

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ALINE CRISTINA PRADO

**ESTRESSE DE CAPTURA EM *ZAPTERYX BREVIROSTRIS* (MULLER E HENLE, 1841)
(ELASMOBRANCHII, RHINOBATIDAE) MACHOS DURANTE O PERÍODO
REPRODUTIVO: CONSEQUÊNCIAS NUTRICIONAIS E REPRODUTIVAS E IMPACTOS
PARA A CONSERVAÇÃO**

CURITIBA

2017

ALINE CRISTINA PRADO

**ESTRESSE DE CAPTURA EM *ZAPTERYX BREVIROSTRIS* (MULLER E HENLE, 1841)
(ELASMOBRANCHII, RHINOBATIDAE) MACHOS DURANTE O PERÍODO
REPRODUTIVO: CONSEQUÊNCIAS NUTRICIONAIS E REPRODUTIVAS E IMPACTOS
PARA A CONSERVAÇÃO**

Monografia apresentada como requisito parcial à obtenção do título de bacharel, Curso de Ciências Biológicas, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof^a. Dr^a Carolina Arruda de Oliveira Freire

Co-orientadora: Dr^a Natascha Wosnick

CURITIBA

2017

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora, Prof^a. Dra. Carolina Arruda De Oliveira Freire, por ter acreditado em mim e me dado uma oportunidade de trabalhar em seu laboratório, pela orientação e sabedoria.

A minha co-orientadora, Dra. Natascha Wosnick, pelo apoio, confiança e ensinamentos.

A Prof^a Dra. Viviane Prodocimo pelos conselhos, convivência e ensinamentos.

Aos meus colegas de laboratório: Isabelle Daru, Daliana Bordin, Eloísa Pinheiro, e especialmente e enormemente a Isis Daniele Cury, Deivyson Bozza e Leonardo de Paula Rios. Obrigada a todos pelo companheirismo, amizade, paciência e por estarem sempre dispostos a ajudar, colaborar e principalmente ensinar. Vocês foram peças chaves no trabalho e sem vocês eu não conseguiria! Muito Obrigada!

Ao professor Paulo de Tarso da Cunha Chaves pelos ensinamentos, conselhos e por possibilitar meu primeiro contato com elasmobrânquios e a pesca. Sou muito grata!

Aos pescadores e amigos de Matinhos, especialmente Nato, Dona Sandra, Ângelo, Osmar, Porvilho e Alex. Obrigada pela recepção sempre acolhedora e pelos ensinamentos. Sem vocês o trabalho não teria sido realizado. Vocês são pessoas maravilhosas e boas e fazem um trabalho difícil, mas sempre com muita alegria!

Aos meus pais Eberson Carlos Prado e Tânia Mara Prado e minha irmã Amanda Louise Prado por acreditarem, apoiarem e incentivarem meu sonho de ser bióloga e trabalhar com elasmobrânquios. Sem o amor, ajuda, dedicação e apoio de vocês isso não seria possível. Amo vocês!

Ao meu avô Luiz Carlos Prado, que estará sempre em meu coração e guiando meus passos. Obrigada por toda sabedoria e amor pela natureza e pela vida.

As minhas amigas queridas que a biologia me trouxe Beatriz Marques Assad, Beatriz de Bem Hirano e Rebekah Giese, obrigada por sempre estarem ao meu lado, me aconselhando, fazendo rir e sendo maravilhosas! Agradeço muito por ter vocês na minha vida! A Renata Daldin Leite, Emanuelle Nabosne, Adriele Bicalho, Yedda Morlyn, Amanda Ventura, Larissa, Julia Henke, Josiane Colaço, Mariângela Lima, Madalena, Luiziane, Iltevínia Castro, William Kersher, Rafael Joly e sua família e a todos que fizeram parte e colaboraram de alguma forma da minha vida. Sou muito grata a todos!

RESUMO

Zapteryx brevirostris, conhecida como raia-viola-do-focinho-curto é endêmica do Atlântico sul, ocorrendo do sul do Brasil ao norte da Argentina, sendo representativa no *bycatch* da pesca artesanal e classificada como “vulnerável” pela *International Union for Conservation of Nature* (IUCN). Apesar de não apresentar valor comercial significativo e ser classificada como ameaçada, atualmente não existem planos de manejo e proibição de captura em vigor. O estudo foi realizado no litoral do Paraná com o objetivo de avaliar se o período de cópula influencia a capacidade de sobrevivência de machos através de utilização de parâmetros fisiológicos e morfológicos. Foram estabelecidos três grupos, 1) controle, caracterizados por 21 machos vivos fora do período de cópula (VFPC), 2) quatro machos vivos durante o período cópula (VDPC) e 3) 24 mortos em período de cópula (MDPC). Os animais foram coletados no descarte da pesca artesanal de Matinhos (PR) para análises de fator de condição de Fulton (K) através de biometria (comprimento total, largura do disco e peso), condição física, análise de marcadores de estresse (K^+ , P^{3+} , Na^+ , Cl^- ureia, lactato), osmolalidade, triglicerídeos e osmolalidade do sêmen para avaliar possível disruptura reprodutiva. Houve alterações significativas para os parâmetros K^+ ($p < 0,001$), P^{3+} ($p < 0,001$), Na^+ ($p < 0,001$), lactato ($p < 0,001$), triglicerídeos ($p < 0,001$) e fator de condição (K) ($p < 0,001$) dos machos mortos em período de cópula comparado aos vivos fora do período e vivos dentro do período. Para o cloreto, foi observada diferença significativa para os machos vivos dentro do período de cópula comparados aos outros grupos ($P = 0,004$). Não foram observadas alterações significativas para ureia, e osmolalidade entre os grupos analisados. Para o comparativo da osmolalidade plasmática e do sêmen foi observada diferença estatística ($p < 0,001$), sendo o sêmen hiposmótico em relação ao plasma. Foi observada alta mortalidade no período de coleta, representando 89% dos indivíduos durante o período de cópula em relação à sobrevivência observada em machos fora do período (100%). Os dados do presente estudo indicam que K^+ , P^{3+} , Na^+ e lactato foram eficientes indicadores de alterações fisiológicas nos machos da espécie. Adicionalmente, o presente estudo traz um novo possível indicador (análise de injúrias) que pode ser utilizado em estudos futuros. Aliado a isso, os dados aqui apresentados exploram a questão da captura incidental de *Z. brevirostris*, trazendo sugestões para planos de manejo para a espécie baseados na soltura compensatória:

Palavras-chave: raia, elasmobrânquios, fisiologia da conservação, fisiologia pesqueira.

ABSTRACT

Zapteryx brevirostris, popularly known as the lesser guitarfish, is endemic to the South Atlantic, occurring from southern Brazil to northern Argentina, with a high level of representation in the bycatch of artisanal fishing and classified as "vulnerable" by the International Union for Conservation of Nature (IUCN). Although the species does not present significant commercial value and is classified as threatened, there are currently no management plans and no catch regulation in force. The present study was carried out on the coast of Paraná and had as objective to evaluate if the period of copulation influences the survival capacity of males through the use of physiological and morphological parameters. Three control groups were established, characterized by 21 live males outside the copulation period, four males captured with life during the period of copulation and 24 dead males during the period. The animals were collected at the artisanal fishery discard of Matinhos (PR) for analysis of Fulton's condition factor (K) through biometrics (total length, disk width and weight), analysis of external physical condition, analysis of plasma stress markers (K^+ , P_3^+ , Na^+ , Cl^- urea, lactate), osmolality, triglycerides and osmolality of semen to evaluate possible reproductive disruption. There were significant changes in K^+ ($p < 0.001$), P_3^+ ($p < 0.001$), Na^+ ($p < 0.001$), lactate ($p < 0.001$), triglycerides ($p < 0.001$) and Fulton's condition factor ($p < 0.001$) of dead males when compared to live males in and outside the reproductive period. For Cl^- , a significant difference was observed for live males within the reproductive period compared to the other groups ($p = 0.004$). No significant changes were observed for urea, and osmolality between groups analyzed. In the comparison of osmolality of plasma and semen, a statistical difference was observed ($p < 0.001$), being the semen hyposmotic to plasma. A high mortality was observed, representing 89% of the individuals caught during the copulation period in relation to the survival observed for males outside of the period (100%). Thus, data of the present study indicates that K^+ , P_3^+ , Na^+ and lactate are efficient indicators of physiological disruption in males of the species. Additionally, the present study brings a new possible indicator (injury analysis) that can be used in future studies. In addition, the data presented here explore the issue of incidental capture of *Z. brevirostris*, bringing suggestions for management plans for the species based on compensatory release.

Key words: rays, elasmobranch, conservation physiology, fishing physiology.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Macho de <i>Zapteryx brevirostris</i> . Fonte: A autora.	13
FIGURA 2. Área de estudo, Mercado Municipal de Peixes de Matinhos-PR. Fonte: Wosnick, 2017b feito por Bornatowski, H.	16
FIGURA 3. Coleta de biometria (comprimento total - CT e largura do disco - LD) dos animais.	17
FIGURA 4. Coleta de sague de macho vivo de <i>Z. brevirostris</i> via punção caudal, método eficaz e rápido evitando estresse em demasia do animal. Fonte: A autora.	18
FIGURA 5.A. Monitoramento de <i>Z. brevirostris</i> em caixa plástica com água e aeração constante e B. Soltura do indivíduo ao mar após monitoramento e avaliação da condição física. Fonte: A autora.	18
FIGURA 6. Coleta de sangue de <i>Z. brevirostris</i> por punção cardíaca nos animais mortos devido a dificuldade de acesso a veia caudal. Fonte: A autora.	19
FIGURA 7. Coleta de sêmen de macho de <i>Z. brevirostris</i> em morbidade via pressão anteroposterior do clássper e auxílio de espátula para recolhimento do material biológico. Fonte: A autora.	19
FIGURA 8. Porcentagem da ocorrência de machos e fêmeas coletados no período de cópula em Matinhos-PR. Fonte: A autora.	22
FIGURA 9. Injúrias observadas nos animais coletados: A. Círculo superior: Rompimento da vesícula biliar; círculo inferior: eversão intestinal (exposição parcial do intestino); B. Flaring (modificação das cartilagens distais dos clasperes fora do corpo da fêmea) e C. Fratura da cauda. Fonte: A autora.	23
FIGURA 10. Fator de condição de Fulton (K) e de triglicerídeos dos machos vivos fora do período de cópula (VFPC), dentro do período de cópula (VDPC) e mortos dentro do período de cópula (MDPC). O Fator de condição (K) apresentou diferença entre os animais vivos fora do período de cópula (VFPC) (a) e vivos e mortos dentro do período de cópula (VDPC e MDPC) (b). (•) representam os valores atípicos (outliers).	24
FIGURA 11. Parâmetros fisiológicos nos machos vivos fora do período de cópula (VFPC), vivos dentro do período de cópula (VDPC) e mortos dentro do período de cópula (MDPC): A) Ureia: não apresentou diferença entre os grupos (a); B) Lactato: apresentou diferença nos mortos dentro do período (MDPC) em relação aos grupos dos vivos (b); C) Fósforo: apresentou diferença nos mortos dentro do período (MDPC) em relação aos grupos dos	

vivos (**b**) e D) Potássio: apresentou diferença nos mortos dentro do período (MDPC) em relação aos grupos dos vivos (**b**). (•) representam os valores atípicos (outliers).....25

FIGURA 12. Osmolalidade de machos vivos fora do período de cópula (VDPC) e mortos no período de cópula (MDPC). Não houve diferença na osmolalidade entre os grupos analisados.....26

FIGURA 13. Concentrações plasmáticas de sódio e cloreto em machos vivos fora do período de cópula (VFPC) e vivos (VDPC) e mortos no período e cópula (MDPC). Para o sódio não houve diferença entre os machos vivos fora e dentro do período de cópula (**a**). Houve diferença entre os vivos dentro e fora do período de cópula comparado aos mortos dentro do período de cópula (MDPC) (**b**). O cloreto apresentou diferença apenas para os vivos dentro do período de cópula (VDPC). (•) representam os valores atípicos (outliers).

.....26

FIGURA 14. Osmolalidade do plasma e do sêmen de *Z. brevirostris* (n=8). (*) indica diferença na osmolalidade do plasma e do sêmen. Sêmen hiposmótico em relação ao plasma.27

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
1.1.	Caracterização da pesca de elasmobrânquios	8
1.2.	Planos de manejo para o grupo	10
1.3.	Morfofisiologia como ferramenta para conservação do grupo	10
1.4.	Caracterização da espécie	13
1.5.	Objetivos	15
2	METODOLOGIA	16
2.1.	Área de estudo e obtenção dos animais	16
2.2.	Monitoramento e amostragem dos animais vivos	17
2.3.	Amostragem dos animais mortos e caracterização da condição física	18
2.4.	Análises laboratoriais dos parâmetros fisiológicos	20
2.5.	Análises estatísticas	20
3	RESULTADOS	22
3.1.	Obtenção dos animais, condição física e monitoramento	22
3.2.	Concentrações de ureia, lactato, fósforo e potássio plasmático	24
3.3.	Osmolalidade, sódio e cloreto plasmático	25
3.4.	Características e osmolalidade do sêmen	27
4	DISCUSSÃO	28
5	CONCLUSÃO	34
	REFERÊNCIAS	35

1 INTRODUÇÃO

1.1. Caracterização da pesca de elasmobrânquios

Elasmobrânquios são frequentemente capturados pela pesca, seja intencionalmente ou como fauna acompanhante (*bycatch*) (COSTA, 2013). Estes animais estão entre os mais ameaçados do mundo, apresentando declínio de até 90% para algumas espécies em algumas regiões (DENT; CLARKE, 2015). Atualmente, mesmo com o crescente esforço de captura e da melhoria dos petrechos de pesca, a captura global está diminuindo continuamente, indicando um forte declínio nas populações em todo o mundo (DENT; CLARKE, 2015). Para a Índia, um dos países de maior representatividade na captura de elasmobrânquios, a taxa de captura anual apresentou declínio significativo nos últimos anos, com consequentes efeitos na economia e no PIB (HAUSFATHER, 2004). A nível mundial estima-se que 70% das espécies de *Rhinobatidae* estão em categorias ameaçadas, mas os dados são insuficientes (MOORE, 2017). No Brasil, o declínio populacional das raias do gênero *Pseudobatos* foi de cerca de 85% entre 1985 e 1997 (VILLWOCK DE MIRANDA; VOOREN, 2003). Os impactos da pesca sobre as populações de elasmobrânquios podem alterar sua estrutura e padrões de interação ecológica em função da redução da sua abundância geral (STEVENS et al., 2000).

