

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO

**SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO DE PESCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E PESCA**

**“RESILIÊNCIA DA RAIA VIOLA-DE-CARA-CURTA (*Zapteryx brevirostris*):
GANHO COMPENSATÓRIO COMPLETO, HEMATOLOGIA E
HISTOPATOLOGIA”**

Veronica Takatsuka Manoel

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Gomes Sanches

Co-orientador: Prof. Dr. Venâncio Guedes de Azevedo

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Pesca do Instituto de Pesca - APTA - SAA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Aquicultura e Pesca.

São Paulo

Fevereiro – 2017

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO

**SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO DE PESCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E PESCA**

**“RESILIÊNCIA DA RAIA VIOLA-DE-CARA-CURTA (*Zaptryx brevirostris*):
GANHO COMPENSATÓRIO COMPLETO, HEMATOLOGIA E
HISTOPATOLOGIA”**

Veronica Takatsuka Manoel

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Gomes Sanches

Co-orientador: Prof. Dr. Venâncio Guedes de Azevedo

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Pesca do Instituto de Pesca - APTA - SAA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Aquicultura e Pesca.

São Paulo

Fevereiro – 2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Elaborada pelo Núcleo de Informação e Documentação. Instituto de Pesca, São Paulo

M285r

Manoel, Veronica Takatsuka

Resiliência da raia viola-de-cara-curta (*Zapteryx brevirostris*): ganho compensatório completo, hematologia e histopatologia / Veronica Takatsuka Manoel. – São Paulo, 2017.

v, 39f. ; il. ; tab.

Dissertação (mestrado) apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Pesca do Instituto de Pesca – APTA - Secretaria de Agricultura e Abastecimento.

Orientador: Eduardo Gomes Sanches

1. Ganho compensatório. 2. Nutrição. 3. *Zapteryx brevirostris*. 4. Rhinobatidae. 5. Raia viola. I. Sanches, Eduardo Gomes. II. Título.

CDD 597.35

Permitida a cópia parcial, desde que citada a fonte – O autor

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO
SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO DE PESCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E PESCA

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

"Resiliência da raia-viola-da-cara-curta (*Zapteryx brevirostris*):
ganho compensatório completo, hematologia e histopatologia"

AUTOR: Verônica Takatsuka Manoel

ORIENTADOR: Prof. Dr. Eduardo Gomes Sanches

Aprovado como parte das exigências para obtenção do título de
MESTRE EM AQUICULTURA E PESCA, Área de Concentração em
Aquicultura, pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. Eduardo Gomes Sanches



Prof. Dr. Wagner Cotroni Valenti



Prof. Dr. Rodrigo Silvestre Martins

Data da realização: 15 de fevereiro de 2017



Presidente da Comissão Examinadora
Prof. Dr. Eduardo Gomes Sanches

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao meu orientador Prof. Dr. Eduardo Gomes Sanches, que me recebeu de braços abertos na pós-graduação. Confiou muito em meu trabalho e me apoiou em todas as horas.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Venâncio Guedes de Azevedo que me apresentou os elasmobrânquios e me fez conhecer este universo ainda carente de cientistas e com tantas coisas a serem pesquisadas e descobertas.

Sou muito grata ao Instituto de Pesca por proporcionar a estrutura necessária para a realização dos meus estudos, junto aos meus orientadores.

Um agradecimento especial para todos que me ajudaram em Ubatuba: Ana Paula dos Santos, Daniela Gurgel Cavalcante Costa, Isabelle Leite Bayona Perez, Nayara Yoshimini de Oliveira, Otávio Mesquita de Sousa e Victor Costa Spandri. Obrigada por me acompanhar durante os experimentos, virando a noite lendo lâminas, fazendo maratonas de hematologia aos sábados, viagens para congressos e disciplinas, além de tornar tudo mais leve e divertido.

Aos veterinários do Vet Lab, Iago Camargo Santos e Renan Luiz Klopfer Limeira que colocaram a minha disposição os equipamentos e todo o laboratório de análises clínicas. Vocês enriqueceram e muito o meu trabalho. Obrigada.

Agradeço imensamente aos membros examinadores da minha qualificação, Prof. Dr. Alberto Ferreira de Amorim pesquisador tão respeitado e reconhecido quando se fala em elasmobrânquios e a Prof^a. Dr^a. Maria José T. Ranzani-Paiva que foi pioneira nos trabalhos com hematologia de peixes e me recebeu tão bem em suas disciplinas da pós-graduação e em seu laboratório. Me estimulando a continuar usando e abusando desta ferramenta tão incrível que é a hematologia.

Um agradecimento especial a minha super mãe Miriam Takatsuka, guerreira e querida. Que nunca deixou de me apoiar e me incentivar, por mais doidos que sejam meus planos. E que mesmo não sabendo exatamente o que eu faço, fala orgulhosa do meu trabalho para todos os parentes e amigos.

Ao Francisco Bulhões da Fonseca, por cuidar de mim há alguns anos, me apoiar, escutar e incentivar a seguir na pós-graduação. Além de ler meus textos e assistir meus ensaios de apresentações junto com a Amora.

Por fim, a todos aqueles que direta ou indiretamente me auxiliaram durante essa etapa, o meu agradecimento, muito obrigada.

SUMÁRIO

Agradecimentos.....	i
Sumário.....	iii
Resumo.....	iv
Abstract.....	v
Introdução geral.....	01
Objetivo.....	10
Referências.....	11
Capítulo 1.....	17
Artigo – “Resiliência da Raia Viola-de-cara-curta (<i>Zapteryx brevirostris</i>): ganho compensatório completo, hematologia e histopatologia”.....	18
Resumo.....	18
Abstract.....	19
Abreviações e símbolos.....	19
Agradecimentos.....	19
Introdução.....	20
Material e métodos.....	21
Resultados.....	24
Discussão.....	29
Conclusões.....	33
Referências.....	34
Considerações finais.....	39

RESUMO

Devido à crescente degradação do ambiente marinho, alguns peixes carnívoros podem ser submetidos a períodos de restrição alimentar. Este trabalho investiga o ganho compensatório na Viola-de-cara-curta *Zapteryx brevirostris*. Para isso três tratamentos foram testados: privação alimentar de 7 dias e alimentação por 14 dias ($T_{7 \times 14}$), privação alimentar por 14 dias e alimentação por 14 dias ($T_{14 \times 14}$) e alimentação todos os dias (T_{Controle}). Após 76 dias, foram tomados dados de crescimento, e realizados exames hematológicos e histopatológicos. Os resultados demonstraram que a espécie exibe ganho compensatório completo quando submetida ao tratamento $T_{7 \times 14}$ e ganho compensatório parcial quando submetida ao tratamento $T_{14 \times 14}$. O tratamento $T_{14 \times 14}$ levou ao consumo de grande parte das reservas lipídicas do fígado e a presença de anemia microcítica hipocrômica, o que reflete o comprometimento da saúde destas raia.

Palavras-chave: ganho compensatório, *Zapteryx brevirostris*, manejo nutricional, raia viola.

ABSTRACT

Due to increasing degradation of the marine environment, some carnivorous fishes may be subjected to periods of food restriction. This research investigates the compensatory growth in the Lesser guitarfish *Zapteryx brevirostris*. In this experiment three treatments were tested: one group with a 7 days of fasting followed by 14 days feeding ($T_{7 \times 14}$), another group with a 14 days of fasting followed by 14 days feeding ($T_{14 \times 14}$), and a third one without food restriction (T_{Control}). After 76 days, growth data was, and hematological and histopathological exams were performed. The results shows that the species exhibits complete compensatory growth when submitted to $T_{7 \times 14}$ and partial compensatory growth when submitted to $T_{14 \times 14}$. The treatment $T_{14 \times 14}$ led to the consumption of a large part of the lipid reserves of the liver and the presence of hypochromic microcytic anemia, which reflects the health compromise of these rays.

Keywords: Compensatory growth, *Zapteryx brevirostris*, nutritional management, guitarfish.

INTRODUÇÃO GERAL

Biologia, Ecologia e Pesca de Elasmobrânquios

Os peixes pertencentes a classe Chondrichthyes são conhecidos pelo seu esqueleto cartilaginoso e popularmente chamados de raias, tubarões e quimeras. Composto por cerca de 1041 espécies descritas, o grupo tem funcionado evolutivamente com sucesso em diversos ecossistemas a mais de 400 milhões de anos. Porém, a maioria dos elasmobrânquios é K-estrategista, apresentando taxas de crescimento lento, maturidade sexual tardia, baixa fecundidade e longa expectativa de vida. Resultando em baixo crescimento populacional com potencial limitado para se recuperar da sobrepesca direta ou acidental e outras ameaças, como a poluição e a destruição do seu habitat (CAMHI et al., 2009; DULVY et al., 2014).

