

WANESSA PRISCILA DAVID DO CARMO

**CARACTERIZAÇÃO DA REPRODUÇÃO, IDADE E CRESCIMENTO E  
ACÚMULO DE METAIS EM *Zapteryx brevirostris* (ELASMOBRANCHII:  
RHINOBATIDAE), UMA ESPÉCIE ENDÊMICA DO ATLÂNTICO SUL**

CURITIBA  
2015

WANESSA PRISCILA DAVID DO CARMO

**CARACTERIZAÇÃO DA REPRODUÇÃO, IDADE E CRESCIMENTO E  
ACÚMULO DE METAIS EM *Zapteryx brevirostris* (ELASMOBRANCHII:  
RHINOBATIDAE), UMA ESPÉCIE ENDÊMICA DO ATLÂNTICO SUL**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ecologia e Conservação, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Dr. Luís Fernando Fávoro

**CURITIBA  
2015**



## AGRADECIMENTOS

Agradeço a estas pessoas que, de uma forma ou outra, contribuíram para o meu crescimento como pessoa e como cientista, e por muitas vezes, nos dois casos:

Em primeiro lugar a Deus e meus santos de devoção, por eu ter conseguido chegar até aqui, mesmo tendo “capengado” algumas vezes e tentado desistir.

À CAPES por ter concedido a bolsa para a realização deste projeto, tanto no Brasil quanto em Portugal.

Ao programa de Pós Graduação em Ecologia e Conservação - PPG Eco – pela oportunidade de fazer parte de um tão conceituado programa de pós graduação.

À minha mãe, por sempre me apoiar, inclusive quando disse “vou passar uns meses em Portugal, você me visita?”, me ajudando de todas as formas possíveis, desde a emocional, financeira, física e todas as outras possíveis!

À Dryy, minha irmã, que mesmo brigando inúmeras vezes, entende o porquê das minhas decisões.

Ao meu namorado Wagner, ou como meus colegas de laboratório o chamam, “Weg”, por sempre estar ao meu lado, sendo uma muleta muitas vezes, nas madrugadas de crise de identidade e choro, e por sempre dizer “você tem mais potencial do que você imagina”.

À minha família, por eu ter faltado em muitos momentos “só” por estar longe, mesmo com alguns não entendendo por que eu tenho quase 30 anos e “só estudo”.

Ao “Zé do Zuca” e sua família, pescadores que me ajudaram durante toda a coleta. Obrigada seu Zé! Sem você, este trabalho não teria saído nem da minha cabeça!

Agradeço ao meu querido lab, esses fofuchos que me aguentaram por quatro anos: Bibi, Didi, Bubu, Vini, Veríssima (estes dois últimos que apesar de já terem saído, ajudaram bastante) e a Sílvia (que é um membro honorário do nosso lab). Obrigada pelos café-cerveja no lab, as coletas, as risadas, as bobageiras, comilanças, enfim, se tem um “q” que não me fez desistir do doutorado, vocês estão no meio disso!

Ao meu orientador Zão, o Fávaro! Obrigada por me aceitar nessa nova empreitada do seu lab, inserindo os elasmos onde antes era dominado somente por teleosteos.

À Cláudia Martinez, que me acolheu de braços abertos quando fui bater à sua porta, oferecendo uma nova ideia, a qual não fazia ideia de como realizar nem tampouco tinha prática nesta área, mas que sempre foi super atenciosa e pronta a ajudar e ensinar sempre que podia (no fim tiramos leite de pedra e tudo deu certo!). Obrigada sua querida!

A Luciana, por ter me ajudado durante esses quatro anos no LEFA – UEL, sem você metade dessa tese não estaria pronta! E claro, a todo o pessoal do LEFA, que sempre me recebeu não como alguém temporário, mas como se já fizesse parte dessa grande família chamada LEFA....tchãaaaan!

Obrigada ao meu laboratório português (Jorge, “Camané”, Luis, Pedro Monteiro, Pedro Veiga, Frederico, Mafalda, Isidoro, Inês e Nuno), pelo carinho e receptividade durante todo o tempo que aí estive. Principalmente devo imensos agradecimentos ao Rui (meu orientador estrangeiro) e à Joana, excelentes profissionais que sempre me ajudaram em tudo que precisei por lá, sem contar o imenso conhecimento de ambos, o qual tentei sugar tudo que pude.

Às minhas amigas luso-brasileiras, Lica e Flávia, que me ajudaram no período de adaptação na Universidade do Algarve, e parceiras de almoços e cafezinhos (no caso da Lica, de viagem também!).

Ao “Évora team”, Nathalie e a minha “co-orientada” queridíssima Nour, parceiraças de todos os momentos, tristes e felizes, que, assim como eu, também estavam longe da família passando pelos mesmos perrengues e descobertas.

Aos meus amigos portugueses, que nestes meses me fizeram sentir em casa, e me ensinaram a amar esta terrinha como minha terra natal. Não tenho nem por onde iniciar os agradecimentos às minhas grandes amigas “d’além mar” Raquel e Catarina, que me ensinaram muito sobre seu amado país, e as quais sinto muita falta até hoje! E claro, a fiel escudeira Verinha. Não pensei que fosse chorar tanto me despedindo de vocês. Catarina, cumpri minha promessa e nos encontramos na sua terrinha! Comendo um “paxtel de nata e tomando uma bica!” (e uma lágrima escorre nesse momento).

Obrigada as minhas mais queridas roomies!!! Fabíora, Debs e Pry! Foi bão demais morar coceis! Um laço que levo pra vida toda!

E a todos que de uma maneira direta ou indireta passaram pela minha vida nesses quatro anos e não mencionei, também agradeço, porque afinal, muita gente passou por mim para que esse projeto se tornasse uma tese!

Muito obrigada!

*“O saber a gente aprende com os mestres e os livros, a sabedoria se aprende é com a vida e com os humildes. Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina. Nada do que vivemos tem sentido, se não tocarmos o coração das pessoas.”*

Cora Coralina

## ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS.....	8
LISTA DE TABELAS.....	10
RESUMO GERAL.....	11
GENERAL ABSTRACT .....	12
INTRODUÇÃO .....	13
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	18
CAPÍTULO I	
CICLO E ESTRUTURA REPRODUTIVA DE <i>Zapteryx brevirostris</i> NO SUL DO BRASIL .....	23
Resumo.....	24
Abstract .....	25
Introdução.....	26
Material e métodos.....	27
Amostragem.....	27
Análise dos dados.....	28
Resultados .....	30
Discussão.....	40
Referencias bibliográficas .....	46
CAPÍTULO II	
IDADE E CRESCIMENTO DE <i>Zapteryx brevirostris</i> NO SUL DO BRASIL.....	54
Resumo.....	55
Abstract .....	56

Introdução .....	57
Material e métodos .....	58
Amostragem .....	58
Preparo das amostras.....	59
Idade e crescimento .....	59
Resultados .....	61
Discussão .....	67
Referências bibliográficas .....	71
CAPÍTULO III	
ACÚMULO DE METAIS EM DIFERENTES ÓRGÃOS DE <i>Zapteryx brevirostris</i> , UMA ESPÉCIE DE ELASMOBRÂNQUIO ENDÊMICA DA COSTA BRASILEIRA .....	79
Resumo.....	80
Abstract .....	81
Introdução .....	82
Material e métodos.....	83
Amostragem .....	83
Processamento das amostras .....	84
Análises estatísticas.....	85
Resultados .....	86
Discussão .....	95
Referencias bibliográficas .....	103
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	117

## LISTA DE FIGURAS

### INTRODUÇÃO

- Figura 1 – Vista dorsal de um exemplar de *Zapteryx brevirostris*.....14
- Figura 2 – Vista ventral de exemplares de *Zapteryx brevirostris*, fêmea à esquerda e macho à direita.....15

### CAPÍTULO I

- Figura 1 – Localização da banca de pescadores de Shangri-lá, no estado do Paraná, sul do Brasil (modificado de BORNATOWSKI & ABILHOA, 2012). .....28
- Figura 2 – Proporção sexual por classe de comprimento para *Zapteryx brevirostris* do litoral do estado do Paraná, Brasil. Números entre parênteses sobre as barras indicam a frequência absoluta. ....30
- Figura 3 – Proporção sexual sazonal de *Zapteryx brevirostris* do litoral do estado do Paraná, Brasil. Os números entre parênteses, sobre as barras, indicam a frequência absoluta e \* indicam diferença estatística entre os sexos. ....31
- Figura 4 – Curva de maturação para fêmeas e machos de *Zapteryx brevirostris* do litoral do estado do Paraná, Brasil. Os números entre parênteses indicam a frequência absoluta e os números com  $\pm$  indicam o desvio padrão. ....32
- Figura 5 – Distribuição percentual mensal dos estádios reprodutivos em fêmeas (A) e machos (B) de *Zapteryx brevirostris* do litoral do estado do Paraná, Brasil. Os números entre parênteses indicam a frequência absoluta dos estádios reprodutivos. ....35
- Figura 6 – Relação entre os valores individuais do DMFO e do IGS de *Zapteryx brevirostris* do litoral do estado do Paraná, Brasil. ....36
- Figura 7 – Relação entre o os valores médios sazonais do DMFO e do IGS de *Zapteryx brevirostris* do litoral do estado do Paraná, Brasil. Os números entre parênteses indicam a frequência absoluta.....36
- Figura 8 – Relação da distribuição mensal do peso médio das glândulas nidamentais com o IGS médio das fêmeas entre os meses amostrados para exemplares de *Zapteryx brevirostris* do litoral do estado do Paraná, Brasil. Os números entre parênteses indicam a frequência absoluta. ....37
- Figura 9 – Relação do grau de calcificação do clássper com o comprimento total dos machos de *Zapteryx brevirostris* do litoral do estado do Paraná, Brasil. NC = Não calcificado, SC = Semicalcificado, TC = Totalmente calcificado. ....38

Figura 10 – Distribuição sazonal do comprimento total dos embriões de *Zapteryx brevirostris* do litoral do estado do Paraná de acordo com as estações. ....39

Figura 11 – Esquema apresentando o ciclo reprodutivo da espécie *Z. brevirostris* no litoral do estado do Paraná.....30

## CAPÍTULO II

Figura 1 – Distribuição de frequências de comprimento da amostra de *Z. brevirostris* recolhidos na costa Sul do Brasil recolhidos e utilizados neste estudo.....62

Figura 2 - Relação entre CT (cm) e raio da vértebra (cm) para *Z. brevirostris* com os sexos agrupados, usando indivíduos free-swimming (indivíduos adultos e juvenis coletados na natureza)e embriões. A linha representa uma regressão linear com os seguintes parâmetros (intercept=-0,07 (SE=0,02); slope= 0,01 (SE=0,0004);  $R^2=0,75$ )..... 62

Figura 3 - Curvas de crescimento de VBGF de acordo com a técnica de retrocálculo de Fraser Lee. Dados para fêmeas e machos separadamente: VBGF e VBGF com  $L_0$  fixo em 14cm. ....67

## CAPÍTULO III

Figura 1 - Localização da banca de pescadores de Shangri-lá, no estado do Paraná, sul do Brasil (modificado de BORNATOWSKI & ABILHOA, 2012), local das coletas dos exemplares de *Z. brevirostris*.....83

Figura 2 -Concentração de metalotioneína em fígado de *Zapteryx brevirostris* ..... 87

Figura 3 - Gráficos das concentrações de Alumínio (A), Cádmio (B), Cromo (C), Cobre (D), Manganês (E), Chumbo (F), Níquel (G) e Zinco (H), em bile, brânquia, fígado, músculo, rim e vitelo de *Zapteryx brevirostris*. Dados são apresentados como média  $\pm$  DP (n mínimo = 1 e máximo = 22). Para um mesmo metal, diferentes letras indicam diferenças significativas entre as concentrações nos tecidos de fêmeas (letras minúsculas) e machos (letras maiúsculas); asterisco(\*) indica diferença entre macho e fêmea, para um mesmo tecido ( $p < 0,05$ ). ....91

Figura 4 - Diagrama de ordenação construído a partir dos dois primeiros eixos da PCoA aplicada sobre a matriz de dados biológicos e com as amostras codificadas pelos sexos. O sentido das setas indica quais variáveis apresentaram maiores contribuições para a distribuição das amostras ao longo do eixo principal. Elementos estão em negrito e órgãos abreviados significando b = bile, f = fígado, m = músculo, v = vitelo..... 92

Figura 5 - Dendrograma gerado a partir da análise de cluster. v=vitelo, b=bile, m=músculo, r=rim, br=brânquia. Quadrado representa a associação do Cd e Cr. Os valores de height representam a distância de ligação calculada entre dois objetos. ....94

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO I

Tabela 1 – Critérios utilizados para a determinação da escala de desenvolvimento reprodutivo para fêmeas de *Zapteryx brevirostris*. .....33

Tabela 2 – Critérios utilizados para a determinação da escala de maturação reprodutiva para machos de *Zapteryx brevirostris*. .....34

### CAPÍTULO II

Tabela 1 - Resultado do teste de Kruskal-Wallis para as idades médias obtidas pelas diferentes técnicas de retrocálculo. Em negrito, as idades que não apresentaram diferença estatística no P value, considerando  $\alpha=0,05$ . .....63

Tabela 2 - Parâmetros de crescimento estimados para *Z. brevirostris* (sexos agrupados, fêmeas e machos), obtidos com a curva de crescimento VBGF e a VBGF com tamanho fixo no nascimento ( $L_0 = 14$  cm CT). Para cada modelo, os parâmetros são dados com seus respectivos erros-padrão (SE) e intervalos de confiança (IC) de 95%. .....64

### CAPÍTULO III

Tabela 1 - Concentrações dos metais totais ( $\text{mg L}^{-1}$ ) nas amostras de água e os respectivos valores-limites da resolução 357 CONAMA para águas salinas (classes 1 e 2). Média  $\pm$  erro padrão ( $n=6$ ).....87

Tabela 2 - Concentrações dos metais em diferentes órgãos de fêmeas e machos de *Zapteryx brevirostris*. Média  $\pm$  erro padrão ( $n$ ) .....90

Tabela 3 - Relação de cada variável com o eixo (loadings). Variáveis mais negativamente (sinal -) e mais positivamente (sinal +) relacionadas com o eixo 1. Negrito representa as variáveis com maiores valores positivos e negativos. ....93

Tabela 4 - Os Índices de Poluição de Metais (MPI) para machos e fêmeas nos tecidos analisados de *Zapteryx brevirostris*. Negrito representa os maiores valores e qual órgão que mais acumulou.....94

# CARACTERIZAÇÃO DA REPRODUÇÃO, IDADE E CRESCIMENTO E ACÚMULO DE METAIS EM *Zapteryx brevirostris* (ELASMOBRANCHII: RHINOBRANCHIIFORMES), UMA ESPÉCIE ENDÊMICA DO ATLÂNTICO SUL.

## RESUMO GERAL

No presente estudo foi determinada estrutura, o ciclo reprodutivo, idade e crescimento e quantificação de metais de *Zapteryx brevirostris* (Müller & Henle, 1841), conhecida também por raia-viola, raia viola de focinho curto, banjo, cação-viola, bandolim, piçudinho e tuiuíú, sendo que a espécie é dos principais elasmobrânquios capturados pela frota de pesca artesanal no estado do Paraná, sofrendo pressão pesqueira por ser *bycatch* da pesca de arrasto e emalhe. As coletas foram realizadas mensalmente entre novembro de 2011 e novembro de 2013 no litoral do estado do Paraná. Quanto ao ciclo reprodutivo da espécie no estado do Paraná, a obtenção de um percentual elevado de fêmeas grávidas possibilitou a determinação da estação de cópula/fecundação (outono), além da determinação do período de gestação (entre seis e sete meses) e nascimento dos embriões (verão), caracterizando o litoral do estado do Paraná como área de parto para *Z. brevirostris*. As informações obtidas sobre idade e crescimento de *Z. brevirostris* representam a primeira estimativa destes parâmetros para uma espécie do gênero *Zapteryx*, e os resultados demonstram uma lenta taxa de crescimento e consequente suscetibilidade à sobreexploração. Em relação ao acúmulo de metais, a espécie pode ser considerada como um bom bioindicador, e, apesar da maioria dos valores de metais encontrados nas amostras serem considerados seguros pela legislação, as concentrações de Cd no músculo de machos e Pb no músculo de fêmeas merecem uma especial atenção, uma vez que os valores estão acima do estabelecido em legislação pela FAO/WHO, onde sugere-se o monitoramento dos metais em pescado de elasmobrânquios, já que estes consistem em importantes recursos pesqueiros. Os dados obtidos neste trabalho virão compor uma robusta base de dados a fim de subsidiar planos de manejo e controle da atividade pesqueira, solicitados pelo Ministério do Meio Ambiente em decorrência da vulnerabilidade da espécie de acordo com a PORTARIA 445/2014 e o livro vermelho da IUCN (*International Union for the Conservation of Nature*).

**Palavras-chave:** Contaminação, Curva de von Bertalanffy (VBGF), taxa de crescimento, embriões, curva de maturação.

**REPRODUCTIVE CHARACTERISTICS, AGE AND GROWTH AND METAL ACCUMULATION IN  
*Zapteryx brevirostris* (ELASMOBRANCHII: Rhinobatidae), AN ENDEMIC SPECIES IN  
SOUTHERNBRAZIL**

**GENERAL ABSTRACT**

In the present study it was determined structure, reproductive cycle, age and growth, and quantification of metals in organs of *Zapteryx brevirostris* (Müller & Henle, 1841), also known as lesser guitarfish, viola ray, shortnose viola ray, banjo, cacao-viola, bandolim, piçudinho and tuiuiu, and this species is one of the most captured elasmobranchs by artisanal fishery in the state of Paraná, suffering fishing pressure for being *bycatch* in fishing using bottom otter trawls. The collection of samples occurred monthly between November 2011 and November 2013 in the state of Paraná coast. Regarding the reproductive cycle of the species, the obtainment of a high percentage of pregnant females allowed the determination of reproductive/fertilization (fall), besides the determination of gestational period and birth of the embryos (summer), characterizing the sea coast of Paraná as birth area for *Z. brevirostris*. The information obtained about age and growth of *Z. brevirostris*, represent the first estimative of these parameters for a species of the *Zapteryx* genus, and the results demonstrate a slow rate of growth and consequent susceptibility of overexploitation. Related to metal accumulation, the species can be considered a good bioindicator, and, even though most of the metal values found in the samples are considered by legislation as safe, the concentrations of Cd in male muscles and Pb in female muscles, deserve greater attention, once the values found are over the established, by the legislation of FAO/WHO, where it's suggested the monitoring of metals in elasmobranch meat, since these constitute important fishing resources. Data obtained in this work will compose a robust database to subsidize management planning and control fishing activities, requested by the Ministry of Environment due to the vulnerability of the species according to the Brazilian National list of endangered species (445/2014) and the red list of the IUCN (*International Union for the Conservation of Nature*).

**Key-words:** contamination, von Bertalanffy curves (VBGF), growth rate, Embryos, maturation curves

## INTRODUÇÃO

Os elasmobrânquios (tubarões e raias) são organismos com tendência *K* estrategista cujas características são: o crescimento lento, maturidade sexual tardia e baixa fecundidade (WOURMS, 1977; ODUM, 1988; CAMHI *et al.*, 1998; MUSICK, 1999), o que resulta em lento crescimento populacional (VOOREN *et al.*, 2005). Em termos de abundância e diversidade este grupo constitui um importante componente da ictiofauna marinha do sul do Brasil (PAES & MONTEIRO-NETO, 2009), porém, tornou-se um importante recurso pesqueiro nos últimos anos (BARKER & SCHLUESSEL, 2005), sendo as espécies de tubarões e raias exploradas em todo o mundo, tanto pela pesca dirigida ou através de *bycatch* (SHOTTON, 1999; STEVENS *et al.*, 2000). O declínio populacional e relatos de sobrepesca foram registrados por VOOREN & KLIPPEL (2005), CLARKE *et al.* (2007), DE-FRANCO *et al.* (2010), FERRETTI *et al.* (2010), WORM *et al.* (2013) e DULVY *et al.* (2014).

No panorama atual da biodiversidade marinha do Brasil, a proporção de espécies ameaçadas de extinção é de 8,8% nos elasmobrânquios e de apenas 0,6% nos teleósteos. A sobrepesca impõe mudanças na estratégia de vida das populações dos elasmobrânquios, de modo que o desenvolvimento de pesquisas envolvendo os aspectos biológicos é de fundamental importância na conservação deste grupo (VOOREN, 2012), entretanto, pouco é conhecido a respeito da biologia do referido grupo, incluindo parâmetros importantes como a reprodução, a idade e o crescimento (FRISK *et al.*, 2001).

A costa do estado do Paraná abriga várias espécies de elasmobrânquios, sendo que *Zapteryx brevirostris* (Müller & Henle, 1841) é uma das principais espécies capturadas pela frota de pesca artesanal (COSTA & CHAVES, 2006; BORNATOWSKI *et al.*, 2009, ROBERT, 2012). De acordo com CHAVES *et al.* (2003) e SANTOS *et al.* (2006), Rhinobatídeos como *Z. brevirostris*, *Rhinobatos horkelii* e *Rhinobatos percellens*, também sofrem pressão pesqueira por serem *bycatch* da pesca de arrasto de portas direcionado à captura de camarão, sendo a maioria dos peixes capturados devolvidos mortos ao mar (VOOREN & KLIPPEL, 2005).

Os pescadores artesanais do litoral do Paraná realizam suas pescarias em ambientes estuarinos e de mar aberto. As práticas realizadas em mar aberto por estas comunidades consistem especialmente de pescarias com redes de arrasto de fundo com pranchas ou com portas, com redes de fundeio, com redes de caceio e com redes altas. Os fundeios de malhas 16 a 22 cm (a técnica utilizada para esta coleta) capturam uma maior diversidade e um maior número de elasmobrânquios que os demais tamanhos de malha, sendo *Z. Brevirostris* a espécie

mais abundante na captura desse tamanho de malha (ROBERT, 2012).

A espécie *Zapteryx brevirostris* (Müller & Henle, 1841) (Fig. 1 e 2) distribui-se pela plataforma continental Brasileira (a partir do Rio de Janeiro) ao sul da província de Buenos Aires, na Argentina (CASTELLO, 1971; FIGUEIREDO, 1977; MENNI & STEHMANN, 2000). É descrita por preferir águas frias (GOMES *et al.*, 2010) e é a única espécie do gênero no Oceano Atlântico (BATISTA, 1991). Esta espécie é frequentemente encontrada em águas costeiras (FIGUEIREDO, 1977), alcança um tamanho total de 59 cm para machos e 65 cm para fêmeas (COLONELLO *et al.*, 2011), atingindo a maturidade entre 42–43 cm de comprimento total (BATISTA, 1991; SANTOS *et al.*, 2006). A espécie é explorada comercialmente pela pescaria artesanal na costa do estado do Paraná (sul do Brasil) (SANTOS *et al.*, 2006; BORNATOWSKI *et al.* 2009) e encontra-se descrita como “vulnerável” no livro vermelho da IUCN (International Union for the Conservation of Nature) (VOOREN *et al.*, 2006) e na lista nacional de espécies ameaçadas (PORTARIA 445/2014 - MINISTÉRIO MEIO AMBIENTE).



Figura 1 – Vista dorsal de um exemplar de *Zapteryx brevirostris*



Figura 2 – Vista ventral de exemplares de *Zapteryx brevirostris*, fêmea à esquerda e macho à direita.

A reprodução é um processo fundamental para a perpetuação das espécies, manutenção dos estoques. O desenvolvimento de pesquisas envolvendo os aspectos reprodutivos assume grande importância na conservação das espécies (DEMSKI, 1989) pois fornecem dados que podem ser aplicados na avaliação da sustentabilidade na atividade pesqueira, na aquicultura e pelos órgãos de gestão (ACEVEDO *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2010).

Os modos de reprodução nos Chondrichthyes podem ser divididos em duas categorias, com base na nutrição fetal: lecitotrofia, onde todo o desenvolvimento do embrião é suportado unicamente pelo vitelo; e matrotrofia, onde pelo menos uma parte do desenvolvimento do feto é aumentada pelo fornecimento maternal adicional de nutrientes (WOURMS, 1981). Além disso, podem ainda ser divididos entre desenvolvimento embrionário externo ao corpo da mãe (oviparidade) ou interno (viviparidade) (MUSICK & ELLIS, 2005). A reprodução de elasmobrânquios é algo particular, onde a fertilização ocorre durante o período de tempo

relativamente curto após a ovulação, quando o óvulo passa através do oviduto pela glândula nidamental (WALKER 2005), estrutura exclusiva deste grupo que tem por função produzir a casca do ovo, além de poder armazenar espermatozoides (GALÍNDEZ *et al.*, 2010).

Assim como a reprodução, estudos de idade e crescimento também são fundamentais para o sucesso da gestão das pescarias. A maioria dos métodos analíticos de avaliação de estoques trabalha essencialmente com dados de composição de idades (SPARRE & VENEMA, 1997) sendo as estimativas de crescimento e outras taxas vitais, como a mortalidade natural e longevidade, também essenciais para uma gestão de pesca bem sucedida (VAZZOLER, 1981; CAMPANA, 2001; GOLDMAN, 2004).

Além da pesca, outro fator importante a ser estudado é a poluição aquática e como esta afeta os organismos, sendo as atividades antrópicas as maiores causadoras deste tipo de poluição (AMADO FILHO *et al.*, 1999). A pressão pesqueira e o elevado consumo de elasmobrânquios mostra a importância de estudos acerca da concentração de metais nestes organismos. Devido à posição desses organismos na cadeia alimentar, a maioria dos elasmobrânquios são carnívoros de topo de cadeia, este grupo pode acumular altos níveis de poluentes (MANSOUR & SIDKY, 2002; de AZEVEDO & SILVA *et al.*, 2009), o que põe em risco a saúde de seus consumidores. Portanto, especial atenção deve ser dada às espécies de elasmobrânquios usados na dieta humana, a fim de estimar a ingestão dessas substâncias tóxicas através do consumo dessa classe de peixes (de AZEVEDO & SILVA *et al.*, 2009).

Tendo em vista a importância dos estudos com elasmobrânquios, o endemismo e o estado “vulnerável” da espécie *Z. brevirostris*, assim descrita no livro vermelho da *International Union for the Conservation of Nature* (IUCN) (VOOREN *et al.*, 2006) e na lista nacional de espécies ameaçadas (PORTARIA 445/2014 - MINISTÉRIO MEIO AMBIENTE), torna-se necessário a obtenção de conhecimentos a respeito do seu ciclo de vida. Assim, visando a gestão mais eficiente e sustentável de *Z. brevirostris*, o objetivo deste estudo é apresentar informações a respeito da estrutura, ciclo reprodutivo, idade e crescimento e quantificação de metais, a fim de contribuir com os estudos de autoecologia de elasmobrânquios, além de compor uma base de informações para subsidiar planos de manejo, solicitados pelo Ministério do Meio Ambiente em decorrência da vulnerabilidade da espécie.

Para atender estes objetivos, o presente trabalho está dividido em três capítulos, confeccionados na forma de manuscritos:

- Capítulo I, “Ciclo e estrutura reprodutiva de *Zapteryx brevirostris* no sul do Brasil”;
- Capítulo II, “Idade e crescimento de *Zapteryx brevirostris* no sul do Brasil”;
- Capítulo III, “Acúmulo de metais em diferentes órgãos de *Zapteryx brevirostris*, uma espécie de elasmobrânquio endêmica da costa brasileira”.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACEVEDO, K.; BOHÓRQUEZ-HERRERA, J.; MORENO, F.; MORENO, C.; MOLINA, E.; GRIJALBA-BENDECK, M. & GÓMEZ-CANCHONG, M. (2007). Tiburones y rayas (subclase Elasmobranchii) descartados por la flota de arrastre camaronero en el caribe de Colombia. *Acta Biológica Colombiana*, 12(2), 69–80.
- AMADO FILHO, G. M.; REZENDE, C. E. & LACERDA, L. D. (1999). Poluição da baía de Sepetiba já ameaça outras áreas. *Ciência Hoje*, 25, 46–48
- BATISTA, V. da S. (1991). Aspectos quantitativos da fecundidade e do desenvolvimento embrionário da raia *Zapteryx brevirostris* Müller & Hendle 1841 (Pisces, Rhinobatidae) da enseada de Itaipu, Niterói, Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Biologia*, 51(3), 495–501.
- BARKER, M.J. & SCHLUESSEL, V. (2005) Managing global shark fisheries: suggestions for prioritizing management strategies. *Aquatic Conservation* 15:325–347.
- BORNATOWSKI, H.; ABILHOA, V. & CHARVET-ALMEIDA, P. (2009). Elasmobranchs of the Paraná Coast, southern Brazil, south-western Atlantic. *Marine Biodiversity Records*, 2, 1–6.
- CAMPANA, S. E. (2001). Accuracy, precision and quality control in age determination, including a review of the use and abuse of age validation methods. *Journal of Fish Biology*, 59, 197–242.
- CAMHI, M.; FOWLER, S.; MUSICK, J.; BRÄUTIGAM, A. & FORDHAM, S. (1998). Sharks and their relatives. Ecology and Conservation. Species Survival Commission, World Conservation Union, Gland, Switzerland. *Occasional Paper of the IUCN Species Survival Commission*, 20.
- CHAVES, P. T. & ROBERT, M. C. (2003). Embarcações, arte, e procedimentos da pesca artesanal no litoral sul do Estado do Paraná, Brasil. *Atlântica, Rio Grande*, 25(1), 53–59.

- CLARKE, S.; MILNER-GULLAND, E.J. & BJORN DAL, T. (2007) Social, economic and regulatory drivers of the shark fin trade. *Marine Resource Economics* 22:305–327.
- COSTA, L. & CHAVES, P. D. T. da C. (2006). Elasmobrânquios capturados pela pesca artesanal na costa sul do Paraná e norte de Santa Catarina, Brasil. *Biota Neotropica*, 6(3), 2–10.
- DE-FRANCO, B.; MENDONÇA, F.F.; HASHIMOTO, D.T.; PORTO-FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. & FORESTI, F. (2010) Forensic identification of the guitarfish species *Rhinobatos horkelli*, *R. percellens* and *Zapteryx brevirostris* using multiplex-PCR. *Molecular Ecology Resources* 10:197–9.
- DEMSKI, L. S. (1989). Pathways for GnRH control of elasmobranch reproductive physiology and behavior. *Journal of Experimental Zoology Supplement*, 2, 4–11.
- DIAS, J. F.; PERES-RIO, E.; CHAVES, P. T. C. & ROSSI-WONGTSCHOWSKI, C. L. D. B. (1998). Análise Macroscópica dos Ovários de Teleósteos: Problemas de Classificação e Recomendações de Procedimentos. *Revista Brasileira de Biologia*, 58(1), 55–69.
- DULVY, N. K.; FOWLER, S. L.; MUSICK, J. A.; CAVANAGH, R. D.; KYNE, P. M.; HARRISON, L. R.; CARLSON, J. K.; DAVIDSON, L. N. K.; FORDHAM, S. V.; FRANCIS, M. P.; POLLOCK, C. M.; SIMPFENDORFER, C. A.; BURGESS, G. H.; CARPENTER, K. E.; COMPAGNO, L. J. V.; EBERT, D. A.; GIBSON, C.; HEUPEL, M. R.; LIVINGSTONE, S. R.; SANCIANGCO, J. C.; STEVENS, J. D.; VALENTI, S.; WHITE, W. T. (2014). Extinction risk and conservation of the world's sharks and rays. *eLife* 3:e00590
- FERRETTI, F.; WORM, B.; BRITTEN, G. L.; HEITHAUS, M. R.; LOTZE, H. K. (2010) Patterns and ecosystem consequences of shark declines in the ocean. *Ecology Letters*, 13: 1055–1071.
- FIGUEIREDO, J. L. (1977). *Manual de Peixes Marinhos do Sudeste do Brasil: I: Introdução - Cações, Raias e Quimeras*. São Paulo: Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo.
- FRISK, M.; MILLER, T. & FOGARTY, M. (2001). Estimation and analysis of biological parameters in

- elasmobranch fishes: a comparative life history study. *Canadian Journal of Fisheries Aquatic Sciences*, 58, 969–981.
- GALÍNDEZ, E.; DIAZ-ANDRADE, M. C.; AVACA, M. S.; ESTECONDO, S. (2010) Morphological study of the oviductal gland in the smallnose fanskate *Sympterygia bonapartii* (Müller and Henle, 1841) (Chondrichthyes, Rajidae). *Brazilian Journal of Biology*, 70:325–333.
- GOLDMAN, K. J. (2004). Age and growth of elasmobranch fishes. In MUSICK J.A. (Ed.), *Elasmobranch Fisheries Management Techniques* (APEC Secre, pp. 97–132). Singapore.
- MANSOUR, S. & SIDKY, M. M. (2002). Ecotoxicological studies. 3: Heavy metals contaminating water and fish from Fayoum Governorate, Egypt. *Food Chemistry*, 78, 15–22.
- MENNI, R. & STEHMANN, M. (2000). Distribution, environment and biology of batoid fishes off Argentina, Uruguay and Brazil. A review. *Revista Museo Argentino de Ciencias Naturales*, 2(1), 69–109.
- MINISTÉRIO MEIO AMBIENTE (2014). Atualização das Listas de Espécies Ameaçadas de Extinção. Portaria 445, publicada em 17 de dezembro.
- MUSICK, J. A. (1999). Ecology and Conservation of Long-Lived Marine Animals. *American Fisheries Society Symposium*, 23, 1–10.
- MUSICK, J. A. & ELLIS, J. K. (2005) Reproductive Evolution of Chondrichthyans. In: HAMLETT, W.C. (ed) *Reproduction Biology Phylogeny Chondrichthyes Sharks, Batoids Chimaeras*. Science Publishers Incorporated, Enfield (NH), USA, pp 45-71
- ODUM, E. P. (1988). *Ecologia*. (p. 434). Guanabara-Koogan.
- PAES, E. T. & MONTEIRO-NETO, C. (2009). Necton marinho. In PEREIRA R. C. & SOARES-GOMES A. (Eds.), *Biologia Marinha* (2<sup>a</sup> ed.). Rio de Janeiro: Interciência.
- ROBERT, M. C. (2012). A captura de elasmobrânquios na costa paranaense. In BORNATOWSKI,

- H.& ABILHOA, V. (Eds.), *Tubarões e raias capturados pela pesca artesanal no Paraná - guia de identificação*. (pp. 27–34). Curitiba, PR: Hori cadernos tecnicos n.4.
- SANTOS, C.; CORTELLETE, G. M.; ARAUJO, K. C. B. & SPACH, H. L. (2006). Estrutura populacional da raia-viola *Zapteryx brevirostris* (chondrichthyes, rhinobatidae), na plataforma adjacente à baía de Paranaguá, PR. *Acta Biologica Leopoldensia*, São Leopoldo, RS : 28(1), 32–37.
- SHOTTON, R. (1999) Case studies of the management of elasmobranch fisheries. Rome, FAO
- SILVA, C. E. D. A. E.; AZEREDO, A.; DIAS, A. D. C. L.; COSTA, P.; LAILSON-BRITO, J.; MALM, O.; TORRES, J. P. M. (2009). Organochlorine compounds in sharks from the Brazilian coast. *Marine Pollution Bulletin*, 58(2), 290–311.
- SILVA, J. P. A. da; MUELBERT, A. E.; OLIVEIRA, E. C. de & FÁVARO, L. F. (2010). Reproductive tactics used by the Lambari *Astyanax aff. fasciatus* in three water supply reservoirs in the same geographic region of the upper Iguazu River. *Neotropical Ichthyology*, 8(4), 885–892.
- SPARRE, P. E & VENEMA, S. C. (1997). *Introduction to tropical fish stock. Part 1. Manual*. (306(1) ed., p. 337). Rome: FAO Fisheries Technical Paper.
- STEVENS, J.; BONFIL, R.; DULVY, N.K. & WALKER, P.A. (2000) The effects of fishing on sharks, rays, and chimaeras (chondrichthyans), and the implications for marine ecosystems. *ICES Journal of Marine Science* 57:476–494.
- VAZZOLER, A. E. A. M. (1981). *Manual de métodos para estudos biológicos de populações de peixes. Reprodução e Crescimento*. (p. 108). Brasília, CNPq.: Plano Nacional de Zoologia.
- VOOREN, C. M.; LAMÓNACA, A. F; MASSA, A. & HOZBOR, N. (2006). *Zapteryx brevirostris*, the IUCN Red List of Threatened Species, Version 2014.2. Retrieved from [www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)

- VOOREN, C. M. & KLIPPEL, S. (2005). Diretrizes para conservação de elasmobrânquios ameaçados. In VOOREN, C. M. & KLIPPEL, S. (Eds.), *Ações para a conservação de tubarões e raias no sul do Brasil* (Igaré, pp. 213–228). Porto Alegre.
- VOOREN, C. M. V.; LESSA, R. P. & KLIPPEL, S. (2005). Biologia e status de conservação da viola *Rhinobatos horkelii*. In VOOREN, C. M. & KLIPPEL, S. (Eds.), *Ações para a conservação de tubarões e raias no sul do Brasil* (p. 262). Porto Alegre.
- WALKER, T.I. (2005) Reproduction in Fisheries Science. In: HAMLETT, W.C. (ed) Reproduction Biology Phylogeny Chondrichthyes Sharks, Batoids Chimaeras. Science Publishers Incorporated, Enfield (NH), USA, pp 81–127.
- WORM, B.; DAVIS, B.; KETTERNER, L.; WARD-PAIGE, C. A.; CHAPMAN, D.; HEITHAUS, M.; KESSEL, S.; GRUBER, S. (2013) Global catches, exploitation rates, and rebuilding options for sharks. *Marine Policy*. 40:194-204.
- WOURMS, J. P. (1977). Reproduction and Development in Chondrichthyan Fishes. *American Zoology*, 17, 379–410.
- WOURMS, J. P. (1981). Viviparity: The maternal-fetal relationship in fishes. *American Zoologist* 21(2): 473-515.