Tal redução é potencializada pelas características biológicas do grupo, tais como baixo potencial reprodutivo, maturação sexual tardia, crescimento lento, alta longevidade, baixa mortalidade natural que acarretam em baixa capacidade de recuperação populacional em abundância (CAMHI et al., 1998; STEVENS et al. 2000). Outro agravante é a escassez de dados dos desembarques pesqueiros para o grupo. Atualmente, cerca de cem milhões de tubarões são mortos a cada ano, principalmente pela alta demanda de barbatanas pelo mercado asiático (WORM et al., 2013). O impacto das capturas nas populações é desconhecido para raias.

O nível elevado de capturas vem gerando preocupação em nível mundial em relação à sustentabilidade da pesca de elasmobrânquios. Entretanto, a maioria dos países que sobre-exploram as populações locais possuem escassos ou nenhum plano de manejo para o grupo. Adicionalmente, a gestão pesqueira local raramente dá a devida importância ao problema, em especial pela caracterização destes animais como recurso pesqueiro e não fauna nativa, e da classificação destes animais como captura acessória e de baixo valor por unidade de peso (CLARKE et al., 2006; DENT; CLARKE, 2015). Mesmo que estes animais sejam em sua maioria capturados como *bycatch*, sabe-se que

este cenário possui o mesmo impacto da pesca direcionada, somando 50% das capturas anuais (DENT; CLARKE, 2015). Aliado a isso, alguns tubarões e raias possuem comportamento altamente migratório, fator que associado à ausência de legislação e/ou contradição nas regulamentações entre áreas conectadas, dificulta de forma significativa o aprimoramento dos planos de manejo para a maioria das espécies (COMPAGNO, 2001; HAMMERSHLAG et al., 2011). Outro fator preocupante é a sobre-exploração de peixes ósseos de alto valor comercial, cujas biomassas apresentaram declínio nos últimos anos na costa brasileira, sendo necessário o estabelecimento de planos de manejo destas práticas pesqueiras, antes que estas sejam direcionadas para a exploração dos elasmobrânquios (LESSA et al., 2005). O aumento dos volumes capturados, devido à crescente aceitação comercial de seus produtos (nadadeiras, cartilagem e carne, entre outros), associado ao esgotamento de recursos tradicionais, faz com que o manejo dos estoques de elasmobrânquios se torne prioritário (LESSA et al., 2005).

No litoral paranaense, de acordo com dados levantados entre 1980 e 1994, cerca de 6,4% da produção total no setor artesanal era composta por elasmobrânquios. Tal valor superou os valores de capturas específicas de teleósteos de interesse comercial, como pescadas (5,9%) e tainha (5,1%) (PAIVA, 1997). Sabe-se que em algumas artes de pesca, como o fundeio, a porcentagem média representada pelos elasmobrânquios no total de peixes capturados varia de 2,3% da massa ou 0,4% do número de indivíduos e 28,7% da massa ou 20,7% do número de indivíduos, dependendo da malha empregada (BORNATOWSKI; ABILHOA, 2012), demonstrando assim o grande impacto do setor artesanal nas populações costeiras. No entanto, o Paraná possui estatística pesqueira recente (Programa de Monitoramento da Atividade Pesqueira) (Fonte: appa) e ainda muito incipiente no setor artesanal, não contabilizando todas as comunidades pesqueiras do litoral, sendo os dados de pesca para elasmobrânquios muitas vezes não quantificados, e por consequência, subestimados. Ainda, a falta de identificação das espécies é um problema tanto na pesca industrial quanto na artesanal, tornando a gestão adequada das pescarias, bem como a supervisão de espécies protegidas por lei, muito difícil de implementar (BORNATOWSKI et al, 2014).

1.2. Planos de manejo para o grupo

Para maioria dos Planos de gerenciamento de conservação mundial, inclusive do Brasil, é debatida a utilização de práticas compensatórias, como por exemplo, a soltura imediata dos animais, como ferramenta de redução dos impactos da pesca, sobretudo para espécies normalmente obtidas como capturas acessórias e ameaçadas de extinção (WOSNICK, 2017b; FAO, 2011). Estima-se que cerca de 95% das espécies geralmente capturadas na pesca industrial ainda estão vivas quando trazidas à bordo (MOYES et al., 2006). Estudos demonstram que a taxa de sobrevivência pós-liberação de algumas espécies é extremamente alta (MOYES et al., 2006; BRACCINI, 2012; GALLAGHER, et al 2014) reforçando assim a eficiência da soltura imediata. Porém, mesmo para os animais que são capturados com vida e imediatamente liberados, a eficiência das práticas compensatórias pode ser reduzida pelas perturbações fisiológicas causadas (SKOMAL, 2007; SKOMAL; MANDELMAN, 2012) e injúrias provocadas pelo aparato de pesca durante a captura (DAVIS, 2002; RODRIGUES et al., *in prep*), com consequente elevação na taxa de mortalidade pós-soltura e/ou efeitos sub-letais de ordem reprodutiva (GUIDA et al., 2017). Por este motivo, as estimativas de mortalidade e sobrevivência pós-soltura para capturas acessórias são muito importantes para metas de gestão, estas baseadas em cálculo de mortalidade total por esforço de pesca e limites de captura biologicamente aceitáveis (ALVERSON, 1999; DAVIS, 2002). Mesmo que a mortalidade seja influenciada por diversos fatores espécie-específicos (DAVIS, 2002), identificar os aspectos característicos dos processos de captura e manuseio de maior impacto na sobrevivência pós-soltura é uma ferramenta valiosa para estudos de fisiologia da conservação (por exemplo, PARKER et al., 2003; COOKE; SUSKI, 2005).

1.3. Morfofisiologia como ferramenta para conservação do grupo

Sabe-se que para maioria dos vertebrados, os indicadores de estresse primário mais tradicionalmente usados são as catecolaminas e os corticosteroides, sendo o cortisol o hormônio mais amplamente estudado (WINGFIELD; ROMERO, 2001). No entanto, em elasmobrânquios, a utilização deste marcador não é válida, visto que o grupo não o produz/secretora (SKOMAL; BERNAL, 2010; ANDERSON, 2012). O corticosteroide funcional sintetizado pelo grupo é a 1 α -hidroxiccorticosterona, descrito por Idler e Truscott (1966). Entretanto, vários desafios como a natureza química de difícil detecção e expressão (ANDERSON, 2012) e a ausência de kits de leitura em nível comercial impede

seu uso como parâmetro de estresse nestes animais (WOSNICK et al, 2016). Em conjunto, alterações no perfil homeostático estão intrinsecamente relacionadas com a incapacidade de recuperação pós-soltura e, conseqüentemente, às taxas elevadas de mortalidade frente à captura comercial, restringindo significativamente as chances de sobrevivência dos animais capturados (FRICK et al, 2010; MUSYL, 2009; SKOMAL, 2007; WOSNICK et al., 2016). Indicadores de estresse secundário como a ureia, lactato, potássio (K^+) e, mais recentemente, fósforo (P^{3+}) plasmáticos (WOSNICK et al., 2016), indicam disrupção na homeostase, sendo assim marcadores confiáveis para estudos de estresse em elasmobrânquios (BROOKS et al., 2012; GALLAGHER et al., 2014).

Estresse e reprodução normalmente apresentam uma correlação negativa entre si, e com efeitos deletérios subletais ao organismo (WINGFIELD; SAPOLSKY, 2003). Um dos efeitos do estresse sobre a reprodução é a perturbação nas interações entre o eixo-hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) e o eixo hipotálamo-hipófise-gonadal (HPG), responsáveis pela regulação de mecanismos fisiológicos de ordem reprodutiva importantes em vertebrados, incluindo os elasmobrânquios (WINGFIELD; SAPOLSKY, 2003; AWRUCH, 2013). Assim, acredita-se que durante o período reprodutivo, os indivíduos são muito mais vulneráveis à captura devido às altas demandas metabólicas requeridas no período e conseqüente redução nos recursos metabólicos destinados à resposta ao estresse (FRENCH et al., 2007). Conseqüentemente, mínimas respostas ao estresse podem ser altamente custosas em termos metabólicos, interferindo de forma direta e negativa sobre o investimento reprodutivo (WINGFIELD; SAPOLSKY, 2003; AWRUCH, 2013). São também observadas alterações significativas dos aspectos endócrinos, estes altamente relacionados à reprodução (WINGFIELD; SAPOLSKY, 2003).

Elasmobrânquios vivíparos são significativamente vulneráveis a interrupções reprodutivas causadas pelo estresse de captura, pois seus períodos de gestação relativamente longos aumentam a probabilidade de mortalidade pós-soltura ou efeitos reprodutivos sub-letais causados pela captura durante a gravidez (WOSNICK et al., 2017b). Uma das principais conseqüências sub-letais do estresse durante o período reprodutivo em fêmeas é o aborto, caracterizado pela expulsão espontânea prematura de um embrião. Este processo já foi relatado para várias espécies de elasmobrânquios vivíparos, em diferentes estágios de desenvolvimento, como conseqüência da captura e manuseio (ACEVEDO, 2017; ADAMS, 2018; COSTA, 2006; RINCON, 2007; ZAGAGLIA et al., 2011; SCHLUESSEL et al., 2015).

Em machos de alguns vertebrados, sabe-se que a atividade prostática bem como a qualidade, motilidade e volume do esperma pode ser prejudicada (CUI, 1996; ALLYN,

2001), devido ao estresse oxidativo e térmico (ANDRADE, 2010), além de declínio na testosterona e consequente comprometimento da função erétil e redução da libido (WINGFIELD; SAPOLSKY, 2003). Para animais de fertilização interna, os espermatozoides não possuem potencial para motilidade nos testículos. Para algumas espécies já estudadas de elasmobrânquios, foi demonstrado que os espermatozoides são móveis apenas na vesícula seminal e na glândula alcalina e posteriormente à cópula, no útero feminino (MATTHEWS, 1950; WOURMS, 1977). A ativação pode ser consequente a mudanças de osmolalidade, pH, concentração de íons (diferindo entre espécies) e fonte energética experimentada pelas células, a fim de preservar os gametas e ativá-los apenas para fecundação (MINAMIKAWA, 1996). Assim, acredita-se que a osmolalidade do sêmen pode ser útil como indicador de estresse, visto que alterações neste parâmetro podem indicar mudanças induzidas pelo estresse na osmolalidade do plasma sanguíneo, podendo causar disruptura reprodutiva por inativação ou ativação prematura dos gametas (ALLYN, 2006).

Outro processo já observado em várias espécies de vertebrados frente ao estresse, é a eversão intestinal, caracterizada pela exteriorização total ou parcial do reto (CROWN, 1990; CLARK, 2008). Este mecanismo é um indicativo significativo de estresse e já é bem documentado para outros vertebrados, associado a patologias, alterações hormonais, traumas e condições nutricionais (THOMAS et al, 2003; ANDERSON, 2008). Adicionalmente, em elasmobrânquios, no processo de cópula o cláspere é inserido na cloaca da fêmea e então é flexionado através da contração do músculo extensor. A ancoragem do cláspere ocorre pela contração do músculo dilatador que flexiona as cartilagens terminais. O retorno deste estado para a posição de repouso ocorre por relaxamento do músculo dilatador e concomitante contração do músculo labial externo. Quando esta condição ocorre sem estimulação sexual é caracterizado o *flaring* (WOSNICK et al, 2017) e também pode ser considerado um indicativo morfológico de resposta ao estresse.

Outro aspecto importante a ser avaliado é o fator de condição (K), um índice muito utilizado em estudos de biologia pesqueira, pois indica o grau de bem estar do peixe frente ao ambiente em que vive, e seu direcionamento da energia ingerida para seu crescimento e engorda (BRAGA, 1986). O fator de condição reflete aspectos nutricionais recentes e/ou gastos de reservas em atividades cíclicas, sendo possível, relacioná-lo às condições ambientais e aos aspectos comportamentais das espécies (ROSSI-WONGTSCHOWSKI, 1982).

1.4. Caracterização da espécie

Zapteryx brevirostris (MULLER; HENLE, 1841) (Fig.1) é uma batoidea endêmica da costa Sul Americana, apresentando-se do leste do Brasil até o nordeste da Argentina (FIGUEIREDO, 1977). Pertence à família Rhinobatidae juntamente com os gêneros *Aptychotrema*, *Platyrrhina*, *Platyrrhinoidis*, *Pseudobatos*, *Trigonorrhina* e *Zanobattus* (SANTOS, 2006). É conhecida como “raia-viola-de-focinho-curto” ou “cação-gardino”. Apresenta focinho obtuso, coloração entre o verde-oliva e marrom (FISHBASE, 2016), cauda e dorso com coloração mais escura que o resto do corpo, margens da nadadeira peitoral e barbatanas da cauda com coloração pálida e ventre de coloração variando entre o bege, cinza ou amarelo (FISHBASE, 2016). A espécie em questão é carnívora e sua dieta é composta predominantemente por crustáceos, anelídeos poliquetas e ocasionalmente pequenos peixes, cefalópodes e sipunculídeos (MARION, 2009). Sugere-se que estes animais tendem a permanecer em ambientes com menor transparência e maior presença de sedimento, já que estes ambientes permitem maior proteção e maior disponibilidade de nutrientes (SANTOS et al., 2006).



