

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ISIS DANNIELE CURY DA CRUZ

**CARACTERIZAÇÃO IÔNICA DO GEL DAS AMPOLAS DE LORENZINI DE
ELASMOBRÂNQUIOS MARINHOS**

CURITIBA

2017

ISIS DANNIELE CURY DA CRUZ

**CARACTERIZAÇÃO IÔNICA DO GEL DAS AMPOLAS DE LORENZINI DE
ELASMOBRÂNQUIOS MARINHOS**

Monografia apresentada à disciplina BIO 028
Estágio Supervisionado em Biologia como
requisito parcial à conclusão do Curso de
Ciências Biológicas – Diurno, Setor de Ciências
Biológicas, da Universidade Federal do Paraná.
Orientadora: Prof^a. Dra. Carolina Arruda de O.
Freire
Co-orientadora: Dra. Natascha Wosnick

CURITIBA

2017

DEDICATÓRIA

*À minha avó materna, Julieta Stange Cury e ao
meu avô paterno, José Ido da Cruz.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha orientadora, Professora Carolina Arruda de Oliveira Freire, por ter aceitado me orientar, por ter cedido o espaço do Laboratório de Fisiologia Comparativa da Osmorregulação para que eu pudesse desenvolver meus projetos, por todos os inúmeros e fundamentais ensinamentos durante esses dois anos, por acreditar em mim e no meu trabalho, por apoiar minhas ideias e projetos e por ser um grande exemplo de perfil de pesquisador a se seguir.

À minha co-orientadora e amiga, Natascha Wosnick, por ter me aberto as portas e me incentivado desde o começo a trabalhar com elasmobrânquios, mesmo sabendo de todas as dificuldades envolvidas, por ter confiado em mim e pela orientação. Obrigada por me apresentar à paixão que é trabalhar e defender esses animais e pela sua amizade.

À Professora Viviane Prodocimo e aos meus colegas e ex-membros de laboratório, Leonardo Rios, Eloísa Pinheiro, Giovanna Castellano, F. Juliane Ceron, Deivyson Bozza, Flavia Sampaio, Daliana Bordin, Gustavo Yamasaki e Guilherme Torres, por todo esse tempo de convivência, amizade, paciência e por toda a ajuda a mim prestada.

À minha mãe principalmente, Telma Julieta Cury, por ter me dado toda a base e apoio essenciais necessários para eu chegar onde estou, por toda a dedicação e força em me criar sozinha, por toda a educação, compreensão e confiança. Te amo mais do que você imagina.

Ao meu namorado, Lucas A. Soares França, por todo o apoio incondicional e paciência, por acreditar mais em mim do que eu mesma, por abrir meus olhos quando necessário, por me ensinar muito e por não me deixar cair sempre que escorrego ou tropeço.

À minha avó paterna, Odete Basso; meu pai, José Antonio da Cruz e toda a minha família.

Aos meus amigos, adquiridos durante estes cinco anos de curso e aos que trago de antes; em especial à Ana Carolina Schwarzer, Roberta Vincenzi, Gabriele Perrut e Aline Prado e às minhas colegas-amigas, Monica Corral e Ely Ferreira.

À Professora Setuko Masunari, por ter me dado a primeira oportunidade em trabalhar com ciência e pesquisa nos quase dois anos em que estive no Laboratório de Ecologia de Crustacea. Ao Murilo Marochi, por ter sido a primeira pessoa à me introduzir na ciência e na pesquisa, por ter me ensinado como um pesquisador deve ser, por ter sido e ainda ser um grande exemplo pra mim, por confiar em mim e no meu potencial e pela amizade. Aos meus amados ex-colegas e amigos, Renata Daldin, Salise Brandt, Madson Silveira e Mariana Lacerda.

Aos meus amigos e colegas, Leonardo Rios, Aline Prado e Renata Daldin, que me ajudaram de maneira essencial durante o desenvolvimento desta monografia.

Aos pescadores de Matinhos e ao Professor Paulo de Tarso, por terem possibilitado o acesso aos animais.

Aos professores incríveis que tive durante os cinco anos de curso e que me fizeram cada dia mais ter certeza de que estou na área certa e estudando o que amo.

Ao “Seu” Luíz, por todos os bons dias bem humorados. Ao Paulo “da informática”, por me salvar quando precisei fazer coletas nos feriados. Ao Leandro e à Rosane da coordenação do curso, por sempre me ajudarem e tirarem minhas dúvidas. Aos técnicos e secretários dos Departamentos de Zoologia e de Fisiologia.

“We but mirror the world. All the tendencies present in the outer world are to be found in the world of our body. If we could change ourselves, the tendencies in the world would also change. As a man changes his own nature, so does the attitude of the world change towards him. This is the divine mystery supreme. A wonderful thing it is and the source of our happiness. We need not wait to see what others do.”

— **Mahatma Gandhi**

RESUMO

O estudo das Ampolas de Lorenzini em elasmobrânquios é um dos ramos mais clássicos de pesquisa, com ênfase na morfologia, função, distribuição, anatomia e histologia destas estruturas que caracterizam o sistema de eletropercepção no grupo. Entretanto, aspectos qualitativos e quantitativos do gel condutor presente no canal do sistema são pouco elucidados e quase nada se sabe a respeito dos componentes responsáveis pela condução do sinal elétrico detectado no meio para as células sensoriais da ampola. O presente estudo teve como objetivo caracterizar a composição iônica do gel das ampolas da raia *Zapteryx brevirostris* e dos tubarões *Rhizoprionodon lalandii*, *Sphyrna zygaena* e *Sphyrna lewini*. As amostras dos géis foram coletadas nos meses de julho a setembro de 2017 e foram obtidas de animais provenientes da pesca artesanal no Município de Matinhos. O gel foi obtido através da compressão dos poros de abertura das ampolas presentes na cabeça dos animais e foi fluidificado com o auxílio de um sonificador ultrassônico. Foram dosados os íons cloreto, sódio, magnésio, potássio e fósforo utilizando *kits* comerciais e fotômetro de chama. As concentrações dos íons variaram entre as espécies, sendo espécie-específicas, porém todas apresentaram a mesma tendência, sendo as concentrações de cloreto e sódio as mais altas, seguidas de magnésio, potássio e fósforo. As análises indicam que os íons cloreto, sódio e potássio possuem grande representatividade na condução/amplificação do sinal pelo gel, e que são mantidos em concentração inferior aos seus respectivos níveis em água do mar. Diferenças entre os perfis iônicos dos tubarões pelágicos e da raia bentônica foram observadas, sendo possível que a concentração do gel seja moldada evolutivamente com o hábito de vida do animal em questão.

Palavras-chave: eletropercepção, gel, tubarão, raia.