De acordo com os critérios da International Union for Conservation of Nature – IUCN, 1/4 das espécies de elasmobrânquios estão ameaçadas, principalmente aquelas que habitam águas rasas, o que facilita a captura. As raias correm maior risco, possuindo cinco entre as sete famílias ameaçadas, além de suas ações de conservação estarem bem menos desenvolvidas do que para os tubarões. Apenas 23% das espécies de elasmobrânquios estão classificadas como seguras e fora do risco de extinção. A solução para esta situação vem por meio da melhoria na gestão e fiscalização da pesca e comercialização evitando assim a extinção por meio da recuperação das populações (DULVY et al., 2014).

Família Rhinobatidae

A família Rhinobatidae está presente na Lista Vermelha da IUCN. Composta por quatro gêneros, sendo dois de ocorrência no Brasil com três espécies que são *Rhinobatos horkelii* (Müller & Henle, 1841), *R. percellens* (Walbaum, 1792) e *Zapteryx brevirostris* (Müller & Henle, 1841). As *Rhinobatos* são conhecidas pela sua cabeça mais alongada, popularmente chamadas de raia viola. *R. percellens* tem o Brasil como o país mais ao sul de sua ocorrência, está presente no litoral da Guiana Francesa, Haiti, Jamaica, Panamá, Porto Rico, Venezuela e outros países. Pode ser encontrada em profundidade mínima de 110m, o que exige equipamentos mais elaborados para sua pesca, está

classificada como Quase Ameaçada (NT) pela IUCN e não existe legislação específica para sua pesca. Ao contrário da *R. horkelii* que está criticamente ameaçada (CR), ocorre apenas na Argentina e no Brasil, mais abundante no sul brasileiro. Sua pesca é facilitada devido ao seu comportamento de migrar para áreas mais rasas com até 20 m de profundidade durante o acasalamento e nascimento da prole, que ocorrem de novembro a março. Além disso, os filhotes permanecem em áreas rasas ao longo do ano. A maturidade sexual é tardia com média de 9 anos para fêmeas e 6 anos para os machos, o que torna o potencial de recuperação da espécie ainda mais crítico (VOOREN et al., 2006; BORNATOWSKI et al., 2010; FRANCO, 2012). No Brasil, a pesca da *R. horkelii* é limitada em quantidade e tamanho mínimo de 80 cm, de acordo com a PORTARIA Nº 73 (BRASIL, 2003). Porém devido à falta de fiscalização e a dificuldade de identificação da espécie, facilmente confundida com *R. percellens* tornam a sua conservação ainda mais complicada (VOOREN et al., 2006; BORNATOWSKI et al., 2010; FRANCO, 2012).

A espécie *Zapteryx brevirostris* é a única pertencente a este gênero. Conhecida popularmente como Viola-de-cara-curta e na língua inglesa *Lesser Guitarfish* está classificada como Vulnerável (VU) pela IUCN desde 2006 (VOOREN et al., 2006). Sua principal forma de captura se dá acidentalmente por meio da pesca de arrasto com o foco no camarão (PINHEIRO e MARTINS, 2009). Devido ao seu baixo valor econômico as raias violas são descartadas no mar após a captura e pouco se sabe sobre a sua sobrevivência após o estresse de captura e compactação no ensacador da rede de arrasto (DAPP et al., 2016). Além do mais, sua população vem diminuindo com o passar dos anos e atualmente, não existem restrições legais para a sua pesca, porém a biomassa capturada reduziu 86% em relação aos anos 1994 e 1999 e seu potencial de recuperação é baixo com média de três filhotes por ano, para cada fêmea madura (VOOREN et al., 2006).

Sistemas de Manutenção de Elasmobrânquios em Laboratório

A manutenção de elasmobrânquio em cativeiro viabilizou novas frentes de pesquisas e maior obtenção e estabilidade dos dados, uma vez que é possível controlar os principais parâmetros de qualidade da água, fazendo com que a sua variação não prejudique o desenvolvimento dos peixes. Exemplos de estudos

em cativeiro são: a avaliação de respostas fisiológicas de *Z. brevis* submetidas a diferentes salinidades (WOSNICK e FREIRE, 2013), resposta ao estresse de transporte para *Potamotrygon hystrix* (BRINN et al., 2012) e diagnóstico histopatológico de patologias em elasmobrânquios cativos (GARNER, 2013). Além de fornecer informações importantes sobre a fisiologia e comportamento da espécie, estudos em cativeiro permitem um número maior de pesquisas, com menos recursos, uma vez que o custo do transporte e da logística do barco até o local de captura é alto e recorrente.

O sistema de recirculação de água (RAS) é amplamente utilizado no cultivo de teleosteo, principalmente nas fases iniciais, onde o peixe é mais sensível (BLANCHETON, 2000) e para o cultivo de espécies ornamentais que exigem menores espaços, quando comparado aos peixes para consumo humano (RIBEIRO et al., 2007; OLIVOTTO et al. 2008). Composto por um sistema de bombeamento e filtragem de água, os resíduos gerados pelos peixes são reciclados em unidades externas que tratam e purificam a água antes de retornar ao tanque principal. Alças conectam o tanque de cultivo a filtros mecânicos, biológicos e químicos, que metabolizam os componentes nitrogenados oriundos da degradação da matéria orgânica, reduzindo assim a necessidade de troca de água (LOSORDO et al., 1999; BLANCHETON, 2000; OLIVOTTO et al., 2008; TAL et al., 2009). Se bem dimensionado e administrado o sistema garante as variáveis constantes e ideais de água, proporcionando uma boa qualidade de vida para os peixes.

O manejo correto dos componentes do RAS é uma etapa fundamental para a manutenção da qualidade de água. Um dos principais erros é o excesso de matéria orgânica adicionada ao sistema através da sobra de alimento. Caso isso ocorra, os compostos nitrogenados dissolvidos se manterão altos, cenário que deve ser evitado, uma vez que eles interferem no metabolismo dos peixes, podendo ocasionar doenças e levar a óbito espécies mais sensíveis (BUSSEL et al., 2012; DAVIDSON et al., 2014).

No mercado há diversos tipos de equipamentos capazes de melhorar a qualidade da água. Existem equipamentos como os *skimmers* e os filtros tipo *bag* capazes de capturar partículas dissolvidas e sólidas na água, além de equipamentos que abrigam bactérias nitrificantes e desnitrificantes que metabolizam amônia, nitrito e nitrato (TAL et al., 2009). Porém o fornecimento

constante de peixes e invertebrados como alimento para os animais cativos exigem um sistema de filtragem muito potente e de alto custo.

Pesquisas Experimentais

A maioria das pesquisas publicadas com elasmobrânquios utilizam animais mortos, oriundos da pesca comercial ou coletados especificamente para o estudo. A família Rhinobatidae pode ser encontrada com facilidade em pesquisas que acompanham o desembarque pesqueiro no litoral brasileiro (FRANCO et al., 2010). Entre as áreas estudadas estão as investigações sobre os hábitos alimentares através de estudos de conteúdo estomacal (BORNATOWSKI et al., 2007; MARION et al., 2011), descrição de estruturas anatômicas e seu funcionamento (ATKINSON e COLLIN, 2012; KOLMANN et al., 2015; RANGEL et al., 2016), descrição histológica de órgãos (MORAES et al., 2016), acompanhamento da biologia reprodutiva (ROCHA e GADIG, 2013) e alterações embriológicas (CARMO e FÁVARO, 2015).

Ganho Compensatório

Uma possibilidade para a manutenção de uma boa qualidade de água é a restrição alimentar durante períodos pré-estabelecidos. Com a redução do incremento diário de matéria orgânica oriunda da alimentação, não há o sobrecarregamento do sistema de filtragem e assim a qualidade de água é mantida e até melhorada. Os peixes possuem mecanismos fisiológicos já adaptados ao jejum, principalmente espécies migratórias que não se alimentam até alcançar áreas de reprodução e retornar para áreas de alimentação (VAINIKKA et al., 2012).

Durante a realimentação, as espécies podem exibir quatro categorias de ganho compensatório (ALI et al., 2003). O ganho compensatório completo é aquele onde os indivíduos recuperam todo o crescimento estagnado durante a restrição alimentar e se igualam ao desenvolvimento dos indivíduos que se alimentaram todos os dias (SOGARD e OLLA, 2002; CHO et al., 2006; FOSS et al., 2009; TURKMEN et al., 2012; GHANI e MERILÄ, 2014). Após o jejum, outras espécies podem exibir adaptações fisiológicas tão surpreendentes que superam o crescimento de indivíduos que se alimentaram constantemente, exibindo a sobrecompensação (HAYWARD et al., 1997; CHATAKONDI e YANT, 2001).

Existem também espécies que são profundamente afetadas pelo jejum e não conseguem igualar o crescimento daqueles que se alimentaram todos os dias e são classificados como ganho compensatório parcial, pois os animais em jejum recuperam apenas parte do peso esperado (RIBEIRO e TSUZUKI, 2010). A compensação ausente se dá quando os animais permanecem com o mesmo peso e desempenho antes da privação alimentar.