Figura 1. Macho de *Zapteryx brevirostris*. Fonte: A autora.

Pode alcançar um tamanho total de 59 cm para machos e 65 cm para fêmeas (COLONELLO et al., 2011), chegando a pesar 1,9 kg, sendo a maturidade alcançada entre 42–43 cm de comprimento total (BATISTA, 1991; SANTOS et al., 2006). Possui modo reprodutivo vivíparo lecitotrófico, podendo portar em média de quatro a oito embriões (em média seis) por ciclo reprodutivo (BATISTA 1991; ABILHOA et al., 2007). No Paraná, o período de cópula ocorre durante o inverno (junho-agosto), com posterior desenvolvimento embrionário na primavera (setembro-novembro) e parto no verão

(dezembro-fevereiro) (BATISTA, 1991; ABILHOA et al., 2007). Raias-viola tendem a viver em grupos, de aproximadamente um macho para cada dezessete fêmeas (SANTOS et al., 2006). Tais grupos parecem ser formados e mantidos durante todo o período de reprodução, basicamente compostos por indivíduos adultos, sugerindo a permanência de filhotes e juvenis em outras áreas. A segregação sexual e por idade é evidente na espécie, sendo esta estratégia de grande importância e vista como organização social desenvolvida (SPRINGER, 1967), onde há redução na competição entre fêmeas, aumentando assim as chances de sobrevivência das fêmeas jovens e perpetuação da espécie. *Z. brevirostris* é comumente observada no *bycatch* no setor artesanal, sendo capturada em uma gama de artes de pesca no Paraná (COSTA, 2006; CARNIEL, 2008; CATTANI, 2010; SCHWARZ JUNIOR, 2010; DE OLIVEIRA SANTOS et al, 2017). Não possui grande importância comercial, sendo mais utilizada como subsídio para comunidades locais, diferente de outra espécie da família (*P. percellens*). No entanto, sofre a pressão da pesca por fazer parte do descarte.

A espécie em questão parece ser muito tolerante a captura e manejo, com sobrevivência em exposição ao ar de mais de 2 horas, e recuperação total após 24 horas (WOSNICK; FREIRE, 2013). Também foi observada alta capacidade de regulação osmótica e iônica diante de diluição da água do mar, apesar de não ser tipicamente encontrada em regiões estuarinas, comprovando a alta plasticidade e elevada robustez da espécie (WOSNICK; FREIRE, 2013). Por outro lado, estudos conduzidos com a espécie durante o período reprodutivo, mais especificamente fêmeas prenhes, demonstram uma significativa redução da sobrevivência e resiliência, com 25% de mortalidade durante o transporte, 100% de aborto em um período de 26 horas e 60% de mortalidade das fêmeas após consecutivos abortos (WOSNICK, 2017b). No entanto, para machos as respostas fisiológicas frente ao estresse no período reprodutivo, somado a captura, bem como suas consequências não foram analisadas.

Desta forma, o presente trabalho pretende caracterizar fatores de condição (peso e tamanho) aliada as concentrações plasmáticas de triglicerídeos. Verificar possíveis variações das características osmóticas do sêmen, bem como compará-las as concentrações plasmáticas e avaliar as respostas fisiológicas (secundárias) e morfológicas (eversão intestinal e *flaring*) frente ao estresse de captura em machos de *Z. brevirostris* com foco no período de cópula. Com isso se traz informações inéditas para a espécie com o propósito de minimizar o impacto causado pela pesca através da sugestão de práticas de captura e manejo adequadas para os machos da espécie durante este período.

1.5. Objetivos

- Objetivo Geral

Avaliar, através da utilização de indicadores morfofisiológicos, se machos de *Z. Brevirostris* são mais susceptíveis à pesca durante o período reprodutivo.

- Objetivos específicos

- Verificar fatores de condição de forma comparativa entre machos dentro e fora do período cópula (massa corporal e tamanho).
- Avaliar de forma comparativa, através de indicadores plasmáticos de estresse (K^+ , P^{3+} , ureia, lactato), osmolalidade, concentração iônica (Na^+ , Cl^-) e triglicerídeos no plasma, o perfil fisiológico em resposta ao estresse de captura em machos de *Z. brevirostris* dentro e fora do período de cópula
- Avaliar injúrias e alterações morfológicas em machos de *Z. brevirostris* dentro e fora do período de cópula.
- Caracterizar a osmolalidade do sêmen de *Z.bevirostris* frente ao estresse de captura, comparando os valores observados com a osmolalidade do plasma destes animais.

2 METODOLOGIA

2.1. Área de estudo e obtenção dos animais

As coletas foram realizadas mensalmente de julho a outubro de 2017 em Matinhos-PR, junto aos pescadores artesanais da região (Fig.2). O período de coleta foi determinado de acordo com o descrito como o período reprodutivo na região para a espécie (cópula e desenvolvimento embrionário). No total foram realizadas seis coletas e amostrados 34 indivíduos ($n = 4$ vivos e $n = 30$ mortos). No entanto, apenas 24 animais mortos foram considerados devido à viabilidade e quantidade das amostras de plasma. O comprimento total (CT) variou de 40-49 cm (média $44,5 \pm DP 1,90$ cm) e peso total (PT) de 440-690 g (média $541.2 \pm DP 60,6$ g).

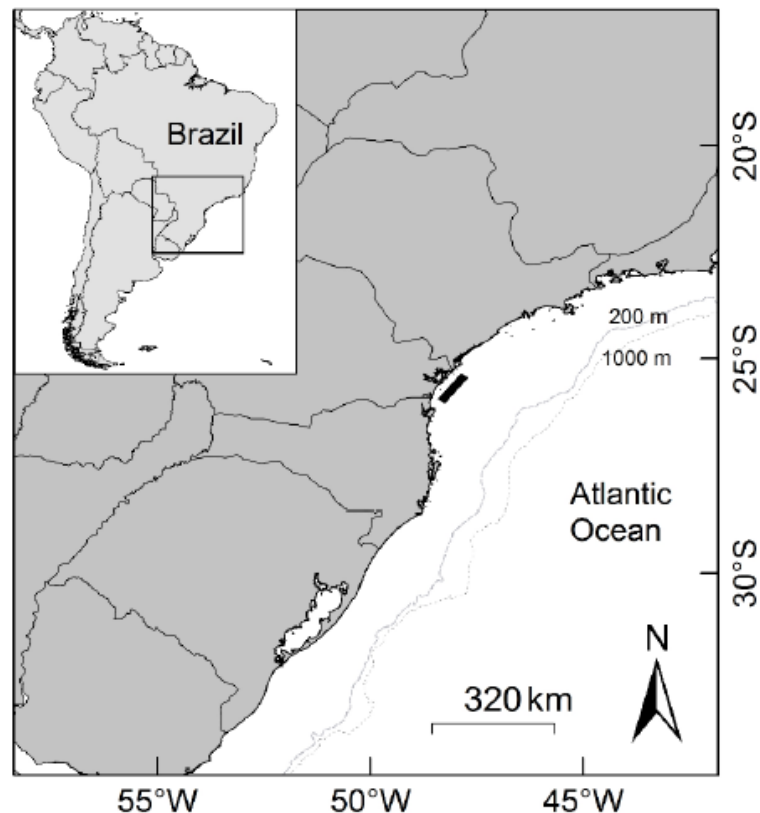


Figura 2. Área de estudo, Mercado Municipal de Peixes de Matinhos-PR. Fonte: Wosnick, 2017b feito por Bornatowski, H.

Os animais foram adquiridos em sua maioria mortos na despesca no mercado de Matinhos e ocasionalmente vivos, devido ao alto índice de mortalidade observado no período. Os que estavam vivos foram comprados dos pescadores, amostrados e transportados de acordo com protocolo estabelecido por Smith et al. (2004) (caixas

plásticas com aeração e troca parcial de água constantes) a fim de reduzir o estresse. Os animais mortos foram devolvidos aos pescadores após as amostragens biológicas.

Foi estabelecido um grupo controle (n = 21) caracterizado por machos coletados fora do período reprodutivo pela Dr^a Natascha Wosnick em sua tese de Doutorado (Dados não publicados).

2.2. Monitoramento e amostragem dos animais vivos

Todos os animais tiveram mensurado o peso total (P em gramas) em balança de precisão portátil e comprimento total (CT em mm) e largura do disco (LD em mm) com auxílio de fita métrica para análise de Fator de Condição de Fulton (K) (Fig. 3). Também foram avaliados quanto à presença de eversão intestinal e injúrias.

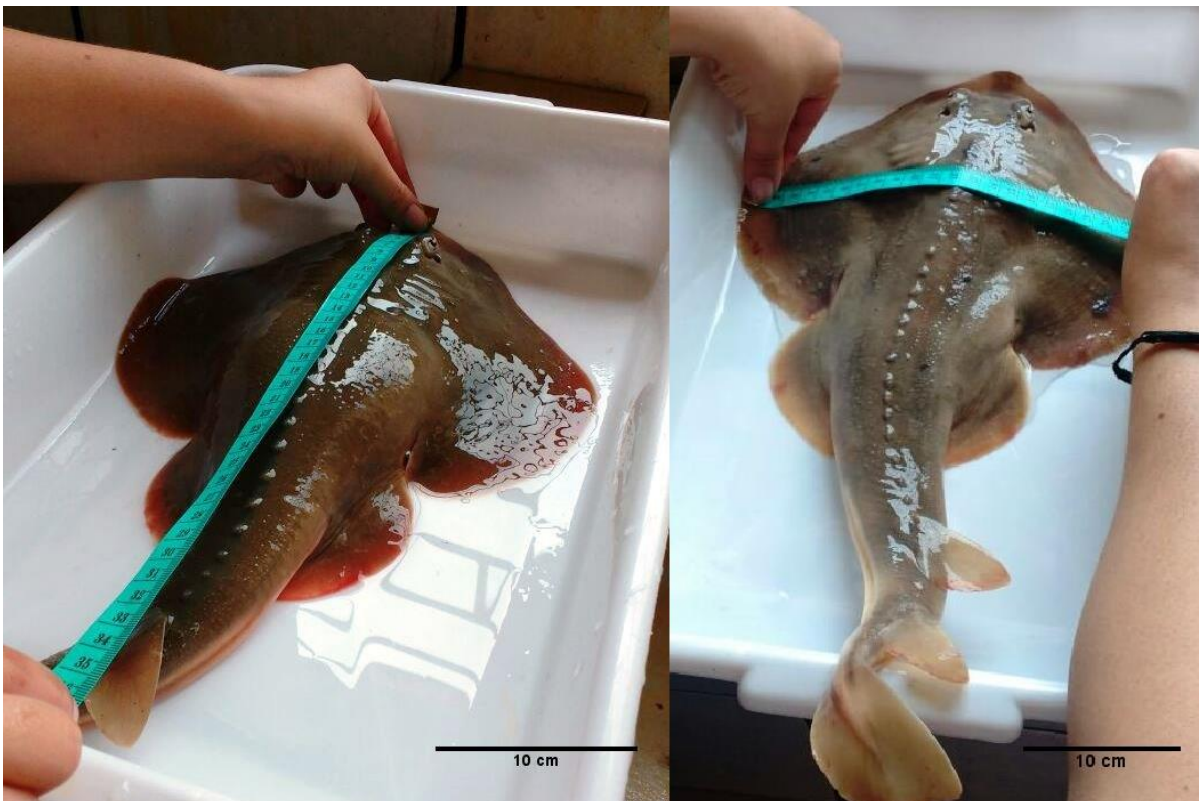


Figura 3. Coleta de biometria (comprimento total - CT e largura do disco - LD) dos animais.
Fonte: A autora.

Posteriormente, o sangue foi coletado via punção caudal (Fig. 4) para centrifugação e uso do plasma para as análises laboratoriais de Na^+ , Cl^- , K^+ , P^{3+} , ureia, lactato, osmolalidade e triglicerídeos. A coleta de sêmen não foi realizada devido à invasividade do método utilizado nos animais em morbidade e pela presença de contração muscular no cláspes dos animais vivos, impossibilitando a retirada de material.



Figura 4. Coleta de sangue de macho vivo de *Z. brevirostris* via punção caudal, método eficaz e rápido evitando estresse em demasia do animal. Fonte: A autora.

Após as amostragens, os animais foram transferidos para caixas plásticas (A x C x L: 42,5 x 30,7 x 30,5cm; capacidade 30 L), contendo ~5 L de água do mar e aeração constante para monitoramento (Fig 5. A), aclimação e posterior soltura (Figura 5. B).

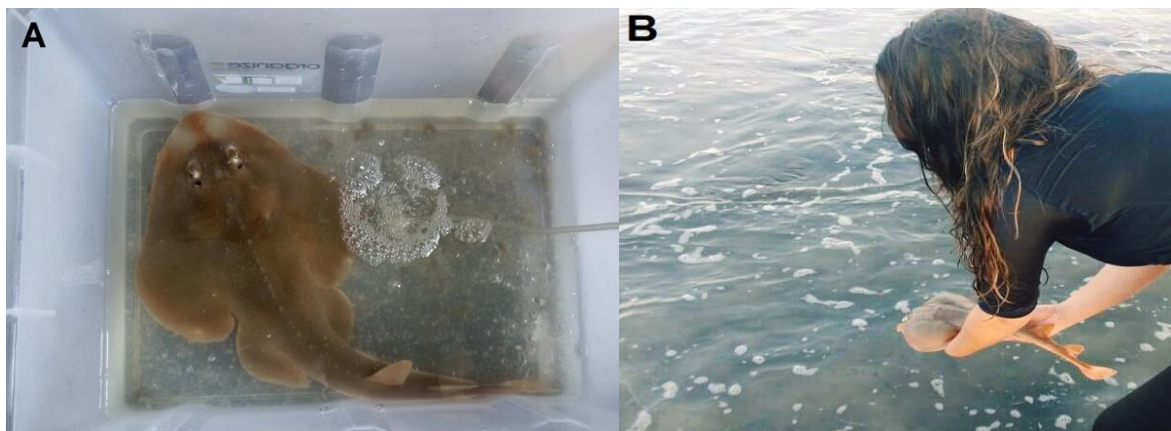


Figura 5.A. Monitoramento de *Z. brevirostris* em caixa plástica com água e aeração constante e B. Soltura do indivíduo ao mar após monitoramento e avaliação da condição física. Fonte: A autora.