ABSTRACT

The study of the Ampullae of Lorenzini is one of the most classic branches of elasmobranch research, with emphasis on the morphology, function, distribution, anatomy and histology of these structures that characterize the system of electroperception in the group. However, qualitative and quantitative aspects of the conductive jelly present in the channel of the system are poorly understood and nothing is known about the components responsible for conducting the electrical signal detected from the environment to the sensory cells of the ampoule itself. The present study aimed to characterize the ionic composition of the jelly in *Zapteryx brevirostris*, *Rhizoprionodon lalandii*, *Sphyrna zygaena* and *Sphyrna lewini*. The samples were collected from July to September 2017 and were obtained from animals caught by artisanal fisheries held in Matinhos, Paraná coast. The gel was obtained by compressing the opening pores of the ampoules located on the animals' heads and was fluidized with the aid of an ultrasonic sonicator. Chloride, sodium, magnesium, potassium and phosphorus ions were measured using commercial kits and flame photometer. The concentrations of the ions varied among the species and were therefore species-specific, but all showed the same tendency, with chloride and sodium concentrations being highest, followed by magnesium, potassium and phosphorus. The analysis indicates that in fact chloride, sodium and potassium have a high degree of signal-conduction/amplification in the jelly, and that they are kept in a concentration below their respective levels in sea water. Differences between the pelagic sharks and the benthic guitarfish were observed, being possible that the concentration of the jelly is evolutionarily shaped by the life habits of the animal in question.

Key-words: electroperception, jelly, sharks, rays.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Distribuição filogenética do sistema de eletropercepção em diferentes táxons.....	11
FIGURA 2 – Limites das percepções sensoriais de tubarões.....	12
FIGURA 3 – Esquema interno das Ampolas de Lorenzini.....	13
FIGURA 4 – Padrão de distribuição das Ampolas de Lorenzini em tubarões...	14
FIGURA 5 – Espécies utilizadas no presente estudo; <i>Rhizoprionodon lalandii</i> (A), <i>Sphyrna zygaena</i> (B), <i>Sphyrna lewini</i> (C) e <i>Zapteryx brevirostris</i> (D).....	17
FIGURA 6 – Retirada do gel das Ampolas de Lorezini pela compressão dos poros localizados nas cabeças dos tubarões e raias.....	18
FIGURA 7 – Eppendorfs com gel das Ampolas de Lorenzini de <i>Sphyrna lewini</i> e <i>Sphyrna zygaena</i>	19
FIGURA 8 – Os gráficos A-E representam as concentrações dos íons (média + erro padrão) cloreto, sódio, magnésio, potássio e fósforo respectivamente, encontradas nas espécies analisadas no presente estudo. A linha tracejada nos gráficos representa a concentração dos respectivos íons, com exceção do fósforo que não há valor de referência, na água do mar. Os valores utilizados como referência para as concentrações dos íons na água do mar foram retirados de Prosser (1973).....	22
FIGURA 9 – Concentração dos íons cloreto, sódio, magnésio e potássio somados nas 4 espécies. A linha pontilhada representa a concentração iônica total da água do mar. O valor utilizado como referência para a concentração iônica total da água do mar foi retirado de Prosser (1973).....	23

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Valores da Análise do Intervalo de Confiança para os dados de <i>Rhizoprionodon lalandii</i> . Os valores utilizados como referência para as concentrações dos íons na água do mar foram retirados de Prosser (1973).....	24
---	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS E HIPÓTESE	166
2.1 OBJETIVO GERAL	166
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	166
2.3 HIPÓTESE	16
3 MATERIAL E MÉTODOS	177
3.1 OBTENÇÃO DOS ANIMAIS.....	177
3.2 RETIRADA DO GEL DAS AMPOLAS.....	188
3.3 PREPARO DAS AMOSTRAS	18
3.4 ANÁLISES LABORATORIAIS.....	19
3.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	19
4 RESULTADOS	211
5 DISCUSSÃO	255
6 CONCLUSÃO	258
REFERÊNCIAS	299

1 INTRODUÇÃO

Em 1678, Stephan Lorenzini descreveu pela primeira vez um sistema específico de estruturas sensoriais presente exclusivamente em tubarões, raias e quimeras. Quase dois séculos depois, esse sistema recebeu o nome Ampolas de Lorenzini, e desde então muitos trabalhos sobre essas estruturas foram feitos, com foco não só na morfologia, mas também na função, distribuição, anatomia e histologia (WHITEHEAD *et al*, 2015; OBARA & BENNETT, 1972; VASKE JÚNIOR *et al*, 2011; FISHELSON & BARANES, 1998; WUERINGER *et al*. 2009). Existem estruturas correspondentes às Ampolas de Lorenzini em outros grupos de vertebrados, como peixes teleósteos, anfíbios e mamíferos (BULLOCK *et al*, 1993). Em alguns peixes ósseos da classe Actinopterygii foi proposta a função de secreção, além da função sensorial (eletropercepção), das ampolas presentes neste grupo (JORGENSEN *et al*, 1972) (Figura 1).

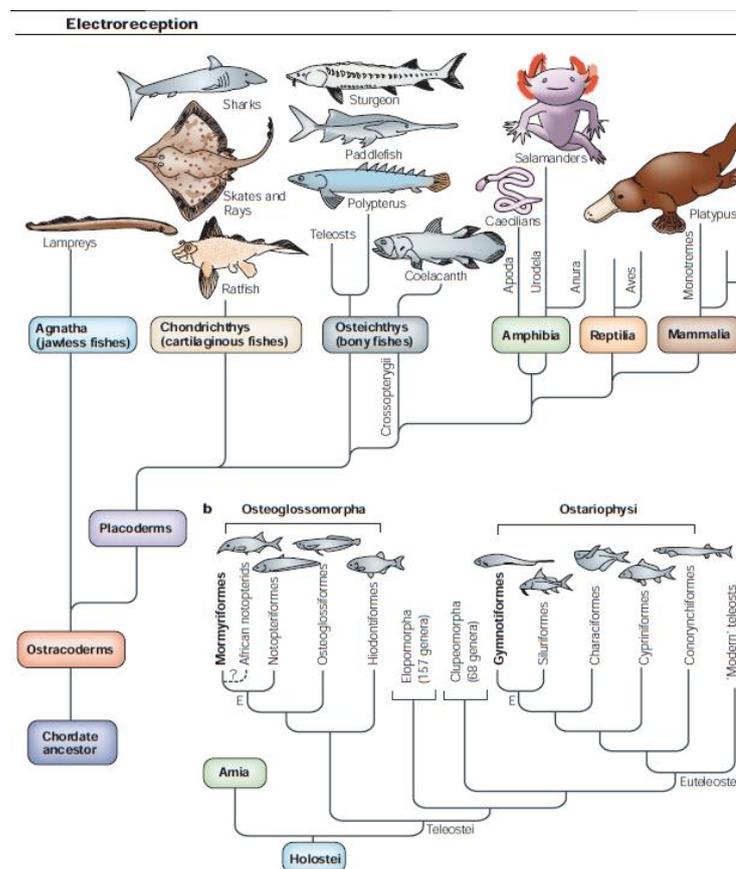


Figura 1. Distribuição filogenética do sistema de eletropercepção em diferentes táxons. Fonte: Adaptado de Rose (2004).

Muito foi discutido sobre a verdadeira função, ou mais funções, das Ampolas de Lorenzini, e até poucas décadas atrás não existia um consenso entre os pesquisadores da área. Após diversos estudos, foi estabelecido que a principal função das ampolas é a eletropercepção (MURRAY, 1974). O papel do sistema eletro-sensorial pode ser multifuncional, facilitando comportamentos sociais e reprodutivos (TRICAS *et al.*, 1995; KEMPSTER *et al.*, 2013), a detecção de predadores (SISNEROS *et al.*, 1998; KEMPSTER *et al.*, 2013) e migração pela orientação através do campo magnético da Terra (PAULIN, 1995; MOLTENO & KENNEDY, 2009). O papel principal, no entanto, é para a detecção de presas (KALMIJN, 1971; BLONDER & ALEVIZON, 1988; LOWE *et al.*, 1994) (Figura 2).