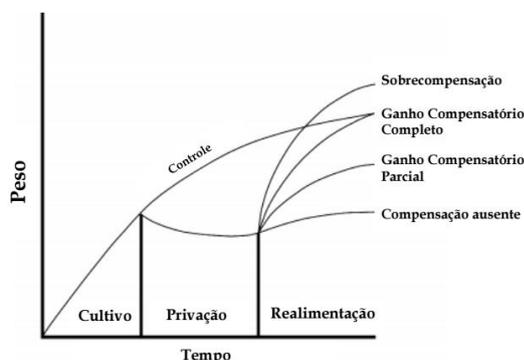


Figura 1 Classificação dos tipos de ganho compensatório. Modificado de ALI et al. (2003).

Um período de injúria deve obrigatoriamente ocorrer para desencadear o ganho compensatório. Que é resultado de diversas respostas endócrinas sequenciais durante os estados anabólico (fisiológico), catabólico (jejum) e hiperanabólico (realimentação) que resultam em aumento da taxa de crescimento específico, hiperfagia e redução da conversão alimentar (WON e BORSKI, 2013). A injúria pode ser causada por jejum, faixas de temperatura ou salinidade maiores ou menores do que a ideal para a espécie, hipóxia, alta densidade de estocagem ou aplicação de tratamentos profiláticos (HEIDE et al., 2006).

Diversos fatores determinados na metodologia do experimento ou no manejo do cultivo influenciam diretamente a resposta fisiológica dos peixes. A faixa etária é uma delas, sendo que animais jovens em fase de crescimento podem ser mais sensíveis ao período de jejum, pois não conseguem alcançar o peso esperado (RIBEIRO e TSUZUKI, 2010; URBINATI et al., 2014). Os períodos pré-determinados de privação e realimentação são fatores cruciais, pois quanto maior o período de jejum, maior deve ser o período de realimentação, possibilitando a recuperação do crescimento com a expressão de todo o potencial da espécie (ESLAMLOO et al., 2012; YENGGOKPAM et al., 2014). O período de hiperfagia, característica comum nos primeiros dias de

realimentação, deve ser respeitado, desse modo o período de realimentação deve ser adequado de acordo com o comportamento alimentar exibido (CHATAKONDI e YANT, 2001). Além disso a espécie, temperatura, densidade, qualidade e quantidade do alimento também influenciam no ganho compensatório (CHATAKONDI e YANT, 2001; ESLAMLOO et al., 2012; URBINATI et al., 2014; YENGGOKPAM et al., 2014).

Métodos de Avaliação do Ganho Compensatório

A resposta fisiológica do ganho compensatório pode ser acompanhada através do estudo de hormônios presentes na circulação sanguínea dos peixes (WON e BORSKI, 2013). Aplicando as técnicas corretas é possível realizar exames hematológicos, sorológicos, bioquímicos, bacteriológicos, parasitológico e toxicológico com apenas uma amostra sanguínea. O sangue é um tecido que envolve todos os órgãos e transporta seus nutrientes, hormônios e metabólitos, permitindo analisar indiretamente o funcionamento dos órgãos (TAVARES-DIAS et al., 2008b; RANZANI-PAIVA et al., 2013).

A interpretação do estado de saúde do animal se baseia na fisiologia e nas suas adaptações frente a perturbações. Leva-se em conta a abundância e estrutura de cada tipo de célula, associado aos sinais clínicos e exames complementares como é o caso dos bioquímicos, PCR e outras técnicas mais elaboradas. Com todos os resultados em mãos é possível avaliar a severidade do quadro patológico, estabelecer um diagnóstico e acompanhar o desenvolvimento da resposta ao tratamento.

Com particularidades fisiológicas, os peixes não possuem medula óssea, órgão responsável pela hematopoiese nos mamíferos, nem linfonodo onde os leucócitos sofrem diferenciação ou maturação. Nos peixes a porção cranial do rim e o timo são órgãos primários, responsáveis pela produção das células hematopoiéticas e o baço é responsável pela maturação e diferenciação, atuando como órgão secundário. Nos elasmobrânquios existem também os órgãos epigonal (MCCLUSKY e SULIKOWSKI, 2014) e de Leydig que atuam como órgãos hematopoiéticos primários. As células produzidas pelos órgãos primários são maturadas na circulação, ou seja, as células jovens são liberadas na corrente sanguínea e se tornam adultas e ativas na circulação, resultando em

discreta policromasia (diversidade de tamanho) e anisocitose (diversidade de formato) consideradas normais (RANZANI-PAIVA et al., 2013).

Apesar das particularidades, a maioria dos protocolos empregados na patologia clínica veterinária de mamíferos é utilizada para teleósteos e elasmobrânquios, com algumas adaptações para a diferenciação dos leucócitos. Através do leucograma é possível identificar e classificar quantitativamente e morfológicamente os leucócitos, que são as células de defesa ou glóbulos brancos do sangue. No caso dos mamíferos, utiliza-se o Líquido de Turk como diluente e corante dos núcleos dos leucócitos. Contam-se as células pigmentadas em hemocítmetro para estimar o núcleo total de leucócitos por μL de sangue (RANZANI-PAIVA et al., 2013). Diferente dos mamíferos que possuem hemácias sem núcleos, os peixes apresentam eritrócitos nucleados, ovalados, com cromatina uniforme e condensada. Sendo os eritrócitos dos elasmobrânquios maiores do que de teleósteos, aves e répteis (CAMPBELL, 2015). Devido a essa característica, a metodologia empregada com o Líquido de Turk não pode ser aplicada, uma vez que os núcleos dos eritrócitos e dos leucócitos ficariam corados. Devido a isso, técnicas empregadas em aves se mostram mais adequadas, utilizando os diluentes Natt e Herick (1952) (RANZANI-PAIVA et al., 2013) e a contagem diferencial de leucócitos de modo indireto, na extensão sanguínea (TAVARES-DIAS et al., 2008a).

Atualmente, existem divergências em relação à nomenclatura de determinadas células de teleósteos e elasmobrânquios. Devido a alguns tipos de células menos estudadas, que não estão presentes na circulação de mamíferos como os heterófilos, célula granulocítica especial e a variação entre as espécies, a padronização da nomenclatura fica mais difícil (RANZANI-PAIVA et al., 2013, CAMPBELL, 2015). Como exemplo de divergências temos a classificação do diferencial de leucócitos para *Potamotrygon motoro* em seis tipos: neutrófilos, monócitos, linfócitos, eosinófilos, basófilos e heterófilos (PÁDUA et al., 2010). E para *Mustelus canis* a classificação em oito tipos de leucócitos: neutrófilo, monócito, linfócito, eosinófilo com granulação robusta (CEGs), eosinófilo com fina granulação (FEGs), basófilo, trombócito com grânulos (GT) e sem grânulos (PERSKY et al., 2012). Esta variação de nomenclatura dificulta a comparação e discussão dos resultados, e pode estar relacionada às diferentes técnicas de processamento da amostra, associado às diferentes características

morfológicas, morfométricas e tintoriais empregadas, que podem apresentar limitações para identificação e a correta nomenclatura dos leucócitos (PÁDUA et al., 2010).

Visando padronizar a nomenclatura dos granulócitos, leucócitos que possuem grânulos no citoplasma, foi sugerida a classificação utilizada para aves, que classifica em heterófilos, eosinófilos e basófilos. Esta metodologia funciona bem para algumas espécies, porém alguns elasmobrânquios apresentam granulócitos neutros, com o núcleo não lobulado e excêntrico, características que não se enquadram em nenhuma categoria das aves. Não se sabe se elas são um quarto tipo de granulócito ou são frutos de artefatos ou erros de coloração (CAMPBELL, 2015; WALSH e LUER, 2004).

Os leucócitos das raias que apresentam grânulos acidófilos são os heterófilos e eosinófilos. Possuem grande similaridade morfológica aos de outros vertebrados como anfíbios, répteis e aves e os heterófilos podem ser descritos também como eosinófilos de fina granulação (PÁDUA et al., 2010). Já os eosinófilos de tubarões como o *Rhincodon typus* podem apresentar grânulos alongados e não circulares (CLAUSS et al., 2009).

Os basófilos dos elasmobrânquios apresentam grânulos basofílicos, assim como os heterófilos de algumas espécies. São leucócitos que aparecem em baixa frequência na circulação sanguínea, assim como em teleósteos e mamíferos. Pode não ser encontrado em determinadas espécies e apresentam diferenças morfológicas consideráveis no tamanho, formato e na coloração dos grânulos, quando comparado aos teleósteos. Pouco se sabe sobre a função deste tipo de leucócito (TAVARES-DIAS et al., 2008b; PÁDUA et al., 2010).

