(respectivos erro padrão) e análise de variância das variáveis hematológicas em *Potamotrygon falkneri*, *P. motoro* (rio Paraná), *P. orbignyi* e *P. scobina* (rio Piririm).....22
- Tabela 3 – Valores médios(respectivos erro padrão) e análise de variância das proteínas e metabólitos sanguíneos em *Potamotrygon falkneri*, *P. motoro* (rio Paraná), *P. orbignyi* e *P. scobina* (rio Piririm)25
- Tabela 4 – Valores médios¹(respectivos erro padrão) e análise de variância dos minerais, enzimas séricas e hormônios da tireóide em *Potamotrygon falkneri*, *P. motoro* (rio Paraná), *P. orbignyi* e *P. scobina* (rio Piririm).....27

LISTA DE ABREVIATURAS

Ca – Calcio

P – Fósforo

Ca/P – Relação cálcio-fósforo

A/G – Relação albumina-globulina

AST – Aspartato aminotransferase

ALT– Alanina aminotransferase

CK – Creatinoquinase

FA – Fosfatase alcalina

Gama GT - Gama glutamil transpeptidase

HDL-C - Lipoproteína de alta densidade (high density lipoprotein)

L.D. – Largura de disco

C.C. – Comprimento caudal

Ht. – Hematócrito

Hb. – Hemoglobina

RBC – Células vermelhas do sangue

VCM – Volume corpuscular médio

HCM – Hemoglobina corpuscular média

CHCM – Concentração de hemoglobina corpuscular média

IUCN - International Union for Conservation of Nature

VARIÁVEIS HEMATOLÓGICAS, HORMONAIS, BIOQUÍMICAS SÉRICAS E FAUNA PARASITÁRIA EM QUATRO ESPÉCIES DE RAIAS DO GÊNERO *Potamotrygon* GARMAN, 1877 (MYLIOBATIFORMES, POTAMOTRYGONIDAE) DE VIDA LIVRE

RESUMO - Os Potamotrygonidae são um grupo de raias endêmico da América do Sul e exclusivamente dulciaquícolas. A família é representada por três gêneros: *Potamotrygon*, *Paratrygon* e *Plesiotrygon* e possui aproximadamente 20 espécies nominais, ocorrendo nas principais bacias hidrográficas do continente. São raros os estudos sobre a hematologia de peixes e os autores ainda adotam classificações diferentes entre eles. A variação morfológica dessas células em peixes é tão grande que é necessário um estudo aprofundado para diferenciá-las nas várias espécies. No sentido de contribuir para o preenchimento desta lacuna foram coletados 53 exemplares de quatro espécies de *Potamotrygon* e de cada animal foram colhidos 4 mL de sangue para realização da análise das variáveis hematológicas e bioquímicas séricas visando obter resultados que possam ser considerados representativos para as quatro espécies de *Potamotrygon*. Os valores foram próximos para as quatro espécies e os resultados com diferenças significativas entre *Potamotrygon falkneri*, *P. motoro*, *P. orbigni* e *P. scobina* ocorreram quanto ao número de eritrócitos, heterófilos, glicemia, triglicerídeos, colesterol, fósforo, albumina e potássio. Os exames parasitológicos mostraram a presença do crustáceo do gênero *Dolops* em 5,66% das raias coletadas e de hemogregarina em 33,96% do total. Não foram observados outros parasitos nos fragmentos de órgãos coletados para pesquisa. Os resultados mostram pouca interferência dos ambientes diferentes da bacia do rio Paraná, município de Porto Rico (PR) e do rio Pírim, município de Macapá (AP) nas variáveis avaliadas, apesar da diversidade geográfica.

Palavras-chave: hematologia, bioquímica sérica, *Potamotrygon*, tiroxina e triiodotironina

**VARIABLE HEMATOLOGIC, HORMONAL, BIOCHEMICAL SERUM AND FAUNA
PARASITIC ON FOUR SPECIES OF THE GENUS *Potamotrygon* GARMAN, 1877
(MYLIOBATIFORMES, POTAMOTRYGONIDAE) FREE-LIVING**

ABSTRACT - Potamotrygonidae are a group of stingrays endemic to South America and exclusively freshwater. The family is represented by three genera: *Potamotrygon*, *Paratrygon* and *Plesiotrygon* and has approximately 20 nominal species, occurring in major river basins of the continent. Few studies on the hematology of fish and the authors still adopt different classifications among them. The morphological variation of these cells in fish is so great that a detailed study is necessary to differentiate them in the various species. We collected 53 specimens of four species of *Potamotrygon* and each animal were harvested 4 mL of blood to perform the analysis of serum biochemical and hematological variables in order to obtain results that can be considered representative, determining the values of hematological and biochemical blood for four species of *Potamotrygon*. The values were similar in all four species and results in significant differences *Potamotrygon falkneri*, *P. motoro*, *P. orbigni* and *P. scobina* occurred in the number of erythrocytes, heterophils, plasma glucose, triglycerides, cholesterol, phosphorus, albumin, and potassium. The parasitological tests showed the presence of crayfish in the genus *Dolops* 5.66% of rays collected and *Haemogregarina* sp. in 33.96% of the total. No other parasites were observed in organ fragments collected for study. The results show little interference from different environments of the Paraná river basin, municipality of Porto Rico (PR) and Píririm river, municipality of Macapá (AP) in the variables studied, despite the geographical diversity.

Keywords: hematology, *Potamotrygon*, serum biochemistry, thyroxine, triiodothyronine

1 INTRODUÇÃO

A classe Chondrichthyes compreende peixes com esqueleto interno cartilaginoso e é separada em duas subclasses: Elasmobranchii, que inclui tubarões e raias e Subterbranchialia (Holocephali), que abrange as quimeras. As raias possuem corpo achatado dorsoventralmente e suas fendas branquiais, de cinco a seis pares, localizam-se na parte ventral do corpo (RICHTER et al., 2000). Outras especializações deste grupo compreendem a fusão das primeiras vértebras formando uma estrutura chamada sinarcual e a projeção anterior do propterígum das nadadeiras peitorais.

O Potamotrygonidae é um grupo de raias endêmico da América do Sul (ROSA et al., 1987; CARVALHO et al., 2003), exclusivamente dulciaquícolas e que não toleram ambientes salinos devido à atrofia de sua glândula retal (THORSON et al., 1967; THORSON et al., 1978) e à supressão de uréia nos fluidos do corpo (JUNQUEIRA et al., 1968). Esta família apresenta formas de médio ou grande porte, maturação sexual tardia e baixa fecundidade.

A família é representada por três gêneros: *Potamotrygon*, *Paratrygon* e *Plesiotrygon* e possui aproximadamente 20 espécies nominais, ocorrendo nas principais bacias hidrográficas do continente, exceto nos rios encontrados a oeste da Cordilheira dos Andes, nos rios costeiros do Brasil e na Bacia do Rio São Francisco. Embora abundantes em quase toda a América do Sul, as raias de água doce são pouco conhecidas taxonomicamente, havendo insuficiência de informações sobre as diversas espécies. O Potamotrygonidae deve ser considerado o mais bem sucedido grupo de elasmobrânquios a se adaptar ao meio dulcícola (BALLANTYNE & ROBINSON, 2010)

Devido à expressiva pesca para consumo ou para utilização com fins de aquariofilia, sua comercialização foi proibida (Processo IBAMA nº 02005.002204/97-67). Além disso, esses animais são conhecidos por poderem provocar ferimentos dolorosos em humanos (GARONE NETO & HADDAD JR., 2010).

Os impactos antrópicos identificados e exercidos sobre populações de potamotrígonídeos são: a pesca de subsistência; pesca artesanal com propósito ornamental; “bycatch” de pesca comercial; pesca recreativa; pesca negativa (eliminação

devido periculosidade do ferrão) promovida por hotéis de turismo e deterioração e destruição de habitats por dragagem, represamentos e minas de ouro (ARAÚJO, 1998).

Segundo DIAS & SHIBATTA (2006) *Potamotrygon motoro* é uma espécie de Potamotrygonidae de grande porte, com disco medindo mais de 70 cm de diâmetro, podendo atingir até 15 kg. Sua coloração dorsal é parda escura, com manchas ocelares redondas e amareladas, envoltas por anéis negros. Os olhos localizam-se dorsalmente e a boca, com dentes pequenos, se encontra ventralmente.

De acordo com SILVA & CARVALHO (2011), *Potamotrygon falkneri*, originalmente descrita no rio Paraná (perto de Santa Fé, Argentina), é restrita à bacia Paraná-Paraguai, ocorrendo a partir da região do Pantanal (rios Cuiabá, Piquiri, entre outros) para o baixo rio Paraná. Esta espécie apresenta um disco que é geralmente um pouco mais comprido que largo com uma região média-dorsal coberta por denticulos dérmicos, mas com margens de disco liso, e espinhos na região dorso-caudal irregularmente dispostas em fileiras paralelas. A superfície do disco dorsal tem coloração de fundo castanho-escuro, com manchas amarelas ou laranjas, reniforme pequenas, redondas ou ovais. As superfícies dorsal da cauda e das nadadeiras pélvicas apresentam o padrão de mesma cor encontrados no disco dorsal.

Potamotrygon orbignyi é identificada principalmente por padrão de coloração dorsal com rede de pigmentação escura formando reticulações hexagonais, boca pequena, com largura proximamente igual à distância internarinas, e dentes pequenos. *P. scobina* é distinguida de *P. motoro* por dentes relativamente menores, espinhos médio-dorsais menos pontiagudos, distribuídos em fileiras paralelas ao invés de uma única fileira, por ausência de grandes ocelos no disco (ROSA, 1985). *Potamotrygon scobina* é distinguida de *P. orbignyi* pela ausência de sulco labial (ALMEIDA, 2003).

Segundo o IUCN (2011), as informações sobre o status de conservação das quatro espécies são deficientes e não existem dados sobre suas populações. Por isso há necessidade de mais pesquisas com esses elasmobrânquios.

O Sistema do Alto Rio Paraná inclui toda a drenagem do Rio Paraná à montante do antigo Salto de Sete Quedas (agora inundado pelo Reservatório de Itaipu) (BRITSKI & LANGEANI, 1988). Com aproximadamente 900 mil km², essa porção da bacia faz parte da face sul do Escudo Brasileiro e é representada por domínios morfoclimáticos

que incluem florestas estacionais semidecíduais, cerrados, florestas ombrófilas mistas, campos rupestres e matas de galeria (HUECK & SEIBERT, 1981). (Figura 1)



Figura 1: Fotografia da margem do rio Paraná, município de Porto Rico, PR.

Sob o ponto de vista ictiofaunístico, portanto, o Alto Paraná compreende uma área com história própria complexa e também, em parte, compartilhada com drenagens vizinhas. Além disso, apresenta um inequívoco endemismo (BRITSKI & LANGEANI 1988, VARI 1988, CASTRO et al. 2003, MENEZES et al., 2003), sendo caracterizado como uma província ictiofaunística natural.

A presença de campos inundáveis e a inundação diária pelo regime de maré são as principais características fisiográficas da região do rio Piririm, estado do Amapá, além da prática da bubalinocultura em fazendas localizadas ao longo dos rios. A microbacia sofre processos naturais de acre o e erosão. No rio Piririm o processo de erosão ocorre com mais intensidade, ocasionando o surgimento de terraços, que são melhores observados em período de baixa-mar. As correntes de maré e as fluviais são as maiores responsáveis por esse processo, sendo que as marés são do tipo semidiurnas. As margens e os afluentes do rio Piririm são áreas em que a erosão é mais intensa, ocorrendo o solapamento das margens, retirando uma carga de sedimentos significativa (SANTANA & SILVEIRA, 2005). (Figura 2)



Figura 2: Fotografia da margem do rio Pírim, município de Macapá, AP.

Grande parte da hematologia consiste em medidas de valores de parâmetros em condições orgânicas normais e anormais. A aplicação da hematologia em pesquisa animal é bem aceita e considerada como procedimento de rotina em métodos de diagnósticos (RANZANI-PAIVA & SILVA-SOUZA, 2004).

De acordo com TAVARES-DIAS & MATAQUEIRO (2004), o estudo das características sanguíneas pode fornecer subsídios importantes para o diagnóstico e prognóstico das condições mórbidas em populações de peixes e contribuir para a compreensão da fisiologia comparativa, relação filogenética, condições alimentares e outros parâmetros ecológicos.

Segundo ALMOSNY & MONTEIRO (2006) são escassas as informações sobre hematologia de peixes e os autores ainda adotam classificações diferentes entre espécies variadas. Em peixes ósseos, três tipos de granulócitos são conhecidos como neutrófilos, granulócitos acidófilos e granulócitos azurófilos. A variação morfológica dessas células entre diferentes espécies de peixes é acentuada. Em aves, répteis, anfíbios e peixes a contagem global de células necessita de adaptação para a contagem em câmara de Neubauer, pois todas são nucleadas e devem ser observadas e contadas numa única fase.