## CAPÍTULO I

# **CICLO E ESTRUTURA REPRODUTIVA DE *Zapteryx brevirostris* NO SUL DO BRASIL**

## CICLO E ESTRUTURA REPRODUTIVA DE *Zapteryx brevirostris* NO SUL DO BRASIL

### RESUMO

A reprodução é um processo fundamental para a perpetuação das espécies, manutenção dos estoques e à viabilidade das populações de peixes. As características da estratégia de vida dos elasmobrânquios, tais como baixas taxas de crescimento e reduzido potencial reprodutivo, torna o grupo extremamente vulnerável. *Zapteryx brevirostris* (Müller & Henle, 1841), objeto deste estudo, popularmente denominada de raia-viola, distribui-se pela plataforma continental brasileira, e é descrita como “vulnerável” no livro vermelho da IUCN e na lista nacional de espécies ameaçadas. As coletas foram realizadas mensalmente entre novembro de 2011 e outubro de 2012, na costa do estado do Paraná. A confirmação das fases reprodutivas dos indivíduos ocorreu através da análise histológica dos órgãos do sistema reprodutor (machos: testículos, fêmeas: ovários, úteros e glândula nidamental). Foi determinado o IGS médio mensal para a confecção das curvas de maturação, para sexos separados. Foram amostrados 245 espécimes, 128 fêmeas e 117 machos, cujos comprimentos totais variaram de 39 a 56 cm para fêmeas e 35,7 a 51,7 cm para machos. Devido ao n amostral baixo de indivíduos imaturos (zero fêmeas e somente oito machos) nas amostragens, o comprimento de primeira maturação não foi determinado. A frequência de ocorrência dos sexos por classes de comprimento não apresentou diferenças estatísticas. Os maiores valores individuais de IGS para fêmeas ocorreram no mês de junho e para machos no mês de maio, ambos no outono. Fêmeas capazes de fecundar e machos capazes de espermiar ocorreram em todas as classes de tamanho. Do total de animais capturados, 72% das fêmeas estavam grávidas, estágio maturacional que somente não ocorreu no outono, e a maior ocorrência de grávidas foi na primavera, seguida pelo verão. O outono é a estação de cópula/fecundação, e os embriões menores iniciam seu crescimento no inverno, continuando na primavera e atingindo os maiores comprimentos no verão, o que indica que o nascimento ocorra nesta estação, com um período gestacional médio de 6 a 7 meses. Estes dados mostram que o litoral do estado do Paraná pode ser considerado uma área de reprodução e parto para a espécie.

**Palavras-chave:** Embriões, gestação, conservação, IGS, curva de maturação, elasmobrânquios.

## REPRODUCTIVE CYCLE AND STRUCTURE OF *Zapteryx brevirostris* IN THE SOUTHERN BRAZIL.

### ABSTRACT

Reproduction is a fundamental process for the perpetuation of species, maintenance of stocks and the viability of fish populations. The characteristics of life strategies of elasmobranchs, such as low growth rates and reduced reproductive potential, make the group extremely vulnerable. *Zapteryx brevirostris* (Müller & Henle, 1841), object of this study, is commonly known as lesser guitarfish, is distributed around the Brazilian continental shelf, and it's described as "vulnerable" in the red list of the *International Union for the Conservation of Nature* (IUCN) and in the Brazilian national list of endangered species. The collections of samples occurred monthly between November 2011 and October 2012, in the Paraná's state coast. Confirmation of reproductive phases of the individuals was made through histological analysis in organs of the reproductive system (males: testicles; females: ovaries, uterus and oviducal gland). It was determined the monthly average of GSI to build maturation curves, for separated sexes. 245 specimens were sampled, 128 females and 117 males, whose total lengths varied from 39 to 56 cm for females and 35.7 to 51.7 cm for males. Due to a low sample number of immature individuals (zero females and only eight males), the length of the first maturation was not determined. The frequency of occurrence of sexes by length classes did not show statistical differences. The highest individual values of GSI for females occurred in June and for males, in May, both in the fall. Females that were capable of fecundate and males capable of releasing sperm occurred in all classes of growth. From all animals captured, 72% of the females were pregnant, maturational stage that did not occur only in the fall, and, the highest occurrence of pregnant females was in the spring, followed by summer. The fall is the season of copula/fecundation, and the smallest embryos initiate their growth during winter, through spring and reach their highest length in the summer, which indicates that birth happens in this season, with an average gestational period of 6 to 7 months. These data show that the Paraná coast can be considered a reproduction and birth area for *Z. brevirostris*, which shows the need of controlling this species fishing, to maintain the natural stocks, since the same is already vulnerable according to the Ministry of Environment.

**Key-words:** Embryos, pregnancy, conservation, GSI, maturation curves, elasmobranch.

## INTRODUÇÃO

A reprodução é um processo fundamental para a perpetuação das espécies, manutenção dos estoques e à viabilidade das populações de peixes. O entendimento do referido processo biológico faz-se necessário para subsidiar a conservação das espécies, dos sítios reprodutivos e a regulamentação da atividade pesqueira a fim de manter os estoques naturais dos recursos pesqueiros. O grupo elasmobrânquio tornou-se um importante recurso pesqueiro nos últimos anos (BARKER & SCHLUESSEL, 2005), sendo as espécies de tubarões e raias exploradas em todo o mundo, tanto pela pesca dirigida ou através de *bycatch* (SHOTTON, 1999; STEVENS *et al.*, 2000). O declínio populacional e relatos de sobrepesca foram registrados por VOOREN & KLIPPEL (2005), CLARKE *et al.* (2007), DE-FRANCO *et al.* (2010), FERRETTI *et al.* (2010), WORM *et al.* (2013) e DULVY *et al.* (2014). As características da estratégia de vida dos elasmobrânquios, tais como baixas taxas de crescimento e reduzido potencial reprodutivo (CORTÉS, 2000; COELHO & ERZINI, 2002, 2006), torna o grupo extremamente vulnerável (GOMES *et al.*, 2010). Somando-se à sobrepesca e as características de estratégia de vida de tendência *K*, a destruição dos ecossistemas marinhos intensifica a ameaça das espécies do referido grupo, principalmente as áreas costeiras, as quais muitas vezes são utilizadas para reprodução e desenvolvimento de várias espécies de elasmobrânquios (GOMES *et al.*, 2010).

Dentre os elasmobrânquios, a família Rhinobatidae é representada por dois gêneros no litoral brasileiro, *Zapteryx* e *Rhinobatos*, sendo o gênero *Zapteryx* representado por uma única espécie, *Zapteryx brevirostris* (Müller & Henle, 1841), popularmente denominada de raia-viola ou raia viola de focinho curto (SANTOS *et al.*, 2006; COUSSEAU *et al.*, 2007; GOMES *et al.*, 2010). A espécie *Zapteryx brevirostris* (Müller & Henle, 1841) distribui-se pela plataforma continental Brasileira (a partir do Rio de Janeiro) ao sul da província de Buenos Aires, na Argentina (CASTELLO, 1971; FIGUEIREDO, 1977; MENNI & STEHMANN, 2000). É descrita por preferir águas frias (GOMES *et al.*, 2010). Esta espécie é frequentemente encontrada em águas costeiras (FIGUEIREDO, 1977), alcança um tamanho total de 59 cm para machos e 65 cm para fêmeas (COLONELLO *et al.*, 2011), atingindo a maturidade entre 42–43 cm de comprimento total (BATISTA, 1991; SANTOS *et al.*, 2006). A espécie é explorada comercialmente pela pescaria artesanal na costa do estado do Paraná (sul do Brasil) (SANTOS *et al.*, 2006; BORNATOWSKI *et al.* 2009) e encontra-se descrita como “vulnerável” no livro vermelho da IUCN (International Union for the Conservation of Nature) (VOOREN *et al.*, 2006) e na lista nacional de espécies ameaçadas (PORTARIA 445/2014 - MINISTÉRIO MEIO AMBIENTE).

De acordo com BATISTA (1991) e SANTOS *et al.*, (2006), a espécie *Z. brevirostris* não é comercializada no Brasil. Entretanto, GOMES *et al.* (2010) relatam que apesar da referida espécie ser capturada em pescarias artesanais e industriais no estado do Rio de Janeiro, o seu estoque não sofre exploração por pesca dirigida, sendo mais capturada via *bycatch*, com sua carne consumida pelas comunidades de pescadores e dos locais de desembarque pesqueiro (GOMES *et al.*,2010). Contudo, de acordo com os relatos de COSTA & CHAVES (2006), BORNATOWSKI *et al.* (2009), e através da observação pessoal direta dos locais de venda da comunidade de pescadores, *Z. brevirostris* é comercializada no litoral do estado do Paraná.

Perante seu estado na lista nacional de espécies ameaçadas, torna-se necessário obter conhecimentos do seu ciclo de vida, reprodução, gestação e parto, de modo que se possa efetuar uma gestão eficiente e sustentável. Assim, o objetivo deste estudo é apresentar informações sobre a estrutura e o ciclo reprodutivo de *Z. brevirostris* no estado do Paraná, a fim de verificar se a espécie permanece o ano todo no local de coletas, se ambos os sexos ocorrem na região, qual o período reprodutivo e se ocorrem fêmeas prenhes no local de coletas. Dados estes que irão compor uma base de informações para gerenciamento das pescarias à espécie, e subsidiar planos de manejo, solicitados pelo Ministério do Meio Ambiente em decorrência da vulnerabilidade da espécie.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Amostragem**

As coletas foram realizadas mensalmente entre novembro de 2011 e outubro de 2012, na costa do estado do Paraná, por pescadores artesanais utilizando rede de espera de malha 16 cm. Os animais foram obtidos junto à banca de pescadores de Shangri-lá, município de Pontal do Paraná (25°37'28,43''S; 48°25'03,80''O) (Fig. 1).

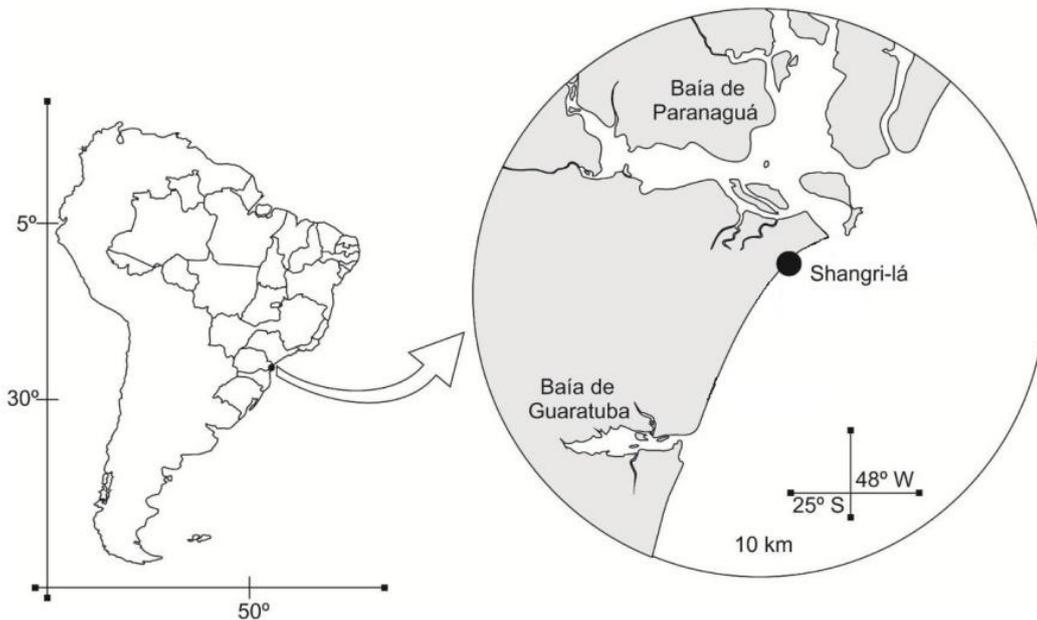


Figura 2 – Localização da banca de pescadores de Shangri-lá, no estado do Paraná, sul do Brasil (modificado de BORNATOWSKI & ABILHOA, 2012).

Os animais, assim que coletados, tiveram mensurados o seu comprimento total (CT em centímetros), o peso total (PT em gramas) e o sexo foi determinado através da presença ou ausência de clássper, sendo verificado o grau de calcificação do mesmo: não calcificado, semicalcificado, totalmente calcificado (WALKER, 2005; KUME *et al.*, 2009).

Os animais foram sacrificados com secção medular e seccionados ventralmente para a exposição das gônadas, que foram retiradas e pesadas (peso em gramas). As glândulas nidamentais foram pesadas (peso em gramas) e o útero foi analisado quanto a presença ou ausência de embriões. Nas fêmeas prenhes, foi anotado o número de filhotes por ninhada, e mensurados o comprimento total (CT em centímetros) e peso total (PT em gramas) dos embriões.

### **Análise dos dados**

A confirmação das fases reprodutivas dos indivíduos ocorreu através da análise histológica dos órgãos do sistema reprodutor, baseado em WALKER (2005), BROWN-PETERSON *et al.* (2011) e COLONELLO *et al.* (2011), conferindo a este estudo resultados mais seguros, pois segundo CONRATH (2004) a análise histológica confere um maior detalhamento da espermatogênese e da ovogênese. Assim, vários órgãos foram destinados à análise

microscópica para um maior detalhamento da estrutura tecidual, objetivando alcançar o melhor entendimento do processo reprodutivo da espécie. Exemplares machos tiveram os testículos analisados microscopicamente, enquanto as fêmeas, por apresentarem etapas mais diferenciadas no processo reprodutivo (fecundação e o desenvolvimento embrionário interno), tiveram além dos ovários, os úteros e a glândula nidamental analisados a partir de preparados histológicos. Os diferentes órgãos foram fixados em ALFAC por 18 horas e posteriormente submetidos ao processo histológico de rotina, sendo incluídos em Paraplast® e depois foram corados com Hematoxilina-Eosina (FÁVARO & OLIVEIRA, 2012).

A partir de observações macro e microscópicas dos órgãos analisados foram confeccionadas as escalas de desenvolvimento reprodutivo para cada sexo, possibilitando estabelecer o ciclo reprodutivo da espécie. Para fêmeas, foram utilizadas como critérios as mudanças periódicas do peso das glândulas nidamentais, estado dos úteros (com parede espessa ou fina, muitas ou poucas vilosidades) e presença ou ausência de embriões, diâmetro do maior folículo ovariano (DMFO, em centímetros), quais as linhagens celulares presentes no ovário e a coloração dos folículos ovarianos. Para machos, os critérios utilizados foram o tamanho do testículo, células da linhagem espermática presentes e o grau de calcificação do clássper, que indica a fase do ciclo de vida em relação à maturidade sexual.

A proporção sexual foi analisada por classe de comprimento e sazonalmente através do teste do  $X^2$ , significativo quando  $\geq 3,84$   $\alpha = 0,05$  (VAZZOLER, 1996). Para realizar a análise do comprimento total dos exemplares no processo reprodutivo, os mesmos foram divididos em oito classes de comprimento total, com intervalo de 2,2 cm a partir do comprimento do menor indivíduo, de acordo com o postulado de Sturges (SOKAL & ROHLF, 1981).

Para avaliação do desenvolvimento gonadal foi estimado o índice gonadossomático (IGS), expresso pela fórmula  $IGS=(PG/PT) \times 100$ , onde PG = peso das gônadas e PT = peso total, (VAZZOLER, 1996), que foi calculado para cada indivíduo e analisado para sexos separados. Também foi determinado o IGS médio mensal para a confecção das curvas de maturação, para sexos separados.

Foi realizada a distribuição mensal e sazonal da frequência percentual dos estádios reprodutivos, a distribuição percentual sazonal de fêmeas grávidas e a relação entre o comprimento total do embrião com a sazonalidade, a fim de melhor compreender a dinâmica reprodutiva da espécie. Para melhor entender o desenvolvimento do ciclo reprodutivo e suas relações temporais e anatômicas, considerando as variações que ocorrem nos órgãos reprodutivos, foram analisadas a relação entre DMFO, IGS, e estações do ano; relação entre o

peso da glândula nidamental, o IGS e os meses de coleta e a relação entre o comprimento total dos machos com o grau de calcificação dos cláspers.

Devido ao n amostral baixo de indivíduos imaturos nas amostragens (somente oito machos), o comprimento de primeira maturação não foi determinado.

As estações do ano foram definidas como: Primavera, de outubro a dezembro; Verão, de janeiro a março; Outono, de abril a junho, e Inverno, de julho a setembro. Nos meses de abril e setembro de 2012, apesar da realização das coletas, não foram obtidos espécimes.

## RESULTADOS

Foram amostrados 245 espécimes de *Zapteryx brevirostris*, sendo 128 fêmeas (52,2%) e 117 machos (47,8%). O comprimento total (CT) dos exemplares amostrados variou de 39 a 56 cm (média 45,58 ±2,94 cm DP) para fêmeas e 35,7 a 51,7 cm (média 44,59 ±2,66 cm DP) para machos. O peso total (PT) dos exemplares amostrados variou de 442,65g a 1.135,66g (média 655,70g ±117,02 g DP) para fêmeas e 333,40g a 734,08g (média 529,10 ±71,84 g DP) para machos. A relação CT x PT, para ambos os sexos, demonstrou que a espécie possui um crescimento alométrico negativo ( $b < 3$ ).

A frequência de ocorrência dos sexos por classes de comprimento foi igualitária em todas as classes, não apresentando diferenças estatísticas, mesmo com somente fêmeas encontradas na maior classe de comprimento (53 a 56 cm), e exclusivamente machos encontrados na menor classe de comprimento (35 a 37,99 cm) (Fig. 2).

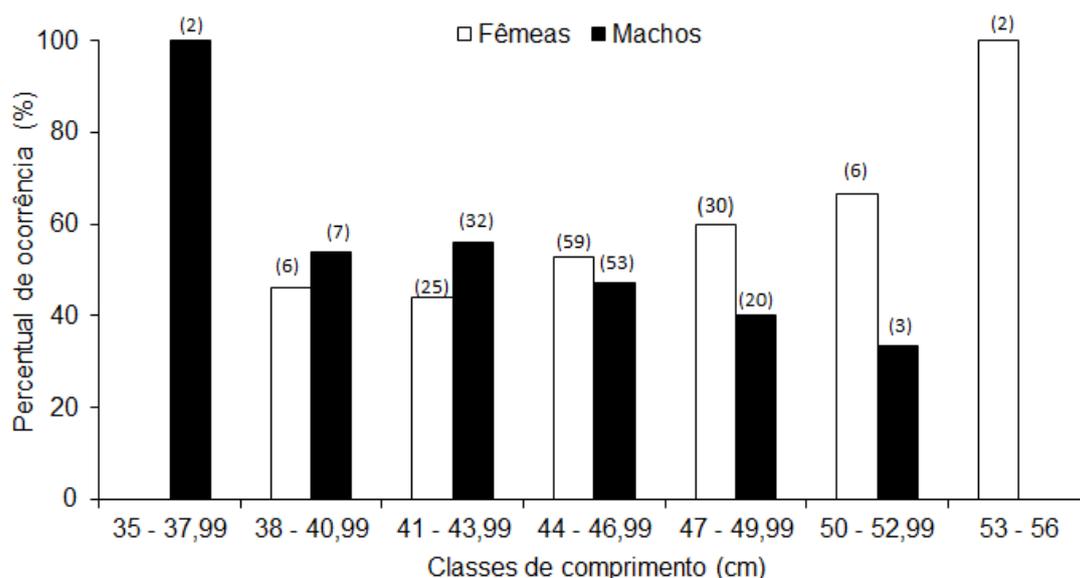


Figura 3– Proporção sexual por classes de comprimento para *Zapteryx brevirostris* coletadas no litoral do estado do Paraná, Brasil. Os números sobre as barras indicam a frequência absoluta.

O percentual de captura sazonal indicou que a primavera foi o período com maior obtenção de espécimes (33,1% do total capturado). Quanto à proporção sexual sazonal, primavera e verão apresentam as maiores capturas de fêmeas, enquanto o outono e inverno as maiores capturas de machos. A única estação que não apresentou diferença significativa na captura entre os sexos foi o inverno (Fig. 3).

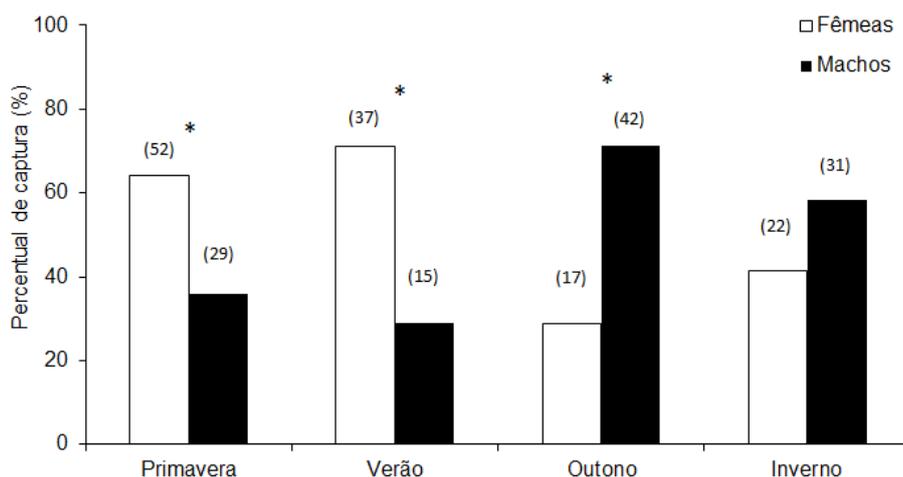


Figura 4– Proporção sexual sazonal de *Zapteryx brevirostris* do litoral do estado do Paraná, Brasil. Os números entre parênteses sobre as barras indicam a frequência absoluta e \* indicam diferença estatística entre os sexos.

Os maiores valores individuais de IGS para fêmeas ocorreram no mês de junho, coincidindo com a média mensal. Já para os machos, os valores individuais de IGS atingiram seu ápice no mês de maio, o que também coincidiu com a média mensal (Fig. 4). Não foi encontrada correlação entre o CT e o valor de IGS.

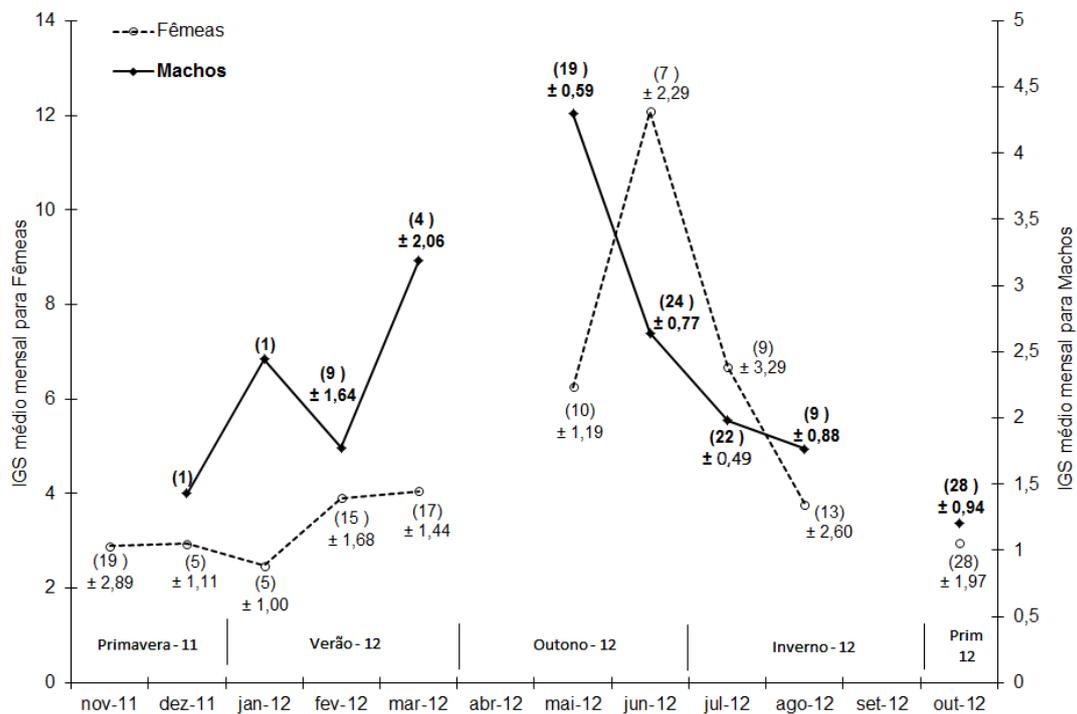


Figura 5– Curva de maturação para fêmeas e machos de *Zapteryx brevirostris* do litoral do estado do Paraná, Brasil. Os números entre parênteses indicam a frequência absoluta e os números com  $\pm$  indicam o desvio padrão.

Através dos critérios utilizados para estabelecer os estádios de desenvolvimento reprodutivo em fêmeas, estas foram classificadas em imaturas, em desenvolvimento, capazes de fecundar e grávidas (com embriões indiferenciados ou diferenciados), conforme mostrado na Tabela 1.

Tabela 1 – Determinação da escala de desenvolvimento reprodutivo para fêmeas de *Zapateryx brevirostris* do litoral do estado do Paraná, Brasil. Critérios baseados em WALKER (2005), BROWN-PETERSON *et al.* (2011) e COLONELLO *et al.* (2011).

<b>Estádio</b>	<b>Características Macroscópicas e Histológicas</b>
<b>Em desenvolvimento</b>	Folículos ovarianos pré-vitelogênicos e vitelogênicos, Maior folículo de cor amarela (vitelogênico), Útero com parede espessa e muitas vilosidades.
<b>Capaz de fecundar (não grávida)</b>	Ovários grandes com folículos visíveis macroscopicamente, Folículos ovarianos pré-vitelogênicos, vitelogênicos e maduros, Podem ocorrer folículos atrésicos e vazios, Maior folículo de cor amarela (vitelogênico), útero com parede espessa e muitas vilosidades, Ausência de embriões.
<b>Grávidas</b>	<b>com embriões indiferenciados</b> Ovários grandes com folículos visíveis macroscopicamente, Folículos ovarianos pré-vitelogênicos, vitelogênicos e maduros, Podem ocorrer folículos atrésicos e vazios, Maior folículo de cor amarela (vitelogênico), Útero com parede fina e poucas vilosidades, Presença de embriões menores que 0,5 cm (indiferenciados*).
	<b>com embriões diferenciados</b> Ovários grandes com folículos visíveis macroscopicamente, Folículos ovarianos pré-vitelogênicos, vitelogênicos e maduros, Podem ocorrer folículos atrésicos e vazio, Maior folículo de cor amarela (vitelogênico), Útero com parede fina e poucas vilosidades, Presença de embriões maiores que 0,5 cm (diferenciados*).

\* Embriões indiferenciados são visualizados como uma mancha esbranquiçada sobre o vitelo, não sendo visualizados a olho desarmado. Nos embriões diferenciados, com coloração amarela clara, é possível observar a olho desarmado as fendas branquiais e o início do desenvolvimento das nadadeiras peitorais.

Através dos critérios utilizados para estabelecer os estádios de desenvolvimento reprodutivo em machos, estes foram classificados em imaturos, em desenvolvimento e capazes de espermiar, conforme mostrado na tabela 2.

Tabela 2 – Determinação da escala de desenvolvimento reprodutivo para machos de *Zapteryx brevirostris* do litoral do estado do Paraná, Brasil. Critérios baseados em WALKER (2005), BROWN-PETERSON *et al.* (2011) e COLONELLO *et al.* (2011).

<b>Estádio</b>	<b>Características Macroscópicas e Histológicas</b>
<b>Imaturo</b>	Testículos pequenos, somente espermatogônias presentes. Cláster não calcificado
<b>Em desenvolvimento</b>	Testículos com tamanho maior que o estágio anterior, com presença de espermatogônias, espermatócitos e espermátides. Cláster geralmente semicalcificado, entretanto, alguns indivíduos podem apresentá-lo já calcificado.
<b>Capaz de espermiar</b>	Testículos com tamanho maior que o estágio anterior, contendo espermatogônias, espermatócitos, espermátides e espermatozoides. Cláster calcificado.

Fêmeas imaturas não foram encontradas neste trabalho, por sua vez, fêmeas capazes de fecundar ocorreram em todas as classes de tamanho. Já para os machos, foram registrados exemplares imaturos, e a ocorrência dos capazes de espermiar deu-se em todas as classes de tamanho. De acordo com as estações, no outono ocorreram machos e fêmeas capazes de fecundar e espermiar (Fig. 5 A e B). Nas outras estações variou a ocorrência de machos imaturos e de fêmeas e machos em desenvolvimento (Fig. 5 A e B). Fêmeas com marca de cópula recente foram encontradas no outono, e algumas com marcas de cópula cicatrizadas foram obtidas na primavera. A curva de maturação atinge seu ápice em maio para machos e junho para fêmeas, ambos no outono, período em que 100% de ambos os sexos estavam capazes de eliminar gametas. O outono foi assim considerado o período de cópula. No inverno a frequência de indivíduos capazes de eliminar gametas diminui e surgem fêmeas grávidas com predomínio de embriões indiferenciados. Na primavera as fêmeas grávidas apresentam embriões maiores que a estação anterior, sendo os mesmos já diferenciados. O verão é a estação de nascimento dos indivíduos e ocorre a maior frequência de fêmeas em desenvolvimento e machos imaturos, podendo assim ser a estação que marca o reinício do ciclo reprodutivo.