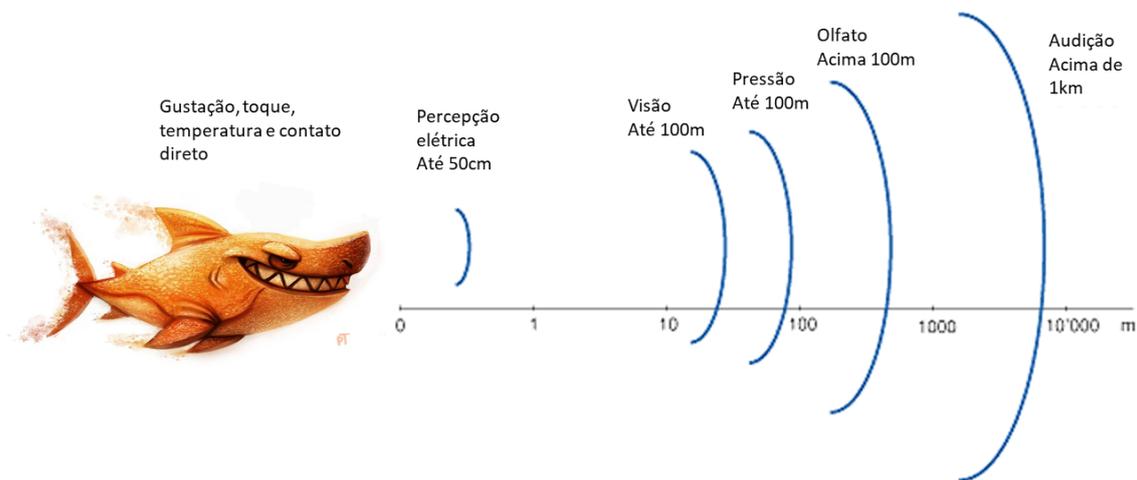


Figura 2: Limites das percepções sensoriais de tubarões. Fonte: Esquema: Natascha Wosnick (Figura: Cryptid-Creations – Disponível em: http://www.supportoursharks.com/en/Education/Biology/Sensory_Systems.htm). Acesso em 05/11/2017.

A influência de fatores abióticos na capacidade eletroperceptiva do grupo começou a ser explorada nos anos 60, onde Dijkgraaf e Kalmijn (1962, 1963, 1966) demonstraram que algumas espécies de elasmobrânquios possuem sensibilidade a estímulos elétricos baixíssimos na água, sendo esta uma capacidade mediada pelas ampolas. Murray (1962) demonstrou que as ampolas conseguem detectar pequenas variações de salinidade na água, com a diminuição da salinidade estimulando a frequência dos impulsos elétricos e o aumento da salinidade causando a inibição dos impulsos. Mais recentemente, estudos reproduzidos em laboratório com animais vivos demonstraram que as ampolas possuem sensibilidade à salinidade do ambiente, sendo este um fator

morfoecológico determinante na ocupação de ambientes mais diluídos e o consequente sucesso predatório em estuários e rios (McGOWAN e KAJIURA 2009; GARDINER *et al*, 2012).

Em elasmobrânquios, as Ampolas de Lorenzini são caracterizadas por canais com paredes isolantes, preenchidos por um gel de mucopolissacarídeos, com uma abertura externa em forma de poro na superfície do corpo do animal, e terminando em um fundo cego com formato arredondado (ampolas), alinhados por uma camada de tecido conectivo rígido (DOTTERWEICH, 1932). Agregações de células receptoras estão inseridas no tecido conectivo, ligadas individualmente a axônios aferentes projetados para a medula (Figura 3). Os órgãos ampulares de condrictes respondem a campos elétricos de baixa frequência entre 1 e 8 Hz (HUETER *et al*, 2004). Limiares de sensibilidade variam entre elasmobrânquios, com espécies apresentando sensibilidade à campos tão baixos quanto $5 \mu\text{Vcm}^{-1}$ (KALMIJN, 1982).

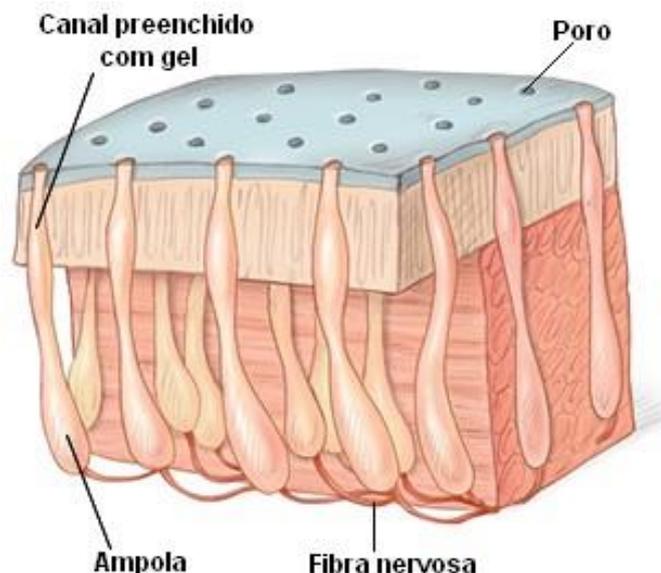


Figura 3: Esquema interno das Ampolas de Lorenzini. Fonte: Adaptado de Laurie O'Keefe. Disponível em: <http://www.thescientist.com/?articles.view/articleNo/46824/title/Sensory-Biology-Around-the-Animal-Kingdom/>. Acesso em 15/11/2017.

Os poros das ampolas possuem geralmente formato arredondado e uma única abertura, porém já foi relatada na literatura a ocorrência de aberturas duplas dos poros, estando os dois canais conectados por uma ampola em comum (Figura 3). Nestes casos de abertura dupla, os tubos estão dispostos

paralelamente um ao outro e com pouca ou quase nenhuma distância entre si (METCALF, 1915). Os poros encontram-se em maior número na região do rosto e da cabeça dos animais, indicando uma adaptação evolutiva relacionada com a necessidade de orientação do aparato alimentar em eventos de forrageio e predação (GARDINER *et al*, 2012) (Figura 4). Adicionalmente, a distribuição e a densidade sobre a superfície do corpo é influenciada pela ecologia, composição da dieta, comportamento de alimentação e filogenia da espécie (GARDINER *et al*, 2012).