Muitos parasitos vivem no hospedeiro sem causar-lhe danos aparentes, em processo de simbiose. Todavia, o equilíbrio pode ser quebrado por alterações do sistema ambiente-parasito-hospedeiro. (TAVARES-DIAS et al., 1999). Assim, em condições de equilíbrio não há alterações no hemograma em decorrência de parasitismo. Entretanto, quando o equilíbrio é quebrado e a carga parasitária é elevada, o peixe torna-se debilitado, apresentando grave processo anemiante, caracterizado pela redução da concentração de hemoglobina, percentual de hematócrito e número de eritrócitos ou por somente uma dessas variáveis eritrocitárias (TAVARES-DIAS & MORAES, 2004)

De acordo com MARANHO (2006) os peixes são parasitados por cerca de 10.000 espécies de diversos filos. O ambiente aquático favorece a infecção por ectoparasitos e a propagação de endoparasitos, ainda que a prevalência esteja relacionada a fatores como temperatura, qualidade de água, comportamento, condições gerais e resposta imune do hospedeiro. Dessa forma, segundo Brooks (1992), o estudo da fauna parasitária de potamotrigonídeos é importante, pois a grande maioria de seus parasitos conhecidos é restrita a esta família de peixes. Além disso, o padrão de distribuição geográfica destes parasitos é complexo, pois alguns parecem restritos a um único sistema fluvial, enquanto outros apresentam distribuição geográfica mais ampla.

2 OBJETIVOS

Avaliar o perfil hematológico, bioquímico sérico, dos hormônios tireoidianos e fauna parasitária em raias de água doce das espécies *Potamotrygon falkneri* e *P. motoro*, *Potamotrygon orbignyi* e *P. scobina*.

Comparar as avaliações entre as espécies coletadas e estabelecer valores de referencia para as mesmas.

3 REVISÃO DE LITERATURA

Hematologia é o estudo do sangue ou a soma dos conhecimentos sobre o sangue e, grande parte das informações consiste em medidas de valores de parâmetros em condições orgânicas normais e anormais. A aplicação da hematologia em pesquisa animal é bem aceita e considerada como procedimento de rotina em métodos de diagnóstico. Estabelecer e definir valores normais e mesmo decidir o que é normal constituem problemas básicos em hematologia de peixes (RANZINI-PAIVA & SILVA-SOUZA, 2004).

A padronização de exames e valores de referência ainda não foi estabelecida para elasmobrânquios, ainda que estes existam em grande número em zoológicos e aquários pelo mundo inteiro (ARNOLD, 2005).

Muitos trabalhos realizados com peixes provenientes de criações intensivas e pesque pagues tem por objetivo analisar e determinar as variáveis sangüíneas nas diferentes espécies utilizadas nesses locais bem como diferenças intra-específicas relacionada a sexo, idade e sistemas de criação (TAVARES-DIAS et al., 2002, 2003; TAVARES-DIAS & MATAQUEIRO, 2004; RANZANI-PAIVA et al., 2005; AZEVEDO et al., 2006; ZHANG et al., 2006).

Segundo HARMS et al. (2002), o tratamento de animais selvagens mantidos em cativeiro e de saúde avaliação dos mesmos animais em estado selvagem é, por vezes dificultada pela escassez de valores de referência de patologia clínica. Para animais silvestres em cativeiro, o confinamento, condições ambientais e nutrição podem resultar em valores diferentes dos selvagens.

As variáveis sanguíneas diferem com a época do ano e isso foi constatado por KRAJNOVIC-OZRETIC et al. (2001) em *Dicentrarchus labrax*, com dois anos de idade, provenientes de fazendas marinhas em que foram observadas flutuações mensais nos valores durante o ciclo sazonal dos peixes. Ao estudar o perfil sanguíneo de seis espécies de maricultura no mar Mediterrâneo, PAVLIDIS et al. (2007) constataram que os maiores valores para hematócrito foram encontrados para a única espécie herbívora avaliada e que não houve diferença quanto ao número e tipos de leucócitos

relacionados ao sexo ou estágio de crescimento, porém, algumas diferenças no diâmetro das células foram observadas.

Em seu estudo com *Cacharhinus plumbeus* ARNOLD (2005) concebeu a padronização de técnicas de contagem de células sanguíneas para elasmobrânquios comparando com a utilizada em mamíferos, sugerindo que estes testes possam começar a ser utilizados para o estabelecimento de valores de referências para peixes cartilagosos. Em estudo com 24 animais da espécie *Sphyrna tiburo*, HARMS et al. (2002) determinaram o volume globular (24%) e os valores plasmáticos para sólidos totais (6,3 g/dL), proteínas totais (2,9 g/dL), albumina (0,4 g/dL), globulinas (2,6 g/dL), relação albumina/globulina (0,14), cálcio (16,8 mg/dL), fósforo (8,8 mg/dL), uréia (1.004 mg/dL), glicose (184 mg/dL), aspartato aminotransferase (42 U/L) e creatina quinase (82 U/L).

Informações descritivas sobre o sangue periférico em tubarões-baleia foram obtidas por DOVE et al. (2010) com base em amostras coletadas de dois espécimes saudáveis do sexo feminino realizada em coleção de aquário. A morfologia dos eritrócitos foi semelhante aos de outros orectolobiformes, assim como os principais tipos de leucócitos foram semelhantes aos de outros tubarões. A população numericamente dominante foi a de linfócitos (46%), seguida pela de heterófilos (39,5%). Também foram obtidos valores dos parâmetros bioquímicos do soro.

Analisando amostras de sangue de tubarões lixa (*Ginglymostoma cirratum*) mantidos em cativeiro, NAPOLEÃO (2007) identificou, entre os leucócitos, os linfócitos, monócitos, neutrófilos, heterófilos e eosinófilos, mas não basófilos. Na bioquímica sérica foram observados os seguintes valores: albumina 0,55 g/dL, cálcio 2,55 mg/dL, fósforo 2,09 mg/dL, uréia 1313,36 mg/dL, creatinina 0,53mg/dL, ALT 1,75U/L, AST 0 U/L, colesterol 29,05mg/dL, GGT 6,68 U/L, triglicérides 29,91 mg/dL, FAL 15,96 U/L, glicose 19,46 mg/dL, ácido úrico 0,67 mg/dL. Os hormônios apresentaram as medianas: cortisol 0,16 ng/mL, T3 total 108,31 ng/dL e T4 total 0,42 µg/dL.

Em raias selvagens da espécie *Dasyatis americana*, CAIN et al. (2004) obtiveram valores médios para os seguintes parâmetros: volume globular 0,22 L/L (22%), sólidos totais 56,5 g/L (5,65 g/dl), proteínas totais 26 g/L (2,6 g/dL), sódio 315 mmol/L, potássio 4,95 mmol/L, cálcio 4,12 mmol/L (16,5 mg/dl), fósforo 1,5 mmol/L (4,7 mg/dl), uréia 444

mmol/L (1.243 mg/dL), glicose 1,69 mmol/L (30 mg/dL), aspartato aminotransferase 14,5 U/L, creatina quinase 80,5 U/L, osmolaridade 1065 mOsm/kg e lactato 3,1 mmol/L.

Ao expor raias da espécie *Urolophus jamaicensis* a diferentes concentrações de água do mar (82%, 74% e 66%), SULIKOWSKI E MAGINNISS (2001) observaram diminuição nas taxas dos íons Na e Cl (13%, 23% e 16%) e da uréia plasmática (21%, 25% e 59%). A contagem de eritrócitos diminuiu 12%, 36% e 29% respectivamente em cada diluição. Os resultados sugerem que nas diluições suaves e moderadas (82% e 74%) as raias liberam íons e uréia dos compartimentos intracelular e extracelular. Em concentração mais alta (66%), os elasmobrânquios retêm eletrólitos com liberação de uréia.

Para comparar os parâmetros hematológicos entre tubarões muito ativos (chamados de endotérmicos) e pouco ativos (ectotérmicos), EMERY (1986) utilizou alguns parâmetros que estão diretamente ligados ao transporte de oxigênio como taxa de hemoglobina e hematócrito. As espécies mais ativas tiveram valores mais altos e dentre elas o Mako (*Isurus oxyrinchus*) foi a que atingiu os maiores valores, com $14,3 \pm 2,8$ g/dL de hemoglobina e hematócrito em 40,8%. No entanto, não houve diferença relacionada ao tamanho e peso nos eritrócitos entre o grupo considerado mais ativo e o menos ativo. Mesmo resultado obtido por WILHELM FILHO et al. (1992) num estudo comparativo entre 80 espécies marinhas de peixes. Em relação especificamente aos elasmobrânquios, os valores médios determinados para as raias marinhas foram 17,9% para hematócrito, 0,75 mM hemoglobina, $0,288 \times 10^6/\mu\text{L}$ de eritrócitos, VCM 673,5 fL, CHCM 27,0 g% e HCM de 188,4 pg. As mesmas variáveis foram determinadas para tubarões e os valores encontrados são 24,8% Ht, 1,09 mM Hb, $0,403 \times 10^6/\mu\text{L}$ de eritrócitos, VCM 686,8 fL, CHCM 28,4 g/dL e HCM 185,0 pg.

CHAPMAN & RENSHAW (2009) compararam as respostas de duas espécies de tubarão à anoxia e recuperação após 12 horas e observou-se em *Hemiscyllium ocellatum* aumento do hematócrito com declínio do CHCM, um indicativo de edema de hemácias em resposta a anoxia. Em *Chiloscyllium punctatum* a resposta foi o aumento na contagem de eritrócitos, no hematócrito e na concentração de hemoglobina, o que sugere liberação de eritrócitos na corrente sanguínea em resposta a anoxia.

PACHECO et al. (2002) estudaram o desenvolvimento de granulócitos em tecidos hematopoiéticos em *Rhizoprionodon lalandii* classificando-os em três tipos diferentes e sugerindo que essa modulação da diferenciação e proliferação dessas células ocorre nesses tecidos. Para descrever as células do sangue de três espécies de tubarão carpete (*Orectolobus* sp.), OLD & HUVENEERS (2006) utilizaram a microscopia de luz e concluíram que as células sanguíneas possuem morfologia semelhante à descrita anteriormente em peixes, ou seja, possuem eritrócitos, pelo menos, três diferentes tipos morfológicos de trombócitos, linfócitos, eosinófilos, neutrófilos, granulócitos e monócitos porém basófilos não foram observados neste estudo.

METCALF & GEMMELL (2005) examinaram o plasma de diversas espécies de condrites para determinar como os ácidos graxos são transportados, uma vez que a albumina, que normalmente se liga a eles, é aparentemente ausente no plasma desses animais.

IVANC et al. (2005) sugerem caminhos para que, a partir de amostras de sangue, seja possível avaliar o nível de poluição das águas onde esses animais vivem. MASSON et al. (2002), ao compararem, em um rio da França, as concentrações plasmáticas do íon Cl^- em indivíduos da espécie *Leuciscus cephalus* habitante de uma região onde as águas do rio são contaminadas por minas de sal, com outros que ocupam região não contaminada no mesmo rio concluíram que há maior concentração do íons Cl^- nos rios mais mineralizados nos peixes estudados. Da mesma forma, ROMÃO et al. (2006) analisaram a influência das condições ambientais no perfil hematológico de duas espécies de teleósteos por meio de coletas dos espécimes em área urbana e rural e concluíram que os maiores valores foram os obtidos nos peixes coletados na área urbana.

Com o objetivo de estabelecer um novo indicador fisiológico de estresse para tubarões, VAN RINJ & REINA (2010) realizaram contagem diferencial de leucócitos em *Cephaloscyllium laticeps* e calcularam a relação entre os granulócitos (contagem combinada de heterófilos e neutrófilos) para linfócitos (relação G/L) e concluíram que mudanças na distribuição de leucócitos no sangue periférico de um tubarão causadas por linfopenia e granulocitose indicam estresse confirmando a técnica como medida útil, mas não única, de indicador relativamente rápido de estresse nesses animais. Ao

analisarem diversos parâmetros hematológicos em raias da espécie *Dasyatis americana*, provenientes de locais visitados e não visitados por turistas nas ilhas Cayman, SEMENIUK et al. (2009) observaram diferenças significativas nos valores desses parâmetros entre os dois grupos demonstrando que mesmo o turismo ecológico pode ser fator de estresse para os animais.

Com o objetivo de avaliar as possibilidades de realização de transfusões de sangue em tubarões, HADFIELD et al. (2010) realizaram o procedimento entre 19 indivíduos de sete espécies diferentes e concluíram que houve apenas reação entre os eritrócitos de *Carcharhinus plumbeus* e *Carcharias taurus* com o soro de *Ginglymostoma cirratum* e sugerem que antes de realizar tais procedimentos é necessário fazer teste cruzado de reação.

Acredita-se que hormônios da tireóide exercem função importante no crescimento, desenvolvimento e reprodução em peixes teleósteos (NORRIS, 1985), mas atualmente, pouco se sabe sobre as concentrações circulantes de 3,5,3-triiodotironina (T3) e tiroxina (T4) em tubarões (LEARY et al., 1999). A glândula tireóide em tubarões é um órgão encapsulado localizado no tecido conjuntivo frouxo entre o lado ventral do coracohial e o lado medial dos músculos coracomandibular (HOMNA et al. 1987).

MCCOMB et al. (2005) verificaram a presença e concentração de hormônios T3 e T4 no soro materno e gema durante desenvolvimento placentário em tubarões vivíparos *Sphyrna tiburo* e aumento na proporção T3/T4 na gema durante o desenvolvimento embrionário, o que sugere um possível aumento na conversão de T4 em T3 dentro gema, produção endógena nos embriões, ou absorção passiva de T3 uterina. Semelhante ao padrão observado em gema, as concentrações séricas maternas de T3 tendem a aumentar conforme o desenvolvimento da gestação.