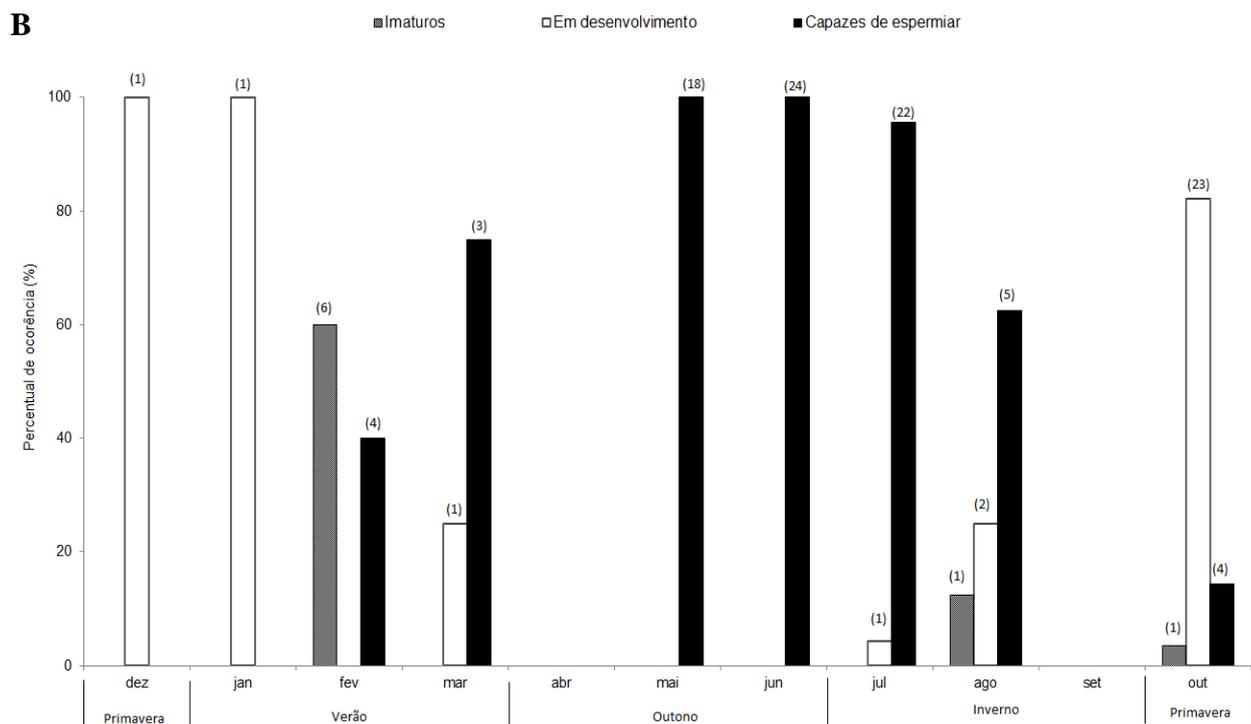
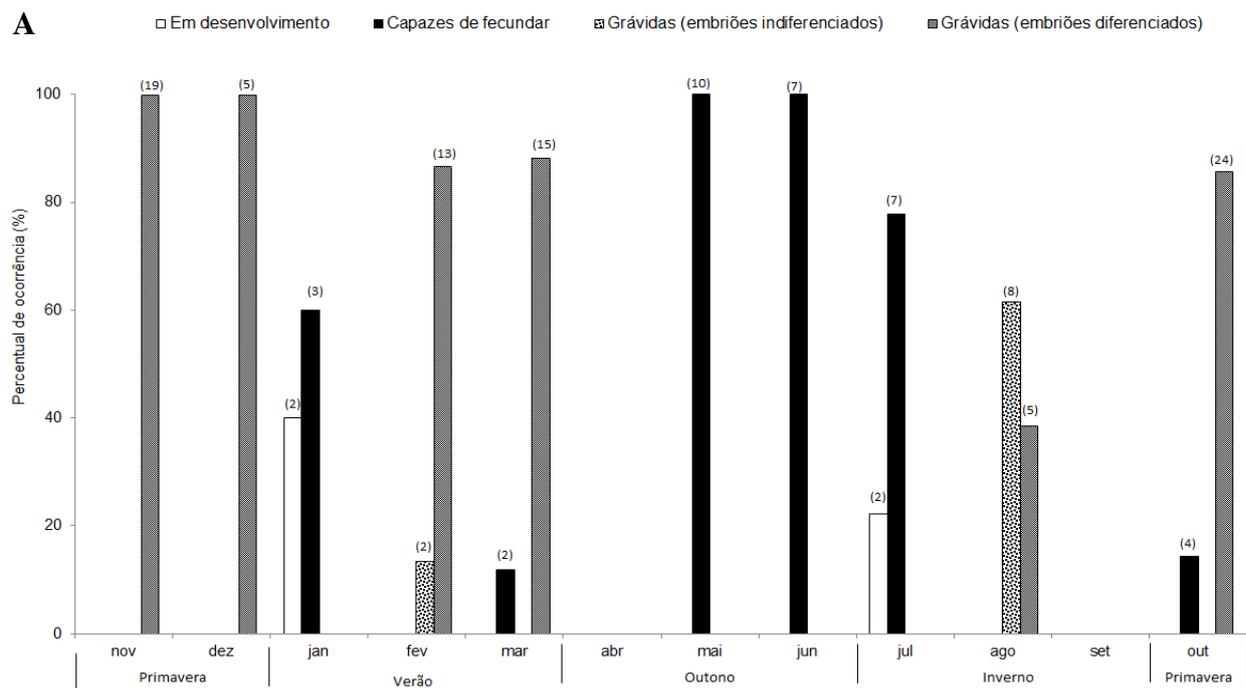


Figura 6– Distribuição percentual mensal dos estádios reprodutivos em fêmeas (A) e machos (B) de *Zapteryx brevirostris* do litoral do estado do Paraná, Brasil. Os números sobre as barras indicam a frequência absoluta dos estádios reprodutivos.

O DMFO foi calculado para auxiliar na escala de maturidade da fêmea, e constatou-se que não há correlação entre o CT da fêmea e o tamanho do DMFO. Ao relacionar o DMFO com o IGS, observou-se que folículos de tamanho intermediário apresentam maiores valores de IGS, enquanto folículos de tamanho menor ou maior apresentam os menores valores (Fig. 6). Analisando a média de valores sazonais do DMFO em relação ao IGS médio sazonal, constatou-se que na primavera, estação que apresenta os menores valores de IGS médio, evidencia-se também os maiores valores de DMFO (Fig. 7).

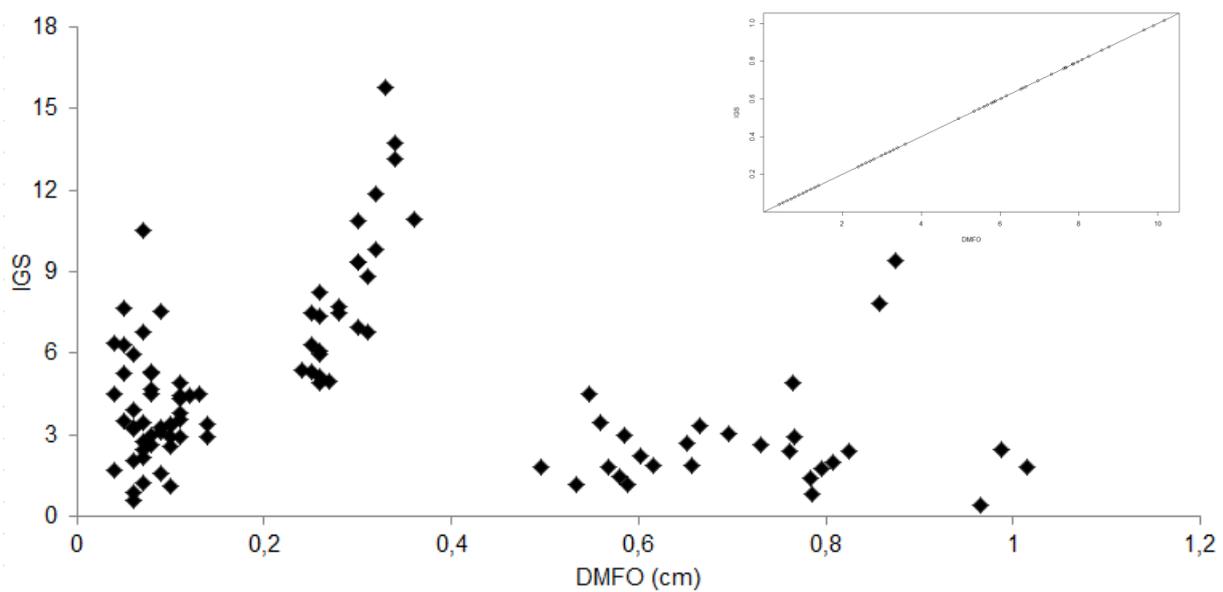


Figura 7– Relação entre os valores individuais do DMFO e do IGS de *Zapteryx brevirostris* do litoral do estado do Paraná, Brasil. Em detalhe a regressão com valor de  $p < 0,01$ .

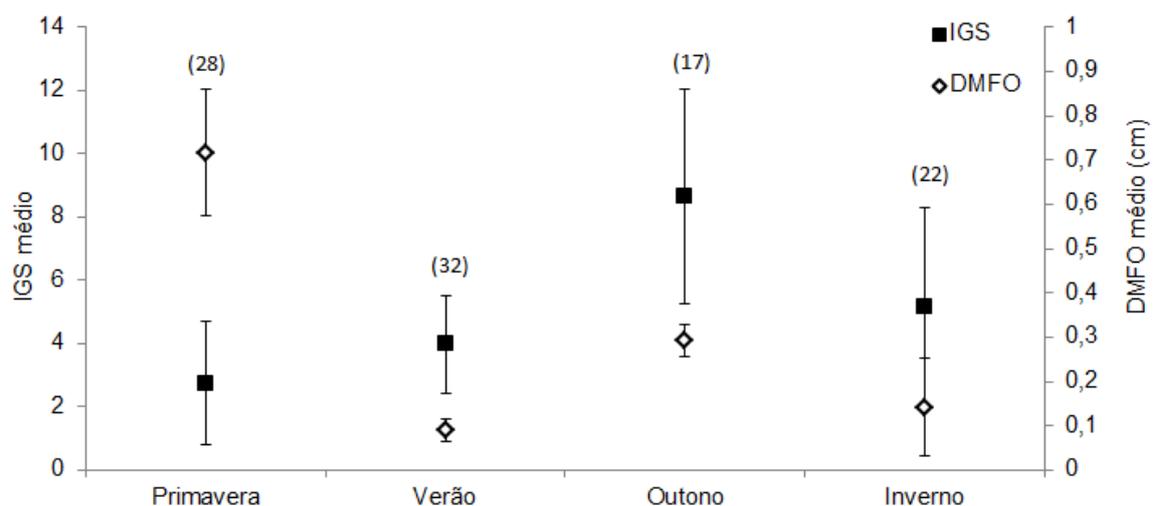


Figura 8– Relação entre os valores médios sazonais do DMFO e do IGS de *Zapteryx brevirostris* do litoral do estado do Paraná, Brasil. Os números entre parênteses indicam a frequência absoluta.

As glândulas nidamentais foram analisadas histologicamente, não sendo registrado o armazenamento de espermatozoides. Foi detectada uma variação em peso destas glândulas no decorrer do processo reprodutivo e relacionando os valores médios mensais dos pesos das glândulas nidamentais com a curva de maturação de fêmeas observou-se uma sincronia entre as curvas (Fig. 8).

Em machos, foi analisado o grau de calcificação do cláster, possibilitando a classificação dos machos em três estágios: cláster não calcificado (NC) referente aos machos imaturos, cláster semicalcificado (SC) referentes aos machos pré-adultos, e cláster totalmente calcificado (TC) referentes aos machos adultos. O grau de calcificação do Cláster está relacionado ao comprimento do animal, conforme o animal cresce maior é a calcificação do Cláster (Fig. 9).

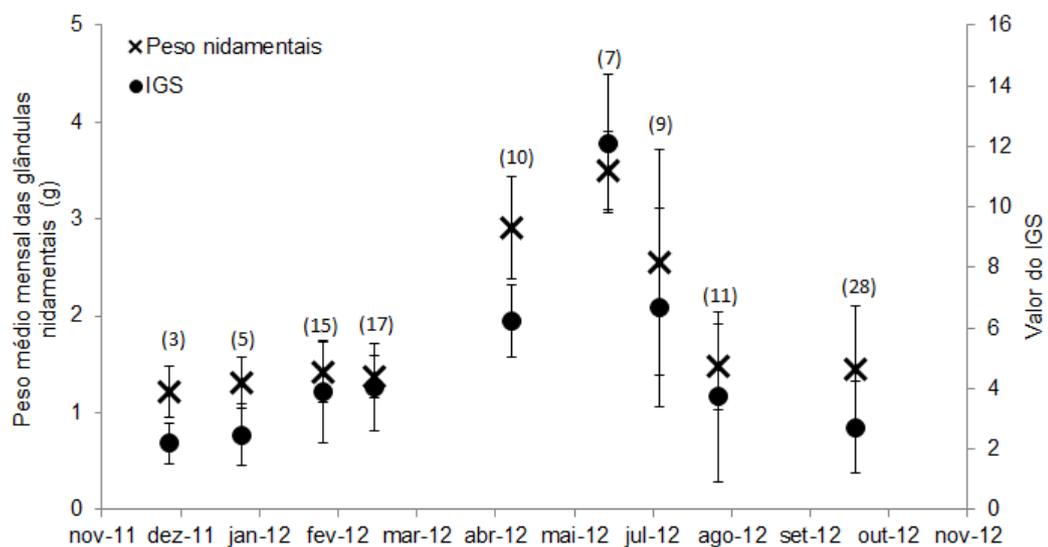


Figura 9– Relação da distribuição mensal do peso médio das glândulas nidamentais com o IGS médio das fêmeas entre os meses amostrados para exemplares de *Zapteryx brevirostris* do litoral do estado do Paraná, Brasil. Os números entre parênteses indicam a frequência absoluta.

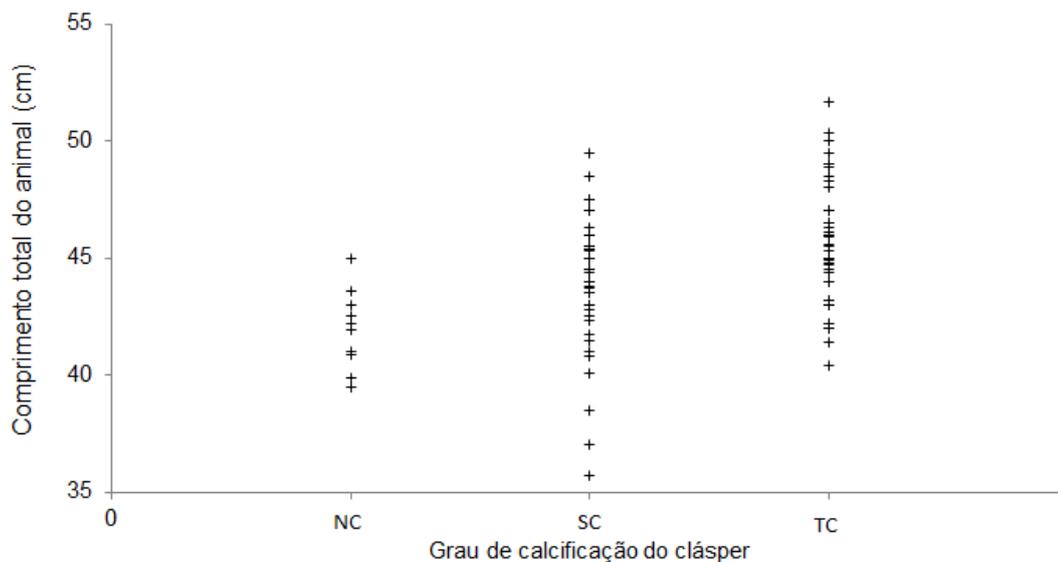


Figura 10– Relação do grau de calcificação do cláster com o comprimento total dos machos de *Zapteryx brevirostris* do litoral do estado do Paraná, Brasil. NC = Não calcificado, SC = Semicalcificado, TC = Totalmente calcificado. A análise de correlação dos dados foi positiva ( $p < 0,0001$ ), onde, quanto maior o tamanho do indivíduo, maior a calcificação do cláster.

Do total de animais capturados, o percentual de fêmeas grávidas foi de 72% ( $n=92$ ). A única estação onde não ocorreram fêmeas grávidas foi no outono, sendo a maior ocorrência de grávidas na primavera, seguida pelo verão (Fig. 5A). As fêmeas grávidas totalizaram 350 filhotes, com tamanhos que variaram desde os menores que 0,5 cm (indiferenciados) até 13,90 cm, tamanho o qual foi definido como tamanho de nascimento, por apresentar pouquíssimo vitelo em seu abdômen e cicatriz ventral de nascimento (“embrião do ano”). As mães possuíam de 1 a 7 embriões, sendo cinco o número médio de filhotes por prenhez.

A relação peso-comprimento dos embriões demonstrou que, para ambos os sexos, o crescimento foi alométrico negativo ( $b < 3$ ), assim como ocorre com os animais fora do ventre materno. Considerando que o outono é a estação de cópula/fecundação, os embriões menores começam a crescer no inverno, continuando na primavera e atingindo os maiores comprimentos no verão (Fig. 10) que consideramos ser a estação do nascimento.

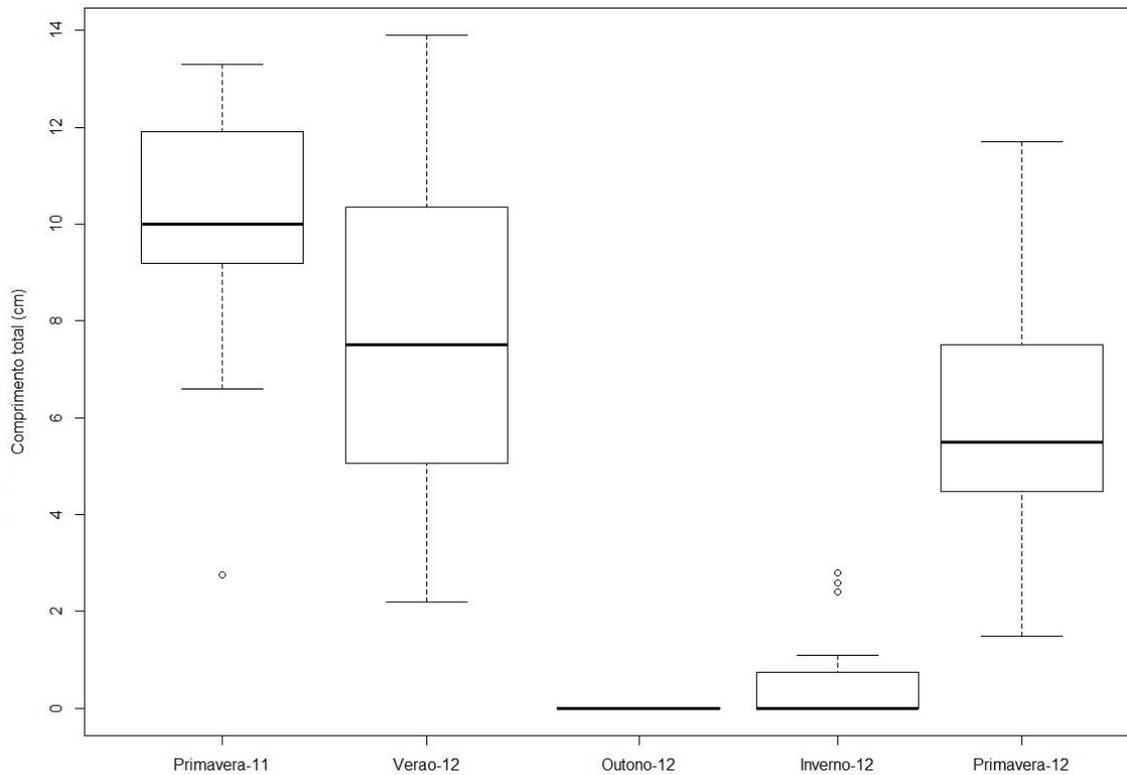


Figura 11 – Boxplot representando a distribuição sazonal do comprimento total dos embriões de *Zapteryx brevirostris* do litoral do estado do Paraná de acordo com as estações.

Os maiores embriões, encontrados de dezembro a março, indicam que o nascimento ocorra no verão, com um período de gestação médio de 6 a 7 meses. O ciclo reprodutivo da espécie *Z. brevirostris* no litoral do estado do Paraná é melhor explicado através do esquema apresentado pela Fig. 11.

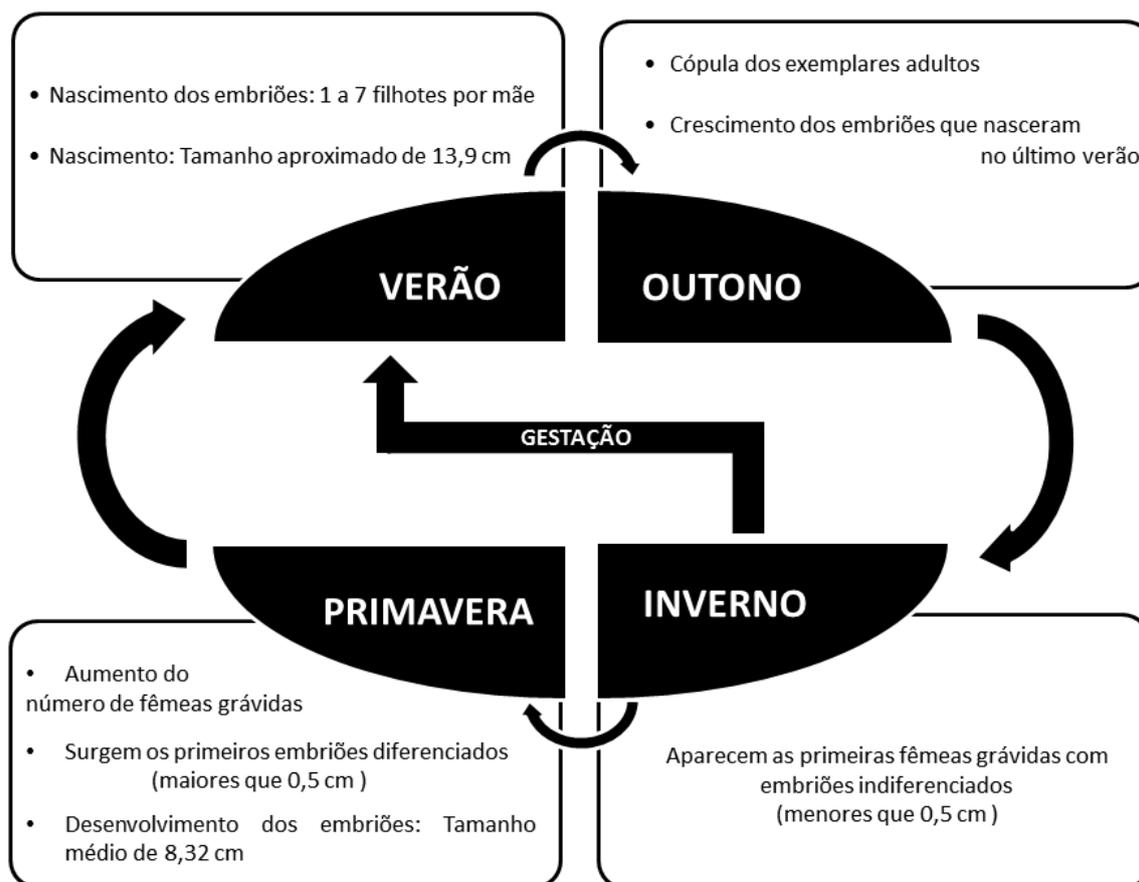


Figura 11– Esquema apresentando o ciclo reprodutivo da espécie *Z. brevisrostris* no litoral do estado do Paraná

## DISCUSSÃO

A análise da estrutura da população de *Z. brevisrostris*, no litoral do estado do Paraná demonstrou que o número predominante de fêmeas em relação aos machos, obtido neste estudo, coincide com os relatos de SANTOS *et al.* (2006). Ainda, para a espécie em questão, fêmeas com maior comprimento e peso, em relação aos machos, também já tinham sido documentadas por BATISTA (1987b; 1991), SANTOS *et al.* (2006) e ABILHOA *et al.* (2007), e descrito também para outras espécies da família Rhinobatidae (MELLINGER, 1989, WENBIN & SHUYUAN, 1993; VILLAVICENCIO-GARAYZAR *et al.*, 1994; ABILHOA *et al.*, 2007; MARQUEZ-FARÍAS, 2007 e GRIJALBA-BENDECK *et al.*, 2008, COLONELLO *et al.*, 2011). O maior comprimento das fêmeas, de acordo com BATISTA (1991), é uma ocorrência esperada para espécies vivíparas, característica da espécie *Z. brevisrostris* (BORNATOWSKI & ABILHOA, 2012). Ainda, o maior comprimento é reflexo da necessidade corpórea de promover o desenvolvimento embrionário no período da gestação (SANTOS *et al.*, 2006).

No presente estudo, os exemplares obtidos de *Z. brevirostris* apresentaram CT maiores do que aqueles obtidos no Rio de Janeiro (BATISTA 1987a, 1987b) e adjacências da Baía de Paranaguá, no litoral do estado do Paraná (SANTOS *et al.* 2006), e menores àqueles obtidos na Argentina (CASTELLO 1971; COLONELLO *et al.* 2011). A diferença de comprimento total entre os exemplares da mesma espécie, coletados em diferentes áreas, é suportada pela hipótese de mudanças latitudinais, como predito pela Regra do Tamanho-Temperatura (TSR) (TRIP *et al.*, 2014), onde taxas de crescimento e tamanho do corpo dos peixes variam com a temperatura e com o gradiente latitudinal (HEIBO *et al.*, 2005; TRIP *et al.*, 2014), sendo os exemplares menores encontrados em baixas latitudes e os maiores em altas latitudes (HIDDINK & HOFSTEDE, 2008).

Os exemplares coletados no litoral do Paraná para o presente estudo apresentaram, para ambos os sexos, um crescimento alométrico negativo ( $b < 3$ ), o que significa que a espécie investe mais no seu crescimento em comprimento do que em massa. Entretanto, BATISTA (1987a) determinou para a mesma espécie, no estado do Rio de Janeiro, um crescimento isométrico ( $b = 3$ ), onde a mesma investe tanto em crescimento quanto em massa. Possivelmente, a variação na forma de crescimento evidenciada entre os diferentes locais, possa estar diretamente relacionada à estrutura da comunidade local, evitando sobreposição de nicho, e conseqüentemente a competição interespecífica. Assim, os organismos para se manterem no ambiente, utilizam sua plasticidade fisiológica de acordo com as suas necessidades locais.

A frequência de ocorrência da espécie *Z. brevirostris* nos desembarques foi alta, ocorrendo o ano inteiro, relatado também por BORNATOWSKI & ABILHOA (2012). A maior captura ocorreu na primavera, como descrito por COSTA & CHAVES (2006), com a maior ocorrência de fêmeas no verão e de machos no inverno, corroborando os resultados de BORNATOWSKI & ABILHOA (2012).

A obtenção de um reduzido número de indivíduos imaturos pode ter ocorrido em função da metodologia de coleta utilizada, a qual seleciona os indivíduos de maior porte, como observado por BRANSTETTER (1987) e THORSON & SIMPFENDORFER (2009), sendo a arte de pesca um fator de grande influência na composição da amostra. Outra explicação é baseada na proposta de SPRINGER (1967), que sugere que algumas espécies apresentam uma organização social, sendo que os animais maduros encontram-se separados dos jovens, ocupando locais distintos durante a maior parte dos seus ciclos de vida, esta organização social propicia um maior sucesso reprodutivo, importante para organismos com tendência *k* estrategistas.

A utilização da análise histológica dos órgãos reprodutivos neste estudo foi realizada com o objetivo de fornecer dados seguros e confiáveis, corroborando o descrito por HUNTER *et al.* (1986), que relatam que o referido método é mais preciso e produz uma maior quantidade de informações, ainda, considerando que a utilização somente da análise macroscópica tem uma precisão incerta, podendo ser muito subjetiva (KJESBU, 2009). Assim, a caracterização do ciclo reprodutivo foi realizada inicialmente a partir das análises histológicas dos órgãos reprodutivos e posteriormente associando os resultados microscópicos a outros parâmetros, tais como, curva de maturação, distribuição temporal dos estádios reprodutivos, além das análises das variações em peso das glândulas nidamentais, da espessura da parede uterina, do tamanho dos folículos ovarianos, no grau de calcificação dos cláspers e da variação nos comprimentos dos embriões.

Com a utilização de diferentes critérios e várias análises, nossos resultados permitiram estabelecer que, para *Z. brevirostris* no litoral do estado do Paraná, o desenvolvimento gonadal ocorre a partir da primavera para machos e a partir do verão para fêmeas, atingindo o pico no outono para ambos os sexos, mesmo período de realização da cópula e da fecundação. O desenvolvimento embrionário acontece na primavera e o nascimento dá-se no verão. Entretanto, variações no ciclo reprodutivo da mesma espécie foram evidenciadas por COLONELLO *et al.* (2011) na Argentina, que encontraram os menores valores de IGS para machos no outono e inverno e valores máximos durante o verão, refletindo uma variação temporal no desenvolvimento das gônadas, período de cópula, e de gestação, em relação ao caracterizado neste estudo.

As diferenças regionais em eventos reprodutivos observadas em *Z. brevirostris*, de acordo com WOOTTON (1984), são reflexos de interações entre o ambiente, comportamento e fisiologia. Diferenças nas condições oceanográficas podem oferecer uma pressão seletiva que resulta em variações na reprodução, mesmo não ocorrendo barreiras geográficas que isolem as populações argentinas e brasileiras da referida espécie (COLONELLO *et al.* 2011). Ainda, consideramos que a estrutura da comunidade marinha exerça também uma influência sobre a reprodução das espécies, a fim de minimizar a competição intra e interespecífica e manter a estrutura trófica em equilíbrio.

A glândula nidamental atua na formação da casca do ovo (HAMLETT & KOOB, 1999; POUGH *et al.*, 2003), explicando assim a relação do desenvolvimento ovariano com o aumento do peso da glândula, pois os ovócitos volumosos e muito desenvolvidos que serão eliminados dos ovários, necessitam passar pela glândula para receber a casca. Ainda, em algumas espécies

de raias, a glândula nidamental armazena espermatozoides. No presente estudo, nas glândulas nidamentais de *Z. brevirostris* não foram encontrados espermatozoides. Entretanto, a ausência de gametas masculinos nos preparados histológicos não significa que os mesmos não sejam armazenados na glândula, devendo ser considerado que a análise histológica utiliza porções reduzidas dos órgãos para as observações, podendo assim, não ter sido contemplada nas análises alguma região de armazenamento.

A determinação do outono como época de acasalamento e cópula é sustentada pela ocorrência de fêmeas com marcas de cópula recente neste período. As marcas de cópula encontradas em algumas fêmeas de *Z. brevirostris* são provocadas por machos da espécie que mordem as fêmeas antes e durante a cópula (TRICAS & LEFEUVRE, 1985), variando desde dentadas a lesões nas nadadeiras peitorais (PRATT & CARRIER, 2001). A verificação destas marcas permitem a obtenção de algumas informações do ciclo reprodutivo, pois, segundo KAJIURA *et al.* (2000) e CONRATH (2004), a avaliação das marcas de cópula é um método útil e não invasivo para determinar o período de acasalamento.

Somente o diâmetro dos folículos ovarianos (DMFO) não mostrou-se suficiente para caracterizar o ciclo reprodutivo e o período de desova, pois no presente estudo, apesar de termos encontrado nos ovários os maiores folículos na primavera, a incidência de embriões já diferenciados no útero sugere que a fertilização tenha ocorrido no outono.

De maneira especulativa, o pico de ocorrência dos maiores diâmetros de folículos ovarianos (DMFO), verificado na primavera, permite inferir que a fêmea continue com um alto metabolismo para o armazenamento de nutrientes nos ovócitos localizados nos ovários, mesmo quando já se encontram grávidas. Considerando que o desenvolvimento dos folículos ovarianos é demorado e envolve a utilização de muita energia do organismo, a manutenção dos folículos ovarianos grandes e aptos à fecundação ocorre para caso haja a necessidade de uma segunda tentativa reprodutiva.

Com exceção do outono, todas as outras estações apresentaram a ocorrência de fêmeas grávidas, situação semelhante ao exposto por BATISTA (1991), que encontrou fêmeas grávidas de *Z. Brevirostris* durante o ano todo.

No inverno foram encontrados os menores CT dos embriões, o que comprova o início do desenvolvimento embrionário para a espécie, fato também relatado por BATISTA (1987b) e COSTA & CHAVES (2006) que confirmaram o início da gestação de *Z. brevirostris* no inverno. Este início de desenvolvimento no inverno, estação subsequente à estação de cópula/fecundação, corrobora o predito por CALLARD *et al.* (2005), que afirmam que muitos

elasmobrânquios realizam a ovulação e fertilização logo após o período de acasalamento.

A ocorrência de embriões de tamanho intermediário na primavera sugere que seu desenvolvimento ocorra durante essa estação, corroborando os resultados de COSTA & CHAVES (2006), SANTOS *et al.* (2006) e ABILHOA *et al.* (2007) e confirmado pela diminuição do tamanho do saco vitelino, uma vez que, conforme o embrião cresce, o saco vitelino é consumido (WALKER, 2005).

No presente estudo foram amostrados 350 embriões, um número considerado alto quando comparado a outros trabalhos com *Z. brevirostris*, como em BATISTA (1987) que examinou somente 13 embriões e ABILHOA *et al.* (2007) que encontrou um total de 45. A análise de um maior número de embriões conferiu maior robustez às análises reprodutivas no presente estudo por corroborar outras análises reprodutivas. Com cada período do ano adequadamente amostrado, os maiores embriões puderam dar uma estimativa do período e do comprimento mínimo para nascimento, que foi estipulado em 14 cm, através de observações dos maiores embriões em útero e corroborado por GOMES *et al.* (2010), que confirmou neonatos com cerca de 13 a 16 cm de comprimento para a mesma espécie.

As fêmeas grávidas de *Z. brevirostris* apresentaram de 1 a 7 embriões, quantidade próxima as citadas para a mesma espécie por BATISTA (1991) que encontrou de 1 a 6 embriões, por GOMES *et al.* (2010) que relataram de 2 a 8 embriões e por BORNATOWSKI & ABILHOA (2012) que quantificaram de 4 a 9 embriões. A duração da gestação para *Z. brevirostris* é de seis a sete meses, considerando-se o intervalo entre a cópula (outono) e o nascimento dos embriões (verão), período coerente com o determinado para outras espécies de Rhinobatídeos (BATISTA, 1991, WENBIN & SHUYUAN, 1993; ISMEN *et al.*, 2007; MARQUEZ-FARÍAS, 2007; COLONELLO *et al.*, 2011). O período de nascimento foi o verão, no qual ocorreram embriões em seu CT máximo, período também confirmado por BATISTA (1987b), GONZALEZ (2004), COSTA & CHAVES (2006) e ABILHOA *et al.* (2007) para *Z. brevirostris* e para outras espécies de raias (VILLAVICENCIO-GARAYZAR, 1995; GRIJALBA-BENDECK *et al.*, 2008). Este período possivelmente dá-se no verão porque este é o período com altas temperaturas e alimento disponível, conferindo aos neonatos uma vantagem adaptativa e um crescimento rápido nas fases iniciais de vida (VILLAVICENCIO-GARAYZAR *et al.*, 1994; VILLAVICENCIO-GARAYZAR, 1995).

A determinação de que os elasmobrânquios da costa Atlântica tem seu ciclo reprodutivo exposto ao impacto das pescarias comerciais (ABILHOA *et al.* 2007, SILVA & LESSA 1991, VOOREN & KLIPPEL 2005 e VOOREN *et al.* 2005) foi também observado no presente estudo, onde o percentual de fêmeas grávidas capturadas no período de estudo foi de 72%.

Considerando que a costa do litoral do Paraná apresenta alta disponibilidade alimentar e de proteção para os recém-nascidos e juvenis de algumas espécies de elasmobrânquios (BORNATOWSKI & ABILHOA, 2012), o local pode ser considerado como área de parto. Nossos resultados de parâmetros reprodutivos e gestacionais para *Z. brevirostris* apontam a necessidade de ter sua pesca controlada a fim de manter os estoques naturais. Assim, provavelmente, a implementação de um plano de gestão seja necessário, devido a espécie já se encontrar vulnerável e por apresentar as características de espécies com tendência *k* estrategistas, como crescimento lento e reprodução tardia, aumentando a suscetibilidade de sobre-exploração.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABILHOA,V.; BORNATOWSKI, H.& OLIVEIRA FREITAS, M. (2007) Some information on reproduction and embryonic development of the lesser guitarfish *Zapteryx brevirostris* in Southern Brazil. *Acta Adriatica* 48:185–190.
- BARKER, M.J.& SCHLUESSEL, V. (2005) Managing global shark fisheries: suggestions for prioritizing management strategies. *Aquatic Conservation* 15:325–347.
- BATISTA,V. da S. (1987a) Length-weight relationship of the little guitarfish, *Zapteryx brevirostris* (chondrichthyes:Rhynobatidae), from Itaipu inlet, Rio de Janeiro, Brazil. *Copeia* 3:787–789.
- BATISTA, V. da S. (1987b) Desenvolvimento sexual de *Zapteryx brevirostris* (Muller & Henle, 1841), no litoral do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Biologia* 47:301–307.
- BATISTA, V. da S. (1991) Aspectos quantitativos da fecundidade e do desenvolvimento embrionário da raia *Zapteryx brevirostris* Müller & Hendle 1841 (Pisces, Rhinobatidae) da enseada de Itaipu, Niterói, Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Biologia* 51:495–501.
- BORNATOWSKI, H.& ABILHOA, V. (2012) Tubarões e raias capturados pela pesca artesanal no Paraná - guia de identificação, 1ª edn. 124.
- BORNATOWSKI, H.; ABILHOA, V.&CHARVET-ALMEIDA, P. (2009) Elasmobranchs of the Paraná Coast, southern Brazil, south-western Atlantic. *Marine Biodiversity Records* 2:1–6.
- BRANSTETTER,S. (1987) Age, growth and reproductive biology of the silky shark, *Carcharhinus falciformis*, and the scalloped hammerhead, *Sphyrna lewini*, from the northwestern Gulf of Mexico. *Environmental Biology of Fishes* 19:161–173.
- BROWN-PETERSON, N.J.; WYANSKI, D.M.; SABORIDO-REY, F.; MACEWICZ, B.J.& LOWERRE-BARBIERI, S.K.(2011) A Standardized Terminology for Describing Reproductive

Development in Fishes A Standardized Terminology for Describing Reproductive. Marine and Coastal Fish Dynamics, Manag., Ecosyst Sci 37–41.