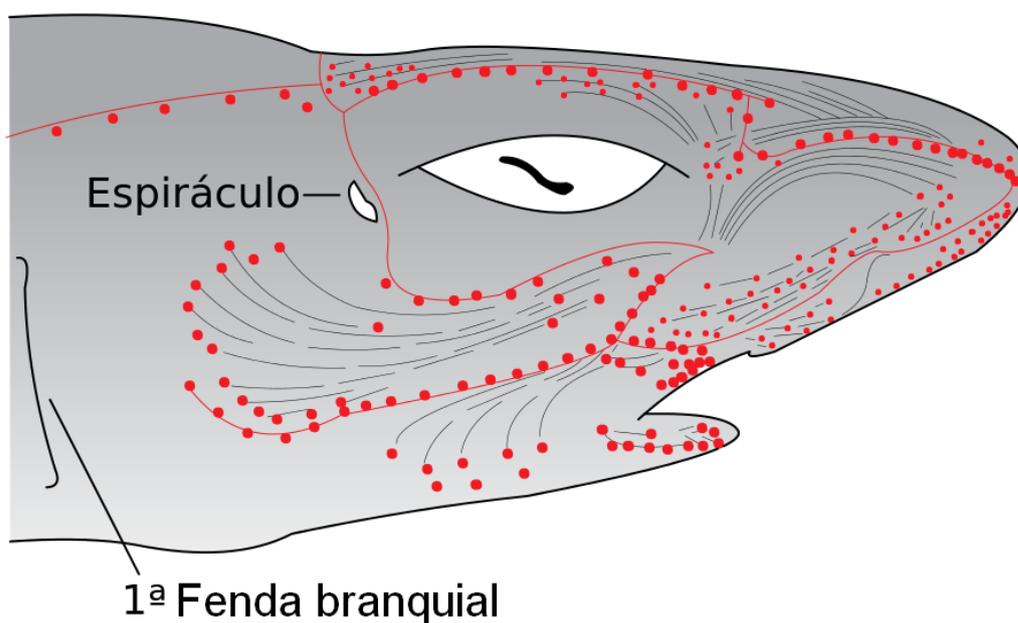


Figura 4: Padrão de distribuição das Ampolas de Lorenzini em tubarões. Fonte: Adaptado de Wikipedia. Disponível em: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Electroreceptors_in_a_sharks_head.svg. Acesso em 05/11/2017.

O gel presente nas ampolas conduz a transmissão de impulsos elétricos até o sistema nervoso (MURRAY, 1960) e quanto maior e mais alongada a ampola, mais próximos os estímulos chegam dos nervos receptores internos (ZAVALLA-CAMIM, 2004). A quantidade, a distribuição ao longo do corpo e o comprimento das ampolas são característica espécie-específicas, assim como a composição polissacarídica do gel (MURRAY, 1974; KAJIURA, 2001). Embora a função do gel não seja bem estabelecida, Sand (1938) relatou sensibilidade do gel à temperatura, mas Murray (1960) não encontrou condutividade térmica significativa do mesmo. Brown *et al.* (2002) propõem que

o gel ainda tenha uma função de prevenção de infecções, já que os poros são estruturas abertas e por isso estão vulneráveis. Entretanto, é consenso entre os pesquisadores que a provável função primária do gel é amplificar/conduzir o sinal elétrico detectado no ambiente, garantindo assim a sua transmissão da superfície para a ampola e então para os nervos aferentes em direção ao sistema nervoso central, onde o sinal sensorial será interpretado (JOSBERGER *et al.*, 2016) (Figura 3).

Apesar de sua relevância e longo tempo de conhecimento sobre sua existência e morfologia, existem poucos dados na literatura sobre a composição iônica do gel das ampolas. Concentrações iônicas são essenciais para o fluxo de corrente elétrica em estruturas sensoriais. É relevante o conhecimento da diversidade das concentrações iônicas em espécies de elasmobrânquios, inclusive em e contexto ecológico. Pode-se associar as concentrações iônicas eventualmente ao hábito de vida (bentônico vs. pelágico), a estratégia alimentar (predador ativo vs. oportunista), o nível trófico (predador de topo vs. mesopredador), ou ainda a diversidade alimentar (generalista vs. especialista) das espécies estudadas. Para isso é necessário se conhecer estas concentrações em maior número possível de espécies.

2 OBJETIVOS E HIPÓTESE

2.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar a composição iônica do gel das ampolas da raia *Zapteryx brevirostris* e dos tubarões *Rhizoprionodon lalandii*, *Sphyrna zygaena* e *Sphyrna lewini*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2.2.1 - Quantificar a concentração de sódio, potássio, cloreto, magnésio e fósforo no gel das ampolas de diferentes espécies marinhas.

2.2.2 - Determinar se existem diferenças expressivas nas concentrações em um contexto comparativo.

2.3 HIPÓTESE

Em função do trabalho realizado por Murray & Potts (1960), que verificou que os íons cloreto, sódio e potássio no gel das Ampolas de Lorenzini da raia *Raja clavata* são isoiônicos em relação à água do mar, a hipótese do presente estudo foi de que este padrão isoiônico do gel seria encontrado em outras espécies de elasmobrânquios marinhos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 OBTENÇÃO DOS ANIMAIS

Amostras do gel das ampolas da raia *Zapteryx brevirostris* (n=2) e dos tubarões *Rhizoprionodon lalandii* (n=9), *Sphyrna lewini* (n=1) e *Sphyrna zygaena* (n=2) foram utilizadas para as análises (Figura 5). Os animais foram coletados junto aos pescadores artesanais do Município de Matinhos (Paraná, Brasil), durante os meses de julho a setembro de 2017 e as amostras de gel foram retiradas em campo e transportadas refrigeradas em isopor contendo gelo laboratorial.