MYLNICZENKO et al. (2006) estudando diferentes espécies de tubarões provenientes de aquários observaram que a coleta de amostras de sangue em diferentes pontos no mesmo animal, faz com que o hematócrito varie de maneira significativa e desse modo pode afetar o diagnóstico do animal a ser tratado.

Segundo KLINGERBERG (2001), todos os grupos principais de parasitos animais são encontrados nos peixes, e os peixes silvestres aparentemente saudáveis,

quase sempre portam cargas parasitárias altas e o exame dos esfregaços frescos que contém parasitos vivos muitas vezes presta-se ao diagnóstico.

Hemogregarinas (Apicomplexa: Adeleina) foram descritas primeiro em sangue de peixes marinhos por LEVERAN & MESNIL (1901) ao norte da França e têm se mostrado amplamente distribuída em peixes marinhos e de água doce (SMIT & DAVIES 1999).

São encontrados muitos estudos relacionados à fauna parasitaria em peixes (espécie parasitada, tipo de parasito, frequência, localização no corpo do animal), mas a maioria dos trabalhos é feita com animais provenientes de criações comerciais ou de “pesque-pague” e em teleósteos (MARTINS et al., 1999; TAVARES-DIAS et al., 2001, TAVARES-DIAS et al., 2004; SCHALCH; MORAES, 2005; SCHALCH et al., 2006). Embora mais raros, também são encontrados trabalhos em animais de vida livre, como as colaborações de CAMPOS et al. (2008) que pesquisaram a fauna parasitária de *Pseudoplatystoma fasciatum* do rio Aquidauana, Estado do Mato Grosso do Sul e LIZAMA et al. (2006) que estudaram a influência do parasitismo na relação hepato, esplenossomática e relação peso/comprimento e fator de condição relativo de *Prochilodus lineatus*. Em se tratando especificamente de raias de água doce, LACERDA (2007) procurou estudar a presença e a ecologia dos endoparasitos de duas espécies de *Potamotrygon* do rio Paraná e encontrou pelo menos uma espécie de parasitos em 46,8% dos espécimes de *P. falkneri* e em 57,9% dos espécimes de *P. motoro*.

Segundo ROBERTS (1978), muitos filós do reino animal têm representantes que são parasitos de peixes. O número de espécies de parasitos de peixes é medido em milhares e muitas continuam a ser descobertas e poucas são seriamente prejudiciais aos peixes. A maioria dos peixes de populações selvagens ou de cativeiro está infestada de parasitos, mas na grande maioria dos casos, nenhum dano significativo parece ser causado.

Existem mais de 2590 espécies de crustáceos parasitos de peixes. Crustáceos da subclasse Branchiura são ectoparasitos pequenos, com 2 a 3 mm de comprimento, facilmente visíveis a olho nu e muito conhecido como “piolho ou carrapato de peixe”. Todas as espécies de branquiúros conhecidas pertencem à família Argulidae e são

divididas em três gêneros, *Argulus*, *Dolops* e *Dipteropeltis*. Estas podem ser encontradas parasitando a superfície corporal, nadadeiras, boca e brânquias de várias espécies de peixes selvagens e de criação (KINKELIN et al., 1985; THATCHER, 1991; EIRAS, 1994).

Um outro foco no estudo dos parasitos é o de investigar a co-evolução entre os mesmo e seus hospedeiros, conforme proposto por CAIRA & JENSEN (2001).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material biológico

Para a realização deste estudo, raias do gênero *Potamotrygon* foram coletadas em corpos hídricos das bacias hidrográficas dos rios Paraná-Paraguai e na bacia amazônica (Licença IBAMA nº 19978-1/2009) entre os meses de outubro de 2010 e julho de 2011. Na bacia amazônica, o local escolhido para as capturas foi o rio Pírim, na localidade de São Benedito do Pacuí, município de Macapá, AP (00°45'33.4" N e 50°32'15.0"W) e na bacia dos rios Paraná-Paraguai o local de escolha foi leito do rio Paraná, na base avançada de estudos do NUPÉLIA/UEM no município de Porto Rico, PR (22°45'40.5"S e 53°19'46.2"W). As espécies estudadas são *Potamotrygon motoro*, *P.falkneri* do rio Paraná e *P.orbigny*, *P.scobina*, do rio Pírim (Figura 3).



Figura 3: Fotografias de quatro espécies de *Potamotrygon*: em A, *P.falkneri*; em B, *P.motoro*; em C, *P.orbigny* e, em D, *P.scobina*.

A espécie *Potamotrygon falkneri* foi coletada exclusivamente no rio Paraná, pois é endêmica dessa bacia, enquanto *P. orbignyi* e *P. scobina* são encontradas apenas na região amazônica. *Potamotrygon motoro* é encontrada em ambos os lugares, mas foram coletadas apenas no rio Paraná. No total foram capturadas 21 *P. falkneri*, 11 *P. motoro*, 14 *P. orbignyi* e 7 *P. scobina* totalizando 53 arraias capturadas.

4.2 Captura dos animais e coleta das amostras

Os animais foram capturados com auxílio de varas de pesca e espinhel. Após a retirada da água foram anestesiados com benzocaína (1g/15L água) para que se pudesse proceder a coleta das amostras sanguíneas. Antes todas as raias capturadas foram submetidas à biometria sendo essa etapa necessária para avaliação das massas e dos comprimentos para posterior correlação das medidas com os parâmetros avaliados. As massas foram obtidas em quilogramas e as medidas de comprimento total (CT) e largura de disco (LD) em centímetros. Foram coletados de cada animal quatro mL de sangue do vaso caudal em seringa descartável (Figura 4). Desse volume, uma parte foi transferida para tubos contendo EDTA tripotássico (10%) como anticoagulantes e destinou-se ao processamento de hemogramas. A outra parte do sangue foi transferida para tubo de coleta contendo gel separador e ativador de coágulo que, posteriormente à coagulação, foi centrifugado a 5000 rpm por sete minutos para obtenção do soro. O soro obtido foi transferido em alíquotas para microtubos (Eppendorf) e armazenamento a 20 °C negativos até o processo das análises bioquímicas.



Figura 4: Fotografia de coleta de sangue por punção do vaso caudal em *Potamotrygon* sp., município de Porto Rico, PR.

4.3 Local de realização das análises

As contagens total e diferencial de leucócitos e índices hematimétricos referentes às amostras obtidas no rio Paraná foram processados no Laboratório de Ictiopatologia da FCAV/UNESP e as amostras obtidas no rio Piririm foram processadas no Laboratório de Sanidade de Animais Aquáticos da EMBRAPA Amapá.

As análises das variáveis bioquímicas séricas e hormonais foram processadas no Laboratório Clínico Veterinário do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia.

4.4 Hemogramas

As alíquotas foram destinadas à contagem de eritrócitos, hematócrito e volume corpuscular médio (VCM), de acordo com metodologia previamente descrita (TAVARES-DIAS et al., 2002) e do trombograma e leucograma.

O volume corpuscular médio (VCM) foi calculado através da fórmula e seu resultado é expresso em fentolitros (fL):

$$\text{VCM} = \text{Ht} \times 10 / \text{RBC}$$

A hemoglobina corpuscular média (HCM) foi calculada pela equação abaixo e seu resultado é expresso em microgramas (μg):

$$\text{HCM} = \text{Hb} \times 10 / \text{RBC}$$

A concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) foi obtida através do cálculo abaixo e seu valor é expresso em gramas por decilitro (g/dL):

$$\text{CHCM} = \text{Hb} \times 100 / \text{Ht}$$

O hematócrito foi avaliado através da técnica de microhematócrito, utilizando tubo capilar com uma das extremidades fechadas e posteriormente levados à centrifuga de microhematócrito por cerca de 5 minutos em 14000 rpm e comparados com o cartão de leitura. Hemoglobina foi aferida utilizando o método Drabkin com leitura em espectrofotômetro em frequência de 540 nanômetros.

Para a contagem total e diferencial de leucócitos, trombócitos, eritroblastos totais e pesquisa de hemoparasitos, extensões sangüíneas foram confeccionadas e coradas de acordo com método previamente descrito (TAVARES-DIAS; MORAES, 2003). A identificação e nomenclatura dos leucócitos seguiu as recomendações de TAVARES-DIAS et al. (1999). A contagem de leucócitos totais e trombócitos foi realizada por métodos indiretos. Para tal, em campos similares da extensão sangüínea foram quantificados aproximadamente 2000 eritrócitos, o número de leucócitos e trombócitos. De posse desses resultados e da contagem de eritrócitos em câmara de Neubauer, para cada arraia foram realizados os seguintes cálculos:

1) Leucócitos (μL de sangue) = (número de leucócitos x contagem de eritrócitos/ μL)/ número eritrócitos na extensão sangüínea

2) Trombócitos (μL de sangue) = (número trombócitos x contagem de eritrócitos/ μL)/ número eritrócitos na extensão sanguínea

4.5 Bioquímica

As análises bioquímicas séricas foram processadas em analisador automático multicanal ChemWell[®] no Laboratório Clínico Veterinário do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia, utilizando “kits” comerciais (Labtest Diagnóstica[®]). O analisador foi previamente calibrado com Calibra H e aferido com soro controle de valor conhecido Qualitrol H (ambos produzidos pela Labtest Diagnóstica[®]). Foram determinadas nas amostras de soro as concentrações de proteína total (método do Biureto), albumina (método Verde de Bromocresol) ácido úrico (método enzimático Trinder), uréia (método Cinético enzimático UV), creatinina, (método do Picrato alcalino), triglicerídeos (método Enzimático Trinder), colesterol (método enzimático Trinder), HDL-C (método colorimétrico – Acelerador Detergente Seletivo), cálcio (método CPC – Cresolftaleína complexona), fósforo (método fosfomolibdato), relação cálcio/fósforo (calculada), CK (método Cinético UV), GGT (método Szasz modificado), AST (método Cinético UV-IFCC), ALT (método Cinético UV-IFCC), globulina (cálculo subtraindo o valor de albumina de proteínas totais), relação albumina/globulina (cálculo albumina/globulinas). As concentrações dos íons sódio, cloro e potássio foram determinadas em analisador de íons seletivo (EasyLyte Plus Analyser, Medica Corporation, Bredfor-MA, USA) e dos hormônios triiodotironina (T3) e tiroxina (T4), pelo método Enzimaimunoensaio (ELISA), em analisador automático ChemWell[®] (Awareness Technology, Inc.) utilizando kits comerciais da Interkit (Interteck – Internacional Imp. e Exp. Ltda – São Paulo – SP).

A determinação da glicemia foi realizada no momento da coleta de sangue total, utilizando-se analisador rápido para glicose “One Touch Ultra Mini™” da Johnson & Johnson Medical.

4.6 Exame parasitológico

Após biometria, 20 raias foram sacrificadas e necropsiadas segundo a técnica de rotina, investigando-se eventual presença de alterações estruturais. Para a pesquisa parasitológica foram colhidos fragmentos de brânquias, rins, fígado, baço e coração. Essas peças foram comprimidas entre lâmina e lamínula, com uma gota de solução de cloreto de sódio (0,65%) e examinadas em microscopia de luz (TAVARES-DIAS & MORAES, 2003). Para procedimentos de identificação dos parasitos utilizou-se as recomendações contidas em THATCHER (1991).

4.7 Análise Estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância ANOVA e, quando detectada diferença significativa, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas através do SAS 6.01 (Statistical Analyses System).

5 RESULTADOS

5.1 Biometria

Após submeter as raias à biometria, foram obtidos resultados exibidos na Tabela 1.

Tabela 1 – Valores médios¹ (respectivos erro padrão médio) e análise de variância para peso, comprimento total e largura de disco em *Potamotrygon falkneri*, *P. motoro* (rio Paraná), *P. orbignyi* e *P. scobina* (rio Pírim).

Espécie	Variáveis											
	Peso (kg)			C.T. (cm)			L.D. (cm)					
<i>P. falkneri</i>	2,3	±	0,3	B	55	±	2,5	B	32	±	1,7	B
<i>P. motoro</i>	1,5	±	0,2	B	51,4	±	2,1	B	30,3	±	1,2	B
<i>P. orbignyi</i>	8,26	±	0,6	A	84,1	±	3,5	A	50,2	±	1,6	A
<i>P. scobina</i>	8,18	±	1,3	A	79,8	±	10,1	A	50,8	±	3,6	A

¹ Médias seguidas de pelo menos uma letra em comum não diferem pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

² Letras maiúsculas comparam na coluna as diferentes espécies.

Pela análise da Tabela 1 é possível observar que as espécies encontradas no mesmo sistema hídrico possuem tamanhos semelhantes e a comparação da biometria das raias do rio Paraná (*P. falkneri* e *P. motoro*) com as do rio Pírim (*P. orbignyi* e *P. scobina*), demonstram diferenças significativas entre todas as medidas, sendo as coletadas no Amapá maiores que as do Paraná.

5.2 Hemograma

Os resultados dos exames hematológicos realizados nas raias encontram-se na Tabela 2.