- CALLARD, I.; GEORGE, J.& KOOB, T.(2005) Endocrine control of the female reproductive tract. *In: HAMLETT W (ed) Reprod. Biol. phylogeny Chondrichthyes. Sharks, batoids chimaeras. Reproductive Biology and phylogeny of fishes*, vol 3. Sciences Publishers Inc, Plymouth, pp 283–300
- CASTELLO, H.P. (1971) Contribución al conocimiento sistemático y biológico de *Zapteryx brevirostris* (Müller & Henle, 1841) de la costa atlántica marplatense (Chondrichthyes, Rhinobatidae). *Physis* 30:619–629.
- CLARKE, S.; MILNER-GULLAND, E.J. & BJORN DAL, T. (2007) Social, economic and regulatory drivers of the shark fin trade. *Marine Resource Economics* 22:305–327.
- COELHO, R.& ERZINI, K.(2002) Age and growth of the undulate ray, *Raja undulata*, in the Algarve (Southern Portugal). *Journal of Marine Biological Association of United Kingdom* 94:987–990.
- COLONELLO, J.C.; GARCÍA, M.L.& MENNI, R.C; (2011) Reproductive biology of the lesser guitarfish *Zapteryx brevirostris* from the south-western Atlantic Ocean. *Journal of Fish Biology* 78:287–302.
- CONRATH, C.L. (2004) Reproductive biology. *In: MUSICK JA, BONFIL R (eds) Elasmobranch Fish. Manag. Tech. APEC secretariat, USA*, pp 133–164
- CORTÉS,E. (2000) Life History Patterns and Correlations in Sharks. 8:299–344.
- COSTA, L.& CHAVES, P.D.T.da C. (2006) Elasmobrânquios capturados pela pesca artesanal na costa sul do Paraná e norte de Santa Catarina, Brasil. *Biota Neotropica* 6:2–10.
- COUSSEAU, M.B.; FIGUEROA, D.E.; DÍAZ, D.E; ASTARLOA, J.M.; MABRAGANA, E.& LUCIFORA, L.O. (2007) Rayas, chuchos y otros batoideos del Atlantico Sudoccidental (34°S–55° S).

- DE-FRANCO, B.; MENDONÇA, F.F.; HASHIMOTO, D.T.; PORTO-FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. & FORESTI, F. (2010) Forensic identification of the guitarfish species *Rhinobatos horkelli*, *R. percellens* and *Zapteryx brevirostris* using multiplex-PCR. *Molecular Ecology Resources* 10:197–9.
- DULVY, N. K.; FOWLER, S. L.; MUSICK, J. A.; CAVANAGH, R. D.; KYNE, P. M.; HARRISON, L. R.; CARLSON, J. K.; DAVIDSON, L. N. K.; FORDHAM, S. V.; FRANCIS, M. P.; POLLOCK, C. M.; SIMPFENDORFER, C. A.; BURGESS, G. H.; CARPENTER, K. E.; COMPAGNO, L. J. V.; EBERT, D. A.; GIBSON, C.; HEUPEL, M. R.; LIVINGSTONE, S. R.; SANCIANGCO, J. C.; STEVENS, J. D.; VALENTI, S.; WHITE, W. T. (2014). Extinction risk and conservation of the world's sharks and rays. *eLife* 3:e00590
- FÁVARO, L.F. & OLIVEIRA, E. C. (2012). Ecologia reprodutiva em peixes. In: RIBEIRO, C. A. O.; FILHO, H. S. R. S & GROTZNER, S. R. (Org.). Técnicas e métodos para utilização prática de microscopia. 1ed. São Paulo: v. 1, p. 321-339
- FERRETTI, F.; WORM, B.; BRITTEN, G. L.; HEITHAUS, M. R.; LOTZE, H. K. (2010) Patterns and ecosystem consequences of shark declines in the ocean. *Ecology Letters*, 13: 1055–1071
- FIGUEIREDO, J.L. (1977) Manual de Peixes Marinhos do Sudeste do Brasil: I: Introdução - Cações, Raias e Quimeras. Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo, São Paulo
- GIRARD, M. & DU BUIT, M. H. (1999) Reproductive biology of two deep-water sharks from the British Isles, *Centroscymnus coelolepis* and *Centrophorus squamosus* (Chondrichthyes: Squalidae). *Journal of Marine Biological Association of United Kingdom* 79:923–931.
- GOMES, U.L.; SIGNORI, C.N.; GADIG, O.B.F. & SANTOS, H.R.S. (2010) Guia para identificação de tubarões e raias do Rio de Janeiro, 1st edn. 234.
- GONZALEZ, M.M.B. (2004) Nascimento da Raia-viola, *Zapteryx brevirostris* (Müller & Henle) em

cativeireiro (Chondrichthyes , Rhinobatidae) *Revista Brasileira de Zoologia* 21:785–788.

GRIJALBA-BENDECK, M.; ARTURO ACERO, P.& GONZÁLEZ, E. (2008) Biología reproductiva de *Rhinobatos percellens* (Walbaum, 1792)(Batoidea: Rajiformes) en el Caribe colombiano. *Revista De Biología Marina Y Oceanografía* 43:469–481.

GUALLART, J.&VICENT, J.J. (2001) Changes in composition during embryo development of the gulper shark, *Centrophorus granulosus* (Elasmobranchii, Centrophoridae): an assessment of maternal-embryonic nutritional relationships. *Environmental Biology of Fishes* 61:135–150.

HAMLETT, W.C.& KOOB, T.(1999) Female reproductive system. *In*: HAMLETT WC (ed) Sharks, Skates Rays Biol. Elasmobranch Fishes. The Johns Hopkins Univ Press, Baltimore, pp 398–443.

HEIBO, E.; MAGNHAGEN, C.& VOLLESTAD, L. (2005) Latitudinal variation in life-history traits in *Eurasian perch*. *Ecology* 86:3377–3386.

HIDDINK, J.G. & HOFSTEDE, R.(2008) Climate induced increases in species richness of marine fishes. *Global Change Biology* 14:453–460.

HUNTER, J.R.; MACEWICZ, B.J.& SIBERT, J.R. (1986) The spawning frequency of skipjack tuna, *Katsuwonus pelamis*, from the south Pacific U.S. *National Marine Fisheries Service Fisheries Bulletin* 84:895–903.

ISMEN, A.; YIGIN, C.& ISMEN, P.(2007) Age, growth, reproductive biology and feed of the common guitarfish *Rhinobatos rhinobatos*(Linnaeus, 1758) in İskenderun Bay, the eastern Mediterranean Sea. *Fisheries Research* 84:263–269.

KAJIURA, S.M.; SEBASTIAN, A.P.& TRICAS, T.C. (2000) Dermal bite wounds as indicators of reproductive seasonality and behaviour in the atlantic stingray, *Dasyatis sabina*. *Environmental Biology of Fishes* 58:23–31.

- KJESBU, O.S. (2009) Applied fish reproductive biology: contribution of individual reproductive potential to recruitment and fisheries management. *In*: JAKOBSEN T, FOGARTY MJ, MEGREY BA, MOKSNESS E (eds) *Fish Reproductive Biology In Assessment And Management* Wiley-Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK., pp 293–332
- KUME, G.; FURUMITSU, K.; TANAKA, S. & YAMAGUCHI, A. (2009). Reproductive biology of the guitarfish *Rhinobatos hynnicephalus* (Batoidea: Rhinobatidae) in Ariake Bay, Japan. *Environmental Biology of Fish*, 85:289–298.
- MARQUEZ-FARIAS, J.F.(2007) Reproductive biology of shovelnose guitarfish *Rhinobatos productus* from the eastern Gulf of California Mexico. *Marine Biology* 151:1445–1454.
- MCCOURT, R.M. & KERSTITICH, A.N. (1980) Mating behavior and sexual dimorphism in dentition in the stingray, *Urolophus concentricus*, from the Gulf of California. *Copeia* 900–901.
- MELLINGER, J. (1989) Reproduction et développement des Chondrichthyens (Reproduction and development of Chondrichthyan fishes). *Océanis* 15:283–303.
- MENNI, R.& STEHMANN, M. (2000) Distribution, environment and biology of batoid fishes off Argentina, Uruguay and Brazil, A review. *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales* 2:69–109.
- NATANSON, L.J.; SULIKOWSKI, J. A.; KNEEBONE, J.R. & TSANG, P.C. (2007) Age and growth estimates for the smooth skate, *Malacoraja senta*, in the Gulf of Maine. *Environmental Biology of Fishes* 80:293–308.
- NORDELL, S.E. (1994) Observations of the mating behavior and dentition of the round stingray, *Urolophus halleri*. *Environmental Biology of Fishes* 39:219–229.
- POUGH, F.H.; JANIS, C. & HEISER, J.B. (2003) *A vida dos vertebrados*, 3. ed. 699.

- PRATT, H.L. & CARRIER, J.C. (2001) A review of elasmobranch reproductive behavior with a case study on the nurse shark, *Ginglymostoma cirratum*. *Environmental Biology of Fishes* 60:157–188.
- SANTOS, C.; CORTELLETE, G.M.; ARAUJO, K.C.B. & SPACH, H.L. (2006) Estrutura populacional da raia-viola *Zapteryx brevirostris* (chondrichthyes, rhinobatidae), na plataforma adjacente à baía de Paranaguá, PR. *Acta Biologica Leopoldensia*, São Leopoldo, RS : 28:32–37.
- SHOTTON, R. (1999) Case studies of the management of elasmobranch fisheries. Rome, FAO
- SILVA, T.C. & LESSA, R.P. (1991) Sexual development of the bonnethead shark *Sphyrna tiburo* (Linnaeus, 1758) in northern Brazil (Maranhão). *Revista Brasileira de Biologia* 51:747–754.
- SOKAL, R.R. & ROHLF, F.J. (1981) Biometry. 877p.
- SPRINGER, S. (1967) Social organization of shark populations. *In*: GILBERT, P.W.; MATHEWSON, R.F. & RALL, D.P. (eds) Sharks, skates and rays. Johns Hopkins Press, Baltimore, pp 149–174
- STEVENS, J.; BONFIL, R.; DULVY, N.K. & WALKER, P.A. (2000) The effects of fishing on sharks, rays, and chimaeras (chondrichthyans), and the implications for marine ecosystems. *ICES Journal of Marine Science* 57:476–494.
- SULIKOWSKI, J.A.; MORIN, M.D.; SUK, S.H. & HUNTING HOWELL, W. (2003) Age and growth estimates of the winter skate ( *Leucoraja ocellata* ) in the western Gulf of Maine. *Fishery Bulletin* 101:405–413.
- THORSON, J. & SIMPFENDORFER, C. (2009) Gear selectivity and sample size effects on growth curve selection in shark age and growth studies. *Fisheries Research* 98:75–84.
- TRICAS, T.C. & LEFEUVRE, E.M. (1985) Mating in the reef white-tip shark *Triaenodon obesus*.

*Marine Biology* 84:233–237.

TRIP, E.D.L.; CLEMENTS, K.D.; RAUBENHEIMER, D. & CHOAT, J.H. (2014) Temperature-related variation in growth rate, size, maturation and life span in a marine herbivorous fish over a latitudinal gradient. *Journal of Animal Ecology* 83:866–875.

VAZZOLER, A.E.A. de M. (1996) *Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática*. 196.

VILLAVICENCIO-GARAYZAR, C. (1995) Biología reproductiva de la guitarra pinta, *Zapterix exasperata* (Pisces: Rhinobatidae), en bahía Almejas, Baja California Sur, México. *Ciencias Marinas* 21:141–153.

VILLAVICENCIO-GARAYZAR, C.; DOWNTON-HOFFMAN, C.C. & MARIANO-MELÉNDEZ, E. (1994) Tamañõ y reproducción de *Dasyatis longus* (Pisces: Dasyatidae), en Bahía Almejas Baja California Sur, México. *Revista de Biología Tropical* 42:375–377.

VOOREN, C.M. (2012) Prefacio. In: BORNATOWSKI, H. & ABILHOA, V. (eds) Tubarões e raias capturados pela pesca Artes. no Paraná - guia identificação. Hori cadernos tecnicos n.4, Curitiba, PR:, pp 1–3

VOOREN, C.M. & KLIPPEL, S. (2005) Diretrizes para conservação de elasmobrânquios ameaçados. In: VOOREN, C.M. & KLIPPEL, S. (eds) Ações para a Conservação de tubarões e raias no sul do Brasil, Igaré. Porto Alegre, pp 213–228

VOOREN, C.M.; LAMÓNACA, A.F.; MASSA, A. & HOZBOR, N. (2006) *Zapteryx brevirostris*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.2.

VOOREN, C.M.V.; LESSA, R.P. & KLIPPEL, S. (2005) Biologia e status de conservação da viola *Rhinobatos horkelii*. In: VOOREN, C.M. & KLIPPEL, S. (eds) Ações para a Conservação de tubarões e raias no sul do Brasil. Porto Alegre, p 262

WALKER, T.I. (2005) Reproduction in Fisheries Science. In: HAMLETT, W.C. (ed) *Reprod. Biol.*

Phylogeny Chondrichthyes Sharks, Batoids Chimaeras. Science Publishers Incorporated, Enfield (NH), USA, pp 81–127

WENBIN,Z.&SHUYUAN,Q. (1993) Reproductive biology of the guitarfish, *Rhinobatos hynnicephalus*. *Environmental Biology of Fishes* 38:81–93.

WOOTTON,R.J. (1984) Introduction: strategies and tactics in fish reproduction. *In*: POTTS, G.W.& WOOTTON, R.J. (eds) *Fish Reproduction*. Academic Press., London, pp 1–22

WORM, B.; DAVIS, B.; KETTERNER, L.; WARD-PAIGE, C. A.; CHAPMAN, D.; HEITHAUS, M.; KESSEL, S.; GRUBER, S. (2013) Global catches, exploitation rates, and rebuilding options for sharks. *Marine Policy*. 40:194-204

## CAPÍTULO II

# **IDADE E CRESCIMENTO DE *Zapteryx* *brevirostris* NO SUL DO BRASIL**

## IDADE E CRESCIMENTO DE *Zapteryx brevirostris* NO SUL DO BRASIL

### RESUMO

Estudos de idade e crescimento são fundamentais para o sucesso da gestão pesqueira, uma vez que atuam como base para estimar importantes variáveis biológicas. A espécie *Zapteryx brevirostris* (Müller & Henle, 1841) distribui-se pela plataforma continental Brasileira, onde é explorada comercialmente pela pescaria artesanal na costa do estado do Paraná, e atualmente está classificada como “vulnerável” no livro vermelho da IUCN (*International Union for the Conservation of Nature*) e na lista nacional de espécies ameaçadas. As coletas de material biológico ocorreram entre Maio de 2012 e Novembro de 2013, provenientes da pesca artesanal no estado do Paraná utilizando fundeios de malhas 16 cm. Foram amostrados 162 espécimes, sendo 71 fêmeas e 91 machos, com comprimento total (TL) variando de 35,7 cm a 56,0 cm. As vértebras foram retiradas, incluídas em resina e seccionadas num corte com cerca de 0,5mm de espessura. Os cortes foram corados com cristal violeta e as leituras das bandas de crescimento foram efetuadas. A estimativa de idade zero foi baseada no comprimento médio de nascimento ( $L_0$ ) da espécie (14 cm) e para os indivíduos com comprimento inferior a 35 cm utilizou-se os métodos de retrocálculo de BPH (*Body Proportional Hypothesis*), Dahl Lea, Fraser Lee e SPH (*Scale Proportional Hypothesis*) para estimar os tamanhos à idade. As curvas de crescimento de von Bertalanffy (VBGF) foram ajustadas pelo método dos mínimos quadrados. A qualidade do ajuste foi estimada seguindo o critério de Akaike (AIC – *Akaike Information Criteria*) para cada um dos modelos criados, incluindo as curvas de crescimento VBGF e VBGF com  $L_0$  fixo. Na área estudada, *Z. brevirostris* possui idades estimadas entre os 4 a 10 anos de idade. A espécie atinge seu *Linf* (comprimento máximo assintótico) em torno dos 56,4 cm (59,5 cm para fêmeas e 54,9 cm para machos), e o *k* (taxa de crescimento) foi estimado em 0,11 para as fêmeas e 0,13 para os machos. Essa é a primeira estimativa dos parâmetros de idade e crescimento para uma espécie do gênero *Zapteryx*. Os resultados obtidos corroboram a hipótese de que a espécie requer uma gestão de conservação adequada, devido sobretudo à sua lenta taxa de crescimento e conseqüente suscetibilidade à sobre-exploração.

**Palavras-chave:** Curva de von Bertalanffy (VBGF), retrocálculo, rhinobatidae, taxa de crescimento, conservação, valor de *k*

## AGE AND GROWTH OF *Zapteryx brevirostris* IN SOUTHERN BRAZIL

### ABSTRACT

Age and growth studies are fundamental to successful fisheries, management, given that they act as a base to estimate important biological variables. The lesser guitarfish, *Zapteryx brevirostris*, is distributed off the Brazilian continental shelf, and is exploited commercially by small-scale fisheries on the coast of the state of Paraná. This species is assessed as “vulnerable” in the Red List of the *International Union for the Conservation of Nature* (IUCN) and has been included in the Brazilian National list of endangered species. The collection of biological material occurred between May 2012 and November 2013 in collaboration with the small-scale fishery on the coast of the state of Paraná, using bottom otter trawls. A total of 162 specimens were sampled, including 71 females and 91 males, with lengths varying between 35.7 cm and 56.0 cm total length (TL). The vertebrae were removed, embedded in resin and sectioned in cuts with 0.5mm thickness. The sections were stained using a saturated solution of crystal violet and the growth bands of the vertebrae were read to estimate the ages. The estimate of age zero was based on the average size at birth of the species (14 cm) and for specimens with sizes smaller than 35 cm, we used the back-calculation techniques (BPH - *Body Proportional Hypothesis* Dahl Lea, Fraser Lee and SPH - *Scale Proportional Hypothesis*) to estimate the size-at-age. The von Bertalanffy growth curves (VBGF) were fitted with non-linear least squares, and the goodness-of-fit estimated following the AIC (*Akaike Information Criteria*) for each of the models, including the VBGF and VBGF with fixed  $L_0$ . In the studied area, *Z. brevirostris* ages were estimated from 4 to 10 years. The species reaches its maximum asymptotic size ( $L_{inf}$ ) around 56,4 cm (59,5 cm for females and 54,9 cm for males), and the  $k$  (growth rate) was estimated at 0,11 for females and 0,13 for males. This is the first estimate of the age and growth for a species of the *Zapteryx* genus. The results support the hypothesis that this ray requires future management conservation, particularly due to its slow growth rate and consequent susceptibility to overexploitation.

**Key words:** von Bertalanffy curves (VBGF), back-calculation, rhinobatidae, growth rate, conservation,  $k$  value.

## INTRODUÇÃO

Estudos de idade e crescimento são fundamentais para o sucesso da gestão das pescas, uma vez que atuam como base para estimar importantes variáveis biológicas (CAMPANA, 2001; GOLDMAN, 2004). A maioria dos métodos analíticos de avaliação de estoques trabalham essencialmente com dados de composição de idades (SPARRE & VENEMA, 1997), onde informações precisas e de qualidade são a chave para a obtenção de estimativas de crescimento e outras taxas vitais, como a mortalidade natural e longevidade, essenciais para uma gestão de pesca bem sucedida (VAZZOLER, 1981; CAMPANA, 2001; GOLDMAN, 2004).

A determinação da idade de um peixe é normalmente conduzida pela contagem de marcas sazonais de crescimento presentes em várias estruturas duras calcificadas. Enquanto em teleósteos a maioria dos estudos de idade e crescimento usam otólitos ou escamas, em elasmobrânquios, pela falta destas estruturas, vértebras e espinhos dorsais são as estruturas mais utilizadas para a determinação da idade (CAMPANA, 2001; GOLDMAN, 2004).

Os elasmobrânquios se tornaram importantes recursos pesqueiros nos últimos anos (BARKER & SCHLUESSEL, 2005), sendo explorados tanto pela pesca dirigida ou através de *bycatch* (SHOTTON, 1999; STEVENS *et al.*, 2000). Infelizmente, este aumento muitas vezes não tem sido acompanhado por informações sobre a biologia e ecologia destas espécies (STEVENS *et al.*, 2000). Elasmobrânquios geralmente possuem uma estratégia de vida do tipo *K*, com ciclos de vida caracterizados por baixas taxas de crescimento e baixo potencial reprodutivo (CORTÉS, 2000; COELHO & ERZINI, 2002, 2006). Essas características tornam este grupo extremamente vulnerável à pressão pesqueira, com sobrexploração podendo ocorrer mesmo em níveis relativamente baixos de mortalidade por pesca (SMITH *et al.*, 1998). HOFF & MUSICK (1990) apontaram a falta de maiores informações a respeito da idade e crescimento de elasmobrânquios como um fator limitante para o desenvolvimento de planos de gestão.

A espécie *Zapteryx brevirostris* (Müller & Henle, 1841) distribui-se pela plataforma continental Brasileira (a partir do Rio de Janeiro) até o sul da província de Buenos Aires, na Argentina (CASTELLO, 1971; FIGUEIREDO, 1977; MENNI & STEHMANN, 2000). É descrita por preferir águas frias (GOMES *et al.*, 2010) e é a única espécie do gênero no Oceano Atlântico (BATISTA, 1991). Esta espécie é frequentemente encontrada em águas costeiras (FIGUEIREDO, 1977), alcança um tamanho total de 59 cm para machos e 65 cm para fêmeas (COLONELLO *et al.*, 2011), atingindo a maturidade entre 42–43 cm de comprimento total (BATISTA, 1991; SANTOS *et al.*, 2006). A espécie é explorada comercialmente pela pescaria artesanal na costa do

estado do Paraná (sul do Brasil) (SANTOS *et al.*, 2006; BORNATOWSKI *et al.* 2009) e encontra-se descrita como “vulnerável” no livro vermelho da IUCN (International Union for the Conservation of Nature) (VOOREN *et al.*, 2006) e na lista nacional de espécies ameaçadas (PORTARIA 445/2014 - MINISTÉRIO MEIO AMBIENTE).

Perante as atuais lacunas no conhecimento da biologia desta espécie, e a sua crescente pressão pesqueira em pescarias artesanais do sul do Brasil, torna-se necessário melhorar os conhecimentos do seu ciclo de vida de modo a que se possa efetuar uma gestão mais eficiente e sustentável desta espécie. Assim, o objetivo deste estudo é apresentar informações sobre a idade e crescimento de *Z. brevirostris*, até então inéditas para esta espécie tão comum no litoral Brasileiro, a fim de compor uma base de informações para gerenciamento das pescarias direcionadas à espécie, além de compor uma base de informações para subsidiar planos de manejo, solicitados pelo Ministério do Meio Ambiente em decorrência da vulnerabilidade da espécie.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Amostragem**

As coletas de material biológico ocorreram entre Maio de 2012 e Novembro de 2013, provenientes da pescaria artesanal que ocorre na costa do estado do Paraná. Os pescadores artesanais do litoral do Paraná realizam suas pescarias em ambientes estuarinos e de mar aberto. As práticas realizadas em mar aberto por estas comunidades consistem especialmente de pescarias com redes de arrasto de fundo com pranchas ou com portas, com redes de fundeio, com redes de caceio e com redes altas. Os fundeios de malhas 16 a 22 cm (a técnica utilizada para esta coleta), capturam uma maior diversidade e um maior número de elasmobrânquios que os demais tamanhos de malha, sendo *Z. Brevirostris* a espécie mais abundante na captura desse tamanho de malha (ROBERT, 2012).

Os animais, assim que coletados, tiveram seu comprimento total (CT em centímetros) mensurado, e o sexo determinado através da presença ou ausência de cláspers nos machos. Após secção medular, os animais tiveram uma secção de 3 a 5 vértebras extraídas da região quase abaixo da nadadeira dorsal. Estas vértebras foram devidamente etiquetadas e congeladas até o momento do processamento em laboratório.

### **Preparo das amostras**

No laboratório do grupo de investigação pesqueira do CCMar – Universidade do Algarve, em Portugal, extraiu-se manualmente qualquer resíduo orgânico da vértebra através do uso de bisturi e pinças, além de cortes para individualizar cada vértebra. As vértebras foram então limpas seguindo o seguinte protocolo: 5 minutos em água sanitária (Hipoclorito de sódio comercial), passagem por água, limpeza manual dos restos orgânicos com uso de pinça, 3 minutos em água sanitária novamente e por fim água para eliminar resíduos de água sanitária. Após isso, as vértebras foram mantidas em álcool 70%.

Para facilitar o corte, as vértebras foram embebidas em resina de poliéster. Para isto, foram retiradas do álcool 70% e secas sob papel toalha a temperatura ambiente cerca de uma hora antes da inclusão em resina.

Após incluídas em resina, as vértebras foram seccionadas sagitalmente com uma máquina de corte Buehler de baixa velocidade, usando duas serras espaçadas em cerca de 0.5mm, resultando num corte semelhante a “gravata borboleta”. Estes cortes foram corados com cristal violeta por 3 minutos. Após isso, foram deixados secar por entre papéis absorventes, pressionados por duas lâminas de microscópio, por 24 horas, a fim de evitar que o corte enrolasse. Uma vez secos, os cortes foram colados em lâminas de microscópio usando Cytoseal 60.

As bandas de crescimento das vértebras foram lidas com um microscópio de luz transmitida branca. Seguindo a metodologia CAILLIET *et al.* (2006) foram considerados dois tipos de bandas de crescimento nos cortes, sendo uma banda opaca mais larga e uma banda translúcida mais fina. Cada par de bandas foi considerado um anel. Para cada vértebra foram realizadas três leituras independentes, sem conhecimento prévio do CT e do número de anéis de cada indivíduo estimados em leituras anteriores. Para calcular a precisão das estimativas das idades, foram utilizadas as técnicas do índice de porcentagem de erro médio (average percent error - APE), definida por BEAMISH & FOURNIER (1981), e o coeficiente de variação (CV) definido por CHANG (1982).

### **Idade e crescimento**

A fim de estipular o tamanho do animal na idade zero, dez embriões com tamanho próximo ao nascimento da espécie, 14cm (CARMO & FAVARO *in prep.*), tiveram suas vértebras retiradas, limpas e micro-fotografadas digitalmente com uso do software Image J (ABRAMOFF *et al.* 2004).

Neste trabalho fez-se uso das técnicas de retrocálculo de BPH (*Body Proportional*

*Hypothesis*), Dahl Lea, Fraser Lee e SPH (*Scale Proportional Hypothesis*) (Francis 1990), a fim de obter-se os comprimentos dos indivíduos em idades prévias, uma vez que nas amostras analisadas, as classes de comprimento de tamanho inferior a 35 cm de CT não foram obtidas. O retrocálculo estabeleceu regressões lineares entre o comprimento total dos animais e o raio das vértebras e entre o raio das vértebras e o comprimento total, quer para os sexos em conjunto, como para cada um dos sexos em separado. Estes valores obtidos através do retrocálculo foram utilizados para a geração das curvas de crescimento de von Bertalanffy (VBGF).

O modelo de crescimento de von Bertalanffy é a equação mais comumente utilizada em estudos de idade e crescimento de peixes em geral, incluindo os Chondrichthyes (CAILLIET et al., 2006). A curva de crescimento a ser estudada para a espécie *Z. brevirostris* seguiu o modelo de crescimento de von Bertalanffy (VBGF) e o modelo modificado de VBGF com tamanho fixo ao nascimento (VBGF com  $L_0$  fixo), onde:

Modelo de crescimento de Von Bertalanffy (VBGF):

$$L_t = L_{inf}(1 - e^{-k(t-t_0)})$$

Modelo de VBGF modificado com tamanho fixo ao nascimento (VBGF com  $L_0$  fixo):

$$L_t = L_{inf}(1 - be^{-kt})$$

onde:

$$b = (L_{inf} - L_0)/L_{inf}$$

$L_t$ : tamanho (CT, cm) na idade  $t$ (ano);

$L_{inf}$ : tamanho máximo assintótico (CT);

$L_0$ : tamanho (CT, cm) no nascimento;

$k$ : coeficiente de crescimento ( $\text{ano}^{-1}$ );

$t_0$ : idade teórica (ano) ao tamanho zero.

O tamanho fixo ao nascimento foi estipulado baseando-se CARMO & FAVARO (*in prep.*), como sendo 14 cm, e confirmado por GOMES *et al.* (2010), que confirmou neonatos com cerca de 13 a 16 cm de comprimento.

Todos os modelos de crescimento e análises foram criados no software R (R CORE TEAM, 2013), usando a função de estimação de parâmetros não lineares por mínimos quadrados (NLS). Para cada modelo de crescimento, calcularam-se os parâmetros com os respectivos erros padrão (SE) e intervalos de confiança (IC) com uma significância de 95%. Os gráficos foram criados em R, em alguns casos usando o pacote ggplot2 (WICKHAM, 2009).

Os resultados dos tamanhos obtidos pelas curvas de crescimento de VBGF gerados a

partir dos resultados das diferentes técnicas de retrocálculo foram submetidos aos testes de Kolmogorov-Smirnov como modificações de LILLIEFORS (1967) para testar a normalidade dos comprimentos médios às idades, e testes de LEVENE (1960) para testar a homogeneidade das variâncias. Uma vez que o pressuposto da normalidade não foi respeitado para todos os dados, usaram-se testes não paramétricos (Kruskal-Wallis) para verificar diferenças estatísticas significativas entre os comprimentos médios em cada idade. A diferença entre os sexos também foi testada com estes testes de hipóteses.

A fim de se avaliar a adequação do modelo aos dados e a qualidade do ajuste, foi calculado o Critério de Informação de Akaike (AIC – *Akaike Information Criteria*) (AKAIKE, 1974) para cada um dos modelos criados, incluindo as curvas de crescimento VBGF e VBGF com  $L_0$  fixo. O modelo com o melhor ajuste foi definido como o que apresentou um menor valor de AIC (KATSANEVAKIS, 2006).

Para se comparar as curvas de crescimento de machos e fêmeas, foi usado o teste da razão de verossimilhança (*likelihood ratio test*), tal como definido por KIMURA (1980) e recomendado por CERRATO (1990), testando a hipótese nula de que não existem diferenças nos parâmetros de crescimento de machos e fêmeas. Este teste também foi utilizado entre as quatro técnicas de retrocálculo, agrupadas duas a duas, a fim de se observar se apresentavam diferenças significativas entre si ou não.

## RESULTADOS

Foram amostrados 162 espécimes de *Z. brevirostris*, sendo 71 fêmeas (44%) e 91 machos (56%). O comprimento dos exemplares amostrados variou de 35,7 cm a 56 cm de CT, com os maiores exemplares de cada sexo apresentando 56 cm para fêmeas e 50,37 cm para machos. A frequência de ocorrência dos espécimes foi maior nas classes de tamanho intermediário, com poucos exemplares nas classes de tamanhos máximos e mínimos (Fig. 1).

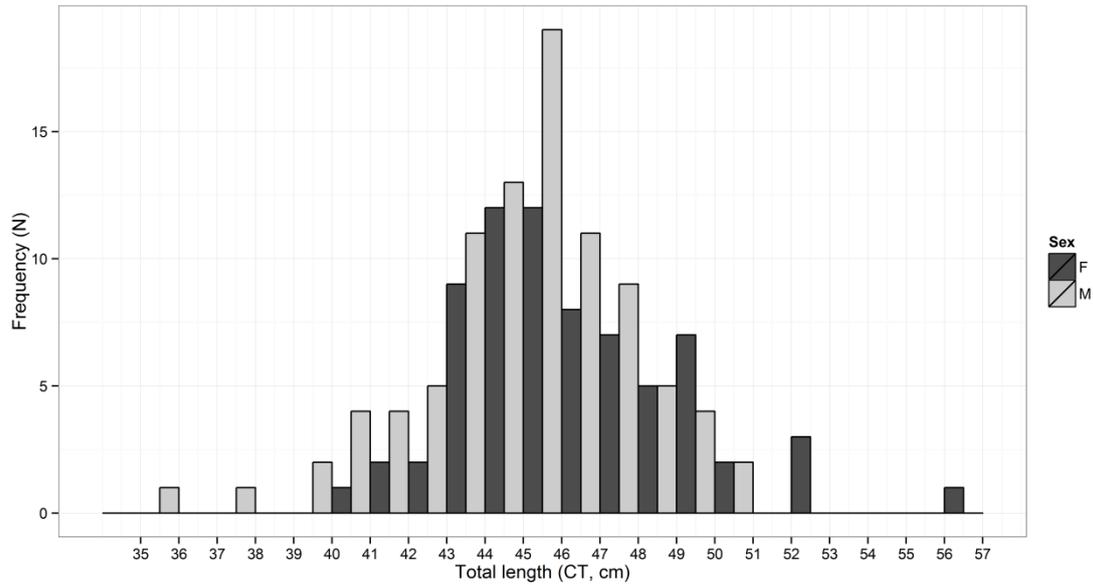


Figura 1 – Distribuição de frequências de comprimento dos exemplares de *Z. brevirostris* amostrados na costa Sul do Brasil e utilizados neste estudo.

O gráfico obtido entre o CT e o tamanho do raio da vértebra para os sexos agrupados, sugere uma relação direta entre o crescimento do animal e o crescimento da vértebra (Fig. 2).