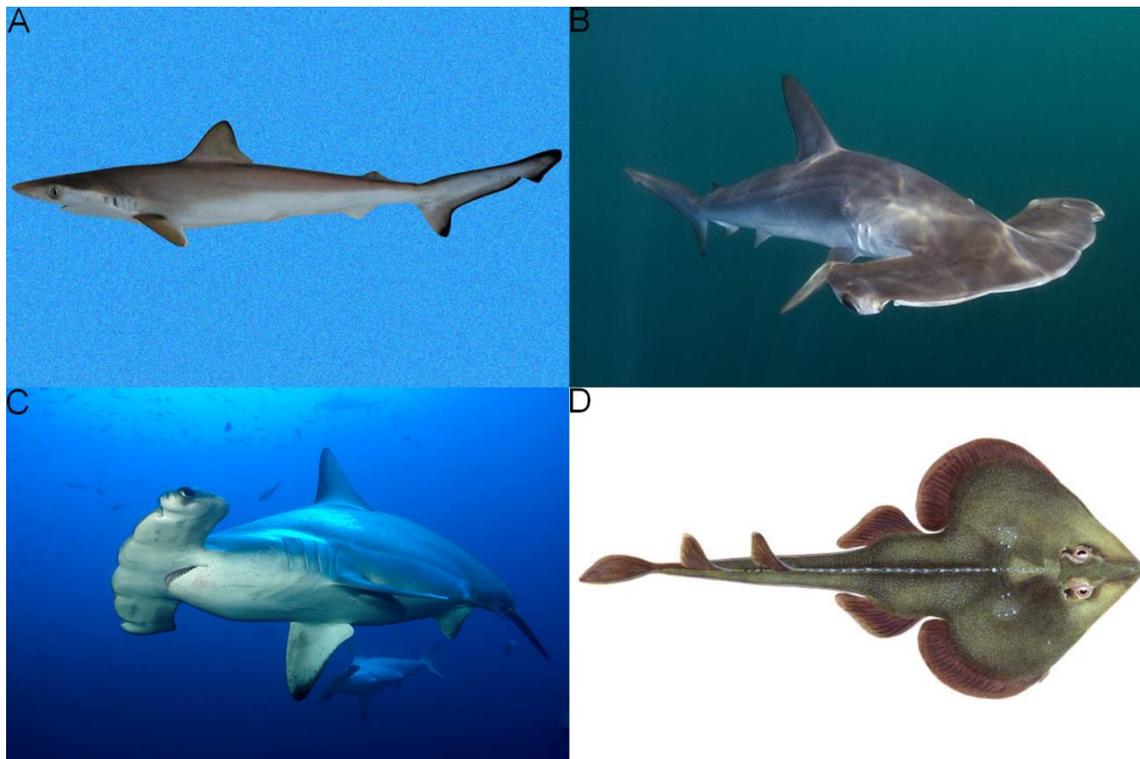


Figura 5: Espécies utilizadas no presente estudo; *Rhizoprionodon lalandii* (A), *Sphyrna zygaena* (B), *Sphyrna lewini* (C) e *Zapteryx brevirostris* (D). Fonte: Ross Robertson (A), Andy Murch (B), Simon Rogerson (C) e Shark References (D). Disponível em: <http://biogeodb.stri.si.edu/caribbean/en/gallery/specie/2694> (A), <http://www.arkive.org/smooth-hammerhead/sphyrna-zygaena/> (B), <https://betterknowafish.com/2013/04/16/scalloped-hammerhead-sphyrna-lewini/> e <http://shark-references.com/species/view/Zapteryx-brevirostris> (D). Acesso em 05/11/2017.

3.2 RETIRADA DO GEL DAS AMPOLAS

O gel foi obtido através da compressão dos poros de abertura das ampolas presentes na superfície dorsal e ventral dos animais, com foco na região da cabeça, coletado com o auxílio de uma espátula (Figura 6-C) e colocado em tubos eppendorfs de 1,5 mL. Após a coleta do material, as amostras de gel foram armazenadas em *freezer* -20°C, no laboratório de Fisiologia Comparativa da Osmorregulação do Departamento de Fisiologia da Universidade Federal do Paraná (Curitiba, Paraná, Brasil).



Figura 6: Retirada do gel das Ampolas de Lorezini pela compressão dos poros localizados nas cabeças dos tubarões. Fonte: Aline Prado.

3.3 PREPARO DAS AMOSTRAS

Para as análises do material biológico, houve a necessidade de fluidificar as amostras, pois no estado normal (gel) (Figura 7) não era possível retirar o volume necessário e com exatidão com o pipetador. As amostras foram descongeladas e deixadas em temperatura ambiente, em seguida foram homogeneizadas com o auxílio de um Sonicador Ultrassônico (Fisher Scientific™ - Modelo 120; 120 Watt, 20 kHz), configurado com amplitude 50%, pulso de 4 segundos e intervalo de 1 segundo, totalizando 10 segundos. Todas as amostras foram submetidas ao mesmo processo de sonicação e deixadas em temperatura ambiente “overnight” para a dissolução completas de bolhas formadas durante o processamento. Após a dissolução total das bolhas, as

amostras foram novamente homogeneizadas com o auxílio de um Agitador dede Tubos tipo Vortex (BioMixer, QL-901).



Figura 7: Eppendorfs com gel das Ampolas de Lorenzini de *Sphyrna lewini* e *Sphyrna zygaena*.
Fonte: Autora.

3.4 ANÁLISES LABORATORIAIS

As concentrações de sódio e potássio foram determinadas em amostras diluídas (1:200) de forma a situarem-se na faixa de leitura (padrão com 250 mM de Na⁺ e 20 mM de K⁺) dos métodos por fotometria de chama (Fotômetro de Chama Digimed DM-63). As concentrações de cloreto (1:3 e 1:5) (catálogo n.º 115, comprimento de onda 450nm), magnésio (1:16 e 1:20) (catálogo n.º 50; comprimento de onda 505nm), fósforo (catálogo n.º 42, comprimento de onda 650nm) foram quantificados colorimetricamente (Ultrospec 2100 PRO Amersham Pharmacia biotech, Suécia) utilizando *kits* comerciais (Labtest, Brasil).

3.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Devido ao número amostral reduzido, os dados não foram tratados estatisticamente para *Zapteryx brevirostris* (n=2), *Sphyrna lewini* (n=1) e

Sphyrna zygaena (n=2). Os dados das concentrações dos íons cloreto, sódio, magnésio e potássio de *Rhizoprionodon lalandii* (n=9) foram analisados utilizando intervalo de confiança (95%) comparando as concentrações dos íons na água do mar, com o intuito de avaliar se as concentrações dos íons no gel seriam isoônicas à água do mar.

4 RESULTADOS

A concentração de cloreto no gel das Ampolas de Lorenzini de *Rhizoprionodon lalandii* foi de $431 \pm 9,15$ mM, de sódio foi de $109,2 \pm 0,62$ mM, de magnésio foi de $29,9 \pm 0,35$ mM, de potássio foi de $6,9 \pm 0,07$ mM e de fósforo foi de $2,3 \pm 0,11$ mM. A concentração de cloreto no gel de *Sphyrna zygaena* foi de $468 \pm 56,69$ mM, de sódio foi de $112 \pm 4,12$ mM, de magnésio foi de $28,5 \pm 1,76$ mM, de potássio foi de $7,2 \pm 1,33$ mM e de fósforo foi de $1,7 \pm 0,03$ mM. A concentração de cloreto no gel de *Sphyrna lewini* foi de 447 mM, de sódio foi de 108,3 mM, de magnésio foi de 32 mM, de potássio foi de 14,1 mM e de fósforo foi de 2,3 mM. A concentração de cloreto no gel de *Zapteryx brevirostris* foi de $73,4 \pm 14,24$ mM, de sódio foi de 16,3 mM, de magnésio foi de $2,4 \pm 0,82$ mM e de potássio foi de 8,2 mM e a de fósforo não foi dosada devido ao volume reduzido da amostra. Os dados estão representados na Figura 9 (A-E).