Foram encontrados todos os tipos celulares descritos para peixes e elasmobrânquios (Figura 5). O maior valor encontrado para o número eritrócitos foi em *P. scobina* ($1,38 \pm 0,4 \times 10^5/\mu\text{L}$), seguido de *P. orbignyi* ($0,94 \pm 0,1 \times 10^5/\mu\text{L}$), sendo que, a diferença entre essas duas espécies não foi significativa. Todavia, houve diferença significativa entre *P. scobina* e *P. falkneri* ($0,84 \pm 0,1 \times 10^5/\mu\text{L}$) e *P. motoro* ($0,73 \pm 0,1 \times 10^5/\mu\text{L}$). Entre as duas espécies coletadas no rio Paraná não foi observada diferença estatística.

Em relação aos parâmetros hemoglobina, hematócrito, VCM, HCM e CHCM, não foram observadas diferenças estatísticas entre as espécies e os valores são todos próximos.

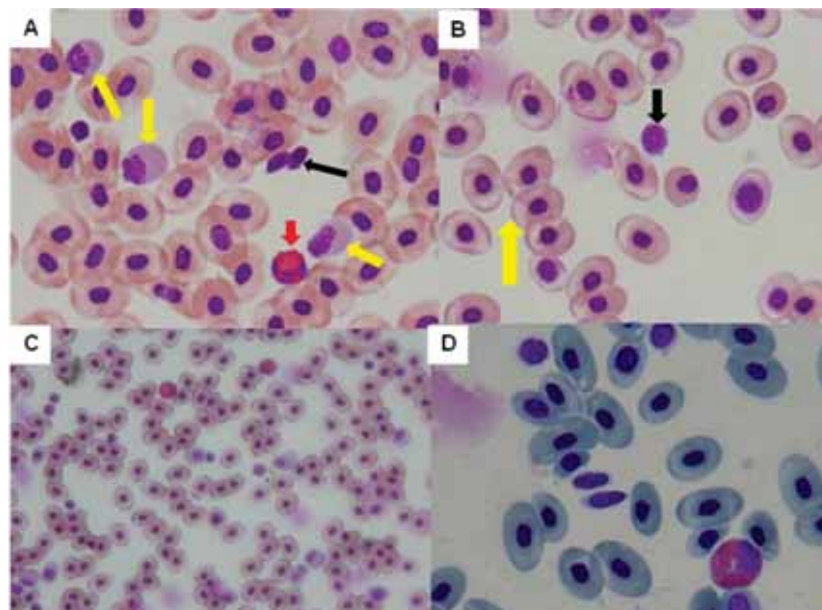


Figura 5: Fotomicrografias de sangue periférico de *Potamotrygon* sp. Em A, Neutrófilos (seta amarela), heterófilo (seta vermelha) e trombócitos (seta preta) (40x); em B, eritrócitos (seta amarela) e linfócito (seta preta) (40x); em C, Sangue em menor aumento (10x) e em D, sangue de raias corado em Panótico Rápido (40x)

Tabela 2 – Valores médios¹(respectivos erro padrão) e análise de variância das variáveis hematológicas em *Potamotrygon falkneri*, *P. motoro* (rio Paraná), *P. orbignyi* e *P. scobina* (rio Pírim)

Variáveis	ESPÉCIES							
	<i>P. falkneri</i>		<i>P. motoro</i>		<i>P. orbignyi</i>		<i>P. scobina</i>	
Hemácias (x 10 ⁵ /μL)	0,84 ± 0,10	A	0,73 ± 0,10	A	0,94 ± 0,10	AB	1,38 ± 0,40	B
Hemoglobina (g/dL)	4,31 ± 0,15	A	4,19 ± 0,40	A	4,96 ± 0,84	A	5,22 ± 1,12	A
Hematócrito (%)	21,3 ± 0,81	A	19,60 ± 1,61	A	23,10 ± 3,94	A	22 ± 4,60	A
VCM (fL)	288 ± 33,40	A	325 ± 59,40	A	267 ± 49,20	A	171 ± 32,50	A
HCM (pg)	57,1 ± 5,95	A	59,40 ± 12,90	A	54,50 ± 9,89	A	39,50 ± 5,69	A
CHCM (%)	20,8 ± 1,06	A	22,20 ± 1,94	A	21,90 ± 4,10	A	23,70 ± 2,23	A
Trombócitos (x10 ³ /μL)	1255 ± 263	A	1077 ± 492	A	1232 ± 244	A	1736 ± 583	A
Leucócitos totais (/μL)	3618 ± 399	A	2520 ± 501	A	2555 ± 447	A	2299 ± 581	A
Neutrófilos (/μL)	1892 ± 195	A	1393 ± 357	A	1985 ± 265	A	737 ± 172	A
Heterófilos (/μL)	232 ± 34	A	147 ± 35	A	782 ± 154	B	851 ± 301	B
Linfócitos (/μL)	1123 ± 411	A	718 ± 189	A	403 ± 113	A	594 ± 169	A
Monócitos (/μL)	337 ± 50	A	234 ± 76	A	150 ± 43	A	73 ± 32	A
Eosinófilos (/μL)	30 ± 13	A	20 ± 14	A	8 ± 6	A	0 ± 0	A
Basófilos (/μL)	9 ± 5	A	8 ± 5	A	43 ± 15	B	43 ± 28	B

¹Médias seguidas de pelo menos uma letra em comum não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)

²Letras maiúsculas comparam nas linhas as diferentes espécies

O leucograma não revelou diferenças significativas entre as espécies estudadas, exceto para a contagem de heterófilos e basófilos.

Em relação aos leucócitos, o mais abundante é o neutrófilo, exceto em *P.scobina*, espécie na qual o leucócito mais abundante foi o heterófilo. Por outro lado, os leucócitos mais raros em todas as espécies estudadas foram os eosinófilos e os basófilos.

Já nos heterófilos, os resultados mais elevados foram encontrados em *P. scobina* e *P.orbignyi*, que foram coletadas no rio Piririm, AP. Esses valores não diferem estatisticamente entre si, mas quando comparados aos Potamotrigonideos coletados em Porto Rico, PR, observou-se que a diferença entre os resultados é significativa. Outra célula que apresentou diferença estatisticamente significativa entre os resultados foi o basófilo. O valor máximo obtido foi em *P. orbigny* ($43,33 \pm 15/\mu\text{L}$). Aqui novamente não foi observada diferença significativa entre espécies que ocorrem no mesmo ambiente, mas sim entre as que são encontradas em ambientes diferentes.

Em se tratando dos monócitos, não houve diferença estatística entre os valores encontrados para as quatro espécies. Não foram observados eosinófilos em *P. scobina* célula que ocorreu em maior número no sangue de *P. falkneri* (Figura 5).

5.3 Bioquímica

Assim como observado no hemograma, não ocorreram diferenças significativas entre a maioria dos parâmetros bioquímicos analisados. Os parâmetros que mais chamam a atenção são glicose, colesterol e triglicerídeos (Tabela 3).

Em relação à glicose, os valores obtidos por meio de análise rápida não diferiram estatisticamente entre as espécies encontradas nos mesmos sistemas hídricos, mas, houve diferença estatística entre aquelas que habitam sistemas hídricos diferentes, sendo as maiores médias daquelas encontradas na bacia do rio Paraná-Paraguai. A maior média observada foi para *P. falkneri* e a menor foi em *P. scobina*. Em relação aos triglicerídeos e colesterol houve diferença estatística entre as espécies do Paraná em relação às espécies do Amapá. A diferença foi mais acentuada em relação ao colesterol, em que os maiores valores obtidos foram para *P. falkneri* e para *P.motero*

enquanto que em *P. orbigny* e *P. scobina* as taxas de colesterol ficaram bem abaixo desses valores. Embora tenha sido observada diferença estatística para os triglicérides, esta só ocorreu entre as espécies *P. falkneri* e *P. orbigny*. O HDL-C, parâmetro também relacionado ao metabolismo de lipídeos não acompanhou a tendência dos outros dois e não houve diferença significativa entre as espécies, embora os maiores índices tenham sido encontrados em *P. orbigny* e *P. scobina*, respectivamente.

Ainda em relação à Tabela 3, observa-se que todas as espécies apresentaram uréia no sangue, sendo que a espécie com o valor mais alto é *P. orbigny* e a com valor mais baixo é *P. scobina*, mas ainda assim, todos muito próximos e sem diferença estatística significativa. O mesmo foi observado em relação ao ácido úrico, pois os valores são próximos e não há diferença estatisticamente significativa entre as espécies. Creatinina, proteínas totais, também não apresentaram diferenças significativas entre as espécies e nem valores que destoam dos demais, além de serem semelhantes se compararmos apenas entre as espécies que habitam o mesmo ambiente. A albumina variou significativamente entre as espécies e os resultados demonstram que essa proteína sanguínea aparece em pouca quantidade nos sangue dos elasmobrânquios.

Tabela 3 – Valores médios¹(respectivos erro padrão) e análise de variância das proteínas e metabólitos sanguíneos em *Potamotrygon falkneri*, *P. motoro* (rio Paraná), *P. orbignyi* e *P. scobina* (rio Piririm)

Variáveis	ESPÉCIES											
	<i>P. falkneri</i>		<i>P. motoro</i>		<i>P. orbignyi</i>		<i>P. scobina</i>					
Proteína total (g/dL)	3,00	± 0,14	A	3,00	± 0,21	A	2	± 0,26	A	2	± 0,21	A
Albumina (g/dL)	0,40	± 0,03	A	0,47	± 0,07	A	0,22	± 0,04	B	0,18	± 0,06	B
Globulinas (g/dL)	2,22	± 0,20	A	2,15	± 0,20	A	1,66	± 0,30	A	1,53	± 0,20	A
Relação A:G	0,20	± 0,03	A	0,20	± 0,04	A	0,30	± 0,21	A	0,10	± 0,06	A
Glicose (mg/dL)	66,9	± 3,73	A	61,80	± 6,76	AB	44	± 8,04	B	39	± 6,55	B
Ácido úrico (mg/dL)	0,88	± 0,30	A	0,51	± 0,10	A	1,35	± 0,60	A	1,34	± 0,90	A
Creatinina (mg/dL)	0,40	± 0,03	A	0,42	± 0,04	A	0,36	± 0,03	A	0,32	± 0,06	A
Uréia (mg/dL)	29,0	± 3,16	A	30,10	± 3,17	A	38,30	± 17,60	A	24,10	± 4,61	A
Colesterol total (mg/dL)	88,7	± 6,47	A	74,20	± 8,81	A	34,60	± 6,52	B	21,80	± 6,67	B
Triglicérides (mg/dL)	66,7	± 4,47	A	52,40	± 7,14	AB	38,80	± 17,60	B	37,50	± 4,61	B
HDL-C (mg/dL)	8,39	± 1,37	A	9,14	± 1,80	A	8,15	± 2,45	A	9,71	± 2,74	A

¹Médias seguidas de pelo menos uma letra em comum não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)

²Letras maiúsculas comparam nas linhas as diferentes espécies

A creatinoquinase (CK) (Tabela 4), uma enzima que desempenha importante papel na geração de energia para o metabolismo muscular, apesar de não haver diferença estatística entre as espécies, os valores são bastante distintos e alguns deles mais elevados. A gama glutamil transferase (GGT) enzima fisiologicamente envolvida na síntese protéica não houve diferença significativa entre as médias obtidas entre as quatro espécies de *Potamotrygon*. Embora não tenham sido observadas diferenças significativas, os valores de fosfatase alcalina (FA) foram menores nas espécies do rio Píririm em relação às do rio Paraná.

Em relação aos parâmetros cálcio, relação cálcio/fósforo, globulina e relação albumina/globulina, AST e ALT, não foi observada diferenças significativa entre as espécies estudadas.

Na Tabela 4 estão expressos os valores obtidos para os íons Na⁺, K⁺ e Cl⁻ através de sua análise da tabela verifica-se que os valores encontrados para o íon sódio são próximos para as quatro espécies sendo os mais altos observados nos animais capturados no rio Paraná. Dentre as quatro espécies o maior resultado foi o obtido em *P.falkneri* e o mais baixo em *P. scobina*. Da mesma maneira, o potássio também teve os seus valores mais altos obtidos nas espécies do rio Paraná e no comparativo entre todas as espécies capturadas, o índice mais alto foi novamente em *P. falkneri*. O resultado encontrado para o íon cloro também acompanhou os demais e teve seus maiores índices nas duas espécies do rio Paraná, mas com valores muito próximos entres as quatro espécies estudadas. O maior valor dessa vez foi observado em *P. motoro*. Também existe diferença significativa quanto ao fósforo entre *P. falkneri*, *P. motoro* em relação a *P.scobina*.

A última análise obtida com o soro das raias foi a dos hormônios da T3 e T4 da tireóide. Após leitura das amostras em analisador multicanal as médias para o T3 foram de $1,76 \pm 0,49$ ng/ml em *Potamotrygon falkneri*, $1,77 \pm 0,52$ ng/ml para *P. motoro*, $2,04 \pm 0,35$ ng/ml para *P. orbigny* e $1,57 \pm 0,63$ ng/ml para *P. scobina*. As medias para o hormônio T4 foram de $2,10 \pm 1,25$ µg/dl, $2,11 \pm 1,13$ µg/dl, $2,48 \pm 1,59$ µg/dl e $2,27 \pm 0,78$ µg/dl para *Potamotrygon falkneri*, *P. motoro*, *P. orbigny* e *P. scobina* respectivamente.