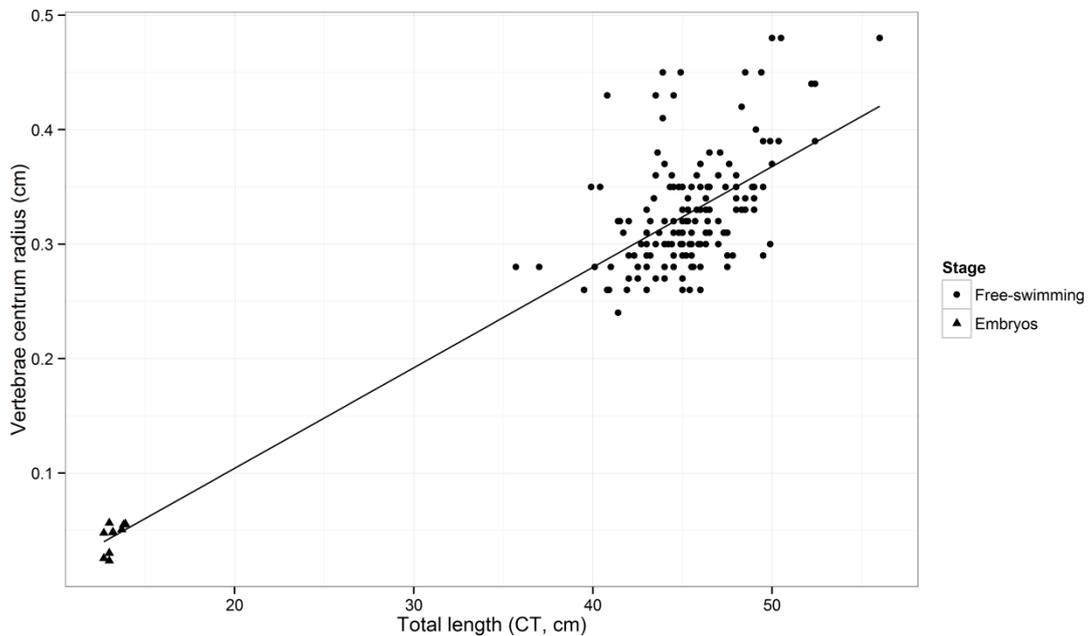


Figura 2 - Relação entre CT (cm) e raio da vértebra (cm) para *Z. brevirostris* com os sexos agrupados, usando indivíduos *free-swimming* (indivíduos adultos e juvenis coletados na natureza) e embriões. A linha representa uma regressão linear com os seguintes parâmetros (intercept=-0,07 (SE=0,02); slope= 0,01 (SE=0,0004);  $R^2=0,75$ )

Na amostra obtida, os exemplares analisados apresentaram idades variando entre 4 a 10 anos, tanto para machos quanto para fêmeas. Em termos de índices de precisão nas estimativas das idades, o erro percentual médio foi estimado em 9,71 e o CV foi estimado em 13,7.

Os valores das idades médias a cada idade, obtidos através das várias técnicas de retrocálculo, quanto submetidos ao teste de Kruskal-Wallis, mostraram que estas idades somente não diferiram estatisticamente nas idades 9 e 10 para os dados agrupados e idades 8 a 10, para os sexos separados (tabela 1).

Tabela 1 - Resultado do teste de Kruskal-Wallis para as idades médias obtidas pelas diferentes técnicas de retrocálculo em *Z. brevisrostris*. Em negrito, as idades que não apresentaram diferença estatística no P value, considerando  $\alpha=0,05$ .

Idade	Dados agrupados		Fêmeas		Machos		CT médio de acordo com cada técnica (sexos agrupados)			
	Qui quadrado	P value	Qui quadrado	P value	Qui quadrado	P value	BPH	Dahl Lea	Fraser Lee	SPH
0	555,91	$P \leq 0,05$	240,2	$P \leq 0,05$	317,35	$P \leq 0,05$	19,98	7,14	18,93	13,99
1	529,85	$P \leq 0,05$	220,78	$P \leq 0,05$	309,53	$P \leq 0,05$	23,45	12,39	22,55	18,29
2	420,62	$P \leq 0,05$	168,87	$P \leq 0,05$	252,79	$P \leq 0,05$	26,86	17,53	26,11	22,51
3	264,43	$P \leq 0,05$	110,98	$P \leq 0,05$	159,56	$P \leq 0,05$	30,4	22,89	29,81	26,91
4	143,96	$P \leq 0,05$	70,71	$P \leq 0,05$	80,07	$P \leq 0,05$	33,9	28,18	33,47	31,25
5	69,25	$P \leq 0,05$	43,3	$P \leq 0,05$	31,95	$P \leq 0,05$	36,87	32,67	36,57	34,94
6	41,81	$P \leq 0,05$	27,61	$P \leq 0,05$	18,01	$P \leq 0,05$	38,9	35,67	38,69	37,42
7	23,2	$P \leq 0,05$	14,48	$P \leq 0,05$	9,28	$P \leq 0,05$	40,53	38,04	40,39	39,41
8	11,39	$P \leq 0,05$	6,85	<b>0,07684</b>	5,23	<b>0,1558</b>	41,92	40,06	41,83	41,08
9	5,41	<b>0,1439</b>	4,39	<b>0,2221</b>	1,82	<b>0,6111</b>	42,85	41,5	42,79	42,25
10	0,97	<b>0,8095</b>	1,3	<b>0,7288</b>	3	<b>0,3916</b>	44,12	43,31	44,09	43,76

Nas curvas de VBGF para os valores observados na amostra, existiram problemas de convergência nos modelos, com os valores estimados apresentando elevados erros padrão e valores não razoáveis de serem analisados. Devido a isto, preferiu-se trabalhar somente com os valores obtidos através de retrocálculo pelas quatro técnicas já descritas, em detrimento aos valores observados (tabela 2). O teste de Kimura realizado entre as quatro técnicas de retro cálculo utilizadas, revelou um  $P \leq 0,05$ , mostrando então que seus resultados apresentam diferenças significativas entre si em relação às curvas de VBGF obtidas.

Tabela 2 - Parâmetros de crescimento estimados para *Z. brevisrostris* (sexos agrupados, fêmeas e machos), obtidos com a curva de crescimento VBGF e a VBGF com tamanho fixo no nascimento (Lo = 14 cm CT). Para cada modelo, os parâmetros são dados com seus respectivos erros-padrão (SE) e intervalos de confiança (IC) de 95%.

DADOS	AIC	Parâmetro	Valor estimado	SE	IC		
					menor	maior	
AGRUPA DOS	Valores Observados	Linf	47,9	16	16,2	79,6	
		k	0,16	0,87	-1,23	1,44	
		to	-20,71	117,55	-252,88	211,46	
	Valores observados	801,1	Linf	45,7	0,4	45,1	46,4
			Lo Fixo	0,74	0,14	0,46	1,01
	BPH	6565,38	Linf	56	2	52,1	59,8
			k	0,12	0,01	0,1	0,14
	BPH	7100,39	Lo	-3,48	0,18	-3,83	-3,14
			Linf	45	0,6	43,9	46,1
	Lo Fixo	6785,06	k	0,27	0,01	0,25	0,29
			Linf	58,1	2,1	54	62,2
	Dahl Lea	6790,11	k	0,12	0,01	0,11	0,14
			Lo	-2,11	0,1	-2,3	-1,91
	Dahl Lea	6433,59	Linf	61	2,2	56,7	65,4
			k	0,11	0,01	0,1	0,13
	Lo Fixo	6843,78	Linf	56,4	1,9	52,8	60,1
			k	0,12	0,01	0,1	0,14
	Fraser Lee	7241,59	Lo	-3,21	0,15	-3,5	-2,92
Linf			46,4	0,6	45,2	47,7	
Lo Fixo	7274,53	k	0,24	0,01	0,22	0,25	
		Linf	60,4	2,4	55,6	65,2	
SPH	3217,01	k	0,13	0,01	0,11	0,14	
		Lo	-0,89	0,06	-1,01	-0,77	
SPH	3218,79	Linf	69,1	3,5	62,3	75,9	
		k	0,1	0,01	0,08	0,11	
FÊMEAS	Valores Observados	Linf	46,8	2,6	41,6	52,1	
		k	0,32	1,07	-1,8	2,45	
		to	-6,09	30,71	-67,38	55,19	
	Valores observados	3218,79	Linf	46,4	0,5	45,5	47,3
			k	0,75	0,21	0,33	1,16
	BPH	3129,99	Linf	59,3	3,6	52,3	66,3
			k	0,11	0,01	0,08	0,14
	BPH	3322,25	Lo	-3,61	0,28	-4,16	-3,06
			Linf	46,7	0,9	44,8	48,6

			k	0,23	0,01	0,21	0,26
			Linf	61,8	3,8	54,4	69,2
Dahl Lea	3217,01		k	0,11	0,01	0,08	0,13
			Lo	-2,24	0,17	-2,57	-1,92
Dahl Lea	3218,79		Linf	66	4,2	57,8	74,3
Lo Fixo			k	0,09	0,01	0,07	0,11
			Linf	59,5	3,3	53	66
Fraser Lee	3053,03		k	0,11	0,01	0,08	0,13
			Lo	-3,42	0,24	-3,9	-2,95
Fraser Lee	3223,19		Linf	47,7	1	45,8	49,6
Lo Fixo			k	0,21	0,01	0,19	0,24
			Linf	64,9	4,4	56,2	73,7
SPH	3420,44		k	0,11	0,01	0,08	0,13
			Lo	-0,94	0,1	-1,13	-0,74
SPH	3435,56		Linf	77,8	7	64	91,5
Lo Fixo			k	0,08	0,01	0,06	0,1
			Linf	44,9	0,5	44	45,8
Valores Observados	3554		k	1,36	4,51	-7,61	10,32
			to	0,97	10,6	-20,09	22,03
Valores observados	3555,28		Linf	44,9	0,4	44,1	45,7
Lo Fixo			k	0,98	0,53	0,08	2,03
			Linf	54,3	2,4	49,5	59,1
BPH	3405,86		k	0,13	0,01	0,11	0,16
			Lo	-3,41	0,23	-3,85	-2,96
BPH	3766,53		Linf	43,8	0,7	42,4	45,3
Lo Fixo			k	0,3	0,02	0,27	0,33
			Linf	56,8	2,7	51,4	62,1
MACHOS Dahl Lea	3554		k	0,13	0,01	0,11	0,16
			Lo	-2,03	0,13	-2,28	-1,77
Dahl Lea	3555,28		Linf	59,1	2,8	53,6	64,7
Lo Fixo			k	0,12	0,01	0,1	0,14
			Linf	54,9	2,4	50,2	59,6
Fraser Lee	3372,98		k	0,13	0,01	0,11	0,16
			Lo	-3,07	0,19	-3,45	-2,7
Fraser Lee	3616,96		Linf	45,5	0,8	43,8	47,1
Lo Fixo			k	0,26	0,01	0,23	0,28
			Linf	59,3	3,2	53	65,6
SPH	3799,58		k	0,13	0,01	0,11	0,16
			Lo	-0,87	0,08	-1,02	-0,71
SPH	3815,66		Linf	66,9	4,4	58,2	75,5
Lo Fixo			k	0,11	0,01	0,08	0,13

Em termos de qualidade de ajuste do modelo (AIC), para as curvas de crescimento estimadas, a curva de VBGF com três parâmetros, tanto nos dados agrupados, quanto para machos e fêmeas, apresentou o menor AIC, portanto, a melhor qualidade de ajuste de modelo, justificando então, a preferência por discutirmos os resultados obtidos com a curva de VBGF de três parâmetros. O teste de Kimura foi realizado nas quatro técnicas de retrocálculo utilizadas, e diferenças significativas foram encontradas entre as curvas de VBGF de crescimento entre os sexos ( $P \leq 0,05$ ). Por sua vez, a curva de VBGF obtida pela técnica de Fraser Lee foi a que apresentou dados mais factíveis de serem observados na natureza (tanto para os dados agrupados, quanto para machos e fêmeas), portanto, optou-se por ser a única curva a ser discutida neste trabalho.

Analisando-se a curva de VBGF para a espécie *Z. brevirostris*, o *Linf* apresentou 56,4 cm CT para os sexos agrupados, 59,5 cm CT para fêmeas e 54,9 cm CT para machos. O valor de *k* ficou em 0,12 para os sexos agrupados, 0,11 para fêmeas e 0,13 para machos. As curvas de VBGF podem ser visualizadas na figura 3.

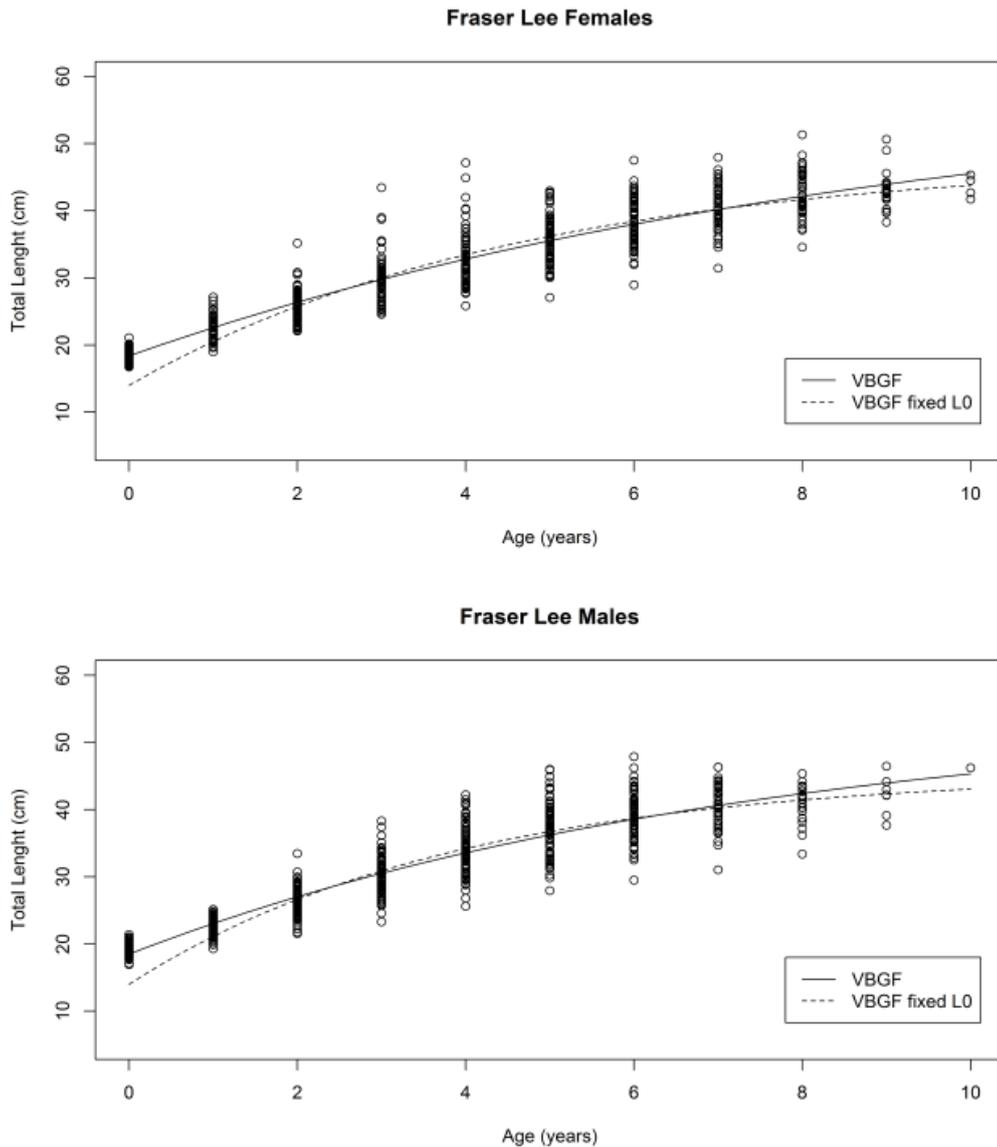


Figura 3 - Curvas de crescimento de VBGF para *Z. brevirostris* de acordo com a técnica de retrocálculo de Fraser Lee. Dados para fêmeas e machos separadamente: VBGF e VBGF com  $L_0$  fixo em 14cm.

## DISCUSSÃO

Os parâmetros de idade e crescimento foram estimados pela primeira vez neste estudo para uma espécie do gênero *Zapteryx*. Levando em conta isto, iremos comparar os resultados com trabalhos referentes a outra espécie da mesma família (Rhinobatidae) e do grupo dos elasmobrânquios de maneira geral, dado a ausência de informações mais específicas.

O tamanho máximo obtido (56 cm para fêmeas e 50,37 cm para machos) encontra-se dentro do comprimento máximo descrito para a espécie por COLONELLO *et al.* (2011) e BORNATOWSKI & ABILHOA (2012), sendo 59 cm CT para machos e 65cm CT para fêmeas.

A diferença de crescimento entre os sexos que foi apresentada neste estudo é bem documentada entre os elasmobrânquios, com as fêmeas sendo geralmente maiores que os machos, inclusive para a própria espécie *Z. brevirostris* (CASEY *et al.*, 1985; ISMEN, 2003; YAMAGUCHI *et al.*, 2005; SANTOS *et al.*, 2006).

Estimativas de modelos de crescimento são fortemente afetadas pela ausência de indivíduos muito novos e/ou velhos (CAMPANA, 2001; CAILLIET & GOLDMAN, 2004). Logo, é provável que o fator que mais influenciou na discrepância entre valores obtidos na amostra (valores observados) dos valores obtidos por retro cálculo, seja a composição da amostra, onde faltam indivíduos com idade inferior a 4 (menores que 35 cm de CT). A falta destes indivíduos é resultado de um problema comum nas coletas de elasmobrânquios: as artes de pesca não são seletivas para todas as classes de comprimentos, como observado por BRANSTETTER (1987), e THORSON & SIMPFENDORFER (2009) também discorrem sobre o fato do aparelho de pesca ser um fator de grande influência na composição da amostra. Porém pode-se justificar também a hipótese de ser um comportamento natural da espécie, onde indivíduos de tamanho inferior a 35 cm não ocorram no local das coletas, buscando outro habitat para seu desenvolvimento em fases iniciais, uma vez que, de acordo com ESPINOZA *et al.* (2011), os padrões de fidelidade a um determinado local e seu uso inter-anual permanecem incertos para muitos elasmobrânquios costeiros, devido à falta de dados comportamentais quantitativos.

A convergência de erros que a curva de VBGF apresentou para os dados observados possivelmente deve-se ao fato da ausência de jovens nas amostras, que representem idades inferiores a 4 (CT inferior a 35 cm). Isto levou-nos a optar por trabalhar somente com os dados retro calculados, que, segundo SMITH (1983), é um método robusto para ser trabalhado, assim como observado em trabalhos citados anteriormente. THORSON & SIMPFENDORFER (2009) sugeriram para estudos de idade e crescimento que o tamanho mínimo de uma amostra para gerar uma curva confiável seria de 200 indivíduos. Em diversos casos onde o número de amostras foi inferior ao sugerido, têm-se observado o uso da ferramenta do retrocálculo. O retro cálculo é um método robusto que aumenta a quantidade de informações da amostra e também permite o monitoramento das taxas de crescimento médio de distintas faixas etárias (SMITH, 1983), utilizando a proporcionalidade entre o tamanho do peixe e o raio da estrutura (GOLDMAN, 2004). Este método é utilizado para preencher as lacunas de uma amostra com tamanho reduzido em certas classes (jovens por exemplo), quando o tamanho amostral é pequeno ou se as amostras não foram obtidas em todos os meses, obtendo-se assim um valor confiável (GOLDMAN, 2004). Vários autores (BONFIL *et al.*, 1993; NATANSON *et al.*, 1995;

SMINKEY & MUSICK, 1995; LESSA *et al.*, 1999; LESSA *et al.*, 2004, BAŞUZSTA *et al.*, 2008; SANTANA & LESSA, 2004; NATANSON *et al.*, 2007) apresentaram curvas de crescimento retro calculadas para descrever o crescimento de elasmobrânquios.

Para avaliar o quão adequado foi o ajuste aos dados, a análise atualmente mais aceita é baseada no critério de qualidade de ajuste do modelo (AIC) de Akaike (AKAIKE, 1974; BURNHAM & ANDERSON, 2002), considerando-se como indicativo de robustez do ajuste o menor valor de AIC (BURNHAM & ANDERSON, 2002; KATSANEVAKIS, 2006). O AIC foi realizado entre as curvas de VBGF de três e dois parâmetros, tendo sempre a curva de três parâmetros apresentado o menor AIC, seja nos dados observados, quanto nos dados obtidos por retro cálculo. Portanto, podemos afirmar que entre os modelos testados, as curvas de VBGF com três parâmetros é a que melhor representa o modelo de crescimento da espécie *Z. brevirostris*.

O *Linf* obtido para os dados apresentou 56,44 cm CT para dados agrupados e 59,5 cm CT para fêmeas e 54,90 cm CT para machos, o que corrobora com valores obtidos na amostragem, onde o maior CT foi 56 cm para uma fêmea e 50,37 cm para machos. Portanto, o *Linf* derivado de retrocálculo está em conformidade com comprimentos máximos da área, corroborando a escolha da curva de VBGF com três parâmetros obtida com dados retrocalculados por Fraser Lee, como a melhor para descrever o crescimento da espécie *Z. brevirostris*.

O valor de *k* para machos (0,13) foi um pouco maior que fêmeas (0,11), assim como descrito para *Leucoraja ocellata*(SULIKOWSKI *et al.*, 2003), *Amblyraja radiata*(MCPHIE & CAMPANA, 2009) e *Malacoraja senta* (0,12; MCPHIE & CAMPANA, 2009), mostrando que os machos crescem um mais rapidamente que as fêmeas. O valor de *k* para os dados agrupados foi de 0,12, semelhante aos encontrados para as espécies de raias *Aetobatus flagellum* (0,11; YAMAGUCHI *et al.* 2005, *Malacoraja senta* (0,12; NATANSON *et al.*, 2007; MCPHIE & CAMPANA, 2009) e *Raja undulata* (0,11; COELHO & ERZINI, 2002). Ao compararmos o valor de *k* obtido para o crescimento de *Z. brevirostris* com outra espécie da mesma família, *Rhinobatos rhinobatos* (BAŞUSTA *et al.*, 2008) veremos que o valor de *k* de *Z. brevirostris* é menor que o obtido para *R. rhinobatos* (0,15). Porém, ambas apresentam um elevado *k* em comparação com o valor de *k* de outras espécies de raias: 0,02 para *Bathyraja minispinosa*(AINSLEY *et al.*, 2011), 0,04 para *Raja binoculata* (McFARLANE & KING, 2006), 0,07 para *Amblyraja radiata*(MCPHIE & CAMPANA, 2009) e *Raja rhina* (McFARLANE & KING, 2006) e 0,08 para *Dasyatis pastinaca* (ISMEN, 2003). As raias da família Rhinobatidae apresentam valores de *k* inferiores as raias *L. ocellata* (0,18; McPHIE & CAMPANA, 2009) e *L. erinacea* (0,19; McPHIE & CAMPANA, 2009). Com estes resultados, podemos afirmar que a espécie *Z. brevirostris* possui um crescimento

relativamente mais elevado em comparação com a maioria das outras espécies de raias, uma vez que o valor de  $k$  mais elevado significa que a velocidade a que se atinge o  $L_{inf}$  (crescimento), é mais rápido. Em uma revisão das características de história de vida de espécies marinhas de vida longa, MUSICK (1999) concluiu que as espécies com coeficientes  $k \leq 0,10 \text{ ano}^{-1}$  são extremamente suscetíveis a declinarem em consequência da sobre-exploração, valor próximo ao obtido para a espécie *Z. brevirostris*.

A análise do incremento marginal como verificação de periodicidade não apresentou dados significativos neste trabalho, uma vez que ocorreram meses com ausência de amostragem, corroborando a afirmação de CAILLIET (1990) e CAMPANA (2001) que citam como um erro relacionado a análises de incremento marginal, o fator tamanho da amostra, que pode ser pequena (ou até faltante) para certos meses em particular ou para determinadas classes de idade. Em estudos de idade e crescimento é importante a validação ou a verificação da idade, por exemplo através da análise de incremento marginal (CAILLIET *et al.*, 1986, 2006; CAILLIET, 1990; CAMPANA, 2001). Porém, a falta de análise de incremento marginal, por diversos motivos, também pode ser encontrada em outros trabalhos relacionados a elasmobrânquios, como em WINTNER & CLIFF (1999), BAŞUSTA *et al.* (2008) e FERNANDEZ-CARVALHO *et al.* (2011). Até o momento a verificação da periodicidade anual de bandas vertebrais não foi feita para animais da família Rhinobatidae, assumiu-se, portanto, que um par de bandas de crescimento, constituído por um anel hialino e um anel opaco, é depositado em cada ano para esta espécie, como sugerido para outros elasmobrânquios (BONFIL *et al.*, 1993; CAILLIET *et al.*, 1983; LESSA *et al.*, 1999; OSHITANI *et al.*, 2003; SANTANA & LESSA, 2004). No entanto, esta é uma questão que deveria ser abordada e estudada em trabalhos futuros nesta espécie.

A diferença de crescimento entre sexos constada pelo teste de Kimura coincide com o fato das fêmeas serem maiores que os machos, corroborando a diferença sexual em relação ao tamanho, citada anteriormente.

Após estas afirmativas, para a área de estudo, a raia *Z. brevirostris* tem de 4 a 10 anos de idade. A espécie atinge seu  $L_{inf}$  em torno dos 56 cm aproximadamente (56 cm para fêmeas e 50,37 cm para machos). Os parâmetros de idade e crescimento para a referida espécie, fornecidos neste estudo, corroboram a hipótese de que esta raia requer uma gestão de conservação futura devido à sua taxa de crescimento lento e suscetibilidade à sobre-exploração, assim como ocorre com outros elasmobrânquios (SULIKOWSKI *et al.*, 2003; NATANSON *et al.*, 2007), um grupo que deve ter sua pesca controlada, a fim de conservá-los como componentes do ecossistema marinho (VOOREN, 2012).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAMOFF, M. D.; MAGALHAES, P. J.; & RAM, S. J. (2004). Image Processing with Image J. *Biophotonics International*, 11, 36–42.
- AINSLEY, S. M.; EBERT, D. A.; CAILLIET, G. M. (2011). Age, growth, and maturity of the whitebrow skate, *Bathyraja minispinosa*, from the eastern Bering Sea. *ICES Journal of Marine Science*, v. 68, n. 7, p. 1426–1434.
- AKAIKE, H. A. I. (1974). A New Look at the Statistical Model Identification.
- BARKER, M.J. & SCHLUESSEL, V. (2005) Managing global shark fisheries: suggestions for prioritizing management strategies. *Aquatic Conservation* 15:325–347.
- BAŞUSTA, N.; DEMIRHAN, S. A.; ÇIÇEK, E.; BAŞUSTA, A. & KULELI, T. (2008). Age and growth of the common guitarfish, *Rhinobatos rhinobatos*, in Iskenderun Bay (north-eastern Mediterranean, Turkey). *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, 88(04), 837–842.
- BATISTA, V. da S. (1991) Aspectos quantitativos da fecundidade e do desenvolvimento embrionário da raia *Zapteryx brevirostris* Müller & Hendle 1841 (Pisces, Rhinobatidae) da enseada de Itaipu, Niterói, Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Biologia* 51:495–501.
- BEAMISH, R. J. & FOURNIER, D. A. (1981). A method for comparing the precision of a set of age determinations. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 38, 982–983.
- BONFIL, R.; MENA, R. & DE ANDA, D. (1993). Biological parameters of commercially exploited silky sharks, *Carcharhinus falciformis*, from the Campeche Bank, Mexico. *US Dep. Commer., NOAA Technical Report NMFS*, 115, 73–86.
- BORNATOWSKI, H.; ABILHOA, V. & CHARVET-ALMEIDA, P. (2009) Elasmobranchs of the Paraná Coast, southern Brazil, south-western Atlantic. *Mar Biodivers Rec* 2:1–6.

- BORNATOWSKI, H. & ABILHOA, V. (2012) Tubarões e raias capturados pela pesca artesanal no Paraná - guia de identificação, 1ª edn. 124
- BRANSTETTER, S. (1987) Age, growth and reproductive biology of the silky shark, *Carcharhinus falciformis*, and the scalloped hammerhead, *Sphyrna lewini*, from the northwestern Gulf of Mexico. *Environmental Biology of Fishes* 19:161–173.
- BURNHAM, K. P. & ANDERSON, D. R. (2002). *Model Selection and Multimodel Inference: A Practical Information-Theoretic Approach*. New York, NY: Springer-Verlag. New York, NY: Springer-Verlag.
- CAILLIET, G. & KJ, G. (2004). Age determination and validation in chondrichthyan fishes. In CARRIER, J.; MUSICK, J. & HEITHAUS, M. (Eds.), *Biology of sharks and their relatives*. (pp. 399–448). Boca Raton, FL: CRC Press.
- CAILLIET, G. M. (1990). Elasmobranch age determination and verification: an update review. In: PRATT, H. L.; GRUBER, S. H. & TANIUCHI, T. (Eds.), *Elasmobranchs as Living Resources: Advances in the Biology, Ecology, Systematics and the Status of the Fisheries* (pp. 57–165). NOAA Tech. Rep. 90.
- CAILLIET, G. M.; SMITH, W. D.; MOLLET, H. F. & GOLDMAN, K. J. (2006). Age and growth studies of chondrichthyan fishes: the need for consistency in terminology, verification, validation, and growth function fitting. *Environmental Biology of Fishes*, 77(3-4), 211–228.
- CAILLIET, G.; MARTIN, L.; KUSHER, D.; WOLF, P. & WELDEN, B. (1983). Techniques for enhancing vertebral bands in age estimation of California elasmobranchs. In PRINCE, E. & PULOS, L. (Eds.), *Proceedings International Work-shop on Age Determination of Oceanic Pelagic Fishes: Tunas, Billfishes, Sharks* (pp. 157–165). NOAA Tech Rep NMFS.
- CAILLIET, G.; RADTKE, R. & BA, W. (1986). Elasmobranch age determination and verification: a

- review. In ARAI, U.T.R.; TANIUCHI, T. & MATSUURA, K. (Eds.), *Indo-Pacific fish biology. Proc 2nd Int Conf Indo-Pacific Fishes*. (pp. 345–360). Tokyo: Ichthyological Society of Japan.
- CAMPANA, S. E. (2001). Accuracy, precision and quality control in age determination, including a review of the use and abuse of age validation methods. *Journal of Fish Biology*, 59, 197–242.
- CASEY, J. G; PRATT, H. L. & STILLWELL, C. E. (1985). Age and growth of the sandbar shark (*Carcharinus plumbeus*) from the western North Atlantic. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 49, 1447–1477.
- CASTELLO, H.P. (1971) Contribución al conocimiento sistemático y biológico de *Zapteryx brevirostris* (Müller & Henle, 1841) de la costa atlántica marplatense (Chondrichthyes, Rhinobatidae). *Physis* 30:619–629.
- CERRATO, R. M. (1990). Interpretable statistical tests for growth comparisons using parameters in the von Bertalanffy equation. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 47, 1416–1426.
- CHANG, W. Y. B. (1982). A statistical method for evaluating the reproducibility of age determinations. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 39, 1208–1210.
- COELHO, R. & ERZINI, K. (2002) Age and growth of the undulate ray, *Raja undulata*, in the Algarve (Southern Portugal). *Journal of Marine Biological Association of United Kingdom* 94:987–990.
- COLONELLO, J.C.; GARCÍA, M.L. & MENNI, R.C; (2011) Reproductive biology of the lesser guitarfish *Zapteryx brevirostris* from the south-western Atlantic Ocean. *Journal of Fish Biology* 78:287–302.
- CORTÉS, E. (2000) Life History Patterns and Correlations in Sharks. 8:299–344.

- ESPINOZA, M.; FARRUGIA, T. J. & LOWE, C. G. (2011). Habitat use, movements and site fidelity of the gray smooth-hound shark (*Mustelus californicus* Gill 1863) in a newly restored southern California estuary. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 401(1-2), 63–74.
- FERNANDEZ-CARVALHO, J.; COELHO, R.; ERZINI, K. & NEVES SANTOS, M. (2011). Age and growth of the bigeye thresher shark, *Alopias superciliosus*, from the pelagic longline fisheries in the tropical northeastern Atlantic Ocean, determined by vertebral band counts. *Aquatic Living Resources*, 24(4), 359–368.
- FIGUEIREDO, J.L. (1977) Manual de Peixes Marinhos do Sudeste do Brasil: I: Introdução - Cações, Raias e Quimeras. Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo, São Paulo
- FRANCIS, R. I. C. C. (1990). Back-calculation of fish length: a critical review, 883–902.
- GOLDMAN, K. J. (2004). Age and growth of elasmobranch fishes. In MUSICK, J.A. (Ed.), *Elasmobranch Fisheries Management Techniques* (APEC Secre, pp. 97–132). Singapore.
- GOMES, U.L.; SIGNORI, C.N.; GADIG, O.B.F & SANTOS, H.R.S. (2010) Guia para identificação de tubarões e raias do Rio de Janeiro, 1st edn. 234.
- HOFF, T. B. & MUSICK, J. A. (1990). Western North Atlantic shark-fishery management problems and informational requirements. In PRATT Jr, H. L. GRUBER, S. H. & TANIUCHI, T. (Eds.), *Elasmobranchs as living resources: advances in the biology, ecology, systematics, and the status of fisheries* (pp. 455–472). US Department of Commerce, NOAA Technical Report NMFS 90.
- ISMEN, A. (2003). Age, growth, reproduction and food of common stingray (*Dasyatis pastinaca* L., 1758) in Iskenderun Bay, the eastern Mediterranean. *Fisheries Research*, 60, 169–176.
- KATSANEVAKIS, S. (2006). Modelling fish growth: model selection, multi-model inference and model selection uncertainty. *Fisheries Research*, 81, 229–235.

- KIMURA, D. K. (1980). Likelihood methods for the von bertalanffy growth curve. *Fishery Bulletin*, 77(4), 765–776.
- LESSA, R.; SANTANA, F. M. & HAZIN, F. H. (2004). Age and growth of the blue shark *Prionace glauca* (Linnaeus, 1758) off northeastern Brazil. *Fisheries Research*, 66(1), 19–30.
- LESSA, R.; SANTANA, F. M. & PAGLERANI, R. (1999). Age, growth and stock structure of the oceanic whitetip shark, *Carcharhinus longimanus*, from the southwestern equatorial Atlantic. *Fisheries Research*, 42(1-2), 21–30.
- LEVENE, H. (1960). Robust tests for equality of variances. In OLKIN, I.; GHURYE, S. G.; Hoeffding, W.; MADOW, W. G. & MANN, H. B. (Eds.), *Contributions to Probability and Statistics: Essays in Honor of Harold Hotelling*. (pp. 278–292). Stanford University Press.
- LILLIEFORS, H. W. (1967). On the Kolmogorov-Smirnov test for normality with mean and variance unknown. *Journal of the American Statistical Association* 62, 399–402.
- McFARLANE, G. A. & KING, J. R. (2006). Age and growth of big skate (*Raja binoculata*) and longnose skate (*Raja rhina*) in British Columbia waters. *Fisheries Research*, 78, 169–178.
- McPHIE, R. P. & CAMPANA, S. E. (2009). Bomb dating and age determination of skates ( family Rajidae ) off the eastern coast of Canada, 546–560.
- MENNI, R. & STEHMANN, M. (2000) Distribution, environment and biology of batoid fishes off Argentina, Uruguay and Brazil, A review. *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales* 2:69–109.
- MINISTÉRIO MEIO AMBIENTE (2014). Atualização das Listas de Espécies Ameaçadas de Extinção. Portaria 445, publicada em 17 de dezembro.
- MUSICK, J. A. (1999). Ecology and Conservation of Long-Lived Marine Animals. *American Fisheries Society Symposium*, 23, 1–10.