2.3. Amostragem dos animais mortos e caracterização da condição física

Os animais em morbidade (n = 24) também foram submetidos à biometria. O sangue dos animais mortos também foi retirado via punção caudal ou via coração, quando difícil acesso à veia caudal (Fig. 6) e centrifugado para posterior utilização do plasma para as análises dos mesmos marcadores descritos para os animais vivos em uma abordagem *post-mortem* (controle negativo).

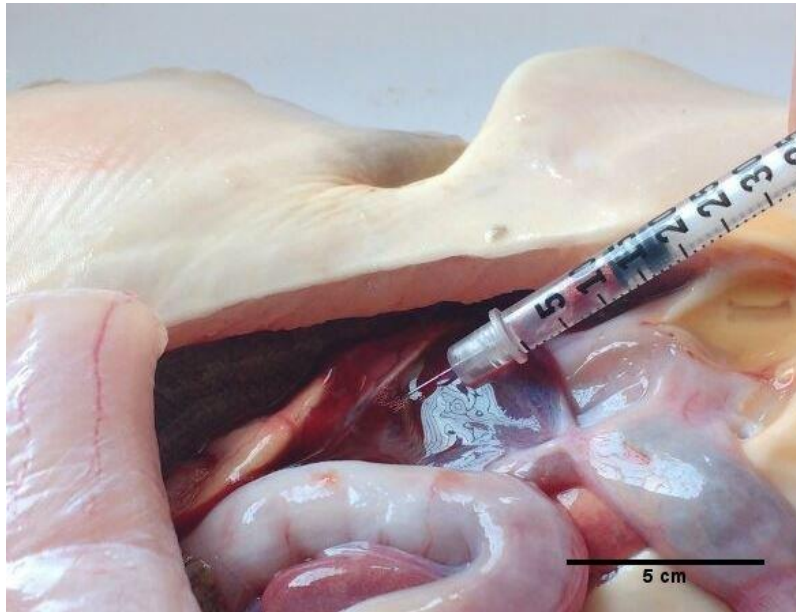


Figura 6. Coleta de sangue de *Z. brevirostris* por punção cardíaca nos animais mortos devido a dificuldade de acesso a veia caudal. Fonte: A autora.

A coleta de sêmen, para avaliação da osmolalidade, foi realizada via pressão anteroposterior do clássper com recolhimento do material com auxílio de espátula (Fig. 7).



Figura 7. Coleta de sêmen de macho de *Z. brevirostris* em morbidade via pressão anteroposterior do clássper e auxílio de espátula para recolhimento do material biológico. Fonte: A autora.

Tanto o plasma como o sêmen foram armazenados e preservados em isopor com gelo laboratorial para transporte e análises posteriores em Curitiba. Tais análises dos marcadores secundários de estresse, triglicerídeos, osmolalidade plasmática e

espermática e concentração iônica foram realizadas no Laboratório de Fisiologia Comparativa de Osmorregulação da Universidade Federal do Paraná (LFCO).

2.4. Análises laboratoriais dos parâmetros fisiológicos

A osmolalidade do plasma e do sêmen foi determinada utilizando osmômetro de pressão de vapor VAPRO 5520 (Wescor, EUA), usando amostras não diluídas. As concentrações de sódio e potássio foram determinadas em amostras diluídas (1:200) de forma a situarem-se na faixa de leitura (padrão com 100,2 mM de Na⁺ e 10 mM de K⁺) dos métodos por fotometria de chama (Fotômetro de Chama CELM FC- 180). As concentrações de cloreto (1:2) (catálogo n. ° 115, comprimento de onda 470 nm), ureia (1:50) (Labtest, Brasil, catálogo n. ° 27, comprimento de onda 600nm), lactato (Catálogo n.° 138-1/50, comprimento de onda 550nm), fósforo (catálogo n.° 42, onda- Comprimento 650 nm) e triglicérides (catálogo n.º 87; comprimento de onda 505 nm) foram quantificados colorimetricamente (Ultrospec 2100 PRO Amersham Pharmacia biotech, Suécia) utilizando kits comerciais (Labtest, Brasil), com leitura de absorbância em 470 nm, 505 nm e 600 nm, respectivamente.

2.5. Análises estatísticas

Os dados foram analisados estatisticamente de acordo com os três grupos estabelecidos no modelo experimental: (1) controle - machos vivos fora do período de cópula (VFPC; n = 21); (2) condição estressora 1 - machos vivos no período de cópula (VDPC; n = 4) (3) condição estressora 2 - machos no período de cópula que sucumbiram ao estresse de captura (MDPC; n = 24). O fator de condição de Fulton (K) foi estimado de acordo Blackwell, Brown e Willis (2000):

$$K = \left(\frac{P}{CT^3}\right) \times 10^3$$

Onde, P é o peso (g), CT é o comprimento total (mm), e 10³ é uma constante utilizada para fins de escala (o valor resultante deve ser próximo de um dígito e uma casa decimal).

O teste t de Student foi usado para avaliar diferenças entre a osmolalidade dos machos vivos fora do período de cópula e mortos no período de cópula, bem como para a comparação entre a osmolalidade do plasma e do sêmen. Para comparação dos três grupos entre K^+ , P^{3+} (a comparação de animais dentro do período de cópula não puderam ser realizadas devido a insuficiência de amostras), Na^+ , ureia, lactato, triglicerídeos e fator de condição foi utilizado teste de Kruskal-Wallis com *post hoc* de método de Dunn. O método de Holm-Sidak foi utilizado apenas para o Cl^- . Ambos os testes foram aplicados nos três grupos com limite de significância de 0,05, usando o software Sigma Plot® version 11.0 (Systat Software, Inc – USA).

3 RESULTADOS

3.1. Obtenção dos animais, condição física e monitoramento

Durante as coletas os desembarques do dia foram observados, acompanhando-se todas as modalidades de pesca. No período de coleta, a arte de pesca que mais apresentou *Z. brevirostris* foi a de rede de emalhe de 16 cm entre nós opostos, esta direcionada ao linguado (*Paralichthys* spp.) no inverno e primavera, com um esforço de pesca de 48 horas. Destaca-se que no período houve alta ocorrência de machos ($n = 39$) em relação às fêmeas ($n = 6$) (Fig. 8).

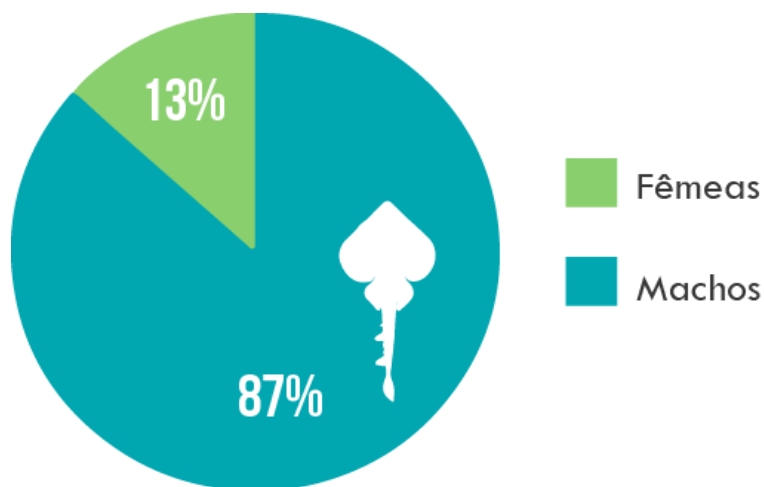


Figura 8. Porcentagem da ocorrência de machos e fêmeas coletados no período de cópula em Matinhos-PR. Fonte: A autora.

Ao todo 10 animais (quatro machos e seis fêmeas) foram monitorados e posteriormente devolvidos ao mar aparentemente saudáveis e responsivos. As seis fêmeas estavam prenhes e não apresentaram processo abortivo durante o período de monitoramento (~2 horas) e soltura.

Injúrias como eversão intestinal, ruptura da vesícula biliar, hematomas, *flaring* (modificação das cartilagens distais dos clasperes fora do corpo da fêmea – para mais detalhes ver WOSNICK et al. 2017a), lesões e fraturas foram observadas nos animais vivos e mortos (Fig. 8), causadas principalmente pelo atrito com as redes devido a movimentação do animal, compressão exercida por outros animais devido empilhamento destes, e manejo incorreto dos animais pelos pescadores (observação de campo). Foi observada uma alta mortalidade no período, representando 89% dos animais analisados, no entanto, este valor é subestimado, já que não foram coletadas amostras de todos os indivíduos desembarcados no período, devido justamente, ao grande volume de animais

mortos impossibilitando a amostragem de todos e a prioridade em retirar amostras dos animais capturados recentemente e mais frescos (observação de campo).

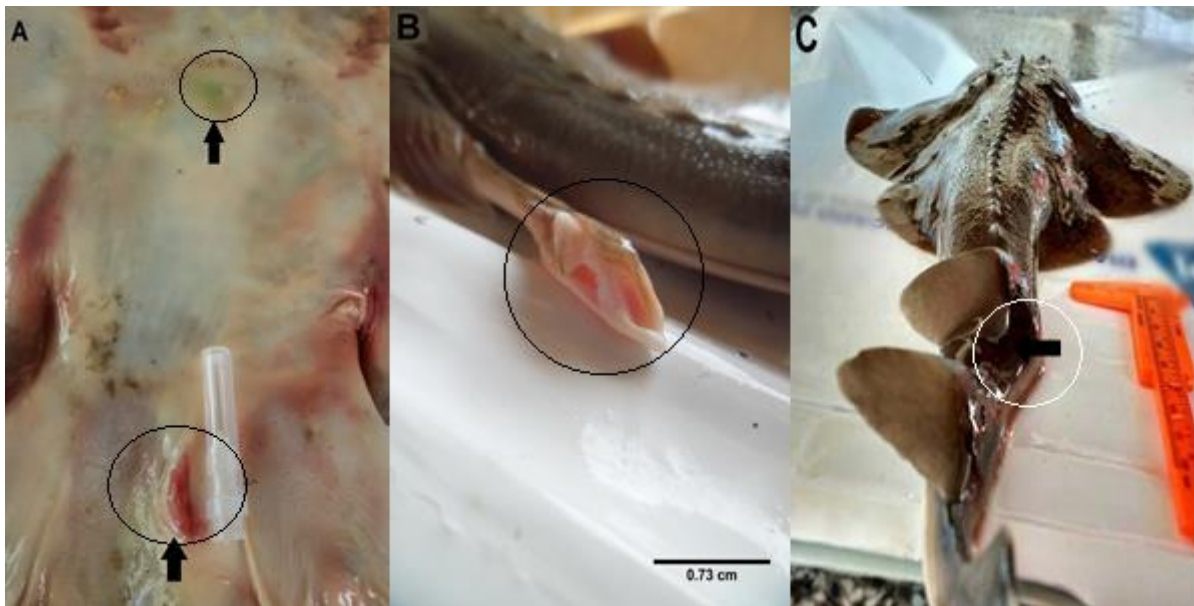


Figura 9. Injúrias observadas nos animais coletados: A. Círculo superior: Rompimento da vesícula biliar; círculo inferior: eversão intestinal (exposição parcial do intestino); B. Flaring (modificação das cartilagens distais dos clasperes fora do corpo da fêmea) e C. Fratura da cauda. Fonte: A autora

Aliado a isso, o fator de condição de Fulton (K) e a análise de triglicerídeos (Fig. 10) mostraram que no período de cópula (VDPC e MDPC) os animais estavam cerca de 300 g mais magros e com concentrações plasmáticas significativamente mais altas de triglicerídeos (K e triglicerídeos: $p < 0,001$; $H = 26,850$ e $H = 28,582$) comparado aos vivos fora do período e no período.

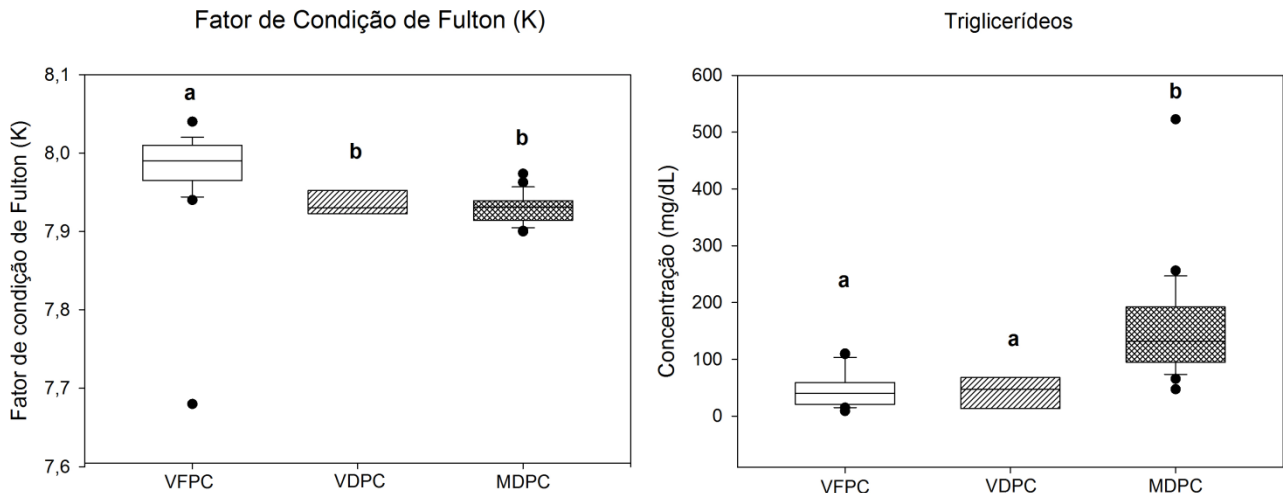


Figura 10. Fator de condição de Fulton (K) e de triglicerídeos dos machos vivos fora do período de cópula (VFPC), dentro do período de cópula (VDPC) e mortos dentro do período de cópula (MDPC). O Fator de condição (K) apresentou diferença entre os animais vivos fora do período de cópula (VFPC) (a) e vivos e mortos dentro do período de cópula (VDPC e MDPC) (b). (•) representam os valores atípicos (outliers).