Tabela 4 – Valores médios¹(respectivos erro padrão) e análise de variância dos minerais, enzimas séricas e hormônios da tireóide em *Potamotrygon falkneri*, *P. motoro* (rio Paraná), *P. orbignyi* e *P. scobina* (rio Pírim)

Variáveis	ESPÉCIES															
	<i>P. falkneri</i>				<i>P. motoro</i>				<i>P. orbignyi</i>				<i>P. scobina</i>			
Cálcio (mg/dL)	9,54	±	0,67	A	9,51	±	1,03	A	8,15	±	1,23	AB	9,71	±	2,27	B
Fósforo (mg/dL)	8,47	±	0,60	B	9,15	±	0,70	B	8,14	±	1,30	AB	8,48	±	2,30	A
Relação Ca ⁺ :P	0,98	±	0,10	A	0,93	±	0,15	A	1,21	±	0,18	A	1,32	±	0,24	A
Sódio (mmol/L)	174,70	±	20,75	A	173,50	±	16,45	A	164,70	±	19,64	A	156,10	±	31,65	A
Potássio (mmol/L)	14,90	±	13,10	A	10,10	±	11,60	A	6,04	±	1,13	B	8,02	±	3,70	AB
Cloreto (mmol/L)	157,70	±	17,93	A	159	±	14,56	A	154,90	±	9,80	A	150,90	±	32,59	A
AST (U/L)	119	±	11,70	A	111	±	36,70	A	68	±	13,00	A	79,	±	20,40	A
ALT (U/L)	18	±	2,29	A	25	±	5,27	A	13	±	2,85	A	19	±	8,65	A
FA (U/L)	116	±	17,50	A	124	±	16,90	A	77	±	11,40	A	32	±	6,67	A
GGT (U/L)	8,23	±	0,96	A	9,19	±	2,52	A	8,01	±	1,74	B	9,90	±	2,05	B
CK (U/L)	3593	±	1132	A	904	±	363	A	7248	±	2755	A	1670	±	778	A
T3 (ng/mL)	1,76	±	0,49	A	1,77	±	0,52	A	2,04	±	0,35	A	1,57	±	0,63	A
T4 (µg/mL)	2,10	±	1,25	A	2,11	±	1,13	A	2,48	±	1,59	A	2,27	±	0,78	A

¹Médias seguidas de pelo menos uma letra em comum não diferem pelo teste de Tukey (P>0,05)

²Letras maiúsculas comparam nas linhas as diferentes espécies

5.4 Parasitos

Das 53 raias capturadas nesse estudo, isolou-se o crustáceo do gênero *Dolops* em 5,66% delas. Não foi observado o crustáceo nas espécies *P. falkneri* e *P. motoro*. Todos os parasitos foram encontrados nas raias capturadas no rio Pírim.

Ao fazer a análise das estensões sanguíneas na busca de hemoparasitos, foi encontrado o protozoário conhecido como *Haemogregarina* sp., parasito intracelular de eritrócitos, em 33,96% do total. Todos os hemoparasitos foram observados nas raias do rio Pírim (figura 6).

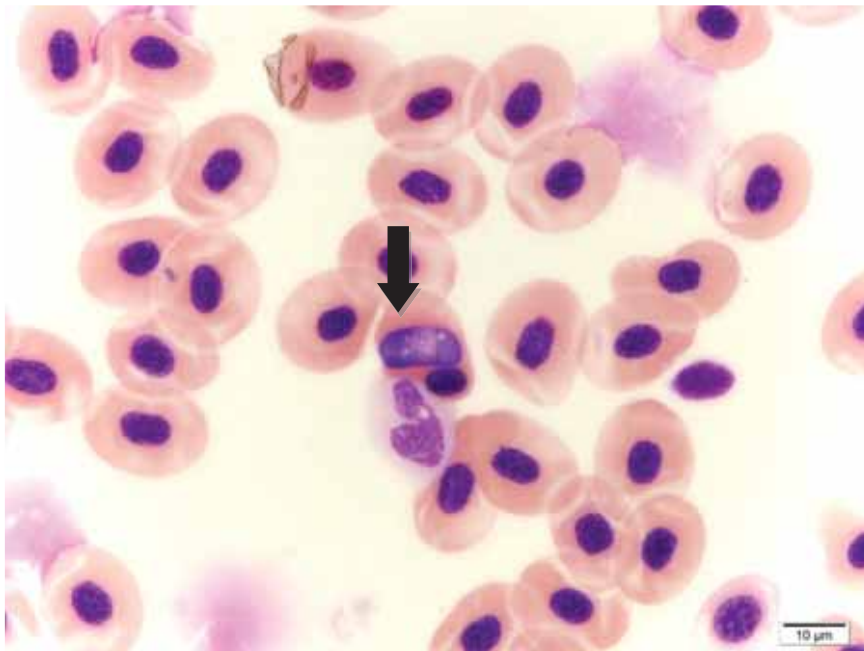


Figura 6: fotomicrografia do esfregaço sanguíneo de *P. orbigny* mostrando um gametócito de hemogregarina no interior do eritrócito (seta), coloração MGG (May Grünwald e Giemsa) e aumento de 40x.

Foram sacrificados vinte espécimes de raias das quatro espécies e delas foram coletados fragmentos de brânquias, baço, fígado, rins e coração. Todos os fragmentos foram analisados a microscopia de luz conforme metodologia previamente descrita e não foi observado nenhum parasito nos órgãos coletados desses animais.

6 DISCUSSÃO

6.1 Hemograma

Comparando os resultados encontrados em *Potamotrygon* sp. com o obtido por CHAPMAN & RENSHAW (2009) sobre resposta a anóxia em duas espécies de tubarão (*Chiloscyllium punctatum* e *Hemiscyllium ocellatum*), verifica-se que o intervalo estabelecido para o hematócrito nas duas espécies estudadas é compatível com o encontrado para as quatro espécies de *Potamotrygon*, mas não os de hemoglobina e eritrócitos, que foram mais altos nos tubarões que nas raias. Essa diferença pode ser explicada pelo fato de que tubarões são animais caçadores e estão sempre em movimento e por isso demandam maior quantidade de oxigênio para os músculos, enquanto as raias são animais de fundo, de espera e nado mais lento.

Os valores encontrados em *Potamotrygon falkneri*, *P. motoro*, *P. orbignyi* e *P. scobina* foram próximos aos obtidos por MYLNICZENKO et al. (2006) ao estudarem as diferenças nos valores do hematócrito obtidos a partir de punção de dois locais diferentes em sete espécies de tubarões e obtiveram valores semelhantes aos encontrados em *Potamotrygon* sp. a exceção do determinado para *Carcharhinus melanopterus* e *Carcharhinus limbatus*, ambos acima de 30%, contudo, nas raias as punções foram realizadas no vaso caudal e entre as poucas amostras obtidas por punção cardíaca não houve diferença significativa. COOPER e MORRIS (1998) realizaram estudo semelhante, ao avaliar os efeitos da canulação do vaso caudal em *Heterodontus portusjacksoni* para determinarem os valores de hematócrito, hemoglobina, eritrócitos, VCM e CHCM. O valor encontrado para o hematócrito foi compatível com o observado para as raias, mas a contagem de eritrócitos, VCM e CHCM em *Heterodontus portusjacksoni* foram mais elevados e o valor determinado para hemoglobina foi inferior.

Apesar de serem inferiores, os valores observados para hematócrito e hemoglobina nas quatro espécies de potamotrigonídeos utilizadas nesse experimento são próximos aos obtidos por JOHANSSON-SJOBECK e STEVENS (1976) em

Prionace glauca sendo 22,3% e 5,7 g/dL respectivamente e ao hematócrito determinado por DOVE et al. (2010) para *Rhincodon typus*.

Ao confrontarmos os resultados obtidos em *Potamotrygon* sp. com os encontrados por EMERY (1986) observa-se semelhança com os resultados dos peixes considerados pouco ativos, o que demonstra que os Potamotrigonídeos podem ser considerados um grupo de baixa atividade dentre os elasmobrânquios, o que é aceitável, uma vez que essas raias passam a maior parte do tempo no fundo dos rios e lagoas das bacias onde são encontradas.

A contagem de eritrócitos nas quatro espécies de raias foi bem inferior às observadas por STOSKOPF (1993) em *Carcharhinus plumbeus*, *Negaprion brevirostris* e *Ginglymostoma cirratum*, porém, os valores do hematócrito e hemoglobina foram muito próximos, assim como descrito por NAPOLEÃO (2007) em *Ginglymostoma cirratum* cativos. Os valores das contagens de eritrócitos em *Carcharhinus plumbeus*, *Negaprion brevirostris* e *Ginglymostoma cirratum*, segundo STOSKOPF (1993) foram respectivamente $0,532 \times 10^6/\mu\text{L}$, $0,665 \times 10^6/\mu\text{L}$ e $0,336 \times 10^6/\mu\text{L}$ e o hematócrito e a hemoglobina para as três espécies foi respectivamente 19,8%, 20%, 10,3% e abaixo de 4 g/dL, 5,3 g/dL e 4 g/dL. A exceção foi o hematócrito determinado para *Ginglymostoma cirratum* que ficou bem abaixo dos demais. Resultado semelhante ao obtido por TORRES et al. (1986) com *Squalus acanthias* cujo o hematócrito é 18,7% e hemoglobina 4,8 g/dL.

Em uma tentativa de padronização de técnicas de contagem para elasmobrânquios, ARNOLD, 2005 determinou valores hematimétricos para *Carcharhinus plumbeus* utilizando três metodologias diferentes. Em todas os valores encontrados foram superiores aos obtidos para *Potamotrygon* sp. exceto o hematócrito que, no tubarão, ficou abaixo dos valores para as quatro espécies de *Potamotrygon*.

No geral observa-se que nas raias do gênero *Potamotrygon* os índices hematimétricos, as contagens de eritrócitos e do total de leucócitos ficaram bem abaixo dos demais elasmobrânquios. Apenas quando se comparam os níveis de hemoglobina e hematócrito que os valores são próximos. Isso deve ocorrer pelo fato dos potamotrigonídeos passarem a maior parte do tempo no fundo dos corpos hídricos onde habitam e por isso o seu metabolismo é mais lento.

Raros são os estudos específicos sobre hematologia de raias, mas SEMENIUK et al. (2009) avaliaram efeitos do estresse sobre os parâmetros hematológicos em *Dasyatis americana*, provenientes de locais visitados e não visitados por turistas nas ilhas Cayman. Observaram diferenças significativas entre os dois grupos demonstrando que mesmo o turismo ecológico pode ser fator de estresse para os animais. Em ambos os grupos o hematócrito foi sensivelmente mais alto do que nas raias de água doce assim como a contagem total de leucócitos e na contagem diferencial foram observados os mesmos tipos celulares. O fato de habitarem ambientes diferentes, onde a presença humana é intensa são fatores que podem estar relacionados a diferença observada entre as duas espécies.

Buscando avaliar possíveis alterações nos parâmetros hematológicos de *Potamotrygon cf. histrix* (raia cururu) decorrentes de estresse de transporte, BRINN et al. (2011) coletaram o sangue desses animais no momento da captura e determinaram o hematócrito ($22,61 \pm 0,89\%$), eritrócitos ($0,39 \pm 0,03 \times 10^6 / \mu\text{L}$) e VCM ($588,1 \pm 39,13 \text{ fL}$). O hematócrito encontrado para raia cururu está na faixa observada nas outras *Potamotrygon*, porém tanto os valores de eritrócitos quanto os do VCM em *P. histrix* são mais elevados.

Ao comparar os índices hematimétricos de *Potamotrygon falkneri*, *P. motoro*, *P. orbigny* e *P. scobina* com *Potamotrygon* sp. aclimatadas ao ambiente salino por GERST e THORSON (1977) observa-se que os valores para as quatro espécies de potamotrigonídeos desse estudo são superiores aos animais que foram adaptados à água salgada. Este efeito pode ser justificado pela resposta ao estresse ocorrido devido a alta salinidade, uma vez que esses animais perderam sua capacidade de adaptação devido a atrofia de sua glandula retal, responsável por osmorregulação.

A hemoglobina em *Potamotrygon* foi mais alta do que em todas as espécies de raias marinhas estudadas por WILHELM FILHO et al. (1992), porém a contagem de eritrócitos, VCM, HCM e CHCM das raias de água doce foram inferiores. O hematócrito das quatro espécies de *Potamotrygon* é compatível com *Dasyatis guttata*, *Sympterygia acuta* e *Zapteryx brevirostris*. No entanto, os índices das *Potamotrygon* ficaram acima das demais espécies de raias que compõem o comparativo e foi inferior apenas ao índice determinado para *Rhinoptera bonasus*.

Foram encontrados todos os tipos de leucócitos descritos para peixes em *Potamotrygon* sp., inclusive os basófilos. O tipo celular mais abundante nas raias foram os neutrófilos e os heterófilos e o único tipo celular não encontrado foi o eosinófilo. Apenas em *P. scobina* diferente do descrito por OLD e HUVENEERS (2006) que, utilizando a microscopia de luz concluíram que as células sanguíneas do tubarão *Orectolobus* possuem morfologia semelhante à descrita anteriormente em peixes. Ou seja, possuem eritrócitos nucleados e pelo menos, três diferentes tipos morfológicos de trombócitos, linfócitos, eosinófilos, neutrófilos, granulócitos e monócitos, não observando basófilos, assim como descrito por TAVARES-DIAS et al. 2002 em jundiá e NAPOLEÃO (2007) em tubarão-lixo. Assim como em *P. scobina*, o tipo celular mais abundante em *Carcharhinus plumbeus* e *Ginglymostoma cirratum* foi o heterófilo (STOSKOPF, 1993).