Os estudos funcionais e citoquímicos dos leucócitos de peixes podem auxiliar na identificação precisa das diferentes populações leucocitárias, especialmente dos granulócitos. A avaliação citoquímica permite a identificação dos constituintes bioquímicos das células sanguíneas. Além disso, alguns métodos podem marcar determinado tipo específico de leucócitos (TAVARES-DIAS, 2006). Dessa forma, a citoquímica sanguínea fornece informações que auxiliam na identificação e indica a nomenclatura adequada, além de elucidar a função imunológica dos leucócitos de acordo com o arsenal de enzimas e outros substratos passíveis de identificação (TAVARES-DIAS, 2006).

Além da classificação das células sanguíneas os componentes bioquímicos presentes no sangue também podem ser mensurados e interpretados como reflexo da fisiologia dos peixes, assim como nos mamíferos, aves e répteis. As enzimas alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) desempenham um papel importante no metabolismo de carboidratos e proteínas. E podem ser utilizadas para a avaliação indireta da carga funcional do fígado e do coração, respectivamente. Mudanças fora do valor de referência para a espécie estão associadas a processos patológicos. A elevação dessas enzimas pode estar associada a hepatites e miopatias (RUDNEVA et al., 2014). Sabe-se que as espécies de raias marinhas exibem altas concentrações de ureia (280-450 mM representando cerca de 40% do total de seus solutos plasmáticos) e óxido trimetilamina (20% dos solutos) dissolvidos para manter a osmolaridade do plasma levemente hiperosmótica. Diferente das raias de água doce que exibem concentrações quase irrelevantes de ureia dissolvida (<1 mM) (BALLANTYNE e ROBINSON, 2010). Alterações nesses compostos comprovam respostas fisiológicas adaptativas a perturbações que atualmente estão presente na água do mar (RUDNEVA et al., 2014).

Íons inorgânicos também são frequentemente aferidos em elasmobrânquios, entre eles temos cloro (Cl), sódio (Na), potássio (K), cálcio (Ca) e fósforo (P). São responsáveis pela força iônica plasmática e estão intimamente ligados ao metabolismo celular, sendo responsáveis pelo funcionamento e transporte de diversas proteínas, principalmente na glândula retal, rins e brânquias (BALLANTYNE e ROBINSON, 2010).

HIPÓTESES

Ho: A privação alimentar não interfere no desempenho das raias e há exibição do ganho compensatório completo

Ha: A privação alimentar interfere no desempenho das raias e há exibição do ganho compensatório parcial

OBJETIVO GERAL

O objetivo do presente trabalho é verificar se a Viola-de-cara-curta *Zapteryx brevirostris* exibe ganho compensatório completo após ciclos de jejum.

REFERÊNCIAS

- ALI, M.; NICIEZA, A.; WOOTTON, Robert J. 2003 Compensatory growth in fishes: a response to growth depression. *Fish and fisheries*, 4(2): 147-190.
- ATKINSON, C.J.L. e COLLIN, S.P. 2012 Structure and topographic distribution of oral denticles in elasmobranch fishes. *The Biological Bulletin*, 222(1): 26-34.
- BALLANTYNE, J.S. e ROBINSON, J.W. 2010 Freshwater elasmobranchs: a review of their physiology and biochemistry. *Journal of Comparative Physiology - B*, 180(4): 475-493.
- BLANCHETON, J.P. 2000 Developments in recirculation systems for Mediterranean fish species. *Aquacultural engineering*, 22(1): 17-31.
- BORNATOWSKI, H.; COSTA, L.; ROBERT, M.C.; PINA, J.V. 2007 Hábitos alimentares de tubarões-martelo jovens, *Sphyrna zygaena* (Carcharhiniformes: Sphyrnidae), no litoral sul do Brasil. *Biota Neotropica*, 7(1): 213-216.
- BORNATOWSKI, H.; ROBERT, M. D. C.; COSTA, L. 2010 Feeding of guitarfish *Rhinobatos percellens* (Walbaum, 1972) (Elasmobranchii, Rhinobatidae), the target of artisanal fishery in southern Brazil. *Brazilian Journal of Oceanography*, 58(1): 45-52.
- BRINN, R.P.; MARCON, J.L.; MCCOMB, D.M.; GOMES L.C.; ABREU, J.S.; BALDISSEROTO, B. 2012 Stress responses of the endemic freshwater cururu stingray (*Potamotrygon cf. hystrix*) during transportation in the Amazon region of the Rio Negro. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 162(2): 139-145.
- BUSSEL, C.G.J van; SCHROEDER, J.P.; WUERTZ, S.; SCHULZ, C. 2012 The chronic effect of nitrate on production performance and health status of juvenile turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture*, 326: 163-167.
- BUTCHER, P.A.; PEDDEMORS, V.M.; MANDELMAN, J.W.; MCGRATH, S.P.; CULLIS, B.R. 2015 At-vessel mortality and blood biochemical status of elasmobranchs caught in an Australian commercial longline fishery. *Global Ecology and Conservation*, 3: 878-889.
- CAMHI, M.D.; VALENTI, S.V.; FORDHAM, S.V.; FOWLER, S.L.; GIBSON, C. 2009 The conservation status of pelagic sharks and rays: Report of the IUCN shark specialist group pelagic shark red list workshop. Newbury, UK: IUCN Species Survival Commission Shark Specialist Group. p. 78 www.iucnredlist.org. Access 24 Março 2016.

CAMPBELL, T.W. 2015 Evaluation of the Blood Film. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, 18(1): 703-721.

CARMO, W. P. D. do e FÁVARO, L. F. 2015 Teratogenic processes in an embryo without gills and low yolk absorption of *Zapteryx brevirostris* (Elasmobranchii: Rhinobatidae). *Brazilian Journal of Oceanography*, 63(4): 497-500

CHATAKONDI, N. G. e YANT, R. D. 2001 Application of Compensatory Growth to Enhance Production in Channel Catfish *Ictalurus punctatus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 32(3): 278-285.

CHO, S.H.; LEE, S.-M.; PARK, B.H.; JI, S.C. 2006 Compensatory growth of juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus* L., and changes in proximate composition and body condition indexes during fasting and after refeeding in summer season. *Journal of the World Aquaculture Society*, 37(2): 168-174.

CLAUSS, T.M.; DOVE, A.D.M.; ARNOLD, J.E. 2008 Hematologic Disorders of Fish. *Veterinary Clinics – Exotic Animal Practice*, 11(3): 445-462.

DAVIDSON, J.; GOOD, C.; WELSH, C.; SUMMERFELT, S.T. 2014 Comparing the effects of high vs. low nitrate on the health, performance, and welfare of juvenile rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* within water recirculating aquaculture systems. *Aquacultural Engineering*, 59: 30-40.

DULVY, N.K.; FOWLER, S.L.; MUSICK J.A.; CAVANAGH, R.D.; KYNE, P.M.; HARRISON, L.R.; CARLSON, J.K.; DAVIDSDON, L.N.K.; FORDHAM, S.; FRANCIS, M. P.; POLLOCK, C.M.; SIMPFENDORFER, C.A.; BURGESS, G.H.; CARPENTER, K.E.; COMPAGNO, L.V.J.; EBERT, D.A.; GIBSON, C.; HEUPEL, M. R.; LIVINGSTONE, S.R.; SANCIANGCO, J.C.; STEVENS, J.D.; VALENTI, S.; WHITE, W.T. 2014. Extinction risk and conservation of the world's sharks and rays. *Elife* 3: 1-34.

ESLAMLOO, K.; MORSHEDI, V.; AZODI, M.; ASHOURI, G.; ALI, M.; IQBAL, F. 2012 Effects of Starvation and Re-Feeding on Growth Performance, Feed Utilization and Body Composition of Tinfoil Barb (*Barbonymus schwanenfeldii*). *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 4(5): 489-495.

FOSS, A.; IMSLAND, A.K.; VIKINGSTAD, E.; STEFANSSON, S.O.; NORBERG, B.; PEDERSEN, S.; SANDVIK, T.; ROTH, B. 2009 Compensatory growth in Atlantic halibut: Effect of starvation and subsequent feeding on growth, maturation, feed utilization and flesh quality. *Aquaculture*, 290(3): 304-310.

FRANCO, B.; MENDONÇA, F.F.; HASHIMOTO, D.T.; PORTO-FORESTI, F.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F. 2010 Forensic identification of the guitarfish species *Rhinobatos horkelli*, *R. percellens* and *Zapteryx brevirostris* using multiplex-PCR. *Molecular Ecology Resources*, 10(1): 197-199.

FRANCO, B.A.; 2012 Illegal trade of the guitarfish *Rhinobatos horkelii* on the coasts of central and southern Brazil: genetic identification to aid conservation. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 22(2): 272-276.

GARNER, M.M. 2013 A retrospective study of disease in elasmobranchs. *Veterinary Pathology*, 50(3): 377-89.

GHANI, N.I.A. e MERILÄ, J. 2014 Cross-generational costs of compensatory growth in nine-spined sticklebacks. *Oikos*, 123(12): 1489-1498.

HAYWARD, R.S.; NOLTIE, D.B. WANG, N. 1997 Use of compensatory growth to double hybrid Sunfish growth rates. *Transactions of the American Fisheries Society*, 126(2): 316-322.