3.2. Concentrações de ureia, lactato, fósforo e potássio plasmático.

As concentrações plasmáticas de ureia não apresentaram diferença estatística entre os grupos ($p = 0,055$; $H = 5,815$) (Fig. 11A). O lactato muscular produzido devido à anaerobiose apresentou-se significativamente mais elevado nos animais mortos no período de cópula (MDPC) ($p < 0,001$; $H = 37,083$) comparado aos vivos fora do período (VFPC) e dos vivos dentro do período (VDPC) (Fig. 10B). O mesmo padrão foi observado para a concentração plasmática de P^{3+} (comparação entre vivos fora do período de cópula e mortos dentro do período devido à insuficiência de amostra dos vivos dentro do período; Fig. 10C) e K^+ , (Fig. 10D) (P^{3+} e K^+ : $p < 0,001$; $H = 37,306$ e $33,694$).

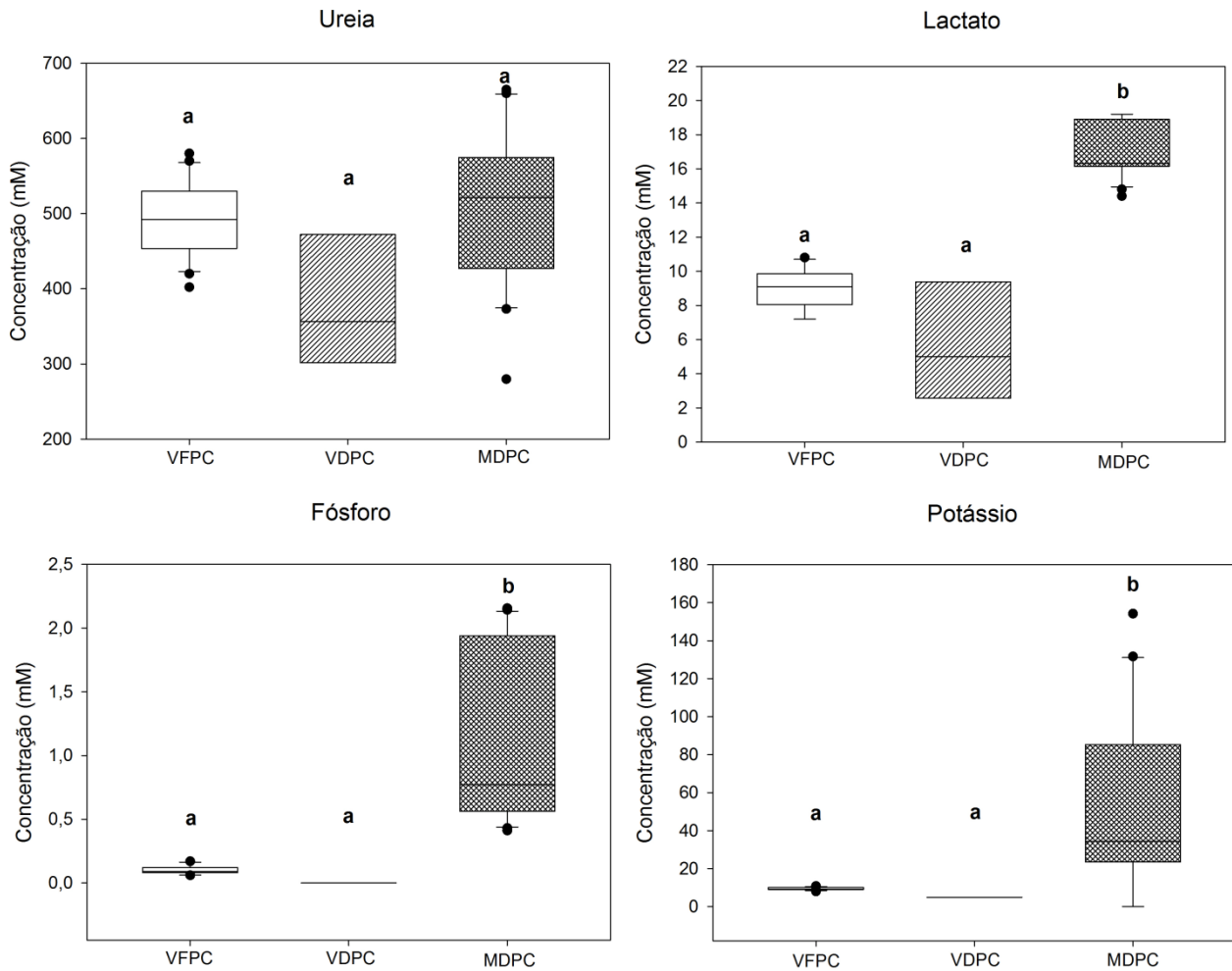


Figura 11. Parâmetros fisiológicos nos machos vivos fora do período de cópula (VFPC), vivos dentro do período de cópula (VDPC) e mortos dentro do período de cópula (MDPC): A) Ureia: não apresentou diferença entre os grupos (a); B) Lactato: apresentou diferença nos mortos dentro do período (MDPC) em relação aos grupos dos vivos (b); C) Fósforo: apresentou diferença nos mortos dentro do período (MDPC) em relação aos grupos dos vivos (b) e D) Potássio: apresentou diferença nos mortos dentro do período (MDPC) em relação aos grupos dos vivos (b). (•) representam os valores atípicos (*outliers*).

3.3. Osmolalidade, sódio e cloreto plasmático

A osmolalidade foi medida apenas para os animais fora do período de cópula (VFPC) e mortos no período de cópula (MDPC) devido a pouca quantidade de amostras disponíveis para avaliar os vivos dentro do período (VDPC). Não houve diferença estatística entre os machos mortos no período de cópula e os vivos fora do período ($p=0,724$; $t = -0,355$) (Fig.12).

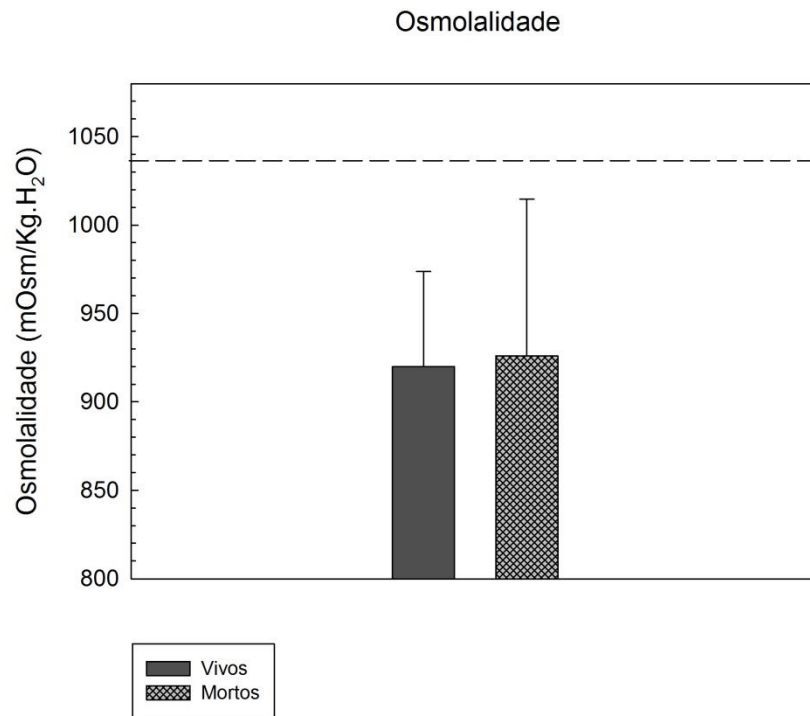


Figura 12. Osmolalidade de machos vivos fora do período de cópula (VDPC) e mortos no período de cópula (MDPC). Não houve diferença na osmolalidade entre os grupos analisados.

As concentrações plasmáticas de Na⁺ se mostraram significativamente mais elevadas nos animais mortos dentro do período de cópula (MDPC) ($p < 0,001$; $H = 20,944$), comparado aos vivos fora do período (VFPC) e vivos dentro do período (VDPC). Diferentemente, para o cloreto houve diferença significativa para os animais vivos dentro do período de cópula (VDPC; $p < 0,01$), comparado aos outros grupos (Fig.13).

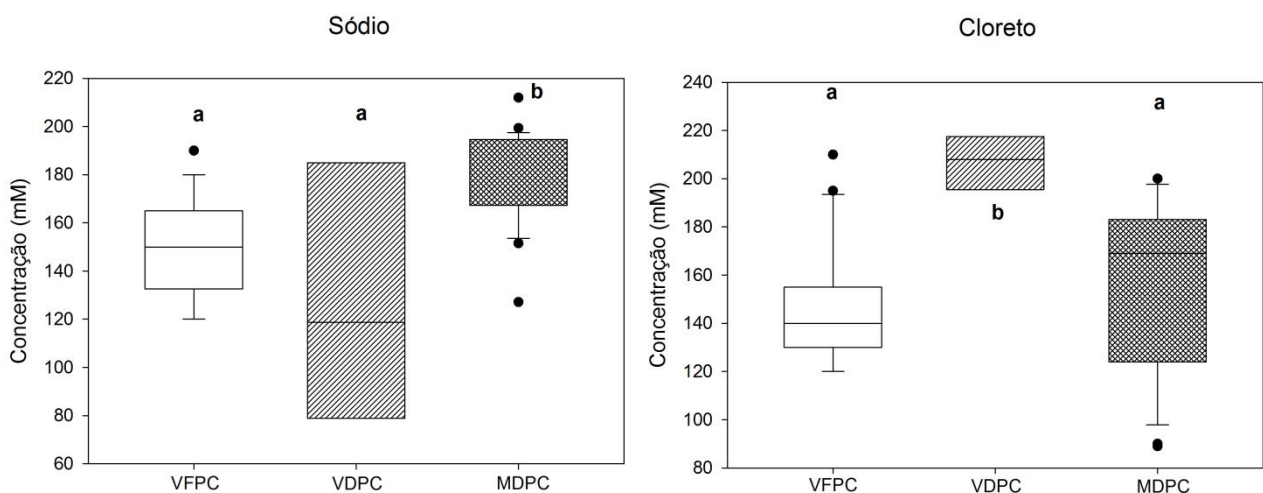


Figura 13. Concentrações plasmáticas de sódio e cloreto em machos vivos fora do período de cópula (VFPC) e vivos (VDPC) e mortos no período e cópula (MDPC). Para o sódio não houve diferença entre os machos vivos fora e dentro do período de cópula (a). Houve diferença entre os vivos dentro e fora do período de cópula comparado aos mortos dentro do período de cópula (MDPC) (b). O cloreto apresentou diferença apenas para os vivos dentro do período de cópula (VDPC). (•) representam os valores atípicos (*outliers*).

3.4. Características e osmolalidade do sêmen

O sêmen de todos os indivíduos apresentou, imediatamente após a coleta, aspecto líquido, com coloração branca, pouca viscosidade, e com volume médio de aproximadamente 0,5 ml. Após coletado houve alteração das características citadas, com posterior presença de aspecto gelatinoso e denso, alta viscosidade e transparência.

A osmolalidade do sêmen foi hiposmótica em relação à plasmática, diferindo significativamente ($p < 0,001$, Fig.14). Foi feita a comparação apenas com oito indivíduos devido às dificuldades encontradas nos procedimentos de leitura das amostras, as quais apresentaram aspecto muito gelatinoso e de difícil manuseio, impossibilitando a análise de todas.

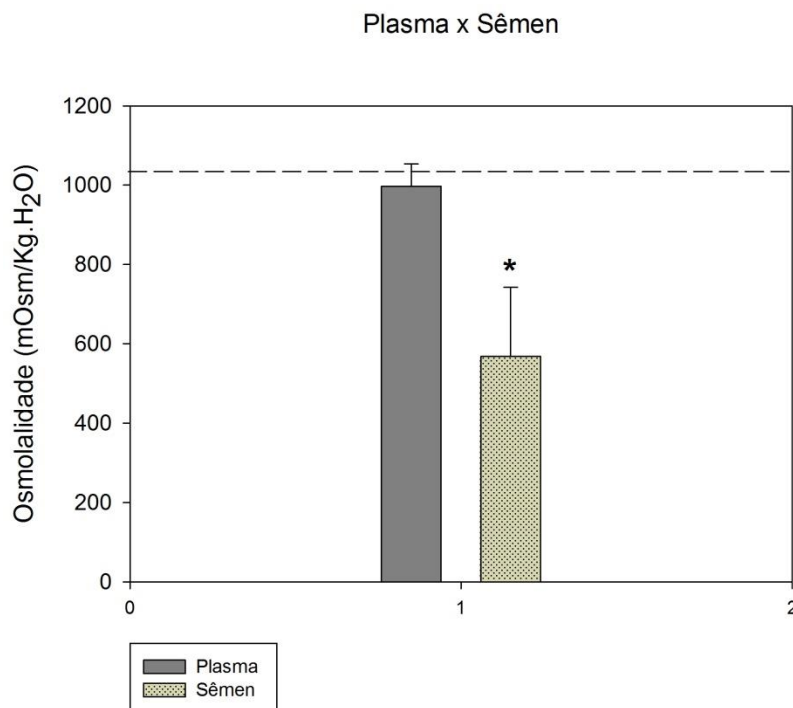


Figura 14. Osmolalidade do plasma e do sêmen de *Z. brevirostris* (n=8). (*) indica diferença na osmolalidade do plasma e do sêmen. Sêmen hiposmótico em relação ao plasma.