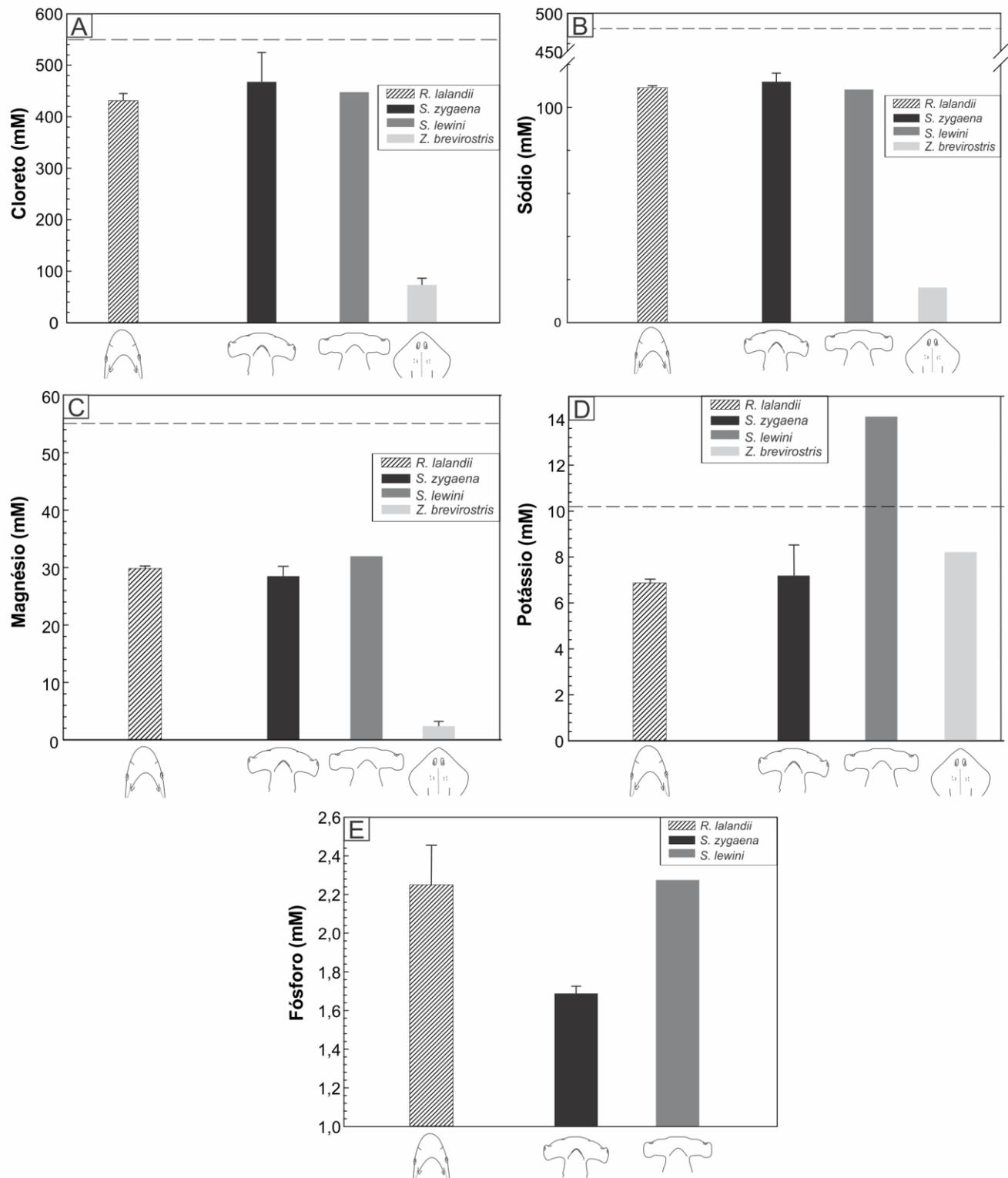


Figura 8: Os gráficos A-E representam as concentrações dos íons (média \pm erro padrão) cloreto (mM), sódio (mM), magnésio (mM), potássio (mM) e fósforo (mM) respectivamente, encontradas nas espécies analisadas no presente estudo. A linha tracejada nos gráficos representa a concentração dos respectivos íons, com exceção do fósforo que não há valor de referência, na água do mar. Os valores utilizados como referência para as concentrações dos íons na água do mar foram retirados de Prosser (1973).

A concentração total dos íons analisados, com exceção do fósforo, não dosado em *Zapteryx brevirostris*, para cada espécie está representada na Figura 10, demonstrando que as três espécies de tubarões apresentam valores totais semelhantes, enquanto a espécie de raia analisada apresentou valores totais mais baixos em comparação aos tubarões analisados.

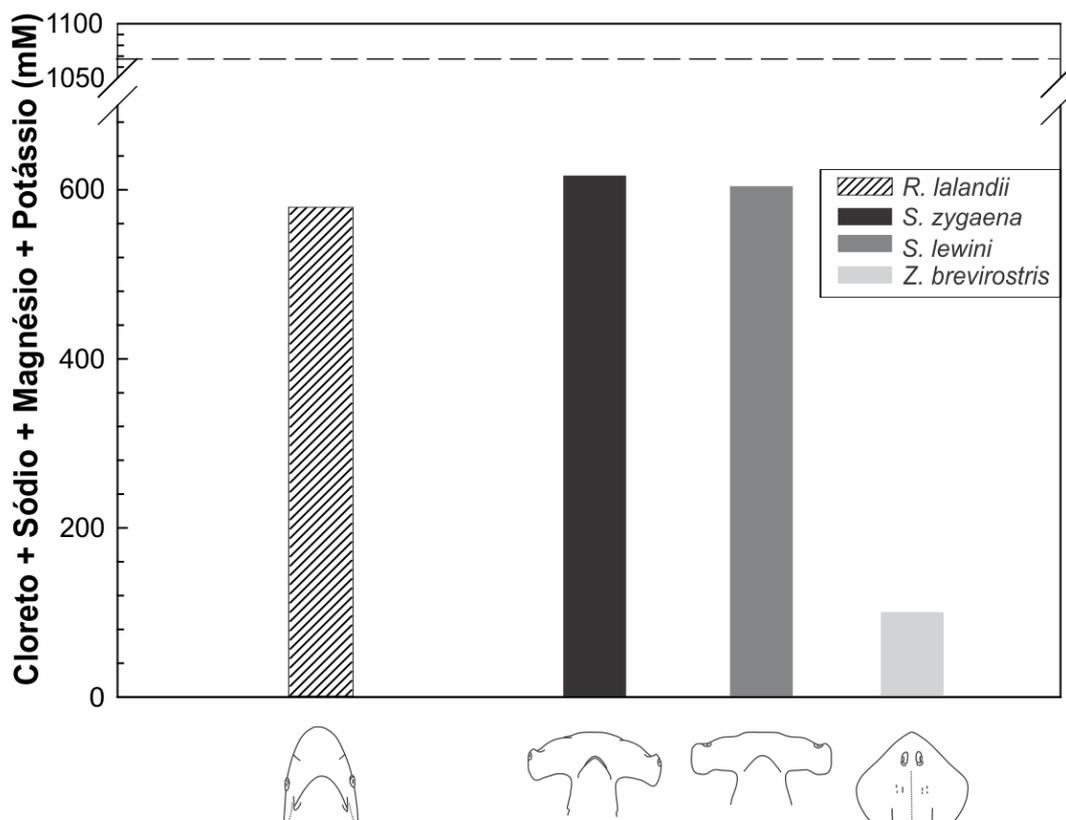


Figura 9: Concentração dos íons cloreto, sódio, magnésio e potássio (mM) somados nas 4 espécies. A linha pontilhada representa a concentração iônica total da água do mar. O valor utilizado como referência para a concentração iônica total da água do mar foi retirado de Prosser (1973).

O intervalo de confiança (95%) para os valores das concentrações de cloreto, sódio, magnésio e potássio encontrados nas análises do gel das ampolas de *R. lalandii* verificou que os íons presentes no gel não são iso-iônicos em relação à água do mar, ou seja, não estão na mesma concentração iônica que a água do mar (Tabela 1).

Tabela 1: Valores da Análise do Intervalo de Confiança para os dados de *Rhizoprionodon lalandii*. Os valores utilizados como referência para as concentrações dos íons na água do mar foram retirados de Prosser (1973).