HEIDE, A.; FOSS, A.; STEFANSSON, S.O.; MAYER, I.; NORBERG, B.; ROTH, B.; JENSSEN, M.D.; NORTVEDT, R.; IMSLAN, A.K. 2006 Compensatory growth and fillet crude composition in juvenile Atlantic halibut: Effects of short term starvation periods and subsequent feeding. *Aquaculture*, 261(1): 109-117.

BRASIL – Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. 2003 PORTARIA nº. 73, de 24 de novembro de 2003. Art.1º Estabelecer o tamanho mínimo de captura de espécies marinhas e estuarinas do litoral sudeste/sul do País, relacionadas nos Anexos I e II desta Portaria. *Diário Oficial da União*, Brasília, 04 de dezembro de 2003, nº. 73, Seção 01: p. 109.

KOLLMANN, M.A.; CROFTS, S.B.; DEAN, M.N.; SUMMERS, A.P.; LOVEJOY, N.R. 2015 Morphology does not predict performance: jaw curvature and prey crushing in durophagous stingrays. *Journal of Experimental Biology*, 218(24): 3941-3949.

LOSORDO, T.M.; MASSER, M.P.; RAKOCY J.E. 1999 Recirculating aquaculture tank production systems – A review of component options. *Southern Regional Aquaculture Center*, 453(1): 1-12.

MARION, C.; VASKE-JUNIOR, T.; GADIG, O.B.F.; MARTINS, I.A. 2011 Feeding habits of the shortnose guitarfish *Zapteryx brevirostris* in southeastern Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 71(1): 83-89.

MCCLUSKY, L.M. e SULIKOWSKI, J. 2014 The epigonal organ and mature pole of the testis in the recreationally fished blue shark (*Prionace glauca*): histochemico-functional correlates. *Journal of Anatomy*, 225(6): 614-624.

MORAES, J.E.; AGUINAGA, J.Y.; VIDANNA, P.O.; MORAES, F.R. 2016 A histology-based study in apparently healthy wild freshwater stingrays *Potamotrygon motoro*. *Comparative Clinical Pathology*, 25(1): 165-168.

OLIVOTTO, I.; AVELLA, M.A.; SAMPAOLESI, G.; PICCINETTI, C.C.; NAVARRO-RUIZ, P.; CARNEVALI, O. 2008 Breeding and rearing the

longsnout seahorse *Hippocampus reidi*: Rearing and feeding studies. *Aquaculture*, 283: 92-96.

PÁDUA, S.B.; VENTURA, A.S.; SATAKE, F.; ISHIKAWA, M.M. 2010 Características morfológicas, morfométricas e citoquímicas das células sanguíneas de arraia ocelada *Potamotrygon motoro* (Elasmobranchii, Potamotrygonidae): Estudo de Caso. *Ensaios e Ciência – Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde*, 14(1): 147-158.

PERSKY, E.; WILLIAMS, J.J.; BURKS, R.E.; BOWMAN, M.R.; RAMER, J.C.; PROUDFOOT, J.S. 2012 Hematologic, plasma biochemistry, and select nutrient values in captive smooth dogfish (*Mustelus canis*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 43(4): 842-851.

PINHEIRO, H. T. e MARTINS, A. S. 2009 Estudo comparativo da captura artesanal do Camarão Sete-barbas e sua fauna acompanhante em duas áreas de pesca do litoral do estado do Espírito Santo, Brasil. *Boletim do Instituto de Pesca de São Paulo*, 35(2): 215-225.

RANGEL, B.S.; CIENA, S.P.; WOSNICK, N.; AMORIM, A.F.; KFOURY JUNIOR, J.R.; RICCI, R.E.G. 2016 Ecomorphology of oral papillae and denticles of *Zapteryx brevirostris* (Chondrichthyes, Rhinobatidae). *Zoomorphology*, 1-7.

RANZANI-PAIVA, M.J.T.; PADÚA, S.B.; TAVARES-DIAS, M.; EGAMI, M.I. 2013 *Métodos para análise hematológica em peixes*. 1ªed. Maringá: Eduem. 140 p.
RIBEIRO, F.A.S.; RODRIGUES, L.A.; FERNANDES, J.B.K. 2007 Desempenho de juvenis de Acará-Bandeira (*Pterophyllum scalare*) com diferentes níveis de proteína bruta na dieta. *Boletim do Instituto de Pesca*, 33(2): 195-203.

RIBEIRO, F.F. e TSUZUKI, M.Y. 2010 Compensatory growth responses in juvenile fat snook, *Centropomus parallelus* Poey, following food deprivation. *Aquaculture Research*, 41(9): e226-e233

ROCHA, F. e GADIG, O.B.F. 2013 Reproductive biology of the guitarfish *Rhinobatos percellens* (Chondrichthyes, Rhinobatidae) from the São Paulo Coast, Brazil, western South Atlantic Ocean. *Journal of Fish Biology*, 82(1): 306-317.

RUDNEVA, I.I.; DOROKHOVA, I.I.; SKURATOVSKAYA, E.N.; KUZMINOVA, N.S. 2014 Comparative studies of hepatic and blood biomarkers in three species of black sea elasmobranchs. *International Journal of Marine Science*, 4(44): 1-14.

SOGARD, S.M. e OLLA, B.L. 2002 Contrasts in the capacity and underlying mechanisms for compensatory growth in two pelagic marine fishes. *Marine Ecology Progress Series*, 243: 165-177.

TAL, Y.; SCHREIER, H.J.; SOWERS, K.R.; STUBBLEFIELD, J.D.; PLACE, A.R.; ZOHAR, Y. 2009 Environmentally sustainable land-based marine aquaculture. *Aquaculture*, 286(1): 28-35.

TAVARES-DIAS, M. 2006 A morphological and cytochemical study of erythrocyte, thrombocyte and leukocytes in four freshwater teleosts. *Journal of Fish Biology*, 68: 1822-1833.

TAVARES-DIAS, M.; OLIVEIRA-Jr, A.A.; MARCONI, J.L. 2008a Methodological limitations of counting total leukocytes and thrombocytes in reptiles (Amazon turtle, *Podocnemis expansa*): an analysis and discussion. *ACTA Amazonica*, 38(2): 351-356.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F.R.; MARTINS, M.L. 2008b Hematological assessment in four Brazilian teleost fish with parasitic infections, collected in feefishing from Franca, São Paulo, Brazil. *Boletim do Instituto de Pesca*, 34(2): 189-196.

TURKMEN, S.; EROLDOGAN, O.T.; YILMAN, H.A.; OLÇULU, A.; INAN, G.A.K.; ERÇEN, Z.; TEKELIOĞLU, N. 2012 Compensatory growth response of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) under cycled starvation and restricted feeding rate. *Aquaculture Research*, 43(11): 1643-1650.

URBINATI, E.C.; SARMIENTO, S.J.; TAKAHASHI, L.S. 2014 Short-term cycles of feed deprivation and refeeding promote full compensatory growth in the Amazon fish matrinxã (*Brycon amazonicus*). *Aquaculture*, 433: 430-433.

VAINIKKA, A.; HUUSKO, R.; HYVÄRINEN, P.; KORHONEN, P.K.; LAAKSONEN, T.; KOSKELA, J.; VIELMA, J.; HIRVONEN, H.; SALMINEN, M. 2012 Food restriction prior to release reduces precocious maturity and improves migration tendency of Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic*, 69(12): 1981-1993.

VOOREN, C.M.; LAMÓNACA, A.F.; MASSA, A.; HOZBOR, N. 2006 *Zapteryx brevirostris*. In: IUCN 2014. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.1. Disponível em: <www.iucnredlist.org>. Acesso em 13 mar 2016.

WALSH, C.J. e LUER, C.A. 2004 *Elasmobranch hematology: identification of cell types and practical applications*. In: SMITH, M.; WARMOLTS, D.; THONEY, D. et al, editors *The elasmobranch husbandry manual: captive care of sharks, rays, and their relatives*. 1ªed. Columbus: Biological Survey. 301-23p.

WON, E.T. e BORSKI, R.J. 2013 Endocrine regulation of compensatory growth in fish. *Frontiers in Endocrinology*, 4(74): 1-13.

WOSNICK, N. e FREIRE, C.A. 2013 Some euryhalinity may be more common than expected in marine elasmobranchs: The example of the South American skate *Zapteryx brevirostris* (Elasmobranchii, Rajiformes, Rhinobatidae). *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology*, 166(1): 36-43.

YENGGOKPAM, S.; SAHU, N. P.; PAL, A. K.; DEBNATH, D.; KUMAR, S.; JAIN, K. K. 2014 Compensatory growth, feed intake and body composition of *Labeo rohita* fingerlings following feed deprivation. *Aquaculture Nutrition*, 20(2): 101-108.