4 DISCUSSÃO

A alta porcentagem de captura dos indivíduos no período de cópula associada à alta mortalidade é preocupante. A captura de elasmobrânquios relatada tem sido cada vez mais dominada por batoidea, que constituíram mais que a metade dos desembarques taxonomicamente diferenciados reportados nas últimas quatro décadas (DULVY et al, 2014). Associado a isso, o relatório específico sobre a captura incidental de batoidea carece de dados em escala global, e as melhorias nas estatísticas de captura incidental espécie-específicas são necessárias para permitir um melhor monitoramento das populações e estratégias de gerenciamento efetivas (STEVENS et al., 2000, OLIVER et al., 2015). Sabe-se que os descartes comerciais são altamente compostos de biomassa parental, por este motivo os planos de manejo precisam levar em consideração a taxa de mortalidade e a sobrevivência pós-liberação de fêmeas grávidas e/ou maduros e machos sexualmente ativos, a fim de acessar adequadamente os impactos ecológicos da pesca ininterrupta (MUSYL et al., 2011).

O número elevado de machos mortos desembarcados pode estar associado à fragilidade desses animais no período reprodutivo. Diferentemente das fêmeas, os machos ficam mais fragilizados fisicamente devido à redução dos estoques energéticos disponibilizados para o processo de cópula. Sabe-se que elasmobrânquios não possuem tecido adiposo e seu metabolismo lipídico envolve uma diversidade de formas de armazenamento e uma organização metabólica diferente de qualquer outro grupo de vertebrados, sendo o fígado o principal local de armazenamento de lipídios (BALLANTYNEA, 1997). Conseqüentemente, uma fonte rápida de energia para o grupo são os corpos cetônicos, sintetizados por precursores lipídicos (BALLANTYNEA, 1997). Sabendo do metabolismo lipídico diferenciado do grupo, os níveis de triglicerídeos, bem como o fator de condição de Fulton (K) foram avaliados e esperava-se que fossem maiores nos animais mais magros (MDPC), devido à utilização do estoque lipídico pela fase reprodutiva, pois se sabe que este período muda as concentrações plasmáticas de lipídios (BALLANTYNEA, 1997). As análises corroboram com a hipótese inicial de que os machos no período de cópula apresentam concentrações de triglicerídeos elevadas no plasma. O mesmo perfil foi encontrado para outras espécies de elasmobrânquios dentro do período reprodutivo (GARCIA-GARRIDO et al, 1990), onde as taxas de triglicerídeos se mostraram elevadas principalmente em machos que possuíam transporte de esperma nas vesículas seminais e em processo de espermatogênese.

Sugere-se que a concentração de triglicerídeos, aliada a outras que não foram avaliadas aqui, como colesterol e ácidos graxos livres, pode estar relacionada ao estresse de captura fora do período reprodutivo, visto que altas concentrações são mobilizadas dos tecidos e liberadas na circulação durante episódios de luta e fuga. De acordo com Peters et al. (1980) e Vijayan et al. (1991), as catecolaminas e o cortisol facilitam a utilização de triglicerídeos, por ativação das lipases, aumentando a concentração de ácidos graxos livres, caracterizando uma possível fonte energética em condições de aumento de demanda fisiológica em peixes frente ao estresse (PETERS, 1980; VIJAYAN, 1991). Ainda, avaliar estes parâmetros disponibilizam informações importantes sobre o metabolismo desses animais, contribuindo com a fisiologia da conservação por fornecer informações sobre o estado nutricional dos indivíduos (GALLAGHER et al, 2017). No entanto, é preciso avaliar com cautela estes parâmetros, sendo difícil evidenciar e distinguir a real causa das mudanças plasmáticas de lipídeos. Gallagher et al (2017) mostraram em seu trabalho com três espécies de tubarões a variação nos níveis de triglicerídeos plasmáticos espécie-específica, sugerindo que esta variação pode refletir vários fatores como a atividade de alimentação recente, diferentes estados fisiológicos (maturação, jejum, repouso, temperatura, etc.), tamanho, ou mesmo a variabilidade genética (GALLAGHER, et al 2017), sendo necessárias pesquisas adicionais para investigar mais esses mecanismos potenciais. Sabe-se que a dieta tem influência sobre a concentração de lipídeos de formas variadas. Estudos experimentais que investigaram a resposta dos lipídios plasmáticos de tubarão à dieta mostraram resultados mistos. Foi observado que os lipídios plasmáticos de *Squalus spp.* respondem à alimentação diferente que nos teleósteos (WOOD et al., 2010). Após 150 dias sem alimento, as concentrações de ácidos graxos livres no tubarão diminuíram, enquanto as concentrações de cetona aumentaram, sugerindo sua importância como combustível durante a falta de alimentos (ZAMMIT; NEWSHOLME, 1979). Como já citado anteriormente, sabe-se que o estado reprodutivo também influencia as mudanças lipídicas no plasma, podendo as concentrações serem alteradas devido ao sexo, faixa etária, síntese de hormônios, gametas (GARCIA-GARRIDO et al, 1990) e vitelo, no caso das fêmeas (CRAIK, 1978 a; CRAIK, 1978b). A redução de peso dos animais durante o período de cópula pode estar mais relacionada à perda muscular devido à realocação e oxidação dos aminoácidos para o metabolismo energético do que dos lipídios de fato, já que estes se mostraram elevados e não são um importante substrato oxidativo em tecidos extra-hepáticos (BALLANTYNEA, 1997). Uma possível explicação da elevada concentração plasmática de triglicérides, não relacionada à perda de peso, seria justamente a destinação exclusiva aos processos

reprodutivos, já que nos animais fora do período reprodutivo as concentrações foram semelhantes às descritas para outras espécies também fora do período reprodutivo (SARGENT, 1973; GARCIA-GARRIDO et al, 1990; BRITO, 2012).

Nos elasmobrânquios, diferentemente dos teleósteos, a ureia é o osmólito de maior importância, regulando a homeostase e osmolalidade. Para o presente estudo a ureia não demonstrou alterações significativas, o que indica que a homeostasia da ureia, essencial para os elasmobrânquios em salinidade alta, foi mantida. No entanto, em estudos recentes com tubarão-tigre (*Galeocerdo cuvier*) (WOSNICK et al, 2016) e com fêmeas de *Z. brevirostris* (WOSNICK, 2017b) a ureia mostrou-se um bom marcador de estresse. No presente estudo, a ureia não demonstrou o mesmo padrão para o estresse. Provavelmente o perfil homeostático dos machos tem maior representatividade do sódio do que da ureia, uma vez que as alterações nas concentrações de sódio plasmático foram mais significativas, sendo o mesmo perfil observado para *P. glauca* (MOYES, 2006). Assim, não apenas estudos de estresse em nível espécie-específico são necessários, como também uma detalhada caracterização das diferenças observadas entre gêneros, e possivelmente entre estágios de vida, visto que diferenças na resposta ao estresse podem ser elucidadas.

A comparação entre machos vivos fora do período de cópula e vivos e mortos no período de cópula demonstrou que o lactato, potássio e fósforo plasmáticos apresentaram alterações significativas. O lactato é produzido frente anaerobiose, resultando em acumulação intramuscular aguda de produtos finais metabólicos, e um efluxo de lactato e prótons das células musculares para o sangue, levando a acidose metabólica e possível danos celulares irreversíveis (ABELOW, 1998; SKOMAL, 2007; apud SKOMAL; BERNAL, 2010; SKOMAL; MANDELMAN, 2012). Logo, o aumento no lactato plasmático nos animais mortos já era esperado, já que um aumento na demanda energética é observado durante a captura como resposta fisiológica para luta e fuga (BONE, 1988; PIKERINGI; POTTINGER, 1995; HOFFMAYER; PARSONS, 2015). A hipercalemia observada, devido ao efluxo de K^+ intracelular, das células musculares e conseqüentemente sua acumulação no sangue, pode gerar acidose intracelular, que por sua vez pode induzir danos celulares, alterar os gradientes eletroquímicos e afetar a locomoção e função miocárdica (CLIFF; THURMAN, 1984; MOYES et al., 2006). Este cenário já foi relatado em vários estudos com elasmobrânquios, onde os níveis de K^+ aumentam significativamente em resposta ao estresse (por exemplo, WELLS et al., 1986; MANIRE et al., 2001; MOYES et al., 2006; MANDELMAN; FARRINGTON, 2007; FRICK et al., 2010). O fósforo, muitas vezes negligenciado, foi demonstrado no presente estudo como um bom marcador de estresse,

corroborando com o observado recentemente por Wosnick et al, 2016. As concentrações desse osmólito se mostraram 100 vezes maiores nos animais mortos quando comparado às concentrações dos vivos, sugerindo que os animais em período reprodutivo são muito mais sensíveis ao estresse. Um padrão semelhante foi encontrado em *G. cuvier*, onde os valores de P^{3+} eram cinco vezes mais altos em animais mortos (WOSNICK et al, 2016).

O cloreto plasmático demonstrou alterações significativas para os animais vivos dentro do período de cópula. Este resultado, aliado a constância nas concentrações de sódio, pode estar relacionado à acidose metabólica devido à hipóxia. Sabe-se que em vertebrados, incluindo peixes, a regulação ácido-base é ligada à excreção de dióxido de carbono (CO_2) através de reações reversíveis de hidratação / desidratação de CO_2 e ácido-base equivalentes H^+ e HCO_3^- (GILMOUR; PERRY, 2009). No entanto, esta regulação também é acoplada à regulação iônica, pois a compensação ácido-base depende principalmente da transferência direta de H^+ e HCO_3^- em toda a brânquia em troca de Na^+ e Cl^- , através da anidrase carbônica (CA) do trocador bicarbonato-cloreto, respectivamente (EVANS et al, 2000; FREIRE et al, 2008; GILMOUR; PERRY, 2009). A regulação do movimento de NaCl em toda a brânquia, por sua vez, é a base da manutenção do equilíbrio iônico e osmótico em peixes (GILMOUR; PERRY, 2009). Em período prolongado de hipóxia ou exaustão muscular devido a captura, a funcionalidade desses mecanismos pode ter sido prejudicada, impossibilitando a entrada de Na^+ e Cl^- nas células e conseqüentemente o tamponamento sanguíneo, acarretando em acidose.

A osmolalidade do plasma dos animais mortos no período de cópula também não demonstrou alteração significativa comparada aos vivos fora do período, sendo hiposmótica. Este resultado pode estar relacionado ao tempo de captura dos animais. Para tubarões, por exemplo, foi observado aumento da osmolalidade após 3 horas de captura (CLIFF; THURMAN, 1984). Wosnick e Freire, 2013 observaram em seu estudo redução da osmolalidade em *Z. brevirostris* após 6 a 12 horas de exposição do animal a salinidades mais baixas (WOSNICK; FREIRE, 2013), demonstrando maior capacidade de regulação desta espécie.

Para a comparação entre a osmolalidade do plasma e do sêmen foi observada diferença significativa, sendo o sêmen hiposmótico em relação ao plasma. O mesmo foi relatado para o tubarão *Triakis scyllium* (MINAMIKAWA; MORISAWA, 1996) e era esperado, uma vez que em teoria os espermatozoides são ativados pela água do mar em peixes, a manutenção do sêmen em osmolalidade menor do que o ambiente externo garante que estes não sejam ativados prematuramente e não haja alteração reprodutiva. No entanto, mais estudos são necessários para avaliar os possíveis efeitos do estresse

de captura nos gametas desses animais, pois uma mudança na osmolalidade plasmática pode acabar influenciando a osmolalidade seminal, levando a uma possível ativação prematura dos gametas ou mortalidade destes.

Aliados aos parâmetros fisiológicos, nutricionais e reprodutivos, foram observados fatores morfológicos como possíveis indicadores de estresse. As injúrias são negligenciadas em muitos estudos e pouco se sabe como as lesões, mesmo que pequenas podem afetar o animal. As injúrias observadas nos animais amostrados demonstram o quão estressante e debilitante a captura é para o animal e que dependendo da lesão sofrida, mesmo que haja soltura compensatória, o indivíduo pode não sobreviver. Rodrigues et al. (*in prep*) observaram em seu estudo com 9 espécies de raias, que de fato as injúrias são muito comuns na captura artesanal e que todos os animais amostrados apresentaram algum nível de ferimento, relacionado ao esforço e aparato de pesca. No presente estudo foram observadas injúrias de vários níveis, desde pequenos hematomas a fraturas, eversão intestinal, rompimento da bile e *flaring*. Este último foi observado recentemente em *Z. brevirostris* por Wosnick et al. (2017a) no uso do anestésico Eugenol. Os parâmetros fisiológicos para os indivíduos que apresentaram eversão intestinal foram os mais elevados para a maioria dos marcadores de estresse. No entanto, o indivíduo que apresentou *flaring* obteve os maiores valores para os marcadores lactato (19,2 mM), fósforo (69 mM) e potássio (154 mM) (possível lise celular), demonstrando que este mecanismo deve ser considerado resultante de alto grau de estresse (WOSNICK et al, 2017a) e que pode afetar potencialmente a capacidade reprodutiva e em casos extremos, levar à morte do animal. Portanto, sugere-se que as injúrias sejam consideradas em estudos futuros, pois devem ter alguma correlação direta com o nível de estresse.