Intervalo de Confiança (95%) em <i>Rhizoprionodon lalandii</i>				
	Cloreto (mM)	Sódio (mM)	Magnésio (mM)	Potássio (mM)
Concentração na água do mar	559	479	55	10,20
Concentração no gel	431,15	109,22	29,85	6,87
Intervalo +	458,18	110,68	30,55	7,15
Intervalo -	404,12	107,76	29,16	6,60

5 DISCUSSÃO

O presente estudo caracterizou e quantificou alguns dos íons presentes no gel das ampolas dos tubarões *Rhizoprionodon lalandii*, *Sphyrna lewini* e *Sphyrna zygaena* e da raia *Zapteryx brevirostris*. De forma geral, em termos comparativos, as concentrações de cloreto foram as mais altas para todas as espécies analisadas. As concentrações de sódio também foram elevadas em comparação aos outros íons, seguidas das concentrações de magnésio no gel de todas as espécies. As concentrações de fósforo foram baixas em comparação aos outros íons em todos os animais analisados. As concentrações de potássio foram semelhantes entre *Zapteryx brevirostris*, *Rhizoprionodon lalandii* e *Sphyrna zygaena* e duas vezes mais elevadas em *Sphyrna lewini* na amostra testada em relação às concentrações das outras espécies.

As ampolas de Lorenzini são estruturas sensoriais que permitem a transmissão de sinal para o sistema nervoso em sua forma de captação primária: a elétrica. A capacidade eletroperceptiva não exige a transformação de sinais de diferentes categorias (e.g. químicos e mecânicos) em impulsos elétricos, a única forma de condução sensorial dos nervos aferentes para o sistema nervoso central (Guyton e Hall, 2006). Assim, esta modalidade sensorial permite a rápida transmissão de impulso e otimização da resposta eferente, já que não exige modulação de sinais de diferentes categorias (Hill et al., 2004). Nos processos de condutância elétrica de células excitáveis, os íons sódio, potássio, cálcio e cloreto apresentam papel determinante, visto que geram e modulam a despolarização e repolarização das membranas garantindo a transmissão de potenciais de ação (Aires, 2012).

Visto que o gel funciona como um condutor/amplificador do sinal elétrico captado no ambiente para a ampola e então para os nervos aferentes e sistema nervoso central, e que há comunicação com o meio externo (Fields et al., 2007), era esperado que a concentração dos íons responsáveis pela condutividade elétrica fosse elevada. De fato, estudo realizado com diferentes espécies de raias e tubarões demonstrou que a condutividade protônica do gel das ampolas é o maior já registrado em qualquer material biológico,

demonstrando assim a importância da composição iônica neste composto (Josberger *et al.*, 2016). Os resultados encontrados no presente estudo corroboram em partes com o descrito na escassa literatura existente, com valores elevados de cloreto e sódio no gel das três espécies de tubarões analisadas (Figura 8). Por outro lado, os valores destes íons no gel da raia analisada foram baixos. Adicionalmente, não apenas a concentração destes íons foi reduzida em *Z. brevirostris*, como também a concentração dos outros íons analisados (Figura 9). Assim, é possível que o hábito de vida (tubarões pelágicos vs. raia bentônica) esteja evolutivamente relacionado com a composição do gel. Entretanto, uma análise mais extensa com um maior número de amostras da *Z. brevirostris* e de mais espécies é necessária para corroborar esta hipótese.

Murray & Potts (1960) estudaram a composição do gel das ampolas da raia *Raja clavata*, caracterizando as concentrações de cloreto, sódio e potássio. De acordo com os resultados, as concentrações mais altas foram as de cloreto (562 mM/kg), seguidas do sódio (417 mM/kg) e as concentrações mais baixas foram de potássio (12,8 mM/kg). A magnitude das concentrações iônicas do gel de *R. clavata* também foram observadas no presente estudo, sendo a concentração de cloreto também a mais elevada, seguida de sódio e potássio. De fato, as altas concentrações destes íons observadas no gel parecem acompanhar as concentrações da água do mar e estes níveis iônicos produzem alta condutividade, como a própria água do mar.

Em *R. clavata*, as concentrações de sódio, cloreto e potássio no gel das ampolas se mantiveram próximas às concentrações encontradas na água do mar (Murray & Potts, 1960). Em estudo realizado com o bagre marinho *Plotosus spp.*, a composição do gel das ampolas também foi isoiônica em relação a água do mar (Okitsu *et al.*, 1978). No presente estudo, as concentrações do cloreto, sódio e magnésio foram mais baixas em relação aos valores observados na água do mar, caracterizando perfil hipoiônico do gel nas espécies aqui estudadas. Em *S. lewini*, as concentrações de potássio foram as mais altas dentre as espécies analisadas, sendo estas hiperiônicas em relação à água do mar. O mesmo padrão foi observado em *Plotosus spp.* e os autores discutem que a tendência de polarização pode estar sendo realizada pelo potássio (Okitsu *et al.*, 1978).

Levando em consideração que o poro do sistema de eletropercepção em elasmobrânquios é aberto para o meio externo e que estudos prévios apontam o perfil isoônico em relação à água do mar, nossa hipótese inicial era de que a concentração do gel poderia ser influenciada pelas concentrações destes íons no meio em que o animal estivesse inserido (água do mar). Entretanto, de acordo com os nossos resultados, tal hipótese não foi corroborada, visto que todas as espécies analisadas demonstraram valores menores quando comparados à concentração encontrada no ambiente.

6 CONCLUSÃO

A caracterização iônica do gel das ampolas de Lorenzini de elasmobrânquios, apesar de pouco explorada, levanta pontos interessantes acerca da captação, processamento e condução do sinal elétrico gerado pelo batimento cardíaco de presas, predadores e co-específicos. As análises indicam que os íons cloreto, sódio e potássio possuem grande representatividade na condução/amplificação do sinal pelo gel, e que são mantidos em concentração inferior aos seus respectivos níveis em água do mar. Por fim, diferenças entre os perfis dos tubarões pelágicos e da raia bentônica foram observadas, sendo possível que a concentração do gel seja moldada evolutivamente com o hábito de vida do animal em questão. Houve necessidade de desenvolver método para fluidificar as amostras e poder dosar os íons, e este trabalho é assim o piloto para estudos adicionais que possam responder às hipóteses levantadas.