Artigo para Publicação

“Resiliência da Raia Viola-de-cara-curta (*Zapteryx brevirostris*):
ganho compensatório completo, hematologia e histopatologia”

Artigo redigido nas normas do periódico científico

Research in Veterinary Science

QUALIS A2

**Resiliência da Raia Viola-de-cara-curta (*Zapteryx brevirostris*):
ganho compensatório completo, hematologia e histopatologia**

Veronica Takatsuka^a; Ana Paula dos Santos^a; Susy Hermes de Sousa^b; Luciana Sonne^b;
Venâncio Guedes de Azevedo^c; Eduardo Gomes Sanches^c

(a) Pós-graduação do Instituto de Pesca – Av. Francisco Matarazzo, 455 - Água Branca, São Paulo – SP – Brasil. CEP 05001-000 – E-mail: veronicatakatsuka@gmail.com*, apaulasa13@gmail.com

(b) Setor de Patologia Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS, Av. Bento Gonçalves, 9090, Prédio 42505 – Agronomia – Porto Alegre – RS – Brasil. CEP 91540-000 – E-mail: susyhermes.vetunb@gmail.com, lusonne@yahoo.com.br

(c) Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento do Litoral Norte, Instituto de Pesca/APTA/SAA, Rua Joaquim Lauro Monte Claro Neto, 2275, Itaguá, Ubatuba – SP – Brasil. CEP 11680-000 – E-mail: vazevedo@pesca.sp.gov.br, esanches@pesca.sp.gov.br

Resumo

O ganho compensatório vem sendo testado como estratégia alimentar para estimular a reprodução em cativeiro de espécies migratórias e como forma de reduzir os custos de produção para animais de cultivo. Aqui foi testado a resiliência da Viola-de-cara-curta (*Zapteryx brevirostris*), frente à redução de recursos alimentares e demonstramos que a espécie apresenta ganho compensatório completo e a existência de parâmetros sanguíneos associados ao jejum. Sugerimos ainda que espécies carnívoras, com crescimento lento, similar ao da raia, tendem a apresentar ganho compensatório completo.

Palavras-chave

Viola-de-cara-curta; elasmobrânquio; Rhinobatidae; Nutrição

Abstract

Compensatory growth has been tested as a food strategy to stimulate captive breeding of migratory species and as a way to reduce production costs for farm animals. Here we tested the resilience of the Lesser guitarfish (*Zapteryx brevirostris*) with reduced food resources and demonstrated that the species exhibits complete compensatory growth and the existence of blood parameters associated with fasting. We suggest that carnivorous species, with slow growth, similar to that of the ray, tend to present complete compensatory growth.

Keywords

Lesser guitarfish, Elasmobranch; Rhinobatidae; Nutrition

Abreviações e símbolos

TCE: Taxa de Crescimento Específico

GPD: Ganho de Peso Diário

CAAp: Conversão Alimentar Aparente

CHCM: Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média

VCM: Volume Corpuscular Médio

HCM: Hemoglobina Corpuscular Média

Agradecimentos

Financiamento: Este trabalho foi financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) CAPES – CNPq através da bolsa de mestrado cedida.

Apoio: Agradeço os pós-graduandos do Instituto de Pesca – Ubatuba, pelo auxílio na execução do experimento.

1. Introdução

A espécie *Lesser guitarfish* (*Zapteryx brevirostris*) é a única pertencente a este gênero e está classificada como Vulnerável (VU) pela IUCN (Vooren et al., 2006). Sua principal forma de captura se dá acidentalmente através da pesca de arrasto com foco no camarão (Pinheiro and Martins, 2009). Devido ao seu baixo valor econômico as Violas são devolvidas ao mar, porém a biomassa capturada reduziu 86% comparando os anos de 1994 e 1999, indicando que sua população diminuiu consideravelmente. Seu potencial de recuperação é baixo com média de três filhotes por ano, para cada fêmea madura (Vooren et al., 2006). E a maturação sexual é tardia sendo considerados machos maduros acima de 40 cm de comprimento total e fêmeas a partir de 37 cm (Marion et al., 2011).

Pouco se sabe sobre as alterações fisiológicas e a resiliência das Violas frente a redução dos recursos alimentares. O termo resiliência determina a persistência das relações dentro de um sistema e mede a capacidade de absorção das mudanças. Seu resultado é a probabilidade de extinção da espécie (Holling, 1973). Sabe-se que algumas espécies de teleósteos lidam bem com a privação alimentar, pois possuem mecanismos fisiológicos que permitem a recuperação das condições físicas ou do crescimento após períodos de privação alimentar (Cho et al., 2006; Hayard et al., 1997). Porém, estes mecanismos fisiológicos denominados de “ganho compensatório” não foram comprovados em elasmobrânquios.

O ganho compensatório pode ser classificado em três categorias de acordo com Ali et al. (2003): a) o “ganho compensatório parcial” quando os indivíduos privados de alimentação recuperam apenas parte do peso esperado, pois são profundamente afetados pelo jejum e não conseguem recuperar o peso perdido ou o crescimento estagnado (Ribeiro and Tsuzuki, 2010); b) “ganho compensatório completo” quando a espécie recupera todo o peso perdido e o crescimento normal após o jejum, igualando o seu desenvolvimento aos indivíduos que se alimentaram todos os dias (Cho et al., 2006; Foss et al., 2009; Sogard and Olla, 2002; Türkmen et al., 2012); e c) “sobrecompensação” quando o desempenho dos indivíduos que foram submetidos a privação alimentar superam em peso e crescimento os indivíduos que se alimentaram constantemente (Chatakondi and Yant, 2001; Hayard et al., 1997).

Um período de injúria deve obrigatoriamente ocorrer para desencadear o ganho compensatório, que é resultado de diversas respostas endócrinas sequenciais durante os estados anabólico (fisiológico), catabólico (jejum) e hiperanabólico (realimentação),

resultando em aumento da taxa de crescimento específico (TCE) e redução da conversão alimentar aparente (CAAp) (Won and Borski, 2013).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a resposta fisiológica da *Z. brevirostris* durante períodos cíclicos de privação alimentar e constatar qual ganho categoria de compensatório a espécie apresenta.

2. Material e métodos

2.1 Animais experimentais

Vinte e um exemplares de Viola-de-cara-curta (*Z. brevirostris*), com comprimento total médio de $44,48 \pm 3,34$ cm e peso médio de $486,56 \pm 112,52$ g, foram coletadas como fauna acompanhante da pesca de arrasto do camarão no litoral norte do Estado de São Paulo, município de Ubatuba (SISBIO nº49980-3 e Comitê de Ética em Experimentação Animal do Instituto de Pesca - CEEAIP nº12/2016). Para promover o melhor bem-estar na captura e transporte das raias, apenas os animais capturados no último lance do arrasto foram transferidos para uma caixa de isopor de 200L, que continha uma bomba de água que mantinha o fluxo contínuo de renovação de água. Assim que desembarcaram, o isopor com os animais foi transportado manualmente para o Laboratório de Piscicultura Marinha do Instituto de Pesca que se localiza em frente ao cais onde ocorre o desembarque pesqueiro da região. Os animais foram aclimatados e soltos em tanques de fibra de vidro de 2500 L e o experimento só iniciou quando todos os animais estavam se alimentando.

No primeiro dia do experimento, todas as raias foram anestesiadas por imersão em eugenol (63 mg.L^{-1}). Por ser um óleo, houve a necessidade de se diluir previamente o eugenol em álcool, para que a incorporação do anestésico na água salgada fosse satisfatória. A diluição ocorreu na proporção de 1 parte de eugenol para cada 5 partes de álcool P.A. (Griffiths, 2000). O tempo médio de indução anestésica foi de 3 min, momento em que os batimentos operculares foram interrompidos e o animal permanecia imóvel, não respondendo fisicamente aos estímulos de toque. Neste momento a raia foi retirada da solução anestésica e acomodada em uma mesa para a microchipagem. Que consistiu na introdução intramuscular de um microchip de 1,2 cm logo a frente da primeira nadadeira dorsal, do lado direito. Essa ação permitiu que o desenvolvimento de cada animal fosse individualizado, permitindo avaliar a evolução de cada animal ao final do experimento.

2.2 Sistema de Manutenção

Em seguida, foram repartidas em três grupos de machos e fêmeas, mantidos em tanques circulares de fibra de vidro com capacidade de 2500 L cada, com lâmina d'água de 93 cm, sem sedimento e com sistema individual de filtragem. O conjunto filtrante era composto por um reservatório plástico *sump* de 100 L onde estavam o *skimmer* e um filtro mecânico tipo *bag* com capacidade para reter partículas sólidas a partir de 100 μm . Para manter a recirculação da água, utilizou-se uma bomba submersa no tanque de manutenção dos animais com vazão de 4000 L h⁻¹, sendo que 100% da água do tanque era reciclada a cada 45 minutos. A densidade de cada recinto era de sete animais ou 1,16 kg.m⁻³ aproximadamente. Como período de adaptação, os animais permaneceram por pelo menos 60 dias nessas condições, se alimentando diariamente de peixe e camarão à vontade. O fotoperíodo utilizado foi 12 h claro : 12 h escuro. A qualidade de água foi monitorada, sendo que diariamente a temperatura (26 ± 2 °C) foi aferida com auxílio de um termômetro de mercúrio, a salinidade (30 ± 2) foi mensurada através de um refratômetro manual, e semanalmente foram aferidos o oxigênio dissolvido (7 ± 1 g.L⁻¹) com medidor multiparamétrico Hanna HI 9829, amônia total ($0,1 \pm 0,1$ mg.L⁻¹) e pH ($8,3 \pm 0,3$) com kits colorimétricos Red Sea.