- NATANSON, L. J.; CASEY, J. G & KOHLER, N. E. (1995). Age and growth estimates for the dusky shark, *Carcharhinus obscurus*, in the western North Atlantic Ocean. *Fisheries Bulletin*, 193, 116–126.
- NATANSON, L.J.; SULIKOWSKI, J. A.; KNEEBONE, J.R. & TSANG, P.C. (2007) Age and growth estimates for the smooth skate, *Malacoraja senta*, in the Gulf of Maine. *Environmental Biology of Fishes* 80:293–308.
- OSHITANI, S.; NAKANO, S. & TANAKA, S. (2003). Age and growth of the silky shark *Carcharhinus falciformis* from the Pacific Ocean. *Fisheries Science*, 69, 456–464.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. (2013). “R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.” <http://www.r-project.org>.
- ROBERT, M. C. (2012). A captura de elasmobrânquios na costa paranaense. In BORNATOWSKI, H. & ABILHOA, V. (Eds.), *Tubarões e raias capturados pela pesca artesanal no Paraná - guia de identificação*. (pp. 27–34). Curitiba, PR: Hori cadernos tecnicos n.4.
- SANTANA, F. M. & LESSA, R. (2004). Age determination and growth of the night shark (*Carcharhinus signatus*) off the northeastern Brazilian coast. *Fisheries Bulletin*, 102, 156–167.
- SANTOS, C.; CORTELLETE, G. M.; ARAUJO, K. C. B. & SPACH, H. L. (2006). Estrutura populacional da raia-viola *Zapteryx brevirostris* (chondrichthyes, rhinobatidae), na plataforma adjacente à baía de Paranaguá, PR, *Acta Biologica Leopoldensia*, São Leopoldo, RS : 28(1), 32–37.
- SHOTTON, R. (1999) Case studies of the management of elasmobranch fisheries. Rome, FAO
- SMINKEY, T. R. & MUSICK, J. A. (1995). Age and growth of the sandbar shark, *Carcharhinus plumbeus*, before and after population depletion. *Copeia*, 871–883.

- SMITH, C. L. (1983). Summary of round table discussions on back calculation. In PRINCE, E. D. & PULOS, L. M. (Eds.), *Proceedings of the international workshop on age determination in oceanic pelagic fishes: tunas, billfishes, and sharks*. (pp. 45–47). NOAA Technical Reports, NMFS 8. p.
- SMITH, S. E.; AU, D. W. & SHOW, C. . (1998). Intrinsic rebound potentials of 26 species of Pacific sharks. *Marine And Freshwater Research*, 49, 663–678.
- SPARRE, P. E & VENEMA, S. C. (1997). *Introduction to tropical fish stock. Part 1. Manual*. (306(1) ed., p. 337). Rome: FAO Fisheries Technical Paper.
- STEVENS, J.; BONFIL, R.; DULVY, N.K. & WALKER, P.A. (2000) The effects of fishing on sharks, rays, and chimaeras (chondrichthyans), and the implications for marine ecosystems. *ICES Journal of Marine Science* 57:476–494.
- SULIKOWSKI, J.A.; MORIN, M.D.; SUK, S.H. & HUNTTING HOWELL, W. (2003) Age and growth estimates of the winter skate (*Leucoraja ocellata*) in the western Gulf of Maine. *Fishery Bulletin* 101:405–413.
- THORSON, J. & SIMPFENDORFER, C. (2009) Gear selectivity and sample size effects on growth curve selection in shark age and growth studies. *Fisheries Research* 98:75–84.
- VAZZOLER, A. E. A. M. (1981). *Manual de métodos para estudos biológicos de populações de peixes. Reprodução e Crescimento*. (p. 108). Brasília, CNPq.: Plano Nacional de Zoologia.
- VOOREN, C. M.; LAMÓNACA, A. F; MASSA, A. & HOZBOR, N. *Zapteryx brevirostris*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.2. (2006). Retrieved from [www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)
- VOOREN, C.M. (2012) Prefacio. In: BORNATOWSKI, H. & ABILHOA, V. (eds) Tubarões e raias capturados pela pesca Artes no Paraná - guia identificação. Hori cadernos tecnicos n.4, Curitiba, PR:, pp 1–3
- WICKHAM, H. (2009). ggplot2: elegant graphics for data analysis. Springer, New York.

WINTNER, S. P. & CLIFF, G. (1999). Age and growth determination of the white shark, *Carcharodon carcharias* from the east coast of South Africa. *Fisheries Bulletin*, 97(1), 153–169.

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

### CAPÍTULO III

# **ACÚMULO DE METAIS EM DIFERENTES ÓRGÃOS DE *Zapteryx brevirostris*, UMA ESPÉCIE DE ELASMOBRÂNQUIO ENDÊMICA DA COSTA BRASILEIRA.**

## ACÚMULO DE METAIS EM DIFERENTES ÓRGÃOS DE *Zapteryx brevirostris*, UMA ESPÉCIE DE ELASMOBRÂNQUIO ENDÊMICA DA COSTA BRASILEIRA.

### RESUMO

O fato dos elasmobrânquios poderem acumular altos níveis de contaminantes em seus tecidos, somado ao aumento no consumo humano por representantes deste grupo, demonstra a importância de estudos sobre a concentração de metais nestes organismos. A espécie analisada neste estudo foi *Zapteryx brevirostris* (Müller & Henle, 1841) a qual distribui-se pela plataforma continental brasileira. As coletas de material biológico ocorreram entre novembro de 2011 a setembro de 2013, provenientes da pesca artesanal em locais próximos ao complexo estuarino de Paranaguá (PR). Após sacrifício, retirou-se amostras de brânquia, fígado, músculo, rim, bem como de bile e vitelo. Foram também coletadas amostras de água no local da captura dos animais. Foram realizadas análises do conteúdo de metalotioneína em fígado e das concentrações dos metais alumínio (Al), cádmio (Cd), chumbo (Pb), cobre (Cu), cromo (Cr), manganês (Mn), níquel (Ni) e zinco (Zn) nas amostras de tecidos, bile, vitelo e água. Os resultados da análise de metais totais nas amostras de água mostraram que, dentre os metais analisados, apenas o Cd não foi detectado e para os metais Al, Cr, Cu, Mn, Ni e Pb os valores encontrados estão abaixo dos estabelecidos pela legislação brasileira (CONAMA, 2005). Somente o Zn mostrou um valor mais próximo ao limite ao estabelecido pelo CONAMA. A análise dos Índices de Poluição de Metais (MPI) para machos e fêmeas mostrou que o padrão de acumulação dos metais difere entre os sexos, e indicou valores elevados de MPI para o fígado em machos e rim em fêmeas. Apesar da maioria dos valores de metais encontrados nas amostras serem considerados seguros pela legislação brasileira, as concentrações de Cd no músculo de machos e Pb no músculo de fêmeas merecem uma especial atenção, uma vez que estão acima do estabelecido pela FAO/WHO. Assim, é recomendado o monitoramento dos metais em pescado de elasmobrânquios, já que estes consistem em importantes recursos pesqueiros. Sugere-se ainda o uso de *Z. brevirostris* como um bioindicador da contaminação ambiental marinha devido a espécie apresentar facilidade de coleta, sobrevivência longa em rede e grande abundância

**Palavras-chave:** consumo pescado, Batoidea, contaminação, Índice de Poluição de Metais (MPI), Paraná, água.

## HEAVY METAL ACCUMULATION IN DIFFERENT ORGANS OF *Zapteryx brevirostris*, AN ENDEMIC ELASMOBRANCH SPECIES OF THE BRAZILIAN COAST

### ABSTRACT

Elasmobranchs, due to their position in food chain, can accumulate high levels of contaminants, and the increase in consumption of this group shows the importance of studies about the concentration of metals in these organisms. The exposure of rays (Batoidea) to metals is rarely described, characterizing this work as unpublished in the southern Brazil. The species *Zapteryx brevirostris* (Müller & Henle, 1841) is distributed around the Brazilian continental platform, and it's commonly known as lesser guitarfish. The collections of biological samples occurred from November 2011 to September 2013, from artisanal fishing in places near the Paranaguá estuarine complex (PR). After medullary section, samples of gill, liver, muscle, kidney, bile secretion and yolk were collected. Water samples were collected at the place of capture of the animals. Metallothionein analyses were realized in the liver and the concentrations of heavy metals aluminum (Al), cadmium (Cd), lead (Pb), copper (Cu), chromium (Cr), manganese (Mn), nickel (Ni) and zinc (Zn) in the tissue samples, bile secretion, yolk and water. The results of total metal analyses in the samples of water showed that, among the metals analyzed, only Cd was not detected and for the metals Al, Cr, Cu, Mn and Pb the values found are below the established by on Brazilian legislation (CONAMA, 2005). Only Zn showed a value closer to the limit established by CONAMA. The analysis of Metal Pollution Index (MPI) for males and females showed that the accumulation pattern of the metals differ between the sexes, and indicated elevated values of MPI for liver in males and kidney in females. Even though most values of metals found in the samples presented safe values as established by legislation, the concentrations of Cd in male's muscles and Pb in female's muscles deserve a special attention, once the values found are over the established by the FAO/WHO legislation. Thus, it's recommended the monitoring of metals in elasmobranch meat, since these constitute important fishing resources. It's also suggested the use of *Z brevirostris* as a bioindicator of marine environmental contamination.

**Key-words:** fish consumption, Batoidea, contamination, metal pollution index (MPI), Paraná, Water

## INTRODUÇÃO

Metais ocorrem naturalmente em pequenas quantidades no ambiente aquático, contudo, as atividades antropogênicas, como a industrialização e atividades portuárias têm elevado as suas concentrações naturais ocasionando a contaminação dos ecossistemas aquáticos a ponto de causar riscos ecológicos, uma vez que os metais são poluentes persistentes (CARVALHO *et al.*, 2000; SAVINOV *et al.*, 2003; PEREIRA & KUCH, 2005; BARBIERI, 2007). As consequências deste efeito bioacumulativo para todos os componentes da biota podem ir desde intoxicação e envenenamento, efeitos cancerígenos, teratogênicos, mutagênicos podendo, em alguns casos, ocasionar a morte (FARIA, 2003; ESTEBAN & CASTAÑO, 2009).

Os peixes encontram-se nos níveis mais elevados da teia alimentar e podem acumular metais não somente através de sua dieta, mas também pelo contato direto com a água (KARADEDE *et al.*, 2004; MATHEWS & FISHER, 2009). Em relação ao ambiente marinho, as espécies costeiras são mais suscetíveis à contaminação por metais, podendo assim representar problemas de saúde às espécies e também ao ser humano, que as utiliza como recursos pesqueiros (MUIRHEAD & FURNESS, 1988; BARBIERI, 2009). Apesar do problema mencionado acima, a contaminação por metais tem sido amplamente analisada em peixes de água doce, sendo incipientes os estudos realizados com espécies de peixes marinhos, em particular os elasmobrânquios (de BOECK *et al.*, 2010). Assim, pelo fato dos elasmobrânquios terem se tornado um importante recurso pesqueiro nos últimos anos (BARKER & SCHLUESSEL, 2005), o presente estudo analisará o acúmulo de metais em uma espécie de raia da família Rhinobatidae.

A família Rhinobatidae é composta por sete gêneros, dos quais apenas dois são encontrados no litoral brasileiro, *Zapteryx* e *Rhinobatos*. A espécie *Zapteryx brevirostris* (Müller & Henle, 1841) é a única espécie do gênero no oceano Atlântico (BATISTA, 1991; MENNI & STEHMANN, 2000; SANTOS *et al.*, 2006; COUSSEAU *et al.*, 2007; GOMES *et al.*, 2010) e distribui-se desde o estado do Rio de Janeiro (~23° S Brasil) até ao sul da província de Buenos Aires (~41°S, Argentina) (CASTELLO, 1971; FIGUEIREDO, 1977; MENNI & STEHMANN, 2000). A referida espécie é frequentemente encontrada em águas costeiras (FIGUEIREDO, 1977), apesar de apresentar uma capacidade fisiológica que a permite explorar os ambientes estuarinos (WOSNICK & FREIRE, 2013). Alcança um tamanho total de 59 cm para machos e 65 cm para fêmeas (COLONELLO *et al.*, 2011), atingindo a maturidade sexual entre 42–43 cm de

comprimento total (BATISTA, 1991; SANTOS *et al.*, 2006). A espécie é explorada comercialmente pela pescaria artesanal na costa do estado do Paraná, no sul do Brasil (SANTOS *et al.*, 2006; BORNATOWSKI *et al.* 2009), sendo uma das espécies mais abundantes na pescaria com fundeios de malhas 16 a 22 cm (ROBERT, 2012).

O objetivo deste estudo foi realizar análises do conteúdo de metalotioneína em fígado e quantificar os metais alumínio (Al), cádmio (Cd), chumbo (Pb), cobre (Cu), cromo (Cr), manganês (Mn), níquel (Ni) e zinco (Zn) nos tecidos da brânquia, fígado, músculo, rim e também no vitelo e na bile de *Z. brevirostris*, coletados no litoral do Estado do Paraná. A água do local de captura também será analisada quanto a concentração dos mesmos metais.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Amostragem

Os animais foram obtidos junto à banca de pescadores artesanais de Shangri-lá, município de Pontal do Paraná ( $25^{\circ}37'28.43''S$ ;  $48^{\circ}25'03.80''O$ ), durante os meses de novembro de 2011 a setembro de 2013 (Fig. 1). O local é próximo ao complexo estuarino de Paranaguá, onde dois importantes portos estão instalados, Antonina e Paranaguá, sendo este último um dos maiores portos em exportação de grãos da América Latina, alcançando a carga de mais de 25 milhões de toneladas por ano (SANTOS *et al.*, 2009), além do carregamento de produtos fertilizantes, minerais e petróleo (CHOUERI *et al.*, 2009).

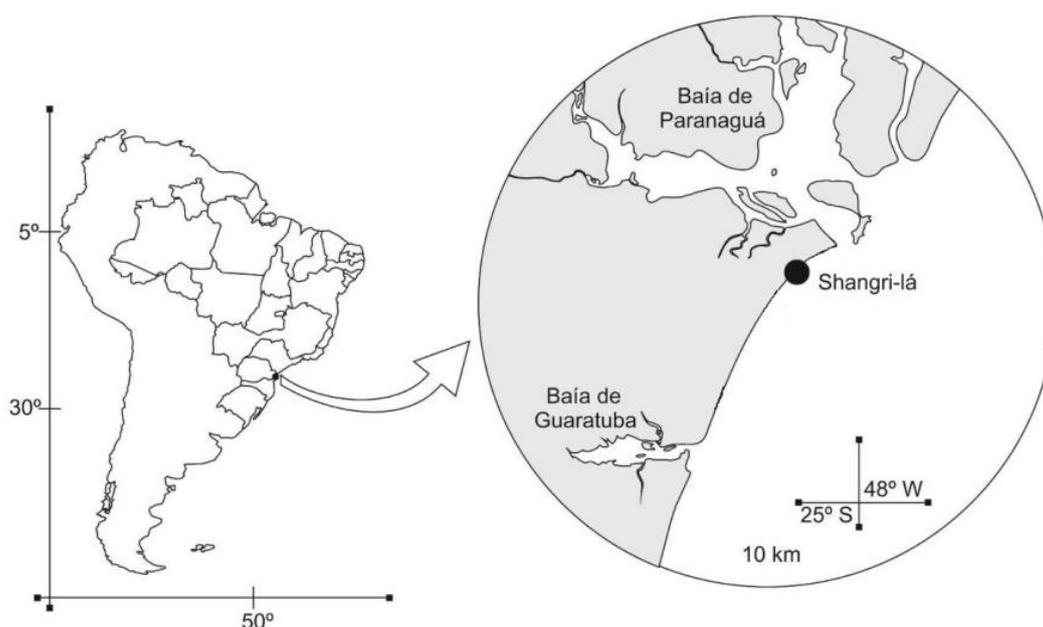


Figura 1 – Localização da banca de pescadores de Shangri-lá, no estado do Paraná, sul do Brasil (modificado de BORNATOWSKI & ABILHOA, 2012), local das coletas dos exemplares de *Z. brevirostris*

Os animais, assim que coletados, tiveram seu comprimento total (CT em centímetros) e peso total (PT em gramas) mensurados, e o sexo determinado através da presença ou ausência de cláspes. Os animais foram sacrificados por secção medular e foram retiradas amostras em duplicata dos seguintes tecidos: brânquia, fígado, músculo, rim, bem como de bile e vitelo. Essas amostras, logo após sua retirada, foram armazenadas em gelo seco durante seu transporte até freezer -80°C. Foram também coletadas amostras de água (30 mL) no local da captura dos animais.

A salinidade no local de coletas variou de 30,1 a 39,0 e pH de 7,6 a 8,7 (MAR & COSTA, 2006). A precipitação acumulada média no período de coletas foi de 196,10 mm (mínima de 40,4 mm e máxima de 428,6 mm), com temperatura média de 21,09 °C (mínima de 14,07 °C e máxima de 31,36 °C) (SIMEPAR).

### **Processamento das amostras**

A Metalotioneína (MT) é uma proteína de baixo peso molecular, rica em cisteínas, caracterizada por sua estabilidade em altas temperaturas e pode ser encontrada em todos os vertebrados (KAGI, 1991; BUSTAMANTE *et al.*, 2008). Seu aumento no organismo está geralmente relacionado ao aumento de metais e, por isso, sua aplicação como biomarcador está vinculada à presença destes. Também fornece proteção para os efeitos de certos metais tóxicos, sequestrando-os e diminuindo a quantidade de íon metálico livre (BUSTAMANTE *et al.*, 2008). Pelo fato dos metais serem acumulados principalmente em órgãos de maior atividade metabólica, como por exemplo, o fígado, que além de armazenar, participa do processo de detoxificação (KARADEDE *et al.*, 2004), optamos por analisar a concentração de metalotioneína em fígado.

Para a análise da metalotioneína em fígado, foi aplicado o método de VIARENGO *et al.* (1997) com modificações, que quantifica proteínas semelhantes à metalotioneínas (MT-like), mas serão tratadas no presente trabalho como metalotioneínas (MT). Para tanto, as amostras de tecido foram homogeneizadas (1:2,14 - m/v) em tampão (Sacarose 0,5 M, Tris 26 mM, fluoreto de fenilmetilsulfonil 0,5 mM,  $\beta$ -mercaptaetanol 1,3 mM), centrifugadas (45 min, 21,300 g; 4 °C) e o sobrenadante foi submetido ao fracionamento etanol/clorofórmio ácido para obtenção de uma fração de metaloproteínas parcialmente purificada. Nesta fração foram quantificados os grupos sulfidril (-SH), utilizando-se o reagente de Ellman (2 M NaCl; 0,43 mM DTNB tamponado com 0,2 M Na-fosfato, pH 8), por espectrofotometria em microplaca a 412 nm. A glutatona reduzida (GSH) foi utilizada como padrão e o conteúdo de metalotioneínas foi

expresso em nmol de GSH mg de proteína<sup>-1</sup>. A quantificação de proteínas foi feita pelo método de BRADFORD (1976), que se baseia na reação de proteínas com o corante Coomassie Brilliant Blue G-250. A curva de calibração foi feita com albumina de soro bovino (BSA) e a absorbância lida em espectrofotômetro a 595 nm.

As concentrações dos metais alumínio (Al), cádmio (Cd), chumbo (Pb), cobre (Cu), cromo (Cr), manganês (Mn), níquel (Ni) e zinco (Zn) foram determinadas nas amostras de bile, brânquia, fígado, músculo, rim e vitelo. Para tanto, as amostras dos tecidos, bile e vitelo foram transferidas para tubos plásticos previamente descontaminados com solução de ácido nítrico 10% por 24 horas. Os tubos foram mantidos em estufa a 60°C para secagem das amostras. O material biológico seco foi submetido à digestão ácida com ácido nítrico 5N (Merck) em estufa, a uma temperatura constante de 60°C por 48h. A determinação de metais foi feita em espectrofotômetro de absorção atômica Perkin Elmer AAS700 utilizando chama para o Zn e ionização eletrotérmica em forno de grafite para Al, Cd, Pb, Cu, Cr, Mn e Ni. Os limites de detecção para cada elemento foram, em  $\mu\text{g L}^{-1}$ : Al = 0,1; Cd = 0,002; Pb = 0,005; Cu = 0,014; Cr = 0,004; Mn = 0,005; Ni = 0,07 e Zn = 1,5.

Além disso, foram coletadas amostras de água para análise dos metais totais citados acima. As amostras foram coletadas em tubos plásticos descontaminados (como descrito anteriormente) de 15 mL, e fixadas em ácido nítrico a 1%. Essas amostras foram mantidas refrigeradas até a realização das análises. Assim como para o material biológico, a determinação dos metais foi feita em espectrofotômetro de absorção atômica utilizando chama para Zn e ionização eletrotérmica em forno de grafite para Al, Cd, Pb, Cu, Cr, Mn e Ni.

### **Análises estatísticas**

As concentrações de um mesmo metal, para cada tecido e para a bile, foram comparadas entre machos e fêmeas utilizando-se o teste t. Já as concentrações de um mesmo metal foram comparadas entre os diferentes tecidos e bile, considerando-se machos e fêmeas separados, e de acordo com a distribuição dos dados (normalidade e homogeneidade de variância) foram utilizadas análise de variância paramétrica (ANOVA) ou não paramétrica (Kruskall-Wallis) seguida por teste de comparações múltiplas (*Student Newman Keuls* ou *Dunn's*), quando indicado. Foram considerados significativos valores de  $p < 0,05$ .

Análises de Variância Permutacionais Uni e Multivariadas (PERMANOVA; ANDERSON, 2001) foram aplicadas para testar se as concentrações de metais em todos os tecidos e na bile diferiu entre machos e fêmeas. Esta é uma análise de variância multifatorial, adequada para

análise de dados multivariados que são baseados em qualquer medida de distância e possui robustez similar ao da ANOVA tradicional, mas, ao contrário desta última, não requer que os pressupostos de normalidade e homocedasticidade sejam atendidos (ANDERSON, 2001). A distância euclidiana foi utilizada em todos os testes PERMANOVA, e um método de Monte Carlo com 999 permutações aleatorizadas foi aplicado para avaliar os níveis de significância ( $p < 0,01$ ).

A Análise de Coordenadas Principais (PCoA) foi aplicada sobre a matriz de dados biológicos (i.e. matriz de dados padronizados da concentração de metais nos diferentes órgãos dos espécimes de peixes) para identificação de quais variáveis foram as mais importantes na separação dos indivíduos entre os dois sexos.

A partir dos dois primeiros eixos da PCoA, foi realizada uma Análise de Cluster, para verificar as relações de dissimilaridade entre as variáveis. Posteriormente foi calculado o coeficiente de correlação cofenético (C.C.C.), que é a correlação de Pearson entre a matriz de parença obtida dos dados originais e a matriz de parença derivada do dendograma, para saber se o dendograma representa adequadamente os dados originais. Todas as análises multivariadas foram realizadas no software R statistical analysis – pacote vegan e labdsv.

Para verificar quais dos tecidos acumularam maior quantidade de metais foi utilizado o índice de poluição por metais (MPI), que analisa cada tecido em relação a todos os metais quantificados de acordo com a seguinte fórmula (USERO *et al.*, 1996 e USERO & GRACIA, 1997):

$$MPI = (Cf_1 \times Cf_2 \times \dots \times Cf_n)^{1/n}$$

Onde  $Cf_n$  é a concentração do metal  $n$  expresso em  $\mu\text{g g}^{-1}$ .

## RESULTADOS

Os resultados da análise de metais totais nas amostras de água mostraram que, dentre os metais analisados, apenas o Cd não foi detectado (Tabela 1). Para os metais Al, Cr, Cu, Mn, Ni e Pb os valores encontrados estão bem abaixo dos estabelecidos pela resolução 357 do CONAMA (CONAMA, 2005) para águas salinas de Classe 1 (destinada à proteção das comunidades aquáticas, aquicultura e atividade de pesca) e Classe 2 (destinada à pesca amadora). Somente o Zn mostrou um valor mais próximo ao limite ao estabelecido pelo CONAMA.

Tabela 1 - Concentrações totais dos metais ( $\text{mg L}^{-1}$ ) nas amostras de água do local de coleta e os respectivos valores-limites da resolução 357 CONAMA para águas salinas (classes 1 e 2). Média  $\pm$  erro padrão (n=6)

Metal	Concentração total ( $\text{mg L}^{-1}$ )	Valores-limites de acordo com a resolução 357 da CONAMA para águas salinas ( $\text{mg L}^{-1}$ )	
		Classe 1	Classe 2
<b>Al</b>	0,637 $\pm$ 0,1266	1,5 *	1,5 *
<b>Cd</b>	ND	0,005	0,04
<b>Cr</b>	0,009 $\pm$ 0,0030	0,05	1,1
<b>Cu</b>	0,0009 $\pm$ 0,0003	0,005 *	0,0078 *
<b>Mn</b>	0,025 $\pm$ 0,0084	0,1	0,1
<b>Ni</b>	0,004 $\pm$ 0,0017	0,025	0,074
<b>Pb</b>	0,002 $\pm$ 0,0011	0,01	0,21
<b>Zn</b>	0,080 $\pm$ 0,0251	0,09	0,12

\* Valores para concentração de metal dissolvido

A análise do conteúdo de metalotioneína no fígado de *Z. brevirostris* utilizou 15 exemplares fêmeas e 13 exemplares machos, e não indicou diferença significativa entre os sexos (Fig. 2).

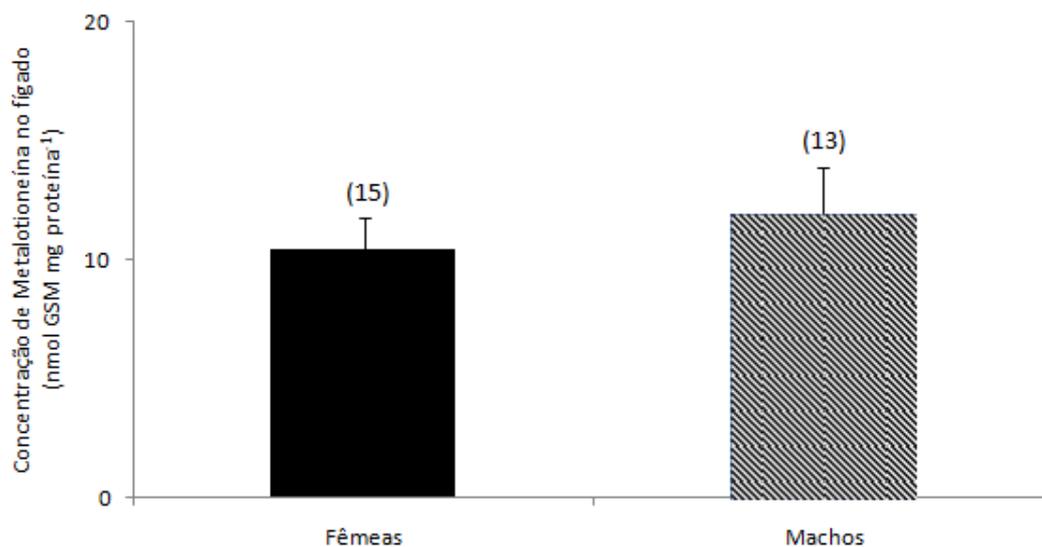


Figura 2 - Concentração de metalotioneína em fígado de *Zapteryx brevirostris* coletadas no litoral do estado do Paraná. Os números entre parênteses sobre as barras indicam a frequência absoluta (n). Linha sobre as barras representam o erro padrão.

Para a análise dos metais nos tecidos, na bile e no vitelo (no caso de algumas fêmeas) foi amostrados um total de 24 exemplares fêmeas e 19 exemplares machos de *Z. brevirostris*. A média de tamanho dos animais analisados foi  $44,78 \pm 0,64$  cm para fêmeas e  $45,34 \pm 0,37$  cm para machos. A massa total variou de  $646,50 \pm 23,01$  g para fêmeas e  $557,84 \pm 16,35$  g para machos.

As concentrações dos metais determinadas nas amostras de bile, brânquia, fígado, rim, músculo e vitelo da espécie *Z. brevirostris* estão apresentadas na Tabela 2, com os respectivos números de amostras analisadas.

A concentração de Al nas fêmeas foi significativamente maior na bile, brânquias e músculo em relação aos demais tecidos, enquanto os menores valores de Al foram detectados no vitelo e no fígado (Fig. 3A). Nos machos, as brânquias apresentaram a maior concentração de Al, que foi significativamente maior do que na bile, músculo, rim e fígado. Ocorreu diferença significativa entre machos e fêmeas apenas em relação à concentração de Al nas brânquias. Cabe destacar ainda que o Al foi o metal que apresentou as maiores concentrações nos diferentes tecidos de *Z. brevirostris*.

A fig. 3 B mostra a concentração de Cd, onde nota-se que este elemento acumulou-se em concentração significativamente maior no rim de fêmeas, com as concentrações em outros órgãos não apresentando diferenças para fêmeas. Em machos, situação semelhante ocorreu, porém o órgão que mais acumulou significativamente foi o fígado. Diferenças significativas ocorreram entre machos e fêmeas somente no rim.

A concentração de Cu (fig. 3 C), para ambos os sexos apresentou acúmulo significativamente maior na bile, não apresentando diferenças significativas na concentração de machos e fêmeas em nenhum tecido.

O Cr (fig. 3 D) apresentou concentração significativamente maior em rim para fêmeas, e no fígado para machos, onde os valores mostraram-se muito superiores aos demais tecidos. Diferenças estatísticas entre machos e fêmeas ocorreram no fígado e rim.

Quanto ao Mn (fig. 3 E), fêmeas e machos tiveram as maiores concentrações em brânquias, contudo machos apresentaram concentrações significativamente maiores na brânquia que em outros tecidos. As menores concentrações estavam na bile. Não houve diferenças estatísticas entre machos e fêmeas.

O Pb, representado na fig. 3 F, apresentou concentrações máximas tanto para machos quanto para fêmeas na brânquia, mas sem diferenças estatísticas quanto as concentrações em outros tecidos. Diferenças estatísticas entre os sexos ocorreram somente no fígado

Para o Ni (fig. 3 G), as fêmeas acumularam uma quantidade significativamente maior no rim, enquanto os machos acumularam mais na brânquia, mas sem diferenças estatísticas quanto aos outros tecidos. A menor concentração, que apresentou diferença estatística, ocorreu no vitelo. A diferença estatística entre machos e fêmeas foi encontrada no rim.

O Zn (fig. 3 H) apresentou a maior concentração no rim para machos e no fígado para fêmeas, mas sem diferenças estatísticas com a acumulação em outros tecidos. A diferença entre machos e fêmeas ocorreu no músculo e rim.