Diferente do encontrado nas quatro espécies de *Potamotrygon* estudadas, onde o leucócito mais abundante foram os neutrófilos e heterófilos, em pesquisas com sangue de tubarões baleia (*Rhincodon typus*) de aquário (DOVE et al., 2010) e com *Carcharhinus plumbeus* (ARNOLD, 2005) foi observado que os leucócitos mais abundantes nesses animais foram os linfócitos enquanto que, os menos observados foram os neutrófilos.

De acordo com CAMPBELL (2006), os neutrófilos e heterófilos dos elasmobranquios compartilham algumas características morfológicas e citoquímicas com os eosinófilos de mamíferos e nem todas as espécies apresentam todos os leucócitos identificados. Cita o exemplo de que em raias *Raja clavata* e *Raja microcellata* somente são encontrados neutrófilos, heterófilos e ocasionalmente basófilos no sangue periférico dos elasmobranquios, assim como o ocorrido em *Potamotrygon* sp. Estes resultados diferem do observado para raias do mesmo gênero, mas de espécie diferente, onde ARAGORT (2005) detectaram linfócitos (43%), eosinófilos (35%), neutrófilos (20%) e monócitos (2%).

6.2 Bioquímica

Comparando os valores encontrados em *Potamotrygon* sp. com os resultados obtidos por HARMS et al. (2002) em tubarões martelos *Sphyrna tiburo*, a conclusão é que alguns valores foram semelhantes aos encontrados para *Potamotrygon*. Porém, glicose, o sódio e o cloro foram mais elevados para tubarão martelo e o potássio mais elevado nas raias, exceto em *P. orbignyi*. Os níveis de uréia também foram mais altos em *Sphyrna tiburo*, o que pode ser explicado pelo fato de *Potamotrygon* ter a sua glândula retal atrofiada e dessa forma, estar totalmente adaptado ao ambiente dulcícola.

Os valores de uréia, sódio e cloro obtidos em *P. falkneri*, *P. motoro*, *P. orbignyi* e *P. scobina* foram superiores aos encontrados por GERST & THORSON (1977) num estudo visando observar os efeitos da aclimação salina em *Potamotrygon* sp. quando seus animais foram mantidos em água doce e posteriormente transferidos para água salgada, os índices de sódio e cloro subiram para valores mais elevados dos que o observado nesse estudo, com exceção da uréia, que se manteve baixa tanto nas *Potamotrygon* sp. mantidas em água doce quanto em água salgada.

Em levantamento feito por STOSKOPF (1993) com diversas espécies de tubarões, os níveis de uréia foram mais elevados do que em *Potamotrygon falkneri*, *P. motoro*, *P. orbignyi* e *P. scobina*, o que já era esperado. As taxas de ácido úrico foram semelhantes na comparação entre as quatro espécies de *Potamotrygon* com exceção de cação lixa, que foi inferior. Creatinina, proteínas totais, albumina e globulina foram todos próximos, exceto em tubarão-tigre, cujos valores de proteínas totais e globulinas foram mais elevados. Os valores do colesterol para *Potamotrygon falkneri* e *P. motoro* foram próximos aos dos tubarões, mas *P. orbignyi* e *P. scobina* tiveram os valores abaixo das demais espécies, sendo apenas superiores aos observados em *Carcharhinus obscurus*. A glicemia de *Potamotrygon falkneri* e *P. motoro* teve valores intermediários em relação ao levantamento feito com os tubarões. Mas em *P. orbignyi* e *P. scobina* esses valores foram inferiores aos da maioria dos elasmobrânquios pesquisados, sendo superiores apenas ao cação-lixia. Em relação aos íons sódio, cloro e cálcio, os resultados obtidos para as quatro espécies de *Potamotrygon* foram

inferiores aos observados por STOSKOPF (1993) nos tubarões enquanto o potássio e o fósforo foram mais elevados nas raias.

Os parâmetros bioquímicos em *Potamotrygon* são mais elevados que os encontrados por CAIN et al. (2004) em raias selvagens da espécie *Dasyatis americana*, exceto glicose, que em *Dasyatis americana* é mais alta, assim como sódio e uréia.

Comparando os dados de bioquímica sanguínea obtidos com *Potamotrygon* sp. com os encontrado por NAPOLEÃO (2007) em tubarões-lixia de aquário, observa-se que em *P. falkneri* e em *P. motoro* os valores para albumina foram semelhantes, mas superiores aos encontrados para *P. orbignyi* e *P. scobina*. O cálcio e o fósforo foram inferiores em cação-lixia, a creatinina foi superior a obtida em *P. scobina* e nas demais espécies de *Potamotrygon* os valores foram próximos.

O colesterol, triglicérides, fosfatase alcalina e glicose em *Potamotrygon* sp. são mais elevados que em cação-lixia. A GGT é similar ao obtido em *P. orbignyi*, mas inferior às demais espécies de *Potamotrygon*. O ácido úrico do cação-lixia é inferior ao observado em *P. falkneri* e *P. scobina*, todavia é superior aos de *P. motoro* e *P. orbignyi*.

As concentrações de glicose e uréia em *Potamotrygon falkneri*, *P. motoro*, *P. orbignyi* e *P. scobina* são superiores as determinadas para raias cururu (*Potamotrygon* cf. *hystrix*) por BRINN et al. (2011) que obtiveram $29,72 \pm 1,08$ mg/dL para glicose e $0,42 \pm 0,08$ mg/dL de uréia respectivamente. Essas diferenças podem ser atribuídas aos métodos utilizados para a obtenção desses dados, pois são espécies de hábitos e habitat semelhantes.

Confrontando os dados descritos nessa pesquisa com os publicados por BALLANTYNE & ROBINSON (2010) em sua revisão sobre fisiologia e bioquímica de elasmobrânquios, observa-se que os valores encontrados por esses autores para a uréia foram mais elevados, inclusive em outras raias de água doce (gênero *Dasyatis*) que não pertencentes à família Potamotrygonidae. Isso ocorre devido à supressão da glândula retal nessa família. Os autores também pesquisaram a concentração de uréia em outras espécies de *Potamotrygon* e os valores encontrados foram bem inferiores (*P. hystrix* 1,9 g/dL e *P. magdalenae* 1,98 g/dL). Ainda nessa revisão, os valores relatados para sódio e cloro também foram mais elevados nos elasmobrânquios marinhos, sendo

os mais altos em *Dasyatis americana* e muito próximos em *Potamotrygon*. Em relação ao íon potássio os valores para todas as espécies de elasmobrânquios utilizadas na revisão foram próximos. A concentração do íon cálcio foi mais elevada nas quatro espécies de *Potamotrygon* dessa pesquisa do que em todas as espécies da revisão, inclusive a *P. magdalenae*, cujo valor é 3,0 mg/dl. A glicose também foi avaliada na revisão e foi mais alta em *Potamotrygon*, *falkneri*, *P. motoro*, *P. orbignyi* e *P. scobina* do que em *Potamotrygon sp.*, *Squalus acanthias*, *Scyliorhinus canícula* e da raia da espécie *Dasyatis americana*. A uréia baixa é explicada pelo fato dos potamotrigonídeos possuírem glândula retal atrofiada por sua total adaptação ao ambiente dulcícola. A diferença entre os valores de sódio e cloro pode ser explicada por sua utilização no equilíbrio osmótico desses animais, muito diferente no ambiente salino em relação à água doce.

Tiroxina (T4) e triiodotironina (T3), são os principais hormônios da tireóide secretados pelo eixo hipotálamo-hipófise-tireóide e produzem uma infinidade de ações fisiológicas nos peixes. As diversas ações dos hormônios da tireóide em peixes ocorrem principalmente devido à sensibilidade do eixo da tireóide a muitos fatores físicos, químicos e biológicos de origem intrínseca e extrínseca (PETER, 2011).

Em *Potamotrygon sp.* os valores obtidos para o T4 estão próximos aos determinados por MESA et al. (2010) em lampreias do pacífico (*Entosphenus tridentatus*) e sua concentração não sofreu variação significativa entre as coletas assim como o T3. Entretanto, nas lampreias a concentração de T4 no plasma variou entre 0,75 e 2,5 ng / mL no outono e inverno, e entre 3-4 ng /mL entre abril ou maio. O T3 plasmático foi indetectável de novembro a meados de março, e subiu dramaticamente em abril, atingindo 150 ng / mL e diminuir depois disso.

As concentrações de T3 em *Potamotrygon sp.* foram superiores às obtidas em jovens tubarões *Triaenodon obesus* através de radioimunoensaio mantidos em aquário por CROW et al. (1999). As concentrações séricas de T3 variaram de 0,52 a 0,83 ng/mL (0,67 ± 0,01; n = 64) sem variação sazonal. Porém, o T4 dos tubarões jovens foi mais elevado que em *Potamotrygon sp.* e ainda apresentando uma diferença significativa sazonal (P <0,001), sendo maior no inverno (outubro-janeiro) com média de 6,58 ng / mL (1,48-8,77 ± 0,35 ng/mL), n = 24) e menor no verão (maio-agosto), com média de

3,62 ng / mL (1,34-5,71 \pm 0,22, n = 24). O hormônio tireoidiano T4 tem ritmo sazonal, mesmo em tubarões imaturos e podem ter um papel importante na fisiologia. Nas raias não houve variação nos valores obtidos nas diferentes coletas, o que não significa que esses hormônios também não desempenhem importante papel na fisiologia dos potamotrigonídeos.

Os valores para T3 obtidos em *Potamotrygon* sp são muito próximos aos definidos por VOLKOFF et al. (1999) em de raias do Atlântico *Dasyatis sabina* , mas os valores para T4 observados nas raias do Atlântico são inferiores aos das raias de água doce. Ao examinar o soro de *Dasyatis sabina* através da técnica ELISA, os pesquisadores determinaram as concentrações dos hormônios T3 e T4 para esta espécie. Os níveis variaram entre 1,3 - 2,6 mg/100 ml de T4 total, e de 1,2 - 2,6 ng / ml para o T3 total. Como visto anteriormente, é possível que o T4 possua uma importante função em relação a sazonalidade, mas que não foi detectada em *Potamotrygon* sp.

6.3 Parasitos

Apesar de não terem sido observados endoparasitos nas raias do gênero *Potamotrygon* nesse estudo, as parasitoses são uma das maiores causas de perdas nas pisciculturas industrial ou esportiva, sendo sua maior relevância no neotrópico pelas características climáticas pertinentes à região, as quais propiciam sua rápida e constante propagação (THATCHER & BRITES NETO, 1994).

A crença de que elasmobrânquios, especialmente os tubarões, não estão sujeitos a enfermidades e doenças está longe de ser correta (CHEUNG, 1993). Foi relatada a presença de *Haemogregarina delagei* em três espécies de raias californianas (LOVE; MOSER, 1976) e em *Squalus acanthias* proveniente de New Brunswick (LAIRD & BULLOCK, 1969). Segundo KHAN (1972), as células infectadas são hipertrofiadas e com formato distorcido, tem o núcleo deslocado e desfigurado que pode vir a se desintegrar, assim como o observado nos eritrócitos de *Potamotrygon orbignyi* e *P. scobina* parasitados pela hemogregarina.

Foram analisadas 132 extensões sanguíneas de raias do gênero *Raja* e dessas, 17% estavam contaminadas por *Haemogregarina delagei* e 5% estavam contaminadas

pela hemogregarina e por outro hemoparasito (ARAGORT et al. 2005), diferente do encontrado em *Potamotrygon*, onde a incidência foi maior e foi observado apenas uma espécie de hemoparasito.

Estudando tubarões da espécie *Hemiscyllium ocellatum* da Grande Barreira de Coral, na Austrália, MCKIERNAN et al. (2005) determinaram uma taxa de prevalência de 6,7% para *Haemogregarina hemiscyllii*, o que consideraram baixa. Já a incidência de *Haemogregarina* em *Potamotrygon* sp. foi mais alta, o que pode ser atribuído ao ambiente onde as raias vivem e ao contato entre as raias e os vetores responsáveis pela transmissão do hemoparasito.

Analisando amostras de sangue de peixes capturados na África do Sul, SMIT e DAVIES (1999) encontraram *Haemogregarina bigemina* em 76,1% dos peixes estudados.

Classificados como ectoparasitos, os crustáceos branquiúros da espécie *Dolops carvalhoi* parasitam o tegumento, nadadeiras, boca e brânquias de várias espécies de peixes silvestres e cultivados (EIRAS, 1994; PAVANELLI et al, 2002). Em *Potamotrygon* sp. esses parasitos foram observados somente no dorso e ventre e em apenas 5,66% do total, não estando localizados em nenhuma outra área do corpo dos animais e não houve diferença significativa entre seus parâmetros hematológicos e bioquímicos em relação aos que não estavam parasitados. Este fato difere do observado por TAVARES-DIAS et al. (2007) que monitorando diversos parâmetros sanguíneos em híbridos tambacu (*Piaractus mesopotamicus* x *Colossoma macropomum*) relataram redução do hematócrito e aumento de glicose, proteínas séricas, sódio, cloro e monócitos quando comparados ao controle e que mesmo a menor infecção pode causar distúrbios osmóticos no hospedeiro.