REFERÊNCIAS

- AIRES, Margarida de Mello – **Fisiologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.
- BLONDER, B.I., ALEVIZON, W.S. Prey discrimination and electroreception in the stingray *Dasyatis sabina*. **Copeia**, p. 33–36. 1988.
- BROWN, B. R.; HUTCHISON, J. C.; HUGHES, M. E.; KELLOGG, D. R.; MURRAY, R. W. Electrical characterization of gel collected from shark electrosensors. **PHYSICAL REVIEW E**, v. 65, 2002.
- BULLOCK, T. H., BODZNICK, D. A., & NORTHCUTT, R. G. The phylogenetic distribution of electroreception: evidence for convergent evolution of a primitive vertebrate sense modality. **How do Brains Work?** Birkhäuser Boston, p. 581-602. 1993.
- DIJKGRAAF, S., KALMIJN, A. J. Verhaltensversuche zur Funktion der Lorenzinischen Ampullen. **Naturwissenschaften**, v. 49, p. 400. 1962.
- DIJKGRAAF, S., KALMIJN, A. J. Untersuchungen über die Funktion der Lorenzinischen Ampullen an Haifischen. **Z. vergl. Physiol.** v. 47, p. 438-456. 1963.
- DIJKGRAAF, S., KALMIJN, A. J. Versuche zur Biologischen Bedeutung der Lorenzinischen Ampullen bei den Elasmobranchiern. **Z. vergl. Physiol.** v. 53, p. 187-194. 1966.
- DOTTERWEICH, H. Bau und Funktion der Lorenzinischen Ampullen. **Zool. Jb. Abt.** p. 347-418. 1932.
- FIELDS, R.D.; FIELDS, K.D.; FIELDS, M.C. Semiconductor gel in shark sense organs?. **Neuroscience letters**, v. 426, n. 3, p. 166-170. 2007.
- FISHELSON, L.; BARANES, A. Distribution, Morphology, and Cytology of Ampullae of Lorenzini in the Oman Shark, *Iago omanensis* (Triakidae), From the Gulf of Aqaba, Red Sea. **The anatomical record**, v. 251, p. 417–430. 1998.
- GARDINER, J. M.; HUETER, R. E.; MARUSKA, K. P.; SISNEROS, J. A.; CASPER, B. M.; MANN, D. A.; DEMSKI, L. S. Sensory physiology and behavior of elasmobranchs. **Biology of sharks and their relatives**, v. 1, p. 349-401. 2012.
- GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Tratado de fisiologia médica**. Elsevier Brasil, 2006.
- HILL, R.W.; WYSE, G.A.; ANDERSON, M. **Fisiologia Animal**. Porto Alegre, Artmed, 2012.

- HUETER, R. E.; MANN, D. A.; MARUSKA, K. P.; SISNEROS, J. A.; DEMSKI, L. S. Sensory biology of elasmobranchs. **Biology of sharks and their relatives**, p. 325-368. 2004.
- JORGENSEN, J. M.; FLOCK, A.; WERSALL, J. The Lorenzinian Ampullae of *Polyodon spathula*. **Z. Zellforschung**. v. 130, p. 362—377. 1972.
- JORGENSEN, J.M. Morphology of electroreceptive sensory organs. In: Bullock TH, Hopkins CD, Popper AN, Fay RR (eds) *Electroreception*. **Springer Handbook of Auditory Research**, Springer, New York, v. 21, p. 47–67. 2005.
- JOSBERGER, E.E.; HASSANZADEH, P.; DENG, Y.; SOHN J.; REGO, M.J.; AMEMIYA, C.T.; ROLANDI, M. Proton conductivity in ampullae of Lorenzini jelly. **Science advances**, v. 2, n. 5, p. e1600112. 2016.
- KAJIURA, S. M. Head morphology and electrosensory pore distribution of carcharhinid and sphyrnid sharks. **Environmental Biology of Fishes**, v. 61, n. 2, p. 125-133. 2001.
- KALMIJN, A.J. The electric sense of sharks and rays. **J. Exp. Biol.** v. 55, p. 371–383. 1971.
- KALMIJN, A. J. Electric and magnetic field detection in elasmobranch fishes. **Science**, v. 218 (4575), p. 916-918. 1982.
- KEMPSTER, R.M., HART, N.S., COLLIN, S.P. Survival of the stillest: predator avoidance in shark embryos. **PLoS One**, v. 8, n.1. 2013.
- LOWE, C.G., BRAY, R.N., NELSON, D.R. Feeding and associated electrical behavior of the Pacific electric ray *Torpedo californica* in the field. **Mar. Biol.** v. 120, p. 161–169. 1994.
- MCGOWAN, D. W.; KAJIURA, S. M. Electroreception in the euryhaline stingray, *Dasyatis sabina*. **Journal of Experimental Biology**, v. 212, n.10, p. 1544-1552. 2009.
- METCALF, H. E. The ampullae of Lorenzini in *Acanthias vulgaris*. **Transactions of the American Microscopical Society**, v. 34, n. 2, p. 131-148, abr. 1915.
- MOLTENO, T.C.A., KENNEDY, W.L. Navigation by induction-based magnetoreception in elasmobranch fishes. **J. Biophys.** 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1155/2009/380976>>. Acesso em: 20 de julho de 2017.
- MURRAY, R. W. The response of the ampullae of Lorenzini of elasmobranchs to mechanical stimulation. **J. expo Biol.** v. 37, p. 417-424. 1960.
- MURRAY, R. W. The response of the ampullae of Lorenzini of elasmobranchs to electrical stimulation. **J. expo Biol.** v. 39, p. 119-128. 1962.

- MURRAY, R. W. The ampullae of Lorenzini. In: FESSARD, A. (Ed.). **Handbook of sensory physiology**. Berlin, 1974, v. III/3, p. 125–146.
- OBARA, S.; BENNETT, M. V. L. Mode of Operation of Ampullae of Lorenzini of the Skate, Raja. **The journal of general physiology**, v. 60, p. 534-557. 1972.
- OKITSU, S.; UMEKITA, S.; OBARA, S. Ionic compositions of the media across the sensory epithelium in the ampullae of Lorenzini of the marine catfish, *Plotosus*. **Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology**, v. 126, n. 2, p. 115-121. 1978.
- PAULIN, M.G. Electroreception and the compass sense of sharks. **J. Theor. Biol.** v. 174, p. 325–339. 1995.
- PROSSER, C.L. *Comparative Animal Physiology*. W.B. Saunders Co, Philadelphia. 1973.
- ROSE, G.J. Insights into neural mechanisms and evolution of behaviour from electric fish. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 5, n. 12, p. 943-951. 2004.
- SAND, A. The function of the ampullae of Lorenzini, with some observations on the effect of temperature on sensory rhythms. **Proc. Roy. Soc.** v. 125, p. 524-553. 1938.
- SISNEROS, J.A., TRICAS, T.C., LUER, C.A. Response properties and biological function of the skate electrosensory system during ontogeny. **J. Comp. Physiol.** v. 183, p. 87-99. 1998.
- TRICAS, T.C., MICHAEL, S.W., SISNEROS, J.A. Electrosensory optimization to conspecific phasic signals for mating. **Neuroscience Letters**, v. 202, p. 129-132. 1995.
- VASKE JÚNIOR, T.; ROTUNDO, M. M.; VENTURA, M. S.; GANDOLPHI, A. C. S.; CONTE-MACHADO, I. C. Distribuição e densidade de poros das ampolas de Lorenzini da raia-viola-de-focinho-curto *Zapteryx brevirostris* (Muller & Henle, 1841) (Chondrichthyes: Rhinobatidae). **Revista Cecilians**, v. 22, n. 32, p. 237-250. 2011.
- WHITEHEAD, D. L.; GAUTHIER, A. R. G.; MU, E. W. H.; BENNETT, M. B.; TIBBETTS, I. R. Morphology of the Ampullae of Lorenzini in Juvenile Freshwater *Carcharhinus leucas*. **Journal of morphology**, v. 276, p. 481-493. 2015.
- WUERINGER, B. E.; TIBBETTS, I. R.; WHITEHEAD, D. L. Ultrastructure of the ampullae of Lorenzini of *Aptychotrema rostrata* (Rhinobatidae). **Zoomorphology**. 2009.
- ZAVALLA-CAMIM, L.A. Planeta água e seus peixes. Edição do autor. Santos, São Paulo, p. 158-159. 2004.