Uma vez que a maioria dos marcadores testados são ferramentas confiáveis para avaliar o estresse em elasmobrânquios (BROOKS et al., 2012; MANDELMAN E FARRINGTON, 2007; GALLAGHER et al., 2014; WOSNICK et al., 2016) exceto pela ureia neste caso, é aceitável inferir que, os machos mortos no período de cópula são muitos mais vulneráveis, mostrando perda de equilíbrio homeostático/osmótico e metabólico como resposta fisiológica ao estresse causado pela captura.

Embora muitos animais sejam liberados, pouco se sabe sobre a sobrevivência pós-soltura ou consequências sub-letais das interações da pesca, ou avaliações de diferentes estratégias de manuseio, sendo difícil quantificar o custo real das capturas acessórias ou recomendar estratégias de manuseio para os pescadores. No entanto, para *Z. brevirostris* a frequência de ocorrência de machos maduros nos desembarques na primavera é alta

(BORNATOWSKI, ABILHOA, 2012; COSTA, CHAVES, 2006) devido a pesca de fundeio na qual a espécie é capturada. Esta arte é caracterizada por malha de 16 a 22 cm entre nós opostos, a qual é fixada ao substrato através de âncoras de ferro, ocorrendo a despesca geralmente, diariamente ou a cada dois dias (AFONSO, 2016), sendo liberada o ano todo e visando a pesca de teleósteos de importância comercial, como pescadas (*Cynoscion* spp), corvina (*Micropogonias furnieri*), bagre (*Genidens barbatus*), linguado (*Paralichthys* spp), mistura (peixes de pequeno porte e sem valor comercial), salteira (*Oligoplites* sp), e betaras (*Menticirrhus americanus* e *M. littoralis*) (CHAVES; ROBERT, 2003). A alta taxa de captura observada no período se deu principalmente por esta arte de pesca direcionada ao linguado, espécie muito apreciada comercialmente e com caracterização da safra no inverno e primavera devido à temperatura amena da água (relato pescador). Aliado a isso, a partilha de nicho do linguado com *Z. brevirostris*, devido a ambos serem animais típicos de fundo, alimentando-se de pequenos crustáceos sob o substrato arenoso-lodoso (MARION, 2009). Também, o período direcionado a pesca do linguado coincide com o período reprodutivo de *Z. brevirostris*, ocasionando a integração desta e outros elasmobrânquios no *bycatch* da pesca de linguado na costa paranaense. No entanto, o período de pesca deste teleósteo no Paraná não caracteriza período reprodutivo, o que dificulta sua proibição de captura (defeso) e por consequência impede que a proibição da pesca seja estabelecida para esse teleósteo durante o período de recrutamento e consequentemente para *Z. brevirostris*.

Portanto, de acordo com o exposto pelo presente estudo o estresse de captura se mostra altamente deletério para machos no período de cópula, com mortalidade registrada de 89%, em contraste com mortalidade zero fora deste período. Logo, sugere-se que sejam realizados planos de educação ambiental com os pescadores para que a soltura compensatória no litoral paranaense seja realizada de forma efetiva e imediata fora do período reprodutivo de *Z. brevirostris*, a fim de preservar no ambiente potenciais reprodutores e manter as populações

5 CONCLUSÃO

Zapteryx brevirostris não tem valor comercial representativo e exibe uma alta recuperação pós-captura em comparação com outros elasmobrânquios. Assim, a liberação imediata pós-captura dos machos fora do período reprodutivo é uma promissora abordagem para a recuperação das populações. Entretanto, de acordo com os dados apresentados para os machos no presente estudo e para as fêmeas da mesma espécie durante o período reprodutivo, os planos de manejo baseados em soltura compensatória podem ser muito prejudicados durante o período de recrutamento, sendo necessária a proibição da captura durante os meses de cópula e desenvolvimento embrionário de forma a garantir a conservação desta espécie endêmica e ameaçada não apenas no litoral paranaense mais possivelmente em todas as suas áreas de ocorrência.

REFERÊNCIAS

- ABELLOW, B. **Understanding acid-base**. Lippincott Williams & Wilkins, 1998.
- ABILHOA, V., BORNATOWSKI, H. FREITAS, M.O. **Some information on reproduction and embryonic development of the lesser guitarfish *Zapteryx brevirostris* in Southern Brazil**. *Acta Adriatica*, 48, 89–94, 2007.
- ACEVEDO, U. K. K. **Aportes a la biología de la raya *Urotrygon venezuelae* Schultz, 1949 capturada incidentalmente en playa Salguero, Santa Marta Colombia** (Bachelor's thesis, Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano), 2017.
- ADAMS, K. R., FETTERPLACE, L. C., DAVIS, A. R., TAYLOR, M. D., & KNOTT, N. A. (2018). **Sharks, rays and abortion: The prevalence of capture-induced parturition in elasmobranchs**. *Biological Conservation*, 217, 11-27.
- AFONSO, M.G. **Dinâmicas da pesca de emalhe em Matinhos-PR: implicações para a conservação dos recursos pesqueiros**. Dissertação (mestrado em Zoologia) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2016.
- ALLYN, M. L., SHEEHAN, R. J., & KOHLER, C. C. **The effects of capture and transportation stress on white bass semen osmolality and their alleviation via sodium chloride**. *Transactions of the American Fisheries Society*, 130(4), 706-711, 2001.
- ALVERSON, D. L. **Some observations on the science of bycatch**. *Marine Technology Society. Marine Technology Society Journal*, 33(2), 6, 1999.
- ANDERSON, D. E., & MIESNER, M. D. **Rectal prolapse**. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 24(2), 403-408, 2008.
- ANDERSON, W. G. **The endocrinology of 1 α -hydroxycorticosterone in elasmobranch fish: A review**. *Comparative Biochemistry and Physiology (A)*, 162(2), 73-80, 2012.
- ANDRADE, E. R., MELO-STERZA, F. A., SENEDA, M. M., & Alfieri, A. A. **Consequências da produção das espécies reativas de oxigênio na reprodução e principais mecanismos antioxidantes**. *Rev. Bras. Reprod. Anim*, 34(2), 79-85, 2010.
- AWRUCH, C. A. **Reproductive endocrinology in chondrichthyans: the present and the future**. *General and comparative endocrinology*, 192, 60-70, 2013.
- BALLANTYNE, J. S. **Jaws: the inside story. The metabolism of elasmobranch fishes**. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 118(4), 703-742, 1997.

BATISTA, V. S. **Aspectos quantitativos da fecundidade e do desenvolvimento embrionário da raia *Zapteryx brevirostris* Müller and Henle, 1841 (Pisces, Rhinobatidae) da Enseada de Itaipu, Niterói, Rio de Janeiro.** *Revista Brasileira de Biologia*, 51(3), 495-501, 1991.

BLACKWELL, B.G.; BROWN, M .L.; WILLIS, D.W. **Relative weight (W_r) status and current use in fisheries assessment and management.** *Reviews in fisheries Science*, v. 8, n. 1, p. 1-44, 2000.

BONE, Q. **Muscles and locomotion.** In: Shuttleworth TJ (ed) *Physiology of elasmobranch fishes*. Springer, Berlin, pp 99–141, 1988.

BORNATOWSKI, H., & ABILHOA, V. **Tubarões e raias capturados pela pesca artesanal no Paraná: guia de identificação.** Hori Consultoria Ambiental, Curitiba, 2012.

BORNATOWSKI, H., BRAGA, R. R., & VITULE, J. R. S. **Threats to sharks in a developing country: the need for effective simple conservation measures.** *Natureza & Conservação*, 12(1), 11-18, 2014.

BRACCINI, M., VAN RIJN, J., & FRICK, L. **High post-capture survival for sharks, rays and chimaeras discarded in the main shark fishery of Australia?.** *PloS one*, 7(2), e32547, 2012.

BRAGA, F. D. S. **Estudo entre fator de condição e relação peso/comprimento para alguns peixes marinhos.** *Revista Brasileira de Biologia*, 46(2), 339-346. 1986.

BRITO, F. M. M., CLAUDIANO, G. D. S., YUNIS, J., MUNDIM, A. V., TAVARES-DIAS, M., VIADANNA, P. H. O., ... & MORAES, F. R. D. **Hematology, biochemical profile and thyroid hormones of four species of freshwater stingrays of the genus *Potamotrygon*.** *Braz. j. vet. res. anim. sci*, 52(3), 249-256, 2015.

BROOKS, E. J., MANDELMAN, J. W., SLOMAN, K. A., LISS, S., DANYLCHUK, A. J., COOKE, S. J., SKOMAL, G. B., PHILIPP, D. P., SIMS, D. W., SUSKI, C. D. **The physiological response of the Caribbean reef shark (*Carcharhinus perezii*) to longline capture.** *Comparative Biochemistry and Physiology (A)*, 162, 94–100, 2012.

BURKET, D., & SHIMOYA, A. **Características físicas do sêmen de três linhagens da tilápia do Nilo.** X Reunião Científica do Instituto de Pesca.

CAMHI, M.; FOWLER, S.; MUSICK, J.; BRAUTIGAM, A. and FORDHAM, S. **Sharks and their relatives: ecology and conservation.** *Oc. Pap. IUCN Surv. Comm.*, 20(2):3-4, 1998.

CARNIEL, V. L. **Interação de aves costeiras com descartes oriundos da pesca artesanal no litoral centro-sul paranaense,** 2008.

- CATTANI, A. P. **Avaliação de dispositivos de redução de captura incidental na pesca de arrasto do município de Pontal do Paraná-PR**, 2010.
- CHAVES, P. D. T., & ROBERT, M. D. C. **Embarcações, artes e procedimentos da pesca artesanal no litoral sul do Estado do Paraná, Brasil**. *Atlântica, Rio Grande*, 25(1), 53-59, 2003.
- CLARKE, S. C., MCALLISTER, M. K., MILNER-GULLAND, E. J., KIRKWOOD, G. P., MICHIELSENS, C. G., AGNEW, D. J., ... SHIVJI, M. S. **Global estimates of shark catches using trade records from commercial markets**. *Ecology letters*, 9(10), 1115-1126. 2006.
- CLARK, T. B., PAPASTAMATIOU, Y. P., & MEYERS, C. G. **Intestinal eversion in a free-ranging manta ray (*Manta birostris*)**. *Coral Reefs*, 27(1), 61-61. 2008.
- CLIFF, G. ; THURMAN, G. D. **Pathological and physiological effects of stress during capture and transport in the juvenile dusky shark, *Carcharhinus obscurus***. *Comp. Biochem. Physiol. ISA*, 167-173, 1984.
- COLONELLO, J. C.; GARCÍA, M. L.; MENNI, R. C. **Reproductive biology of the lesser guitarfish *Zapteryx brevirostris* from the south-western Atlantic Ocean**. *Journal of Fish Biology*, v. 78, n. 1, p. 287-302, 2011.
- COMPAGNO, L. J. ***Sharks of the world: an annotated and illustrated catalogue of shark species known to date (Vol. 1)***. Food & Agriculture Org. 2001.
- COSTA, L., & CHAVES, P. D. T. D. C. **Elasmobrânquios capturados pela pesca artesanal na costa sul do Paraná e norte de Santa Catarina, Brasil**. *Biota Neotropica*, 6(3). 2006.
- COSTA, L. **Aspectos reprodutivos da raia-viola, *Rhinobatos percellens* (Walbaum, 1792)(Elasmobranchii, Rhinobatidae), capturada pela pesca artesanal, na costa sul do Paraná e norte de Santa Catarina**. Monografia – Departamento de Biologia Celular, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.
- COOKE, S.J, & SUSKI, C.D. **Precisamos de orientações específicas de espécies para a pesca recreativa de captura e liberação para conservar efetivamente diversos recursos pesqueiros ?**. *Biodiversidade e conservação* , 14 (5), 1195-1209. 2005.
- CRAIK, J.C.A .**The effects of oestrogen treatment on certain plasma constituents associated with vitellogenesis in the elasmobranch *Scyliorhinus canicula* L**. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 35 , pp. 455-464, 1978a.
- CRAIK, J.C.A. **Kinetic studies of vitellogenin metabolism in the elasmobranch *Scyliorhinus canicula* L**. *Comp. Biochem. Physiol.*, 61A, pp. 355-361, 1978b.

CROW, G. L., HOWE, J. C., UCHIDA, S., KAMOLNICK, S., WISNER, M. G., & CAIRA, J. N. **Protrusion of the valvular intestine through the cloaca in sharks of the family Carcharhinidae.** *Copeia*, 1990(1), 226-229, 1990.

CUI, K. H. **The effect of stress on semen reduction in the marmoset monkey (*Callithrix jacchus*).** *Human reproduction*, 11(3), 568-573, 1996.

DAVIS, M. W. **Key principles for understanding fish bycatch discard mortality.** *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 59(11), 1834-1843, 2002.

DENT, F., CLARKE, S. **State of the global market for shark products.** FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper, 590, 2015.

DE OLIVEIRA SANTOS, L., CATTANI, A. P., & SPACH, H. L. **Ictiofauna acompanhante da pesca de arrasto para embarcações acima de 45 HP no litoral do Paraná, Brasil.** *Boletim do Instituto de Pesca*, 42(4), 816-830, 2017.

DULVY, NK, FOWLER, SL, MUSICK, JA, CAVANAGH, RD, KYNE, PM, HARRISON, LR, ... e POLLOCK, CM. **Extinction risk and conservation of the world's sharks and rays.** *Elife*, 3, e00590, 2014.

EVANS, D.H.; PIERMARINI, P.M.; POTTS, W. T. W. **Ionic transport in the fish gill epithelium.** *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, v. 283, n. 7, p. 641-652, 1999.

Figueiredo J. L. **Manual de peixes marinhos do sudeste do Brasil. I. Introdução: Cações, raias e quimeras.** São Paulo: Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo. 1997.