Tabela 2 - Concentrações dos metais em diferentes órgãos de fêmeas e machos de *Zapateryx brevirostris*. Média (em  $\mu\text{g g}^{-1}$ )  $\pm$  erro padrão (n)

		Fígado	Rim	Músculo	Bile	Brânquia	Vitelo
<b>ALUMÍNIO</b>	<i>Fêmeas</i>	9,882 $\pm$ 2,188 (14)	22,752 $\pm$ 1,965 (15)	27,310 $\pm$ 8,449 (11)	49,685 $\pm$ 17,297 (8)	45,614 $\pm$ 3,860 (15)	1,137 $\pm$ 0,109 (9)
	<i>Machos</i>	21,980 $\pm$ 4,226 (12)	22,260 $\pm$ 2,421 (13)	23,258 $\pm$ 2,144 (13)	47,936 $\pm$ 16,061 (9)	73,469 $\pm$ 9,419 (13)	-
<b>CADMIO</b>	<i>Fêmeas</i>	2,246 $\pm$ 0,507 (19)	7,473 $\pm$ 0,750 (18)	0,158 $\pm$ 0,023 (16)	0,164 $\pm$ 0,059 (8)	0,244 $\pm$ 0,017 (13)	0,024 $\pm$ 0,001 (3)
	<i>Machos</i>	6,653 $\pm$ 1,667 (12)	2,627 $\pm$ 1,048 (7)	0,100 $\pm$ 0,015 (15)	0,086 $\pm$ 0,054 (5)	0,345 $\pm$ 0,074 (9)	-
<b>CHUMBO</b>	<i>Fêmeas</i>	0,072 $\pm$ 0,017 (8)	0,088 $\pm$ 0,036 (5)	0,118 $\pm$ 0,031 (4)	0,016 $\pm$ 0,004 (2)	0,130 $\pm$ 0,023 (7)	0,011 (1)
	<i>Machos</i>	0,189 $\pm$ 0,019 (6)	0,053 $\pm$ 0,024 (3)	0,020 $\pm$ 0,015 (2)	0,001 (1)	0,261 $\pm$ 0,048 (10)	-
<b>COBRE</b>	<i>Fêmeas</i>	5,134 $\pm$ 1,025 (16)	14,779 $\pm$ 0,676 (22)	0,673 $\pm$ 0,067 (17)	32,688 $\pm$ 6,049 (11)	4,319 $\pm$ 0,103 (21)	1,908 $\pm$ 0,244 (4)
	<i>Machos</i>	9,029 $\pm$ 2,683 (13)	11,084 $\pm$ 1,985 (10)	0,587 $\pm$ 0,132 (11)	22,841 $\pm$ 9,202 (7)	4,333 $\pm$ 0,226 (18)	-
<b>CROMO</b>	<i>Fêmeas</i>	2,246 $\pm$ 0,507 (19)	6,920 $\pm$ 0,589 (18)	0,161 $\pm$ 0,028 (14)	0,164 $\pm$ 0,059 (8)	0,244 $\pm$ 0,017 (13)	0,024 $\pm$ 0,001 (3)
	<i>Machos</i>	5,539 $\pm$ 1,290 (7)	4,362 $\pm$ 1,035 (7)	0,100 $\pm$ 0,015 (15)	0,086 $\pm$ 0,054 (5)	0,370 $\pm$ 0,057 (10)	-
<b>MANGANÊS</b>	<i>Fêmeas</i>	3,471 $\pm$ 0,281 (14)	5,548 $\pm$ 1,252 (17)	6,965 $\pm$ 1,096 (18)	0,155 $\pm$ 0,052 (10)	7,697 $\pm$ 2,021 (17)	0,695 $\pm$ 0,042 (7)
	<i>Machos</i>	4,590 $\pm$ 0,779 (13)	8,388 $\pm$ 2,214 (8)	7,401 $\pm$ 0,892 (16)	0,137 $\pm$ 0,079 (5)	10,851 $\pm$ 2,525 (14)	-
<b>NÍQUEL</b>	<i>Fêmeas</i>	0,456 $\pm$ 0,023 (18)	1,067 $\pm$ 0,064 (17)	0,282 $\pm$ 0,016 (17)	0,530 $\pm$ 0,042 (5)	0,799 $\pm$ 0,145 (15)	0,020 $\pm$ 0,001 (7)
	<i>Machos</i>	0,681 $\pm$ 0,091 (15)	0,759 $\pm$ 0,054 (10)	0,313 $\pm$ 0,071 (12)	0,365 $\pm$ 0,096 (5)	0,876 $\pm$ 0,154 (12)	-
<b>ZINCO</b>	<i>Fêmeas</i>	0,042 $\pm$ 0,003 (18)	0,038 $\pm$ 0,003 (14)	0,019 $\pm$ 0,002 (18)	0,013 $\pm$ 0,002 (4)	0,041 $\pm$ 0,003 (20)	0,048 $\pm$ 0,002 (10)
	<i>Machos</i>	0,053 $\pm$ 0,006 (13)	0,066 $\pm$ 0,011 (8)	0,032 $\pm$ 0,003 (16)	0,011 $\pm$ 0,008 (2)	0,039 $\pm$ 0,006 (13)	-

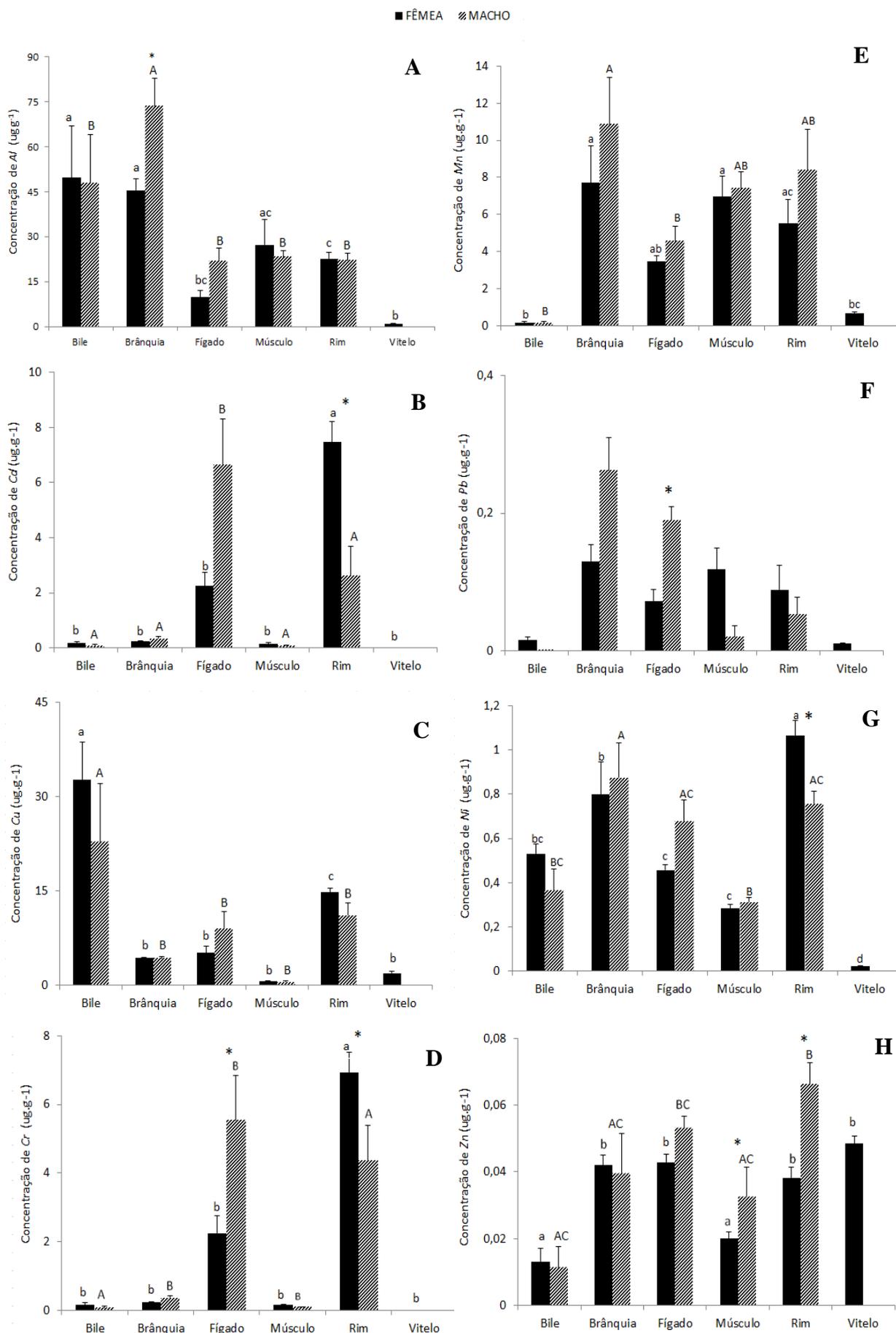


Figura 3 - Concentrações de Alumínio (A), Cádmio (B), Cromo (C), Cobre (D), Manganês (E), Chumbo (F), Níquel (G) e Zinco (H), em bile, brânquia, fígado, músculo, rim e vitelo de machos e fêmeas de *Zapteryx brevirostris*. Dados são apresentados como média  $\pm$  EP (n mínimo = 1 e máximo = 22). Para um mesmo metal, diferentes letras indicam diferenças significativas entre as concentrações nos tecidos de fêmeas (letras minúsculas) e machos (letras maiúsculas); asterisco(\*) indica diferença entre macho e fêmea, para um mesmo tecido ( $p < 0,05$ ).

Através da análise Permanova foi possível agrupar machos e fêmeas de acordo com a composição de metais considerando todos os órgãos ( $F = 0,003$ ). Os dois primeiros eixos da PCoA representaram 27% da variação dos dados. Considerando-se o eixo 1 (17,8%) da PCoA, uma grande quantidade de machos estão mais relacionados com as concentrações de Pb no fígado e Al na bile; já as fêmeas estão tanto relacionadas com Cr e Cd no músculo e Ni e Zn no vitelo, quanto com Pb no fígado e Al na bile, ou seja, não houve uma diferenciação tão clara quanto foi para os machos (Fig. 4). As relações de cada variável com o eixo 1 e eixo 2 são mostradas na Tabela 3.

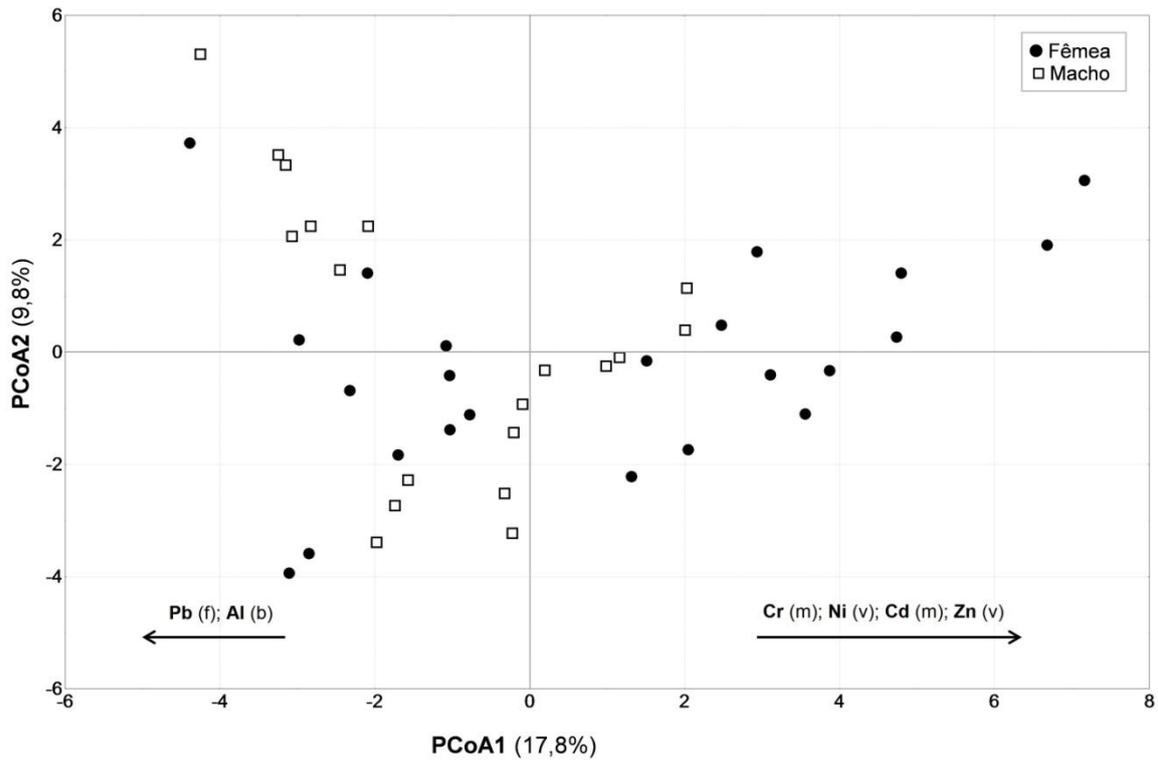


Figura 4 - Diagrama de ordenação construído a partir dos dois primeiros eixos da PCoA aplicada sobre a matriz de dados biológicos e com as amostras codificadas pelos sexos em *Zapteryx brevirostris* coletadas no litoral do estado do Paraná. O sentido das setas indica quais variáveis apresentaram maiores contribuições para a distribuição das amostras ao longo do eixo principal. Elementos estão em negrito e órgãos abreviados significando b = bile, f = fígado, m = músculo, v = vitelo.

Tabela 3 - Relação de cada variável com o eixo (loadings) do diagrama de ordenação construído a partir dos dois primeiros eixos da PCoA para *Zapteryx brevirostris* coletadas no litoral do estado do Paraná. Variáveis mais negativamente (sinal -) e mais positivamente (sinal +) relacionadas com o eixo 1. Negrito representa as variáveis com maiores valores positivos e negativos.

Metal/Tecido	Eixo 1	Eixo 2	Metal/Tecido	Eixo 1	Eixo 2
<b>Alumínio</b>			<b>Manganês</b>		
Bile	<b>-0,51653</b>	0,37872	Bile	-0,31724	0,1065
Brânquia	0,06031	0,54668	Brânquia	-0,24245	-0,36843
Fígado	-0,4724	0,23305	Fígado	0,1404	0,21979
Músculo	-0,29557	-0,37286	Músculo	-0,15827	-0,16427
Rim	-0,06683	-0,3508	Rim	-0,18555	-0,22498
Vitelo	0,41121	0,12242	Vitelo	0,5179	0,06763
<b>Cádmio</b>			<b>Níquel</b>		
Bile	0,58874	0,24522	Bile	-0,48669	0,09051
Brânquia	-0,19148	0,63783	Brânquia	-0,42382	0,34703
Fígado	-0,3836	0,45354	Fígado	-0,38935	0,57294
<b>Músculo</b>	<b>0,7325</b>	0,40036	Músculo	0,34796	0,44634
Rim	0,55801	-0,15548	Rim	-0,09175	-0,10739
Vitelo	0,54782	0,29378	<b>Vitelo</b>	<b>0,70521</b>	0,1081
<b>Cromo</b>			<b>Chumbo</b>		
Bile	0,58874	0,24522	Bile	-0,30115	0,10198
Brânquia	-0,21239	0,67739	Brânquia	-0,48909	0,46119
Fígado	-0,24326	0,18882	<b>Fígado</b>	<b>-0,57086</b>	0,59785
<b>Músculo</b>	<b>0,68058</b>	0,42473	Músculo	-0,27744	-0,39596
Rim	0,54673	-0,24369	Rim	-0,27896	0,26272
Vitelo	0,58434	0,22526	Vitelo	0,07097	-0,1616
<b>Cobre</b>			<b>Zinco</b>		
Bile	0,42548	0,16271	Bile	-0,21122	0,07093
Brânquia	0,30494	-0,10478	Brânquia	0,63766	0,00582
Fígado	0,03991	0,12632	Fígado	-0,32451	0,33013
Músculo	0,26603	0,00903	Músculo	-0,49826	-0,30437
Rim	-0,36757	-0,29755	Rim	-0,23359	0,07037
Vitelo	0,37723	0,00381	<b>Vitelo</b>	<b>0,74896</b>	0,01976

A análise de cluster (Fig. 5), realizada a partir dos “loadings” da PCoA, mostrou que o Cd e o Cr estão associados na maioria dos órgãos em que foram medidos (vitelo, bile, músculo, rim e brânquia), apenas no fígado esta associação não foi verificada. O coeficiente de relação cofenética (CCC), utilizado para validar os agrupamentos da amostra (dendrograma), mostrou que a matriz de dissimilaridade representa 78% da dissimilaridade original, percentual considerado satisfatório.

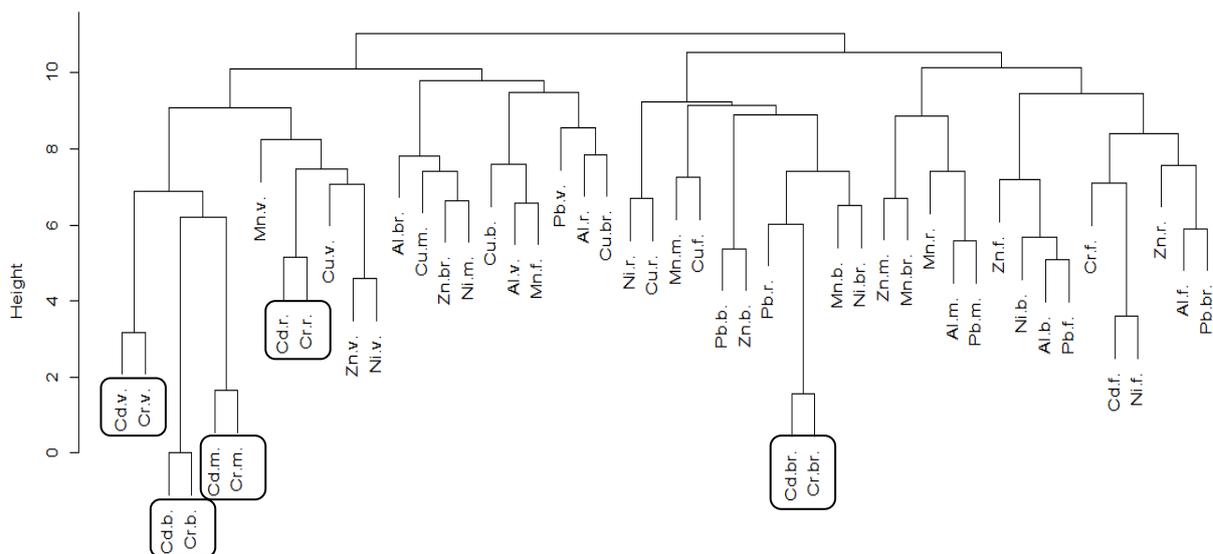


Figura 5 - Dendrograma gerado a partir da análise de cluster em *Zapteryx brevirostris*. v=vitelo, b=bile, m=músculo, r=rim, br=brânquia. Quadrado representa a associação do Cd e Cr. Os valores de height representam a distância de ligação calculada entre dois objetos.

Os valores médios de MPI para cada tecido analisado são apresentados na Tabela 4. O valor máximo de MPI para os machos ocorre no fígado, seguido pelo rim. Para as fêmeas, ocorre uma inversão, onde o valor máximo ocorre no rim, seguido pelo fígado. Brânquias, músculos e bile possuem a mesma importância, tanto para machos quanto para fêmeas no gradiente do MPI, sendo a bile o tecido que menos acumula metal. O vitelo, analisado apenas nas fêmeas, apresentou valor inferior a bile, sendo excluído da comparação uma vez que só ocorre em um sexo.

Tabela 4 - Os Índices de Poluição de Metais (MPI) para machos e fêmeas nos tecidos analisados de *Zapteryx brevirostris*. Negrito representa os maiores valores e qual órgão que mais acumulou.

<b>Fêmeas</b>				
Bile	<	Músculo	<	Brânquia
0,000098007		0,0003		0,0495
			<	Fígado
				0,1572
				<
				<b>Rim</b>
				<b>43,5597</b>
<b>Machos</b>				
Bile	<	Músculo	<	Brânquia
0,000000640		0,00003		0,5030
			<	Rim
				8,0051
				<
				<b>Fígado</b>
				<b>28,9191</b>

## DISCUSSÃO

Os metais mais importantes em relação à poluição aquática são Zinco (Zn), Cobre (Cu), Chumbo (Pb), Cádmio (Cd), Níquel (Ni) e Cromo (Cr) (ANDREANI *et al.*, 2008). Devido a isto, optou-se por analisar estes metais em diferentes órgãos, uma vez que muitos destes metais estão concentrados em diferentes níveis em diferentes órgãos no corpo do peixe (RAO & PADMAJA, 2000). Análises de Alumínio (Al) e Manganês (Mn) também foram inseridas.

Nas amostras de água analisadas as concentrações de metais foram inferiores aos limites máximos estabelecido na resolução 357 do CONAMA para águas salinas, com exceção do Zn. Este metal apresentou valores próximo ao limite estabelecido na legislação brasileira e pode estar relacionado ao fato de que as águas costeiras e sedimentos estão passíveis de contaminação por metais como Cr, Pb e Zn, provenientes do lançamento de efluentes industriais, resíduos agrícolas e esgoto doméstico (DA SILVA *et al.*, 2014). Dados mostram que, no local das coletas, até o ano de 2006, do total da carga urbana poluidora do litoral do Paraná, 0% do esgoto gerado pelo município de Pontal do Paraná era coletado e tratado, e mesmo com a implantação de uma Estação de Tratamento de Esgotos, este percentual passou de 0% para 16% (IAP, 2010). Sugere-se então que os valores obtidos para o Zn devem ser levados em consideração e monitorados.

Para a espécie *Zapteryx brevirostris*, a análise da metalotioneína no fígado, local de detoxificação e mais ocorre o acúmulo de metais devido à sua atividade metabólica (KARADEDE *et al.*, 2004), não apresentou diferenças significativas entre machos e fêmeas (Fig. 1), o que possivelmente representa que estes valores obtidos sejam os valores-padrão de metalotioneína em fígado para a espécie. De acordo com CAPDEVILA & ATRIAN (2011), a homeostase dos metais básicos ocorre também pelo mecanismo da metalotioneína, que faz a manutenção de níveis corretos dos metais fisiológicos, portanto, sua presença não necessariamente indica a ocorrência de metais a nível tóxico.

O Al é o metal mais abundante na terra (SCANCAR *et al.*, 2004), o que justifica seu maior acúmulo em *Z. brevirostris*. Seu acúmulo tem como efeito a redução da atividade de Na<sup>+</sup> / K<sup>+</sup> -ATPase, e na distribuição de células de cloreto nas brânquias, bem como os efeitos associados com a resposta ao estresse causado pela presença do metal (CAMARGO *et al.*, 2009), mas, apesar disso, não existe regulamentação para este metal em relação aos limites máximos em animais para a água salgada. As brânquias foram

relatadas por HANDY & EDDY (1989); DIETRICH & SCHLATTER (1989), PLAYLE & WOOD (1990) e PEURANEN *et al.* (1993) como o órgão de maior absorção no animal, situação semelhante a que ocorreu com os machos analisados neste trabalho, que apresentaram as maiores concentrações de Al nas brânquias. Estas estruturas apresentam-se como órgão-alvo de poluentes devido à sua extensa área de superfície em contato constante com o ambiente externo (DANG *et al.*, 2000; CERQUEIRA & FERNANDES, 2002; SOUZA *et al.*, 2009).

CARVALHO *et al.* (2000), na região portuária de Macaé (RJ), obtiveram para *Z. brevirostris* uma concentração de Al no músculo de 31  $\mu\text{g g}^{-1}$ , valor superior, porém próximo, ao obtido no presente estudo (27,31  $\mu\text{g g}^{-1}$  para fêmeas e 23,258  $\mu\text{g g}^{-1}$  para machos). Estas concentrações próximas que podem ser explicadas pelo fato de a região de Macaé também ser uma região portuária (FERREIRA *et al.* 2013), assim como o presente estudo.

O Cd não têm função biológica conhecida (OMS, 2003), mas é um elemento altamente tóxico (ANDREANI *et al.*, 2008; BARBIERI, 2007; BARBIERI, 2009). Este metal é considerado como sendo um dos mais tóxicos no ambiente, devido principalmente a sua embriotoxicidade e teratogenicidade, além de impactos negativos sobre a reprodução e causar desregulação endócrina (DA SILVA *et al.*, 2014). Sua concentração é tipicamente mais elevada no rim do que no fígado, e mais elevada no fígado do que no músculo (OMS, 2003). Esta afirmativa corrobora o ocorrido no presente estudo, onde as maiores concentrações de Cd ocorreram no fígado de machos e nos rins de fêmeas. FURNESS & MONAGHAN (1987) também encontraram concentração de Cd mais elevada no rim de aves. A alta concentração de Cd nos rins de fêmeas também pode ser justificada porque, durante o estudo, algumas fêmeas coletadas apresentavam embriões, e conforme afirmaram BHATTACHARYYA *et al.* (1988) ao trabalhar com camundongos, durante a gravidez a fêmea aumenta o acúmulo de Cd no rim.

Considerando-se o músculo, parte da espécie *Z. brevirostris* utilizada na alimentação humana, as concentrações de Cd obtidas estão abaixo dos limites máximos estabelecidos pela legislação brasileira no decreto nº 55.871 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 1965) e Portaria nº 685 do Ministério da Saúde (MS, 1998). Porém, o regulamento nº 1881 da União Europeia (EU, 2006), a resolução nº 42 do Mercosul (RDC, 2013) e os limites estabelecidos pelo encontro da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO/WHO, 2003), estabelecem como limite

máximo a concentração de  $0,05 \text{ ug g}^{-1}$ , e nossas análises apresentaram concentrações maiores que  $0,1 \text{ ug g}^{-1}$ , tanto para machos quanto para fêmeas.

Trabalhos anteriores com outros Rhinobatídeos, como *Rhinobatos lentiginosus* (WINDOM *et al.*, 1973) e *Rhinobatos cemiculus* (SIDOUMOU *et al.*, 2005), obtiveram concentrações de Cd no fígado de  $1,4 \text{ ug g}^{-1}$  (*R. lentiginosus*) e  $0,988 \text{ ug g}^{-1}$  (*R. cemiculus*), ambas inferiores aos resultados obtidos com *Z. brevirostris* ( $2,246 \text{ ug g}^{-1}$  para fêmeas e  $6,653 \text{ ug g}^{-1}$  para machos). WINDOM *et al.* (1973) também determinaram a concentração de Cd de  $0,4 \text{ ug g}^{-1}$  em músculo de *R. lentiginosus*, que foi superior ao que obtivemos com *Z. brevirostris* ( $0,158 \text{ ug g}^{-1}$  para fêmeas e  $0,100 \text{ ug g}^{-1}$  para machos), e encontraram  $0,2 \text{ ug Cd g}^{-1}$  no vitelo, também superior ao obtido com *Z. brevirostris* ( $0,024 \text{ ug g}^{-1}$ ). Por outro lado, CARVALHO *et al.* (2000), trabalhando com a mesma espécie do presente estudo, verificaram no músculo uma concentração de Cd inferior a  $0,02 \text{ ug g}^{-1}$ , valor inferior ao obtido em nossas amostragens, o que pode ser explicado pela diferença do esforço amostral entre o presente estudo e o referido trabalho no Rio de Janeiro, onde CARVALHO *et al.* (2000) utilizaram um curto período de coletas e baixo n amostral (n=6). Nos últimos anos, a contaminação do meio ambiente por Cr, especialmente o Cr hexavalente, tornou-se uma grande preocupação, uma vez que o cromo é utilizado em larga escala em muitos processos industriais (ZAYED & TERRY, 2003). Em concentrações elevadas, o Cr hexavalente se comporta como um elemento altamente cancerígeno e tóxico, podendo causar a morte de animais e seres humanos se ingerido em grandes doses (FLAHERTY, 1993; SYRACUSE RESEARCH CORPORATION, 1993; ZAYED & TERRY, 2003). Os valores de Cr obtidos em músculo de *Z. brevirostris* apresentam-se no limite estabelecido pela ANVISA ( $0,1 \text{ ug g}^{-1}$ ) e abaixo do estabelecido pela FAO/WHO ( $50 \text{ ug g}^{-1}$ ). CARVALHO *et al.* (2000), trabalhando com a mesma espécie do presente estudo, verificaram no músculo uma concentração de Cr de  $0,36 \text{ ug g}^{-1}$ , valor superior ao obtido em nossas amostragens ( $0,161 \text{ ug g}^{-1}$  para fêmeas e  $0,100 \text{ ug g}^{-1}$  para machos), que pode se justificar pela região de Macaé já ser conhecida por sua poluição com metais (KEHRIG *et al.*, 2009; FERREIRA *et al.* 2013).

WINDOM *et al.* (1973) encontraram concentrações de Cu superiores a *Z. brevirostris* em músculo ( $2,2 \text{ ug g}^{-1}$ ) e em vitelo ( $2,7 \text{ ug g}^{-1}$ ) ao analisar o rhinobatideo *R. lentiginosus*. SIDOUMOU *et al.* (2005), para *R. cemiculus* encontraram em fígado uma concentração de  $10 \text{ ug g}^{-1}$ , valor superior que o presente estudo. Para *R. lentiginosus* as concentrações de Cu em fígado foram  $6,6 \text{ ug g}^{-1}$ , valor superior a fêmeas de *Z. brevirostris* ( $5,134 \text{ ug g}^{-1}$ ) mas inferior aos machos de *Z. brevirostris* ( $9,029 \text{ ug g}^{-1}$ ). CARVALHO *et*

al. (2000), obtiveram para *Z. brevirostris* uma concentração de Cu no músculo de 0,69 ug g<sup>-1</sup>, valor muito próximo aos obtidos para ambos sexos em nosso estudo (0,673 ug g<sup>-1</sup> para fêmeas e 0,587 ug g<sup>-1</sup> para machos).

O Cu é um metal essencial para o organismo, mas seu excesso o torna tóxico (ANDREANI *et al.*, 2008). É um bom indicador da ocorrência de descarga de efluentes urbanos (NEIRA *et al.*, 1995), uma vez que é produzido para uso em equipamentos eletrônicos, ligas metálicas, catalisadores químicos e tinta anticorrosiva para navios, esta, a maior fonte de Cu encontrado no mar (CLARK, 1997). Os valores de Cu obtidos em músculo de *Z. brevirostris* encontram-se bem abaixo dos valores limite estabelecidos pela ANVISA e pela FAO/WHO (30 µg g<sup>-1</sup> e 10 a 100 µg g<sup>-1</sup> respectivamente), o que mostra que a ingestão da carne de *Z. brevirostris* apresenta níveis seguros de Cu.

O Mn também é um metal essencial para o organismo, e que torna-se tóxico em altas concentrações (ANDREANI *et al.*, 2008). Entretanto, poucos dados sobre este metal estão disponíveis na literatura, não existindo inclusive referência de sua concentração máxima permitida na legislação brasileira e internacional, problema também relatado por PFEIFFER *et al.* (1985). O único registro de análises para Mn com Rhinobatídeos foi por CARVALHO *et al.* (2000), também para *Z. brevirostris*, com uma concentração menor a 0,02 ug g<sup>-1</sup> no músculo, valor muito inferior ao obtido em nossas análises (6,695 ug g<sup>-1</sup> para fêmeas e 7,401 ug g<sup>-1</sup> para machos).

O Pb pode entrar nos ecossistemas aquáticos através da descarga de rejeitos urbanos, agrícolas e industriais (CARVALHO *et al.*, 2000), e não têm função biológica conhecida, sendo um elemento altamente tóxico (ANDREANI *et al.*, 2008). Sua baixa concentração observada nos animais amostrados no presente trabalho pode ser devido à baixa concentração deste elemento na biota marinha (PHILLIPS *et al.*, 1982). Como ocorreu neste trabalho, os peixes acumulam o Pb principalmente nas brânquias, fígado e rins (WHO, 1989; SCHIFER *et al.*, 2005). As concentrações de Pb verificadas na musculatura de *Z. brevirostris* mostram-se abaixo dos limites máximos estabelecidos pela ANVISA, MS, RDC e EU, porém, as fêmeas apresentam valores (média de 0,118 ug g<sup>-1</sup>) acima do limite estabelecido pela FAO/WHO (2003) (0,05 ug g<sup>-1</sup>). CARVALHO *et al.* (2000), verificaram no músculo de *Z. brevirostris* uma concentração de Pb inferior a 0,05 ug g<sup>-1</sup>, valor inferior ao obtido nas fêmeas amostradas no presente estudo (0,118 ug g<sup>-1</sup>) e semelhante ao obtido para os machos (0,020 ug g<sup>-1</sup>). Esses valores inferiores podem ser explicados, como já relatado anteriormente, pelo baixo esforço amostral de CARVALHO *et al.* (2000).

A toxicidade do níquel aumenta na presença de cobre, sinergismo que pode, portanto, ser um fator que modifica a toxicidade da substância (CCREM, 1987). Os valores de Ni obtidos no músculo estão dentro dos valores limite estabelecidos pela ANVISA e FAO/WHO ( $5 \mu\text{g g}^{-1}$  e  $10 \mu\text{g g}^{-1}$  respectivamente). CARVALHO *et al.* (2000), trabalhando com a mesma espécie do presente estudo, determinaram no músculo uma concentração de Ni inferior a  $0,03 \mu\text{g g}^{-1}$ , valor inferior ao obtido em nossas amostragens ( $0,282 \mu\text{g g}^{-1}$  para fêmeas e  $0,313 \mu\text{g g}^{-1}$  para machos), mais uma vez, podendo ser justificado pelo baixo n amostral de CARVALHO *et al.* (2000).

Apesar do Zn ser considerado um elemento essencial para a fisiologia dos organismos, em altas concentrações também se torna tóxico (ANDREANI *et al.*, 2008). Os valores de Zn verificados em músculo de *Z. brevis* foram menores que os limites estabelecidos pela ANVISA ( $50 \mu\text{g g}^{-1}$ ) e pela FAO/WHO (30 a  $100 \mu\text{g g}^{-1}$ ). Por outro lado, concentrações de Zn mais elevadas já foram determinadas em outros Rhinobatídeos como *R. lentiginosus*:  $11 \mu\text{g g}^{-1}$  no músculo,  $29 \mu\text{g g}^{-1}$  no fígado e  $19 \mu\text{g g}^{-1}$  no vitelo (WINDOM *et al.* (1973), e *R. cemiculus*:  $34,41 \mu\text{g g}^{-1}$  em fígado (SIDOUMOU *et al.*, 2005), concentrações essas muito superiores aos maiores resultados encontrados em *Z. brevis* ( $0,048 \mu\text{g g}^{-1}$  no vitelo em fêmeas e  $0,066 \mu\text{g g}^{-1}$  no rim em machos). CARVALHO *et al.* (2000) também determinaram no músculo de *Z. brevis* uma concentração de Zn de  $8,95 \mu\text{g g}^{-1}$ , valor muito superior ao obtido em nossas amostragens ( $0,019 \mu\text{g g}^{-1}$  para fêmeas e  $0,032 \mu\text{g g}^{-1}$  para machos), diferença explicada pelo aporte de efluentes industriais ser maior na região de Macaé, pois, segundo DA SILVA *et al.* (2014), águas costeiras e sedimentos estão passíveis de contaminação por Zn proveniente do lançamento de esgoto doméstico e de resíduos industriais e agrícolas.

Metais são acumulados principalmente em órgãos de maior atividade metabólica, como por exemplo, o fígado, que além de armazenar, participa do processo de detoxificação (KARADEDE *et al.*, 2004). O músculo, por outro lado, apresenta uma tendência a acumular menos metal que outros órgãos (RASHED, 2001; PYLE *et al.*, 2005; DURAL *et al.*, 2006; YILMAZ *et al.*, 2007; VISNJIC-JEFTIC *et al.*, 2010). Esse baixo acúmulo é benéfico, uma vez que a parte do peixe utilizada para o consumo humano, em sua grande maioria, é a musculatura.

A análise Permanova mostrou uma diferenciação entre machos e fêmeas de acordo com a composição dos metais, e a PCoA apresentou quais metais seriam os responsáveis por esta diferenciação. Distinções entre machos e fêmeas na acumulação de metais totais ocorreram, como foi apresentado pelas análises estatísticas, e podem ser

explicadas pelas diferenças metabólicas entre machos e fêmeas, uma vez que o metabolismo é um dos fatores mais importantes na acumulação de metais em animais marinhos (HEATH, 1987; LANGSTON, 1990; ROESIJADI & ROBINSON, 1994). Este diferencial metabólico deve-se principalmente às atividades reprodutivas, pois as fêmeas durante este período apresentam um alto gasto energético (HOENING & GRUBER, 1990 e VOOREN & KLIPPEL, 2005). Possivelmente, devido a este alto metabolismo, as fêmeas detoxifiquem melhor os metais em seus órgãos, e por isso os machos se diferenciam mais por seus acúmulos de Pb no fígado e Al na bile.

Esta relação dos machos com o acúmulo de Pb no fígado é visualizada na figura 2F, onde nota-se a diferença estatística na concentração de Pb no fígado entre machos e fêmeas. Apesar de a concentração ser maior em brânquia do que em fígado, o fígado é o local onde ocorre o acúmulo, como relatado por HEIER *et al.* (2009), com o Pb depositado primeiro no tecido branquial e, ao longo do tempo, acumulou-se mais em fígado. Este acúmulo deve-se ao papel do fígado como um órgão de armazenamento e desintoxicação (NUSSEY *et al.*, 2000; KLAIVINS *et al.*, 2009; PALANIAPPAN *et al.*, 2009).

Já a relação dos machos com o acúmulo de Al na bile é uma incógnita, uma vez que trabalhos a respeito do comportamento dos metais na bile são escassos. Poderia se supor que este acúmulo na bile ocorra devido ao fato que os compostos absorvidos são transferidos para o fígado e encaminhados à secreção biliar, já que a excreção biliar exerce um grande papel na eliminação de alguns metais (HINTON *et al.*, 2008; KLEINOW *et al.*, 2008). O estado alimentar do peixe também é um fator importante a considerar, uma vez que influencia na concentração da bile (COLLIER & VARANASI, 1991).

A alimentação diferenciada entre machos e fêmeas também foi levantada como uma hipótese para explicar essa divergência nas concentrações de metais entre os sexos, uma vez que a composição da dieta de predadores pode ser influenciada por efeitos espaciais e temporais, bem como pelo sexo ou estágio de desenvolvimento (BAX, 1998). Contudo, vários autores compararam a dieta de raias entre os sexos (CAPAPÉ & ZAOUALI, 1979; BRACCINI & PEREZ, 2005; ROBINSON *et al.*, 2007), e na maioria das espécies, os machos e as fêmeas alimentaram-se de presas semelhantes, inclusive na espécie *Z. brevirostris* é observada uma dieta similar entre os sexos (MARION *et al.*, 2011). Para raias, onde as fêmeas e machos ocorrem no mesmo habitat, crescem em tamanhos semelhantes e têm capacidades predatórias similares, espera-se que os machos e as fêmeas tenham dietas e funções ecológicas semelhantes (MARTIN *et al.*, 2007).