LACERDA, 2007 realizou um estudo objetivando fazer o levantamento taxonômico da fauna endoparasitária de *Potamotrygon falkneri* e *P. motoro* da planície de inundação do alto rio Paraná. Das 47 espécimes de *P. falkneri*, 22 estavam parasitados por pelo menos uma espécie de endoparasito (46,8%) e, de 19 de *P. motoro* analisados, 11 estavam parasitados (57,9%). No total, foram encontradas três espécies de Digenea, cinco de Cestoda, quatro de Nematoda e uma de Acanthocephala. De uma maneira diferente, as coletas nesses estudos foram

realizadas por período maior e durante dois anos seguidos, mas a metodologia para a obtenção e observação dos parasitos foi a mesma.

Em trabalho semelhante com *Pseudoplatystoma fasciatum*, CAMPOS et al. (2008) afirmaram que dos 34 espécimes capturados, todos os indivíduos amostrados encontravam-se parasitados. Dezenove espécies de parasitos foram identificadas, sendo sete cestodas proteocefalídeos, três monogêneas, um digenea, três nematodas, um acantocéfalo, um crustáceo, um pentastomídeo e duas espécies de mixosporídeos. Os monogêneas foram os helmintos que apresentaram maior prevalência (100%), seguidos pelos cestodas (91,18%) e nematodas (58,82%).

Em todos os estudos realizados com parasitos nota-se a importância da observação e coleta de material por períodos mais longos, de três a cinco anos para que se estabeleça a sazonalidade de ocorrência dos agentes.

7 CONCLUSÕES

Os valores da maioria dos parâmetros hematológicos e bioquímicos séricos estudados foram próximos entre as raias do rio Paraná e as do rio Piririm, demonstrando pouca interferência do ambiente na fisiologia desses animais apesar da diversidade geográfica de origem.

As raias examinadas apresentaram baixa infestação parasitária sendo mais frequente a presença de *Haemogregarina* sp.

8 REFERÊNCIAS

- ALMEIDA M. P. **Pesca, policromatismo e aspectos sistemáticos de *Potamotrygon scobina*, Garman 1913 (Chondrichthyes: Potamotrygonidae) da região da ilha de colares da ilha de Marajó.** 2003 (Dissertação) Mestrado Universidade Federal do Pará & Museu Paraense Emílio Goeldi - Belem do Pará, PA 2003
- ALMONSNY, N. R. P.; MONTEIRO, A. O. Patologia clínica. IN: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens.** São Paulo: Roca, 2006, cap 59, p. 939-966.
- ARAGORT, W.; ALVAREZ, M. F.; LEIRO, J. L.; SANMARTÍN, M. L. Blood protozoans in elasmobranchs of the family Rajidae from Galicia (NW Spain). **Diseases of Aquatic Organisms.** v. 65, n. 1, p. 63-68, 2005.
- ARAÚJO M. L. G. **Biologia reprodutiva e pesca de *Potamotrygon sp. C* (Chondrichthyes -Potamotrygonidae), no médio rio Negro,** Amazonas. 1998 (Dissertação) Mestrado, Universidade Federal do Amazonas - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – Manaus, AM. 1998.
- AZEVEDO, T. M. P.; MARTINS, M. L.; YAMASHITA, M. M.; FRANCISCO C. J. Hematologia de *Oreochromis Niloticus*: comparação entre peixes mantidos em piscicultura consorciada com suínos e em pesque-pague no vale do rio Tijucas, Santa Catarina, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca,** São Paulo, v.32, n. 1, p. 41-49, 2006.
- ARNOLD, J. E. Hematology of the sandbar shark, *Carcharinus plumbeus*: standartization of complete blood count techniques for elasmobranchs. **Veterinary Clinical Pathology,** Santa Barbara, v. 34, n. 2, p. 115- 123, 2005.
- BALLANTYNE, J. S.; ROBINSON, J. W. Freshwater elasmobranchs: a review of their physiology and biochemistry **Journal of Comparative Physiology** . v.180B, p.475–493, 2010
- BRINN, R. P.; MARCON, J. L.; MCCOMB, D. M.; GOMES, L. C.; ABREU, J. S.; BALDISSEROTO, B. Stress responses of the endemic freshwater cururu stingray (*Potamotrygon cf. hystrix*) during transportation in the Amazon region of the Rio Negro. **Comparative. Biochemmistry. Physiology, A,** 2011 (doi:10.1016/j.cbpa.2011.07.004).

BRITSKI, H. A.; LANGEANI, F. *Pimelodus paranaensis*, sp.n., um novo Pimelodidae (Pisces, Siluriformes) do Alto Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**. v. 5, n 3, p. 409-417. 1988.

BROOKS, D. R. Origins, diversification, and historical structure of the helminth fauna inhabiting neotropical freshwater stingrays (Potamotrygonidae). **Journal of Parasitology**, Lawrence, v.78, n. 4, p. 588-595, 1992.

CAIN, D. K.; HARMS, C. A.; SEGARS A. Plasma biochemistry reference values of wild-caught southern stingrays (*Dasyatis americana*) **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**. Upper Arlington, v. 35, n. 4, p. 471–476, 2004

CAIRA, J. N.; JANSEN, K. An investigation of the co-evolutionary relationships between onchobothriid tapeworms and their elasmobranch host. **International Journal of Parasitology**. v. 31, p. 960-975, 2001.

CAMPBELL, T. W. Hematologia de peixes. IN: THRALL, M. A. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. São Paulo: Roca, 2006, cap 20, p. 265-276.

CAMPOS, C. M.; FONSECA, V. E.; TAKEMOTO, R. M.; MORAES, F. R. Fauna parasitária de cachara *Pseudoplatystoma fasciatum* (Siluriforme: Pimelodidae) do rio Aquidauana, Pantanal Sul Mato-grossense, Brasil. **Acta Scientiarum Biological Sciences** Maringá, v. 30, n. 1, p. 91-96, 2008.

CARVALHO, M. R.; LOVEJOY, N. R.; ROSA, R. S. Family Potamotrygonidae. IN: REIS, R. E.; KULLANDER, S. O; FERRARIS JR. C. J. (Eds.). **Check list of the Freshwater Fishes of South and Central America** . Porto Alegre: Edipucrs, 2003, p. 22- 28.

CASTRO, R. M. C.; CASATTI, L.; SANTOS, H. F.; FERREIRA, K. M.; RIBEIRO, A. C.; BENINE, R. C.; DARDIS, G. Z. P.; MELO, A. L. A.; ABREU, T.X.; BOCKMANN, F.A.; CARVALHO, M.; GIBRAN, F.Z.; LIMA, F.C.T. Estrutura e composição da ictiofauna de riachos do rio Paranapanema, sudeste e sul do Brasil. **Biota Neotropical**. v. 3, n.1, 2003.

Disponível

em:

<<http://www.biotaneotropica.org.br/v3n1/pt/abstract?article+BN01703012003>>.

Acesso em 05 de março de 2011.

CHAPMAN, C. A.; RENSHAW, G. M. C. Hematological responses of the grey carpet shark (*Chiloscyllium punctatum*) and the epaulette shark (*Hemiscyllium ocellatum*) to

- anoxia and re-oxygenation. **Journal of Experimental Zoology**. v. 311 A, p. 422–438, 2009.
- CHEUNG, P. Parasitic Diseases of Elasmobranch. IN: STOSKOPF, M. K. **Fish Medicine**. Philadelphia: WB Saunders Co., 1993, cap 100, p. 782-807.
- COOPER, A. R.; MORRIS, S. The blood respiratory, haematological, acid-base and ionic status of the Port Jackson shark, *Heterodontus portusjacksoni*, during recovery from anaesthesia and surgery: a comparison with sampling by direct caudal puncture. **Comparative Biochemistry and Physiology**. n. 119A, p. 895-903, 1998.
- CROW, G. L.; RON, B.; ATKINSON, S.; RASMUSSEN, L.E.L. Serum T4 and serum T3 concentrations in immature captive whitetip Reef Sharks, *Triaenodon obesus*. **Journal of Experimental Zoology**. v. 284, p. 500–504, 1999.
- DIAS, J. H. P.; SHIBATTA, O. A. **40 peixes do Brasil: CESP 40 anos**. Rio de Janeiro: Doiis, 2006. 208 p.
- DOVE, A. D. M.; ARNOLD, J., CLAUSS, T. M. Blood cells and serum chemistry in the world's largest fish: the whale shark *Rhincodon typus*. **Aquatic Biology**. v. 9, p. 177–183, 2010.
- EIRAS, J.C. **Elementos de ictioparasitologia**. Porto, Portugal:Fundação Eng. Antônio de Almeida, 1994, 339p.
- EMERY, S.H. Hematological comparisons of endothermic vs ectothermic elasmobranch fishes. **Copeia**. Lawrence, n.3, p. 700-705, 1986.
- GARRONE NETO, D.; HADDAD JR, V. Arraias em rios da região Sudeste do Brasil: locais de ocorrência e impactos sobre a população. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v 43, n 1, p.82-88, 2010.
- GERST, J. W.; THORSON, T. B. Effects of saline acclimation on plasma electrolytes, urea excretion and hepatic urea biosynthesis in a freshwater stingray, *Potamotrygon* sp. Garman, 1877. **Comparative Biochemistry Physiology**. v. 56A. p. 87-93, 1977.
- HADFIELD, C. A.; HAINES, A. N.; CLAYTON, L. A.; WHITAKER, B.R. Cross matching of blood in carcharhiniform, lamniform, and orectolobiform sharks, **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**. Upper Arlington. v.41, n.3, p. 480–486, 2010.

- HARMS, C.; ROSS, T.; SEGARS, A. Plasma biochemistry reference values of wild bonnethead sharks, *Sphyna tiburo*. **Veterinary Clinical Pathology** Santa Barbara, v. 31, n. 3, p. 111-115, 2002.
- HOMNA, Y.; IWATA, Y.; CHIBA A.. Comparative histology of the thyroid gland in some elasmobranchs. **Sado Marine Biological Station**. v.17, p. 1–12, 1987.
- HUECK, K.; SEIBERT, P. Vegetationskarte von Südamerika. **Band IIa**. Fischer, Stuttgart. 1981
- IUCN 2011. **2011 IUCN Red List of Threatened Species: *Potamotrygon* sp.** Disponível em: <www.iucnredlist.org>. Acesso em: 22 Ago. 2011.
- IVANC, A.; HASKOVIC, E.; JEREMIC, S; DEKIC, R. Hematological evaluation of welfare and health of fish. **Praxis Veterinaria**. Milão, v. 53, n.3, p. 191-202, 2005.
- JOHANSSON-SJOBECK, M.; STEVENS, J. D. Hematological studies on the blue shark *Prionace glauca* L. **Journal of Marine Biological Association of the United Kingdom**. v.56, p. 237-240, 1976.
- JUNQUEIRA, L.C.U.; HOXTER, G.; ZAGO, D. Observations on the biochemistry of freshwater rays and dolphin blood serum. **Revista Brasileira de Pesquisa Médica. Biológica**. São Paulo, v.1, n.5-6, p. 225-226, 1968.
- KHAN, R.A. Taxonomy, prevalence and experimental transmission of a protozoan parasite, *Trichodina oviduct* Polyansky (ciliate: Peritrichida) of the thorny skate *Raja radiata* Donovan. **Journal of Parasitology**. v. 58, p. 680-685, 1972.
- KINKELIN, P; MICHEL, C; GHITTINO, P. **Tratado de las enfermedades de los peces**. Acribia, Zaragoza. 1985. 353 p.
- KLINGERBERG, R. J. Animais exóticos e laboratoriais: répteis: IN: AIELLO S. E.; MAYS A. **Manual Merck de Veterinária**. 8 ed. São Paulo: Roca: 2001. p.1041-1180.
- KRAJNOVIC-OZRETIC,M.; OZRETIC, B.; PETROVIC,S.; NIKOLIC,T. Seasonal variations of some blood parameters in farmed sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). **Period. biol.** Zagreb, v.103, n. 1, p. 67-75, 2001.
- LACERDA, A.C.F. **Endoparasitos de raias fluviais *Potamotrygon falkneri* e *Potamotrygon motoro* (CHONDRICHTHYES: POTAMOTRYGONIDAE) da planície de inundação do alto rio Paraná: taxionomia e aspectos ecológicos**. 2007. 45f.

Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá-PR, 2007.

LAIRD, M.; BULLOCK, W. L. Marine fish hematozoa from New Brunswick and New England. **Journal of Fisheries Research. Board of Canada.** v. 26, p. 1075-1102, 1969.

LEARY S. C.; BALLANTYNE J. S.; LEATHERLAND J. F. Evaluation of thyroid hormone economy in elasmobranch fishes, with measurements of hepatic 5 α -monodeiodinase activity in wild dogfish. **Journal of Experimental Zoology.** v. 284, p. 492–499, 1999.

LIZAMA, M. A. P.; TAKEMOTO, R. M.; PAVANELLI G. C. Parasitism influence on the hepato, splenosomatic and weight/length relation and relative condition factor of *Prochilodus lineatus* (VALENCIENNES, 1836) (PROCHILODONTIDAE) of the upper paraná river floodplain, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia. Veterinária.** Rio de Janeiro, v.15, n. 3, p. 116-122, 2006.