FISHBASE - Acessado em Outubro/2017
(<http://www.fishbase.org/Summary/speciesSummary.php?ID=14141&genusname=Zapteryx&speciesname=brevirostris>)

FREIRE, C.A.; ONKEN, H.; MCNAMARA, J.C. **A structure–function analysis of ion transport in crustacean gills and excretory organs.** *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, v. 151, n. 3, p. 272-304, 2008.

FRENCH, S. S., DENARDO, D. F., MOORE, M. C. **Trade-Offs between the Reproductive and Immune Systems: Facultative Responses to Resources or Obligate Responses to Reproduction?.** *The American Naturalist*, 170(1), 79-89. 2007.

- FRICK, L.H; REINA, R.D; WALKER, T.I. **Stress related physiological changes and post-release survival of Port Jackson sharks (*Heterodontus portusjacksoni*) and gummy sharks (*Mustelus antarcticus*) following gill-net and longline capture in captivity.** *J Exp Mar Biol Ecol* 385:29–37. 2010.
- GALLAGHER, A., SERAFY, J., COOKE, S., HAMMERSCHLAG, N. **Physiological stress response, reflex impairment, and survival of five sympatric shark species following experimental capture and release.** *Marine Ecology Progress Series*, 496, 207-218, 2014.
- GALLAGHER, A. J., SKUBEL, R. A., PETHYBRIDGE, H. R., & HAMMERSCHLAG, N. **Energy metabolism in mobile, wild-sampled sharks inferred by plasma lipids.** *Conservation Physiology*, 5(1), cox002, 2017.
- GARCIA-GARRIDO, L., MUÑOZ-CHAPULI, R., & ANDRES, A. V. **Serum cholesterol and triglyceride levels in *Scyliorhinus canicula* (L.) during sexual maturation.** *Journal of Fish Biology*, 36(4), 499-509, 1990.
- GILMOUR, K. M.; PERRY, S. F. **Carbonic anhydrase and acid–base regulation in fish.** *Journal of Experimental Biology*, v. 212, n. 11, p. 1647-1661, 2009.
- GUIDA, L., AWRUCH, C., WALKER, T. I., & REINA, R. D. **Prenatal stress from trawl capture affects mothers and neonates: a case study using the southern fiddler ray (*Trygonorrhina dumerilii*).** *Scientific Reports*, 7. release. *Marine Ecology Progress Series*, 496, 207-218, 2017.
- HAMMERSCHLAG, N., GALLAGHER, A. J., LAZARRE, D. M. (2011). **A review of shark satellite tagging studies.** *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 398(1), 1-8.
- HAUSFATHER, Z. (2004). **India's shark trade: an analysis of Indian shark landings based on shark fin exports.**
- HOFFMAYER, E.R, HENDON, J.M, PARSONS, G.R, DRIGGERS, W.B, CAMPBELL, M. D. **A comparison of single and multiple stressor protocols to assess acute stress in a coastal shark species, *Rhizoprionodon terraenovae*.** *Fish Physiol Biochem* 41(5):1253–1260, 2015.
- LESSA, R.P.T, VOOREN, C.M, ARAÚJO, M.L.G, KOTAS J.E, ALMEIDA, P.C, RINCÓN, G, SANTANA, F.M, GAGID, O.B.F, SAMPAIO, C. **Plano Nacional de ação para a conservação de o manejo dos estoques de peixes elasmobrânquios no Brasil.** Recife, 100. 2005.

MANDELMAN, J. W.; FARRINGTON, M.A. **The physiological status and mortality associated with otter-trawl capture, transport, and captivity of an exploited elasmobranch, *Squalus acanthias*.** ICES J Mar Sci 64:122–130. 2007.

MANIRE, C; HUETER, R; HULL, E; SPIELER, R. **Serological changes associated with gill-net capture and restraint in three species of sharks.** Trans Am Fish Soc 130:1038–1048. 2001.

MATTHEWS, L. H. **Reproduction in the basking shark, *Cetorhinus maximus* (Gunner).** *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 247-316, 1950.

MARION, C. **Hábitos alimentares da raia-viola, *Zapteryx brevirostris*, (Muller & Henle, 1981) (Chondryctes, Rhinobatidae) no litoral Norte do Estado de São Paulo.** Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Botucatu. 82pg. 2009.

MINAMIKAWA, S., & MORISAWA, M. **Acquisition, initiation and maintenance of sperm motility in the shark, *Triakis scyllia*.** *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 113(4), 387-392, 1996.

MOYES, C. D., FRAGOSO, N., MUSYL, M. K., BRILL, R. W. **Predicting postrelease survival in large pelagic fish.** Transactions of the American Fisheries Society, 135(5), 1389-1397, 2006.

MOORE, A. B. **Are guitarfishes the next sawfishes? Extinction risk and an urgent call for conservation action.** *Endangered Species Research*. 2017.

MUSYL, M. K., MOYES, C. D., BRILL, R. W., & FRAGOSO, N. M. **Factors influencing mortality estimates in post-release survival studies.** *Marine Ecology Progress Series*, 396, 157-159. 2009.

MUSYL, M. K., BRILL, R. W., CURRAN, D. S., FRAGOSO, N. M., MCNAUGHTO, L. M., NIELSEN, A., ... MOYES, C. D. **Post release survival, vertical and horizontal movements, and thermal habitats of five species of pelagic sharks in the central Pacific Ocean.** Fishery Bulletin, 109(4), 341-368, 2011.

MYERS, R. A., BAUM, J. K., SHEPERD, T. D., PPOWERS, S. P., & PETERSON, C. H. **Cascading effects of the loss of apex predatory sharks from a coastal ocean.** *Science*, 315(5820), 1846-1850, 2007.

NELSON, J. **Fishes of the world.** New York, John Wiley and Sons, 600 p, 1994.

PAIVA, M.P. **Recursos pesqueiros estuarinos e marinhos do Brasil.** Fortaleza: EUFC. 278p, 1997.

OLIVER, S., M. BRACINNI, M., NEWMAN, S. J., HARVEY, E. S. **Global patterns in the bycatch of sharks and rays.** Marine Policy, 54, 86-97, 2015.

- ORESIC, M. **Metabolomics, a novel tool for studies of nutrition, metabolism and lipid dysfunction.** *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 19(11), 816-824, 2009.
- PARKER, S. J., RANKIN, P. S., HANNAH, R. W., & SCHERCK, C. B. **Discard mortality of trawl-caught lingcod in relation to tow duration and time on deck.** *North American Journal of Fisheries Management*, 23(2), 530-542. 2003.
- PETERS, G., DELVENTHAL, H., & KLINGER, H. **Physiological and Morphological Effects of Social Stress on the Eel, *Anguilla anguilla* L.** In *Fish Diseases* (pp. 225-227). Springer, Berlin, Heidelberg, 1980.
- PIKERING, A. D, POTTINGER, T.G. **Biochemical effects of stress.** In: Hochachka PW, Mommsen TP (eds) *Environmental and ecological biochemistry*. Elsevier, Amsterdam, pp 349–379, 1995.
- RINCON, G. **A record of abortion in the school shark *Galeorhinus galeus* (Carcharhiniformes, Triakidae) captured on the continental shelf off southern Brazil.** *Pan-american Journal of Aquatic Science*, 2, 53-54. 2007.
- RODRIGUES, A.F.S; AMORIM, A.F; RANGEL , B. S, WOSNICK, N; BORNATOWSKI, H; SANTOS, J.L, MOREIRA, R.G. **Description of injuries in batoids caused by small scale fisheries: implications for management plans.** *In press*.
- ROSSI-WONGTSCHOWSKI, C. L. D. B., de M VAZZOLER, A. E. A., & DE SOUZA BRAGA, F. M. (1982). **Estudos sobre estrutura, ciclo de vida e comportamento de *Sardinella brasiliensis* (Steindachner, 1879), na área entre 22ºs e 28ºs, Brasil: 1. Morfologia dos otólitos.** *Boletim do Instituto Oceanográfico*, 31(2), 57-76.
- SALISBURY, G. W. & VANDERMARK, N. L. **Fisiologia de la reproducción e inseminación artificial de los bóvidos.** Zaragoza, Acribia. 707p, 1964.
- SANTOS, C., CORTELLETE, G. M., ARAÚJO, K. C. B., & SPACH, H. L. **Estrutura populacional da raia-viola *Zapteryx brevirostris* (Chondrichthyes, Rhinobatidae), na Plataforma adjacente à Baía de Paranaguá, PR.** *Acta Biologica Leopondensia*, 28(1), 32-37, 2006.
- SARGENT, J. R., GATTEN, R. R., & MCINTOSH, R. **The distribution of neutral lipids in shark tissues.** *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 53(3), 649-656. 1973.
- SCHLUESSEL, V., GILES, J., KYNE, P. M. **Notes on female reproductive biology and embryos of the brown guitarfish *Rhinobatos schlegelii* from the Penghu Islands, Taiwan.** *Ichthyology Research*, 62, 342-357. 2015.
- SCHWARZ JUNIOR, R. **Composição, estrutura e abundância da ictiofauna capturada com redes de arrasto de portas na plataforma continental interna rasa do litoral do**

Paraná. Tese (Doutorado em Zoologia) - Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, Paraná. 2010.

SMITH, M., WARMOLTS, D., THONEY, D., & HUETER, R. **The elasmobranch husbandry manual: captive care of sharks, rays and their relatives.** *Special Publication of the Ohio Biological Survey, Columbus, Ohio.* 2004.

SKOMAL, G. B. **Evaluating the physiological and physical consequences of capture on post-release survivorship in large pelagic fishes.** *Fisheries Management and Ecology*, 14, 81-89, 2007.

SKOMAL, G., & BERNAL, D. **Mechanisms and adaptations associated with physiological stress.** *Carrier, JC, Musick, JA, Heithaus, MR (Eds.),* 2, 459-490, 2010.

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

SPRINGER, S. **Social organization of shark populations.** *Sharks, skates, and rays*, p. 149-172, 1967.

STEVENS, J., BONFIL, R., DULVY, N. K., WALKER, P. A. **The effects of fishing on sharks, rays, and chimaeras (chondrichthyans), and the implications for marine ecosystems.** *ICES Journal of Marine Science*, 57, 476-94, 2000.

THOMAS, D. L., WAALDRON, D. F., LOWE, G. D., MORRICAL, D. G., MEYER, H. H., HIGH, R. A., ... & LOERCH, S. C. **Length of docked tail and the incidence of rectal prolapse in lambs.** *Journal of animal science*, 81(11), 2725-2732. 2003.

VIJAYAN, M.M.; BALLANTYNE, J.S.; LEATHERLAND, J.F. **Cortisol-induced changes in some aspects of the intermediary metabolism of *Salvelinus fontinalis*.** *General and Comparative Endocrinology*, v.82, p.476-486, 1991

VILLWOCK DE MIRANDA, L., & VOOREN, C. M. **Captura e esforço da pesca de elasmobrânquios demersais no sul do Brasil nos anos de 1975 a 1997.[Catch and effort of demersal elasmobranchs in south Brazil from 1975 to 1997].** *Frente Marítimo*, 19, 217-231, 2003.

WELLS, R.M.G; MCINTYRE, R.H; MORGAN, A.K; DAVIE, P.S. **Physiological stress responses in big gamefish after capture: observations on plasma chemistry and blood factors.** *Comp Biochem Physiol (A)* 84:565–571. 1986.

WINGFIELD, J. C., & ROMERO, L. M. **Adrenocortical responses to stress and their modulation in free-living vertebrates.** *Comprehensive Physiology*, 2001.

WINGFIELD, J. C., & SAPOLSKY, R. M. **Reproduction and resistance to stress: when and how.** *Journal of neuroendocrinology*, 15(8), 711-724, 2003.

WOOD, C.M; WALSH, P.J, KAJIMURA, M; McCLELLAND, G.B, CHEW, S.F. **The influence of feeding and fasting on plasma metabolites in the dogfish shark (*Squalus acanthias*).** *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 155: 435–444. 2010.

WORM, B., DAVIS, B., KETTEMER, L., WARD-PAIGE, C. A., CHAPMAN, D., HEITHAUS, M. R., GRUBER, S. H. **Global catches, exploitation rates, and rebuilding options for sharks.** *Marine Policy*, 40, 194-204. 2013.

WOSNICK, N., & FREIRE, C. A. **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: Molecular & Integrative Physiology*, 166(1), 36-43, 2013.

WOSNICK, N., BORNATOWSKI, H., FERRAZ, C., AFONSO, A., RANGEL, B. S., HAZIN, F. H. V., FREIRE, C. A. **Talking to the dead: using Post-mortem data in the assessment of stress in tiger sharks (*Galeocerdo cuvier*) (Péron and Lesueur, 1822).** *Fish Physiology and Biochemistry*, 1-14, 2016.

WOSNICK, N., RANGEL, B. S., MOREIRA, R. A., & FREIRE, C. A. **Clasper flaring in a guitarfish (*Zapteryx brevirostris* Elasmobranchii, Rhinobatidae) under anesthesia.** *Veterinary anaesthesia and analgesia*. **2017a**.

WOSNICK, N. **Fisiologia como ferramenta para a conservação de elasmobrânquios.** Tese (Doutorado em Zoologia) - Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, Paraná, **2017b**.

WOURMS, J. P. **Reproduction and development in chondrichthyan fishes.** *American Zoologist*, 17(2), 379-410, 1977.

ZAGAGLIA, C. R., DAMIANO, C., HAZIN, F. H. V., M. K. BROADHURST, M. K. **Reproduction in *Mustelus canis* (Chondrichthyes: Triakidae) from an unexploited population off northern Brazil.** *Journal of Applied Ichthyology*, 27, 25-29. 2011.

ZAMMIT, V.A; NEWSHOLME, E.A. **Activities of enzymes of fat and ketone-body metabolism and effects of starvation on blood concentrations of glucose and fat fuels in teleost and elasmobranch fish.** *Biochem J* 184: 313–322. 1979.