A análise dos Índices de Poluição de Metais (MPI) para machos e fêmeas nos tecidos analisados de *Z. brevirostris* mostrou que o padrão de acumulação dos metais difere entre os sexos. Estes órgãos atuam na desintoxicação e purificação, geralmente apresentando as mais elevadas concentrações de metais (BELLAMY & HUNTER, 1997; WOOD, 2011), fato também relatado por BARBIERI *et al.* (2010), que encontraram as maiores concentrações de metais em fígado e rim. Como citado por AL-YOUSUF *et al.* (2000), CANLI & ATLI (2003) e BARRERA-GARCIA *et al.* (2012), o sexo é um fator que pode influenciar a bioacumulação de metais. Pode-se observar que, quando ocorreram, as diferenças intersexuais em sua maioria eram entre as concentrações de metais em fígado e rim, o que nos leva a supor que seja esta uma justificativa do por que machos acumularem mais em fígado e fêmeas acumularem mais metais em rim, de acordo com o MPI. Em peixes, o fígado também atua na produção de vitelo a partir da vitelogenina, e devido a isto, diferenças entre o fígado de machos e fêmeas podem ocorrer (BRUSLÉ & ANADON, 1996), o que nos leva a inferir que o fígado de fêmeas atue mais na função de produzir vitelogenina, deixando para o rim a desintoxicação, função que, de acordo com WILLMER *et al.*, (2004) e DE BOECK *et al.* (2010), é possível que ocorra nos rins, pois através da excreção eles são importantes e suficientes para impedir a acumulação de metal em qualquer outro órgão, com uma capacidade surpreendente de secretar moléculas estranhas ao corpo, protegendo-o de toxinas e drogas.

Tendo em vista os valores obtidos neste trabalho, nota-se uma grande discrepância entre os valores obtidos nas concentrações dos diferentes metais nos tecidos e na água, sendo os valores encontrados nos espécimes bem superiores aos obtidos nas amostras de água. A rota mais importante de contaminação por metais na biota marinha é através da água (MADDOCK & TAYLOR, 1977), contudo, alguns organismos marinhos têm capacidade de concentrar os metais em seus tecidos em uma magnitude maior que a concentração em água ou no sedimento (LAW & SINGH, 1991), situação que explica esta discrepância nos valores.

Estes valores maiores de metais encontrados nos tecidos de *Z. brevirostris* possivelmente provém de sua alimentação especialista, composta primariamente de poliquetas (65%) (BORNATOWSKI *et al.*, 2014). Poliquetas, por serem de níveis mais elevados da cadeia alimentar, incorporam quantidades maiores de metais tóxicos (ERIKSEN *et al.*, 1988), tanto que são considerados bons indicadores para biomonitoramento da biodisponibilidade de metais (ERIKSEN *et al.*, 1988; BRYAN & LANGSTON, 1992; DIEZ *et al.*, 2000; GALLOWAY *et al.*, 2004; POIRIER *et al.*, 2006).

Apesar da maioria dos valores de concentração de metais, encontrados nas amostras, serem considerados seguros pela legislação, as concentrações de Cd no músculo de machos e Pb no músculo de fêmeas merecem uma especial atenção, uma vez que os valores encontrado estão acima do estabelecido pela FAO/WHO. Assim, é recomendado o monitoramento dos metais em pescado de elasmobrânquios, já que estes consistem em importantes recursos pesqueiros, principalmente de comunidades ribeirinhas e de baixo poder econômico, a fim de se evitar impactos sobre a saúde humana por meio de contaminação destes elementos metálicos. Os resultados apresentados neste estudo podem ser futuramente utilizados para testar a qualidade química da cadeia alimentar marinha e verificar se houve mudanças no decorrer do tempo.

Neste trabalho, pelo fato de a estimativa da biodisponibilidade de metais ter apresentado valores consideráveis, aliado a fatores como facilidade de coleta, tamanho, sobrevivência longa em rede e abundância, sugere-se que *Z. brevirostris* seja utilizada como um bioindicador da contaminação ambiental marinha.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-YOUSUF, M. H.; EL-SHAHAWI, M. S. & AL-GHAIS, D S. M. (2000). Trace metals in liver, skin and muscle of *Lethrinus lentjan* fish species in relation to body length and sex. *Science of the Total Environment*. 256:87–94.
- ANDERSON, M. (2001). A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology*, 26, 32–46.
- ANDREANI, G.; SANTORO, M.; COTTIGNOLI, S.; FABBRI, M.; CARPENÉ, E. & ISANI, G. (2008). Metal distribution and metallothionein in loggerhead (*Caretta caretta*) and green (*Chelonia mydas*) sea turtles. *Science of the Total Environment*, 1, 287–294.
- ANVISA. 1965. Decreto Lei nº 55.871, de 26 de março de 1965: “Princípios Gerais para o Estabelecimento de Níveis Máximos de Contaminantes Químicos em Alimentos” e seu anexo “Limites máximos de tolerância para contaminantes inorgânicos”.
- BARBIERI, E. (2007). Use of oxygen consumption and ammonium excretion to evaluate the sublethal toxicity of cadmium and zinc on *Litopenaeus schmitti* (Burkenroad, 1936, Crustacea). *Water Environmental Research*, 79(5), 123–129.
- BARBIERI, E. (2009). Effects of zinc and cadmium on oxygen consumption and ammonium excretion in pink shrimp (*Farfantepenaeus paulensis*, Pérez-Farfante, 1967, Crustacea). *Ecotoxicology*, 18(3), 312–318.
- BARBIERI, E.; PASSOS, E. D. A.; ARAGÃO, K. A. S.; SANTOS, D. B. & GARCIA, C. A. B. (2010). Assessment of Trace Metal Levels in Catfish (*Cathorops spixii*) from Sal River Estuary, Aracaju, State of Sergipe, Northeastern Brazil. *Water Environment Research*, 82(12), 2301–2305.
- BARKER, M.J. & SCHLUESSEL, V. (2005) Managing global shark fisheries: suggestions for prioritizing management strategies. *Aquatic Conservation* 15:325–347.
- BARRERA-GARCIA, A.; O’HARA, T.; GALVAN-MAGANA, F; MENDEZ-RODRIGUEZ, L. C.;

- CASTELLINI, J. M. & ZENTENO-SAVIN, T. (2012). Oxidative stress indicators and trace elements in the blue shark (*Prionace glauca*) off the east coast of the Mexican Pacific Ocean. *Comparative Biochemistry and Physiology. C: Comparative Pharmacology and Toxicology*, 156(2), 59–66.
- BATISTA, V. da S. (1991) Aspectos quantitativos da fecundidade e do desenvolvimento embrionário da raia *Zapteryx brevirostris* Müller & Hendle 1841 (Pisces, Rhinobatidae) da enseada de Itaipu, Niterói, Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Biologia* 51:495–501.
- BAX, N. J. (1998). The significance and prediction of predation in marine fisheries. *ICES Journal of Marine Science*, 55, 997–1030.
- BELLAMY, P. & HUNTER, K. A. (1997). Accumulation of <sup>210</sup>Po by spiny dogfish (*Squalus acanthias*), elephant fish (*Callorhinchus milii*) and red gurnard (*Chelodanichthys kumu*) in New Zealand shelf waters. *Marine Freshwater Research*, 48, 229–34.
- BHATTACHARYYA, M. H.; WHELTON, B. D.; PETERSON, D. P.; CARNES, B. A.; MORETTI, E. S.; TOOMEY, J. M. & WILLIAMS, L. L. (1988). Skeletal changes in multiparous mice fed a nutrient-sufficient diet containing cadmium. *Toxicology*, 50, 193–204.
- BORNATOWSKI, H; ABILHOA, V.; CHARVET-ALMEIDA, P. (2009) Elasmobranchs Of The Paraná Coast, Southern Brazil, South-Western Atlantic. *Marine Biodiversity Records* 2:1–6.
- BORNATOWSKI, H.; WOSNICK, N.; CARMO, W. P. D.; CORRÊA, M. F. M. & ABILHOA, V. (2014). Feeding comparisons of four batoids (Elasmobranchii) in coastal waters of southern Brazil. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 1–9.
- BRACCINI, J. M. & PEREZ, J. E. (2005). Feeding habits of sand skate *Psammobatis extenta* (Garman, 1913): sources of variation in dietary composition. *Marine Freshwater Research*, 56, 395–403.

- BRADFORD, M. M. (1976). A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248–254.
- BRUSLE, J. & ANADON, G. G. (1996). The Structure and Function of Fish Liver. In DATTA-MUNSHI, J.S. & DUTTA, H. M. (Eds.), *Fish Morphology*. Science Publishers.
- BRYAN, G. W. & LANGSTON, W. J. (1992). Bioavailability, accumulation and effects of heavy metals in sediments with special reference to the United Kingdom estuaries: a review. *Environmental Pollution*, 76, 89–131.
- BUSTAMANTE, P.; GONZÁLEZ, AF.; ROCHA, F.; MIRAMAND, P. & GUERRA, A. (2008). Metal and metalloid concentrations in the giant squid *Architeuthis dux* from Iberian waters. *Marine Environmental Research*, 66, no. 2, p. 278-287.
- CAMARGO, M. M. P.; FERNANDES, M. N. & MARTINEZ, C. B. R. (2009). How aluminium exposure promotes osmoregulatory disturbances in the neotropical freshwater fish *Prochilus lineatus*. *Aquatic Toxicology (Amsterdam, Netherlands)*, 94(1), 40–6.
- CANLI, M. & ATLI, G. (2003). The relationships between heavy metal (Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species. *Environmental Pollution*, 121, 129–136.
- CAPAPÉ, C. & ZAOUALI, J. (1979). Etude du regime alimentaire de deux Sélaciens communs dans le golfe de Gabes (Tunisie): *Rhinobatos rhinobatos* ( Linné, 1753) et *Rhinobatos cemiculus* (Geoffroy Saint – Hilaire, 1817). *Archives Institute Pasteur Tunis*, 56(3), 285–306.
- CAPDEVILA, M. & ATRIAN, S. (2011). Metallothionein protein evolution: a miniassay. *Journal Biology Inorganic Chemistry*, 16(7), 977–89.
- CARVALHO, C. E. V.; FARIA, V. V.; CAVALCANTE, M. P. O.; GOMES, M. P. & REZENDE, C. E. (2000). Distribuição de Metais Pesados em Peixes Costeiros Bentônicos da Região de Macaé, RJ, Brasil. *Ecotoxicology and Environmental Restoration*, 3(2), 64 – 68.

- CASTELLO, H.P. (1971) Contribución al conocimiento sistemático y biológico de *Zapteryx brevirostris* (Müller & Henle, 1841) de la costa atlántica marplatense (Chondrichthyes, Rhinobatidae). *Physis* 30:619–629.
- CCREM, Canadian Council of Resource and Environment Ministers. (1987). “Canadian water quality guidelines. Prepared by the Task Force on Water Quality Guidelines.”
- CERQUEIRA, C.C.C. & FERNANDES, M.N. (2002). Gill tissue recovery after copper exposure and blood parameter responses in the tropical fish *Prochilodus scrofa*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 52, 83-91
- CHOUERI, R. B.; CESAR, A.; TORRES, R. J.; ABESSA, D. M. S.; MORAIS, R. D.; PEREIRA, C. D. S. & DELVALLS, T. A. (2009). Integrated sediment quality assessment in Paranaguá Estuarine System, Southern Brazil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(7), 1824–31.
- CLARK, R. B.; FRID, C. & ATTRILL, M. (1997). *Marine pollution* (4th ed.). Clarendon Press.
- COLLIER, T. K. & VARANASI, U. (1991). Hepatic activities of xenobiotic metabolising enzymes and biliary levels of xenobiotics in English sole (*Parophrys vetulus*) exposed to environmental contaminants. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 20, 462–473.
- COLONELLO, J.C.; GARCÍA, M.L. & MENNI, R.C; (2011) Reproductive biology of the lesser guitarfish *Zapteryx brevirostris* from the south-western Atlantic Ocean. *Journal of Fish Biology* 78:287–302.
- CONAMA. 2005. *Resolução CONAMA nº357*.
- COUSSEAU, M.B.; FIGUEROA, D.E.; DÍAZ, D.E; ASTARLOA, J.M.; MABRAGANA, E. & LUCIFORA, L.O. (2007) Rayas, chuchos y otros batoideos del Atlántico Sudoccidental (34° S–55° S). Mar del Plata: *INIDEP*, Mar del Plata

- DANG, Z.; LOCK, R. A. C.; FLICK, G. & WENDELAARBONGA, S. E. (2000). Na/K-ATPase immunoreactivity in branchial chloride cells of *Oreochromis mossambicus* exposed to copper. *Journal of Experimental Biology*, 151, 517–428.
- DA SILVA, C. C.; VARELA, A. S.; BARCAROLLI, I. F. & BIANCHINI, A. (2014). Concentrations and distributions of metals in tissues of stranded green sea turtles (*Chelonia mydas*) from the southern Atlantic coast of Brazil. *The Science of the Total Environment*, 466-467, 109–18.
- DE BOECK, G.; EYCKMANS, M.; LARDON, I.; BOBBAERS, R.; SINHA, A. K. & BLUST, R. (2010). Metal accumulation and metallothionein induction in the spotted dogfish *Scyliorhinus canicula*. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A, Molecular & Integrative Physiology*, 155(4), 503–8.
- DIETRICH, D. & SCHLATTER, C. (1989). Aluminium toxicity to rainbow trout at low pH. *Aquatic Toxicology*, 15, 197–212.
- DIEZ, G.; SOTO, M.; CANTON, L.; VAQUERO, C. & MARIGOMEZ, I. (2000). *Hediste (Nereis) diversicolor* as bioindicator of metal and organic chemical bioavailability: a field study. *Ecotoxicology and Environmental Restoration*, 3, 7–15.
- DURAL, M.; GOKSU, M. Z.L.; OZAK, A. A.; DERICI, B. (2006) Bioaccumulation of some heavy metals in different tissues of *Dicentrarchus labrax* L, 1758, *Sparus aurata* L, 1758, and *Mugil cephalus* L, 1758 from the Camlik Lagoon of the eastern coast of Mediterranean (Turkey), *Environmental Monitoring Assessment* 118:65-74
- ERIKSEN, K. D. H.; DAAE, H. L. & ANDERSEN, R. A. (1988). Evidence of presence of heavy metal-binding proteins in polychaeta species. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 9(2), 377–384.
- ESTEBAN, M. & CASTAÑO, A. (2009). Non-invasive matrices in human biomonitoring: a review. *Environment International*, 35(2), 438–449.

- EUROPÉIA, COMUNIDADE (EU). 2006. *Regulamento nº 1881/2006 da União Européia - que fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos gêneros alimentícios.*
- FARIA, M. A. M. (2003). Mercuralismo metálico crônico ocupacional. *Revista Saúde Pública*, 37, 116–127.
- FERREIRA, M. S.; MÁRSICO, E. T.; CONTE JUNIOR, C. A.; MARQUES JÚNIOR, A. N.; MANO, S. B. & SÃO CLEMENTE, S. C. (2013). Contaminação por metais traço em mexilhões Perna perna da costa brasileira. *Ciência Rural, Santa Maria*, 43(6), 1012–1020.
- FIGUEIREDO, J.L. (1977) Manual de Peixes Marinhos do Sudeste do Brasil: I: Introdução - Cações, Raias e Quimeras. Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo., São Paulo
- FLAHERTY, E. (1993). Chromium as an essential and toxic metals. *Scandinavian Journal Working Environmental Health*, 19(1), 124–125.
- FURNESS, R. W. & MONAGHAN, P. (1987). Seabird ecology. Chapman & Hall: New York. 164p.
- GALLOWAY, T. S.; BROWN, R. J.; BROWNE, M. A.; DISSANAYAKE, A.; LOWE, D.; JONES, M. B. & DEPLEDGE, M. H. (2004). Ecosystem management bioindicators: the ECOMAN project -a multibiomarker approach to ecosystem management. *Marine Environmental Research*, 58, 233–237.
- GOMES, U.L.; SIGNORI, C.N.; GADIG, O.B.F & SANTOS, H.R.S. (2010) Guia para identificação de tubarões e raias do Rio de Janeiro, 1st edn. 234.
- HANDY, R. D. & EDDY, F. B. (1989). Surface absorption of aluminium by gill tissue and body mucus of rainbow trout, *Salmo gairdnerii*, at the onset of episodic exposure. *J. Fish Biology*, 34, 865–874.
- HEATH, A. G. (1987). *Water Pollution and Fish Physiology*. Florida, USA: CRC press.

- HEIER, L.S.; LIEN, I.B.; STRØMSENG, A.E.; LJØNES, M.; ROSSELAND, B.O.; TOLLEFSEN, K. E. & SALBU, B. (2009). Speciation of lead, copper, zinc and antimony in water draining a shooting range-Time dependant metal accumulation and biomarker responses in brown trout (*Salmo trutta* L.) *Science of the Total Environment*. 407: 4047–4055
- HINTON, D. E.; SEGNER, H.; AU, D. W. T.; KULLMAN, S. W. & HARDMAN, R. C. (2008). Liver Toxicity. In DI GIULIO, D. E.; RICHARD T. & HINTON (Ed.), *The Toxicology of Fishes* (pp. 327–400). CRC Press 2008.
- HOENIG, J. & GRUBER, S. (1990). Life-story patterns in the elasmobranchs: implications for fisheries management. In PRATT, H.; GRUBER, S. & TANIUCHI, T. (Eds.). *Elasmobranchs as living resources: advances in the biology, ecology, systematic, and the status of the fisheries.*(pp. 1–16). NOAA Tech. Rep. NMFS, vol. 90.
- IAP - Instituto Ambiental do Paraná. (2010). “Bacia litorânea.” P. 138 In: PEREIRA, M. C. B. & SCROCCARO, J. L. (eds) *Bacias hidrográficas do Paraná - Série histórica*. Curitiba/PR: Secretaria de Estado do Meio Ambiente e Recursos Hídricos - SEMA - Paraná.
- KAGI, J. H. R. (1991). Metallobiochemistry, Part B: Metallothionein and related molecules. *Meth. Enzymology*, 205, 613-26.
- KARADEDE, H.; OYMAK, S. A. & UNLÜ, E. (2004). Heavy metals in mullet, *Liza abu*, and catfish, *Silurus triostegus*, from the Atatürk Dam Lake (Euphrates), Turkey. *Environment International*, 30(2), 183–8.
- KEHRIG, H. A.; FERNANDES, K. W. G.; MALM, O.; SEIXAS, T. G.; DI BENEDITTO, A. P. M. & SOUZA, C. M. M. (2009). Transferência trófica de mercúrio e selênio na costa norte do Rio de Janeiro. *Quimica nova*, 32(7), 1822–1828.
- KLAVINS, M.; POTAPOVICS, O. & RODINOV, V. (2009). Heavy metals in fish from lakes in Latvia: concentrations and trends of changes. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 82, 96–100.

- KLEINOW, K. M.; NICHOLS, J. W.; HAYTON, W. L. MCKIM, J. M. & BARRON, M. G. (2008). Toxicokinetics in Fishes The Toxicology of Fishes. In DI GIULIO R. T. & HINTON, D. E. (Eds.), *The Toxicology of Fishes* (pp. 55–152). CRC Press 2008.
- LANGSTON, W. J. (1990). Toxic effects of metals and the incidence of marine ecosystems. In FURNESS, P. S.; RAINBOW, R.W.; (Ed.), *Heavy Metals in the Marine Environment*. CRC Press, New York.
- LAW, A. T. & SINGH, A. (1991). Relationship Between Heavy Metal Contents and Body Weight Fish from the Kelar Estuary Malaysia. *Marine Pollution Bulletin*, 22, 86–89.
- MADDOCK, B. G. & TAYLOR, D. (1977). The acute toxicity and bioaccumulation of some lead alkyl compounds in marine animals. *Presented at the Internat. Experts Discussion Meeting on: Lead-Pollution in the Marine Environment, Rovinz, Yugoslavia, 18-22, 18–22*.
- MANSOUR, S. & SIDKY, M. M. (2002). Ecotoxicological studies. 3: Heavy metals contaminating water and fish from Fayoum Governorate, Egypt. *Food Chemistry*, 78, 15–22.
- MARION, C.; VASKE-JUNIOR, T.; GADIG, O. B. F. & MARTINS, I. A. (2011). Feeding habits of the shortnose guitarfish, *Zapteryx brevirostris* (Müller and Henle, 1841) (Elasmobranchii, Rhinobatidae) in southeastern Brazil. *Brazilian Journal of Biology = Revista Brasileira de Biologia*, 71(1), 83–9. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21437403>
- MARTIN, M.; BRACCINI, J.; TAMINI, L.; CHIARAMONTE, G. & PEREZ, J. (2007). Temporal and sexual effects in the feeding ecology of the marbled sand skate *Psammobatis bergi* Marini, 1932. *Marine Biology*, 151, 505–513.
- MATHEWS, T. & FISHER, N. S. (2009). Dominance of dietary intake of metals in marine elasmobranch and teleost fish. *The Science of the Total Environment*, 407(18), 5156–61.

- MENNI, R. & STEHMANN, M. (2000) Distribution, environment and biology of batoid fishes off Argentina, Uruguay and Brazil. A review. *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales* 2:69–109.
- MERCOSUL. 2013. *Resolução RDC nº42/2013, Regulamento técnico MERCOSUL sobre limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos.*
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. 1998. *Portaria nº 685 - 1998: Regulamento Técnico: "Princípios Gerais para o Estabelecimento de Níveis Máximos de Contaminantes Químicos em Alimentos."*
- MUIRHEAD, S. J. & FURNESS, R. W. (1988). Heavy metals concentration in the tissues of seabirds from Gough Island, South Atlantic Ocean. *Marine Pollution Bulletin*, 19, 278–283.
- NEIRA, U. M.; WASSERMAN, J. C. & YONESHIGUE-VALENTIN, Y. (1995). Gradient of heavy metal pollution in the guanabara bay using algae and molluscs as indicators. *V Brazilian Congress of Geochemistry and Congress of Geochemistry to Portuguese Language Countries*, 56–64.
- NUSSEY, G.; VAN VUREN, J. H. J. & DU PREEZ, H. H. (2000). Bioaccumulation of chromium, manganese, nickel and lead in the tissues of the moggel, *Labeo umbratus* (Cyprinidae), from Witbank dam, Mpu- malanga. *Water SA.*, 26, 269–284.
- OMS (2003) Nordic Council of Ministers - Cadmium Review. World Health Organization. Report no. 1. Issue no. 04. 24.
- PALANIAPPAN, P.; KRISHNAKUMAR, N. & M, V. (2009). Bioaccumulation of lead and the influence of chelating agents in *Catla catla* fingerlings. *Environmental Chemistry Letters*, 7, 51–54.

- PARANÁ, GOVERNO DO ESTADO DO. (2006). *Paraná Mar e Costa - Subsídios ao ordenamento das áreas estuarina e costeira do Paraná: projeto gestão integrada Projeto Gestão Integrada da Zona Costeira do Paraná com ênfase na Área Marinha, Programa Nacional de Meio Ambiente - PNMA II*. edited by Rosana Maria Bara Castella, Paulo Roberto Castella, Débora Cristina dos Santos Figueiredo, and Sandra Mara Pereira de Queiroz. Curitiba: Secretaria de Estado do Meio Ambiente e Recursos Hídricos - SEMA.
- PEREIRA, M. & KUCH, B. (2005). Heavy metals, PCDD/F and PCB in sewage sludge samples from two wastewater treatment facilities in Rio de Janeiro State, Brazil. *Chemosphere*, 60(7), 844–853.
- PEURANEN, S.; VUORINEN, P. J.; VUORINEN, M. & TUURALA, H. (1993). Effects of acidity and aluminium on fish gills in laboratory experiments and in the field. *Sci. Total Environ Supplements.*, 979–988.
- PFEIFFER, W. C.; LACERDA, C. D.; FISZMAN, M. & LIMA, N. R. W. (1985). Metais pesados no pescado da Baía de Sepetiba, Rio de Janeiro, RJ. *Ciência E Cultura*, 37, 297–302.
- PHILLIPS, D. H.; THOMPSON, G. B.; GABUJI, K. M. & HO, C. T.(1982). Trace metals of toxicological significance to man in Hong-Kong seafood. *Environmental Pollution*. B. 3: 28-45
- PLAYLE, R. C. & WOOD, C. M. (1990). Is precipitation of aluminum fast enough to explain aluminum deposition on fish gills? *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 47, 1558–1561.
- POIRIER, L.; BERTHET, B.; AMIARD, J. C.; JEANTET, A.Y. & AMIARD-TRIQUET, C. (2006). A suitable model for the biomonitoring of trace metal bioavailabilities in estuarine sediments: the annelid polychaete *Nereis diversicolor*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 86(01), 71.

- PYLE, G. G.; RAJOTTE, J. W. & COUTURE, P. (2005). Effects of industrial metals on wild fish populations along a metal contamination gradient. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 61, 287–312.
- RAO, L. & PADMAJA, G. (2000). Bioaccumulation of heavy metals in *M. cyprinoids* from the harbor waters of Visakhapatnam. *Bulletin of Pure and Applied Sciences*, 19A(2), 77–85.
- RASHED, M. N. (2001). Monitoring of environmental heavy metals in fish from Nasser Lake. *Environmental International*, 27(1), 27–33.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. 2013. "R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria." Retrieved (<http://www.r-project.org>).
- ROBERT, M. C. (2012). A captura de elasmobrânquios na costa paranaense. In BORNATOWSKI, H.& ABILHOA, V. (Eds.), *Tubarões e raias capturados pela pesca artesanal no Paraná - guia de identificação*. (pp. 27–34). Curitiba, PR: Hori cadernos tecnicos n.4.
- ROBINSON, H.J.; CAILLIET, G.M. & EBERT, D.A. (2007). Food habits of the longnose skate, *Raja rhina* (Jordan and Gilbert, 1880), in central California waters. *Environmental Biology of Fishes*. 80, 165-179
- ROESIJADI, G. & ROBINSON, W. (1994). Metal regulation in aquatic animals: mechanism of uptake, accumulation and release. In MALINS, D. C. & OSTRANDER, G. K. (Eds.), *Aquatic Toxicology (Molecular, Biochemical and Cellular Perspectives)* (pp. 387–420). Lewis Publishers, London: Lewis Publishers, London.
- SANTOS, C.; CORTELLETE, G. M.; ARAUJO, K. C. B. & SPACH, H. L. (2006). Estrutura populacional da raia-viola *Zapteryx brevirostris* (chondrichthyes, rhinobatidae), na plataforma adjacente à baía de Paranaguá, PR, *Acta Biologica Leopoldensia*, São Leopoldo, RS :28(1), 32–37.

- SANTOS, D. M.; ARAÚJO, I. P.; MACHADO, E. C.; CARVALHO-FILHO, M. A S.; FERNANDEZ, M. A; MARCHI, M. R. R. & GODOI, A. F. L. (2009). Organotin compounds in the Paranaguá Estuarine Complex, Paraná, Brazil: evaluation of biological effects, surface sediment, and suspended particulate matter. *Marine Pollution Bulletin*, 58(12), 1926–31.
- SAVINOV, V.; GABRIELENB, G.; TATIANA, N. & SAVINOVA, T. (2003). Persistent organic pollutants and heavy metal contamination in the Russian arctic marine and freshwater environment. *The Science of the Total Environment*, 306(1-3), 133–158.
- ŠČANČAR, J.; STIBILJ, V. & MILAČIČ, R. (2004). Determination of aluminium in Slovenian foodstuffs and its leachability from aluminium-cookware. *Food Chemistry*. 85 (1) 151-157
- SCHIFER, T.; JUNIOR, S. & MONTANO, M. (2005). Aspectos Toxicológicos do Chumbo. *Infarma*, 17, 67–72.
- SIDOU MOU, Z.; GNASSIA-BARELLI, M.; SIAU, Y.; MORTON, V. & ROMÉO, M. (2005). Distribution and Concentration of Trace Metals in Tissues of Different Fish Species from the Atlantic Coast of Western Africa. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 74(5), 988–995.
- SYRACUSE RESEARCH CORPORATION (1993) Toxicological profile for chromium. Prepared for U.S. Dept. Health and Human Services, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, under Contract No. 205-88-0608
- SOFTWARE, SYSTAT Inc. n.d. "SigmaPlot 11.0 program."
- SOUZA, G. R. de; GARCEZ, M. A. P.; SANTOS, V. C. G.; SILVA, D. B.; CAETANO, J. & DRAGUNSKI, D. C. (2009). Quantificação de metais pesados em peixes de um pesqueiro localizado na cidade de Umuarama - PR. *Arquivo de Ciências Veterinárias E Zootecia da Unipar*, 12(1), 61–66.

- USERO, J.; GONZALEZ-REGALADO, E. & GRACIA, I. (1996). Trace metals in the bivalve mollusc *Chamefea gallina* from the Atlantic coast of southern Spain. *Marine Pollution Bulletin*, 32, 305–310.
- USERO, J. & GRACIA, I. (1997). Trace metals in the bivalve molluscs *Ruditapes decussatus* and *Ruditapes philippinarum* from the atlantic coast of southern Spain, *Environmental international*, 23(3), 291–298.
- VIARENGO, A.; PONZANO, E.; DONDERO, F. & FABBRI, R. (1997). A simple spectrophotometric method for metallothionein evaluation in marine organisms: an application to Mediterranean and Antarctic molluscs. *Marine Environmental Research*, 44, 69–84.
- VISNJIC-JEFTIC, Z.; JARIC, I.; JOVANOVIC, L.; SKORIC, S.; SMEDEREVAC-LALIC, M.; NIKCEVIC, M. & LENHARDT, M. (2010). Heavy metal and trace element accumulation in muscle, liver and gills of the *Pontic shad* (*Alosa immaculata* Bennet 1835) from the Danube River (Serbia). *Microchemical Journal*, 95(2), 341–344.
- VOOREN, C. M. & KLIPPEL, S. (2005). Diretrizes para conservação de elasmobrânquios ameaçados. In VOOREN, C. M. & KLIPPEL, S. (Eds.), *Ações para a conservação de tubarões e raias no sul do Brasil* (Igaré, pp. 213–228). Porto Alegre.
- WHO. World Health Organization (1989). “Toxicological evaluation of certain food additives and contaminants.” Pp. 295–328 in *WHO Food Additives Series*, Cambridge, UK: Cambridge Univ. Press.
- WHO. World Health Organization (2003). “JOINT FAO / WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES - Summary and Conclusions. Presented at the 61st Meeting of the Joint FAO.” (52).
- WILLMER, P.; STONE, G. & JOHNSTON, I. (2004). *Environmental Physiology of Animals* (2 edition, p. 768). Wiley-Blackwell.

- WINDOM, H.; STICKNEY, R.; SMITH, R.; WHITE, D. & TAYLOR, F. (1973). Arsenic, Cadmium, Cooper, Mercury and Zinc in some species of north Atlantic finfish. *Journal Fisheries Board Canadian*, 30, 275 – 279.
- WOOD, C. M. (2011). An introduction to metals in fish physiology and toxicology: basic principles. In WOOD, C. M.; FARRELL, A. P. & BRAUNER, C. J. (Eds.), *Fish Physiology Volume 31, Part A, Homeostasis and Toxicology of Essential Metals* (pp. 1–51). Elsevier.
- WOSNICK, N. & FREIRE, C. A. (2013). Some euryhalinity may be more common than expected in marine elasmobranchs: The example of the South American skate *Zapteryx brevirostris* (Elasmobranchii, Rajiformes, Rhinobatidae). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*. 166, 36–43
- YILMAZ, F.; OZDEMIR, N.; DEMIRAK, A. & TUNA, A. L. (2007). Heavy Metal Levels in Two Fish Species *Leuciscus cephalus* and *Lepomis gibbosus*. *Food Chemistry*, 100, 830–835.
- ZAYED, A. M. & TERRY, N. (2003). Chromium in the environment: factors affecting biological remediation. *Plant and Soil* 249: 139–156

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente estudo, consideramos que os objetivos traçados no início do trabalho com a espécie *Z. brevirostris* foram cumpridos com êxito, onde conseguimos determinar a estrutura, ciclo reprodutivo, idade e crescimento e quantificação de metais da referida espécie.

Quanto ao ciclo reprodutivo da espécie *Z. brevirostris* no estado do Paraná, obteve-se a determinação das estações de cópula/fecundação, período e época de gestação e período de nascimento, onde determinou-se o outono como a estação de cópula/fecundação, o inverno e primavera como o período de gestação dos embriões e o verão sendo o período do nascimento. Os resultados obtidos permitem caracterizar o litoral do estado do Paraná como área de parto para *Z. brevirostris*, dentre outras inúmeras espécies, e ainda, apontam a necessidade de controle da pesca da referida espécie, a fim de manter os estoques naturais.

As informações obtidas sobre idade e crescimento de *Z. brevirostris* representam a primeira estimativa destes parâmetros para uma espécie do gênero *Zapteryx*, e os resultados demonstram uma lenta taxa de crescimento e consequente suscetibilidade à sobrexploração. As análises determinaram que a espécie no litoral do Paraná pode atingir, aproximadamente, a idade máxima de dez anos e o comprimento máximo de 56,4 cm, além da determinação do valor de  $k$  para a espécie, até então desconhecido e que poderá servir de base para futuros estudos com elasmobrânquios. Estes dados também corroboram a necessidade do controle da pesca para uma gestão eficiente e conservação adequada da espécie.

Em relação ao acúmulo de metais em *Z. brevirostris*, o Índice de Poluição de Metais (MPI) detectou um padrão diferenciado de acumulação dos metais entre os sexos, com valores elevados no fígado (em machos) e no rim (em fêmeas). Apesar da maioria dos valores de metais encontrados nas amostras apresentarem valores considerados pela legislação como seguros para o animal e a saúde humana (em caso de consumo desta carne), as concentrações de Cd no músculo de machos e Pb no músculo de fêmeas merecem uma especial atenção, uma vez que os valores encontrado estão acima do estabelecido em legislação pela FAO/WHO. Assim, é recomendado o monitoramento dos metais em pescado de elasmobrânquios. Além disso, sugere-se que, pelo fato de a estimativa da biodisponibilidade de metais ter apresentado valores consideráveis, aliado a fatores como facilidade de coleta, tamanho, sobrevivência longa em rede e

abundância, sugere-se que *Z. brevirostris* seja utilizada como um bioindicador da contaminação ambiental marinha.

De maneira a concluir, os dados obtidos neste trabalho eram até então inéditos para esta espécie, e virão compor uma robusta base de dados a fim de subsidiar planos de manejo e controle da atividade pesqueira, solicitados pelo Ministério do Meio Ambiente em decorrência da vulnerabilidade da espécie de acordo com a PORTARIA 445/2014 e o livro vermelho da IUCN (*International Union for the Conservation of Nature*). O local da pesquisa, apontado como área de parto para a espécie, indica a necessidade de conservação das áreas costeiras no litoral do estado do Paraná. Salientamos ainda a importância e a necessidade da realização dos trabalhos de autoecologia de outras espécies de peixes, a fim de contribuir com a preservação das espécies e manutenção dos recursos pesqueiros.