LOVE, M. S.; MOSER, M. Parasites of California marine and estuarine fish. **Marine Science Institute University of California**, Santa Barbara, p. 1-517. 1976

MCCOMB, D. M.; GELSLEICHTER, J.; MANIRE, C. A.; BRINN, R.; BROWN, C. L. Comparative thyroid hormone concentration in maternal serum and yolk of the bonnethead shark (*Sphyrna tiburo*) from two sites along the coast of Florida. **General and Comparative Endocrinology.** v.144, p. 167–173, 2005.

MCKIERNAN, J. P.; GRUTTER, A.S.; DAVIES, A.J. Reproductive and feeding ecology of parasitic gnathiid isopods of epaulette sharks (*Hemiscyllium ocellatum*) with consideration of their role in the transmission of a haemogregarine. **International Journal for Parasitology.** v. 35, p. 19-27, 2005.

MARANHO, A. Peixes Ornamentais. IN: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. **Tratado de animais selvagens.** São Paulo: Roca, 2006, cap 6, p. 44-56.

MARTINS, M. L.; SOUZA, V. N.; MORAES, J. R. E.; MORAES, F. R. Gill infection of *Leporinus macrocephalus* Garavello & Britski, 1988 (Osteichthyes: Anostomidae) by *Henneguya leporinicola* n.sp. (Myxozoa: Myxobolidae): description, histopatology and treatment. **Revista Brasileira de Biologia.** São Carlos, v. 59, n. 3, p. 527-534, 1999.

- MASSON, N.; GUÉROLD, F.; DANGLES, O. Use of blood parameters in fish to assess acidic stress and chloride pollution in French running waters. **Chemosphere**. Oxford, v. 47, p. 467–473, 2002.
- MENEZES, N. A., WEITZMAN, S. H., BURNS, J. R. A systematic review of *Planaltina* (Teleostei: Characiformes: Characidae: Glandulocaudinae: Diapomini) with a description of two new species from the upper rio Paraná, Brazil. **Proceedings of the Biology Society of Washington**. v.116, n 3, p. 557-600, 2003
- MESA, M. G.; BAYER, J. M.; BRYAN, M. B.; SOWER, S. A. Annual sex steroid and other physiological profiles of Pacific lampreys (*Entosphenus tridentatus*). **Comparative Biochemistry and Physiology**. n.155A, p.56-63, 2010.
- METCALF, V. J.; GEMMELL, N. J. Fatty acid transport in cartilaginous fish: absence of albumin and possible utilization of lipoproteins. **Fish Physiology and Biochemistry** Dordrecht, v. 31, n. 1, p. 55–64, 2005.
- MYLNICZENKO, N. D.; CURTIS, E. W.; WILBORN, R. E.; Young, F.A. Differences in hematocrit of blood samples obtained from two venipuncture sites in sharks. **American Journal of Veterinary Research**. v. 67, n. 11, p. 1861-1864, 2006.
- NAPOLEÃO, S.R. **Análises Hematológicas, Bioquímicas e Hormonais de tubarão-lixia, *Ginglymostoma cirratum* (Bonnaterre, 1788) em cativeiro, no Brasil** 2007. 114f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Instituto de Pesca/APTA/SAA-SP, São Paulo- SP, 2007.
- NORRIS D.O. **Vertebrate Endocrinology**. 4th Ed. Philadelphia: Elsevier. 2007. 550p.
- OLD, J.M.; HUVENEERS, C. Morphology of the Blood Cells From Three Species of Wobbegong Sharks (*Orectolobus sp.*) on the East Coast of New South Wales. **Zoo Biology**. v. 25, p. 73–82, 2006.
- PACHECO, F. J.; PACHECO, S. O. S.; SEGRETTO, H. R. C.; R. A. SEGRETTO; SILVA, M. R. R.; EGAMI, M. I. Development of granulocytes in haematopoietic tissues of *Rhizoprionodon lalandii*. **Journal of fish Biology**. Londres, v. 61, p. 888–898, 2002.
- PAVANELLI, G.C.; EIRAS, J.C.; TAKEMOTO, R.M. **Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento**. Maringá: Eduem, 2002, 305p.

PAVLIDIS, M.; FUTTER, W. C.; KATHARIOS, P., DIVANACH, P. Blood cell profile of six mediterranean mariculture fish species. **Journal of Applied Ichthyology**. Berlim, v.23, p. 70–73, 2007.

PETER M.C.S. The role of thyroid hormones in stress response of fish. **General and Comparative Endocrinology**. v.172, p. 198–210, 2011

RANZANI-PAIVA, M. J. T.; ROMAGOSA E.; ISHIKAWA C. M. Hematological parameters of "cachara", *Pseudoplatystoma fasciatum* Linnaeus, 1766 (Osteichthyes, Pimelodidae), reared in captivity. **Boletim do Instituto de Pesca**. São Paulo, v. 31, n.1, p. 47 - 53, 2005.

RANZANI-PAIVA, M. J. T.; SILVA-SOUZA, A. Hematologia de peixes brasileiros. In: RANZANI-PAIVA, M. J. T.; TAKEMOTO, R. M.; LIZAMA, M. A. P. (Eds). **Sanidade de Organismos Aquáticos**. São Paulo: Varela, 2004, p. 89-120.

RICHTER, M.; VIANA, M. S. S.; MALABARBA, M. C. S. L. Agnatos e Peixes. In: CARVALHO, I.S. (Ed). **Paleontologia**. Rio de Janeiro: Interciência, 2000. cap 28, p.497-524.

ROBERTS, R. J. **Fish Pathology**. Aberdeen: University Press, 1978. 318p.

ROMÃO, S.; DONATTI, L.; FREITAS, M. O.; TEIXEIRA, J.; KUSMA, J. Blood Parameter Analysis and Morphological Alterations as Biomarkers on the Health of *Hoplias malabaricus* and *Geophagus brasiliensis*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. Curitiba. v.49, n. 3, p. 441-448, 2006.

ROSA R.S. A systematic revision of the South American freshwater stingrays (Chondrichthyes: Potamotrygonidae). **Faculty of the School of Marine Science – the college of William and Mary**. 1985

ROSA, R. S.; CASTELLO, H.P.; THORSON, T.B. *Plesiotrygon iwamae*, a new genus and species of Neotropical freshwater stingray (Chondrichthyes: Potamotrygonidae). **Copeia**, n.2, p. 447- 458, 1987.

SANTANA, L. O.; SILVEIRA, O. F. M. Análise da drenagem da microbacia hidrográfica dos rios Gurijuba e Piririm. In: **XII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto**. 2005, Goiania. Anais, Goiania, INPE 2005, p. 673-680

SCHALCH, S.H.C; MORAES, F.R.; MORAES, J.R.E. Efeitos do parasitismo sobre a estrutura branquial de *Leporinus macrocephalus* Garavello & Britski, 1988

- (Anastomidae) e *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. Rio de Janeiro, v.15, n. 3, p. 110-115, 2006.
- SEMENIUK, C. A. D.; BOURGEON, S.; SMITH, S. L.; ROTHLEY, K. D. Hematological differences between stingrays at tourist and non-visited sites suggest physiological costs of wildlife tourism. **Biological Conservation**. v.142, p. 1818–1829, 2009.
- SILVA, J. P. C. B.; CARVALHO, M. R. A taxonomic and morphological redescription of *Potamotrygon falkneri* Castex & Maciel, 1963 (Chondrichthyes: Myliobatiformes: Potamotrygonidae) **Neotropical Ichthyology**, v 9, n 1, p.209-232, 2011
- SMIT, N. J.; DAVIES, A. J. New host records for *Haemogregarina bigemina* from the coast of southern Africa. **Journal of Marine Biology Association of United Kingdom**. v.79, p. 933-935, 1999.
- STOSKOPF, M.K. Clinical Pathology of Sharks, Skates and Rays. IN: STOSKOPF, M.K. **Fish Medicine**. Philadelphia: WB Saunders Co., 1993, cap 93, p. 754-757.
- SULIKOWSKI, J. A., MAGINNISS, L. A. Effects of environmental dilution on body fluid regulation in the yellow stingray, *Urolophus jamaicensis*. **Comparative Biochemistry Physiology**. v. 128 A, p. 223 - 232, 2001.
- TAVARES-DIAS, M.; BOZZO, F.R.; SANDRIN, E. F. S.; CAMPOS-FILHO, E.; MORAES F. R. Células sangüíneas, eletrólitos séricos, relação hepato e esplenossomática de carpa-comum, *Cyprinus carpio* (Cyprinidae) na primeira maturação gonadal. **Acta Scientiarum Biological Science**. Maringá. v. 26, n. 1, p. 73-80, 2004.
- TAVARES-DIAS, M.; MATAQUEIRO, M. I. Características hematológicas, bioquímicas e biométricas de *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae) oriundos de cultivo intensivo. **Acta Scientiarum Biological Science**. Maringá. v. 26, n. 2, p. 157-162, 2004.
- TAVARES-DIAS, M.; MELO, J. F. B.; MORAES, G.; MORAES, F. R. Características hematológicas de teleósteos brasileiros. IV.Variáveis do jundiá *Rhamdia quelen* (Pimelodidae) **Ciência rural**, Santa Maria. v.32, n.4, p.693-698, 2002.
- TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F. R. **Hematologia de peixes teleósteos**. Ribeirão Preto. Villimpress, 2004.144p.

- TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F. R.; ONAKA, E. M.; REZENDE, P. C. B. Changes in blood parameters of hybrid tambacu fish parasitized by *Dolops carvalhoi* (Crustacea, Branchiura), a fish louse. **Veterinarski Arhiv**, Zagreb, v.77, p. 355-363, 2007.
- TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F. R. Características hematológicas da *Tilapia rendalli* Boulenger, 1896 (Osteichthyes: Cichlidae) capturada em "Pesque-Pague" de Franca, São Paulo, Brasil. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.19, p.103-110, 2003.
- TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F.R.; MARTINS, M.L.; KRONKA, S.N. Fauna parasitária de peixes oriundos de "pesque-pagues" do município de Franca, São Paulo, Brasil.II. Metazoários. **Revista Brasileira de Zoologia** Curitiba, v. 18 (supl. 1), p. 81-95, 2001.
- TAVARES-DIAS, M.; TENANI, R.A.; GIOLI, L.D.; FAUSTINO, C.D. Características hematológicas de teleósteos brasileiros. II. Parâmetros sanguíneos do *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae) em policultivo intensivo. **Revista brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 16, p.423-431, 1999.
- TAVARES-DIAS, M.; SCHALCH, S. H.C.; MORAES, F. R. Hematological characteristics of brazilian Teleosts. VII. Parameters of seven species collected in Guariba, São Paulo State, Brazil. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 29, n. 2, p. 109 - 115, 2003.
- THATCHER, V.E. Amazon fish parasites. **Amazoniana**, Manaus, v.11, p. 263-572, 1991.
- THATCHER,V. E.; BRITES-NETO,J. B. Diagnóstico, Prevenção e Tratamento de Enfermidades de peixes neotropicais de água doce. **Revista Brasileira de Medicina Veterinaria** v.16, n.3, p. 111-128, 1994.
- THORSON, T.B.; COWAN, C.M.; WATSON, D.E. *Potamotrygon* spp.: elasmobranchs with low urea content. **Science**, Washington. v.158, p. 375-377. 1967.
- THORSON, T.B.; WOTTON, R.M.; GEORGI, T.D. Rectal gland of freshwater stingrays, *Potamotrygon* spp. (Chondrichthyes: Potamotrygonidae). **Biology Bulletin**. Moscou. v.154, n. 3, p. 508- 516, 1978.
- TORRES, P., TORT, L., PLANAS, J., FLOS, R. Effects of confinement stress and additional zinc treatment on some blood parameters in the dogfish *Scyliorhinus canicula*. **Comparative Biochemistry and Physiology**. v. 83C, p. 89-92, 1986.

- VAN RIJN, J. A.; REINA, R.D. Distribution of leukocytes as indicators of stress in the Australian swellshark, *Cephaloscyllium laticeps*. **Fish & Shellfish Immunology**. v. 29, n. 4 p. 534-538, 2010.
- VARI, R.P. The Curimatidae, a lowland neotropical fish family (Pisces: Characiformes); distribution, endemism, and phylogenetic biogeography. IN HEYER, W.R., VANZOLINI, P.E (eds).**Proceedings of a Workshop on Neotropical Distribution Patterns**. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro, p. 343-377. 1988.
- VOLKOFF, H.; WOURMS, J. P.; AMESBURY, E.; SNELSON, F. F. Structure of the thyroid gland, serum thyroid hormones, and the reproductive cycle of the atlantic stingray, *Dasyatis sabina*. **Journal of Experimental Zoology**. v. 284, p.505–516, 1999.
- WILHELM FILHO, D.; EBLE, G.J.; KASSNER, G.; CAPRARIO, F.X.; DAFRÉ, A.L.; OHIRA, M. Comparative hematology in marine fish. **Comparative Biochemistry Physiology**. v. 102 A, n. 2, p. 311-321, 1992.
- ZHANG, L. Z.; ZHUANG, P.; ZHANG, T.; LI, D.P.; ZHANG, Z.; HUANG, X. R.; FENG, G.P. Hematological parameters of different age groups of cultured *Acipenser schrenckii*. **Journal of fisheries of China**. Shanghai. v.30, n. 1, p. 36-41, 2006.