2.3 Desing Experimental e Tratamentos

O experimento teve duração de 76 dias de dezembro de 2015 a fevereiro de 2016. Duas estratégias alimentares foram comparadas ao controle. Os tratamentos empregados foram (T_{7x14}) sete dias de privação alimentar e quatorze dias de realimentação, (T_{14x14}) quatorze dias de privação alimentar e quatorze dias de realimentação e (T_{Controle}) alimentação todos os dias. Foi disponibilizado uma combinação de 70% do peixe Bonito-cachorra (*Auxis thazard*) em cubos e 30% de camarão sete barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) sem cabeça, na quantidade de 3% da biomassa do tanque fornecidos uma vez ao dia, às 8h30. Visando não prejudicar a qualidade da água e condicionar os animais, o alimento permanecia no tanque durante 5 minutos, tempo suficiente para que todas as raias se movimentassem em direção ao alimento, consumindo até a saciedade aparente, seguido de retorno a posição de repouso ou estação. Após, as sobras eram retiradas com auxílio de sifão e pesadas úmidas sem o excesso de água para a obtenção do peso do alimento consumido diariamente pelos animais de cada tanque. A determinação da quantidade de alimento ingerido diariamente por recinto se deu pelo peso do alimento ofertado, menos o peso das sobras. Uma troca parcial de água (5%) foi realizada diariamente, para retirar o óleo na superfície da água, oriundo do peixe fornecido como alimento.

2.4 Biometria, Parâmetros de Desempenho e Histologia

A biometria dos animais ocorreu no início e ao final do período experimental, com mensuração do peso e comprimento total. Foram calculados os seguintes parâmetros de desempenho: Biomassa final [soma de todos os pesos do tanque], Taxa de crescimento específico (TCE) [$(\ln \text{ peso final} - \ln \text{ peso inicial}) / \text{ número de dias do período experimental} \times 100$], Ganho de peso diário (GPD) [$(\text{peso final} - \text{peso inicial}) / \text{ número de dias do período experimental}$], Conversão alimentar aparente (CAAp) [quantidade total de alimento fornecido no período/ganho de peso no período experimental] e Sobrevivência [(raias vivas no final do período experimental/número inicial de indivíduos) $\times 100$].

A avaliação hematológica ocorreu no início e no final do período experimental. Os animais foram anestesiados por imersão em solução de eugenol (63 mg.L^{-1}) diluído em álcool na proporção de 1 parte de álcool para 5 partes de eugenol, e o tempo de indução anestésica foi de aproximadamente 3 minutos. Para obtenção da amostra sanguínea foi utilizado o vaso caudal, que foi acessado pela região ventral. Com auxílio de seringas descartáveis de 3 mL e agulhas hipodérmicas 20 x 5,5 mm umedecidas em heparina 5000 UI, a agulha foi inserida perpendicularmente na região ventral da cauda. A região de inserção da agulha fica a 5 cm caudal a abertura anal e paralelo a cartilagem mediana da cauda. Ou seja, a agulha deve ser introduzida bem no meio da cauda, após 5 cm do ânus. Foram retirados 2 mL de sangue e imediatamente após a coleta, foram confeccionadas três extensões sanguíneas e, posteriormente duas coradas com May-Grünwald e Giemsa (Rosenfeld, 1947) e uma com o kit Panótico Rápido composto por metanol, eosina e hematoxilina, para a contagem total de leucócitos e trombócitos e diferencial de leucócitos.

A contagem de eritrócitos foi realizada em câmara de Neubauer após diluição de 1 : 200 em solução corante de violeta de metila (Natt and Herrick, 1952). O hematócrito foi mensurado pelo método do microhematócrito em centrífuga 12000 rpm, por 3 minutos. A concentração de proteína plasmática total (PPT) foi mensurada com auxílio de refratômetro manual (301 – Snt Lydia). A concentração de hemoglobina foi determinada pelo método de fotometria em analisador hematológico automático (Bioclin – Mindray, BC – 2800 Vet). A fosfatase alcalina e a creatinina foram mensuradas por meio de kits específicos Labtest® e auxílio do espectrofotômetro (Bioplus – BIO 200). Os índices hematimétricos Volume Corpuscular Médio (VCM), Hemoglobina Corpuscular Média

(HCM) e Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM) foram calculados de acordo com Wintrobe (1934). Devido a grande variedade de nomenclaturas existentes na literatura para os granulócitos de elasmobrânquios, a comparação com outros estudos se torna difícil (Arnold, 2005; Dove et al., 2010; Ferreira et al., 2010). Neste estudo, adotamos a nomenclatura recomendada por Ranzani-Paiva et al., 2013.

No último dia do experimento, os animais foram eutanasiados através do aprofundamento do plano anestésico com eugenol (168 mg.L^{-1}) diluído em álcool 1:5, para a pesagem individual das vísceras e coleta de material para histopatologia. Os seguintes índices de desempenho foram determinados: Viscerossomático [(peso das vísceras/ peso da raia) x 100], Hepatossomático [(peso do fígado/ peso da raia) x 100], Gastrossomático [(peso do estômago/ peso da raia) x 100] e Enterossomático [(peso do intestino/ peso da raia) x 100]. Os animais permaneceram em jejum por 48h para que não fosse encontrado conteúdo no estômago e no intestino.

Para as análises histopatológicas foram coletados o segundo par de brânquias, coração e porção ventral do fígado, fixados em formalina 10%, por 24 horas e posteriormente conservados em álcool 70%. Foram encaminhados para o Setor de Patologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS onde foram processados pelos procedimentos histológicos de rotina com inclusão em parafina e coloração com Hematoxilina e Eosina (H.E.).

Devido a limitação de espaço e recurso cada animal foi considerado como uma unidade experimental, resultando em sete repetições por tratamento. Os dados não atenderam os pré requisitos da ANOVA, por isso foi utilizado o teste não paramétrico Kruskal-Wallis e em caso de diferença significativa ($p < 0,05$), foram comparados pelo teste de Dunn. Para a sobrevivência foi utilizado o teste G para comparação entre os tratamentos.

3. Resultados

3.1 Desempenho zootécnico

Os parâmetros de desempenho produtivo são apresentados na Tabela 1, sendo que a dieta $T_{7 \times 14}$ apresentou ganho compensatório completo, pois apresentou desempenho zootécnico semelhante ao T_{Controle} e $T_{14 \times 14}$ apresentou ganho compensatório parcial, pois seu desempenho foi inferior ao T_{Controle} .

Devido ao baixo número de indivíduos disponíveis e à grande variedade de tamanho dos animais, com máximo de 816,8g e 53 cm e mínimo de 317,6g e 37,5 cm, só foi possível formar lotes homogêneos descartando um indivíduo de cada tratamento.

Tabela 1. Parâmetros de desempenho produtivo da Raia Viola-de-cara-curta (*Zapteryx brevirostris*) submetidas a diferentes períodos de privação alimentar durante 76 dias. Média e desvio padrão. Dados com diferença significativa ($p < 0,05$) na mesma linha são marcados com letras diferentes.

Parâmetros	T _{Controle}	T _{7x14}	T _{14x14}
Número dias alimentação	74	49	32
Peso inicial (g)	464,27 ± 47,84	435,80 ± 67,14	559,61 ± 159,98
Peso final (g)	471,17 ± 56,2	441,86 ± 70,2	569,00 ± 126,9
Comprimento inicial (cm)	44,44 ± 2,48	41,14 ± 2,73	46,36 ± 3,26
Comprimento final (cm)	44,67 ± 2,5	41,86 ± 2,7	46,60 ± 2,3
Biomassa final (g)	2827	3093	2276
Sobrevivência (%)	85,7 ^a	100 ^a	57,1 ^b
TCE peso (%PV dia-1)	0,015 ± 0,09 ^a	0,017 ± 0,04 ^a	0,002 ± 0,02 ^b
GPD (g dia-1)	0,076 ± 0,44 ^a	0,080 ± 0,17 ^a	0,021 ± 0,11 ^b
Consumo alimento diário (g)	53,31 ^b	49,69 ^b	29,73 ^a
CAAp	113,7 ^b	57,4 ^c	148,7 ^a
Índice Viscerosomático	7,45 ± 4,78	4,75 ± 0,69	4,88 ± 2,02
Índice Hepatossomático	2,09 ± 0,5 ^a	1,26 ± 0,14 ^b	0,93 ± 0,19 ^c
Índice Gastrossomático	1,10 ± 0,14 ^a	1,00 ± 0,06 ^a	0,78 ± 0,07 ^b
Índice Enterossomático	1,10 ± 0,08 ^a	1,07 ± 0,15 ^a	0,78 ± 0,07 ^b

T_{Controle} (alimentação todos os dias), T_{7x14} (7 dias de jejum e 14 dias de alimentação), T_{14x14} (14 dias de jejum e 14 dias de alimentação). TCE = taxa de crescimento específico; GPD = ganho de peso diário; CAAp Média = média de conversão alimentar aparente. ¹Linhas com diferentes letras indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$)

3.2 Parâmetros hematológicos

Os parâmetros hematológicos são apresentados na Tabela 2 na qual estão listados os dados da série vermelha e os índices hematiméticos, sendo que em T_{14x14} temos uma anemia microcítica hipocrômica, com hipoproteinemia e baixa creatinina.

Tabela 2. Hemograma e exames bioquímicos de Viola-de-cara-curta (*Zaptryx brevirostris*) submetidas a jejum de 7 dias e alimentação por 14 dias (T_{7x14}), jejum e alimentação por 14 dias (T_{14x14}) e controle que se alimentou todos os dias, uma vez ao dia (T_{Controle}). São exibidas médias e desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Kruskal-Wallis e Dunn.

	T _{Controle}	T _{7x14}	T _{14x14}
Eritrócitos (10 ⁶ /mm ³)	0.38 ± 0.11	0.37 ± 0.10	0.48 ± 0.17
Hematócrito (%)	19.00 ± 2.23 ^a	18.00 ± 1.80 ^{a,b}	13.00 ± 3.00 ^b
Hemoglobina (mg/dL)	6.40 ± 0.91	5.80 ± 0.69	5.30 ± 0.87
Volume Corpuscular Médio (fL)	545.58 ± 114.15 ^a	489.80 ± 89.67 ^{a,b}	290.13 ± 59.47 ^b
Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (g/dL)	32.33 ± 2.26	31.18 ± 3.47	39.30 ± 7.74
Hemoglobina Corpuscular Média (pg)	176.15 ± 29.68 ^a	157.66 ± 24.36 ^{a,b}	110.74 ± 18.93 ^b
Proteína Plasmática Total (g/dL)	5.30 ± 0.46 ^a	4.80 ± 0.44 ^{a,b}	3.80 ± 1.10 ^b
Fosfatase Alcalina (U/L)	53.85 ± 8.16	58.00 ± 6.53	49.70 ± 12.45
Creatinina (mg/dL)	1.95 ± 0.33 ^a	1.28 ± 0.30 ^{a,b}	1.02 ± 0.19 ^b

*T_{Controle} (alimentação todos os dias), **T_{7x14} (7 dias de jejum e 14 dias de alimentação), ***T_{14x14} (14 dias de jejum e 14 dias de alimentação).

¹Linhas com diferentes letras indicam diferenças significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$)

Na Tabela 3, temos os dados da série branca sendo que em T_{14x14} houve eosinopenia. A Figura 1 ilustra detalhadamente o diferencial de leucócitos encontrado. Devido as diversas classificações celulares encontradas na literatura, adotamos a nomenclatura sugerida por Ranzani-Paiva et al., (2013).

Tabela 3. Contagem total de leucócitos e trombócitos e diferencial de leucócitos (μL⁻¹) da Viola-de-cara-curta (*Zaptryx brevirostris*) submetidas a jejum de 7 dias e alimentação por 14 dias (T_{7x14}), jejum e alimentação por 14 dias (T_{14x14}) e controle que se alimentou todos os dias, uma vez ao dia (T_{Controle}). São exibidas média e desvio padrão, e entre parênteses o número relativo (%). Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Kruskal-Wallis e Dunn.

	T _{Controle}	T _{7x14}	T _{14x14}
<u>- Contagem total</u>			
Leucócitos (μL^{-1})	18958 \pm 9010	23511 \pm 7550	45403 \pm 24087
Trombócitos (μL^{-1})	2687 \pm 1740	4495 \pm 1751	5998 \pm 4105
<u>- Contagem diferencial</u>			
Linfócitos (μL^{-1})	11836 \pm 5417 (62)	14442 \pm 6113 (61)	27646 \pm 26418 (61)
Neutrófilos (μL^{-1})	5615 \pm 4581 (30)	7766 \pm 5490 (33)	12324 \pm 10544 (27)
Eosinófilos (μL^{-1})	880 \pm 572 ^a (5)	831 \pm 442 ^a (4)	5242 \pm 1178 ^b (12)
Monócitos (μL^{-1})	368 \pm 373 (2)	277 \pm 323 (1)	949 \pm 1145 (2)
CGE* (μL^{-1})	259 \pm 339 (1)	141 \pm 165 (1)	211 \pm 423 (0)
Basófilos (μL^{-1})	0 \pm 0 (0)	26 \pm 53 (0)	0 \pm 0 (0)

*Célula Granulocítica Especial

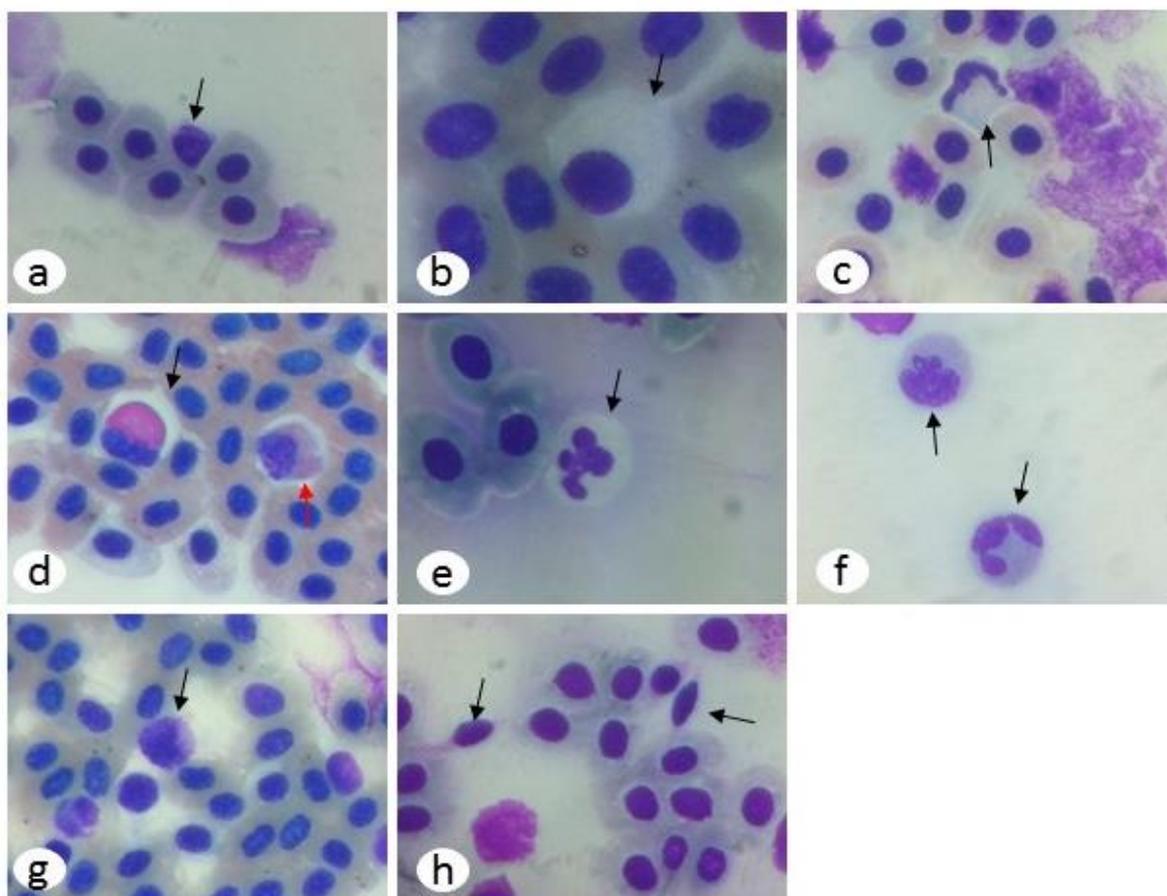


Figura 1 Células observadas em extensões sanguíneas de Viola-de-cara-curta (*Zaptryx brevirostris*) coradas com kit Panótico Rápido. (a): linfócito; (b) célula granulocítica especial - CGE; (c) monócito; (d) seta preta eosinófilo e seta vermelha neutrófilo; (e) neutrófilo; (f) neutrófilo; (g) basófilo; (h) trombócito.

3.3 Parâmetros histopatológicos

Na análise histopatológica, não houve alteração nas brânquias em nenhum dos tratamentos (Figura 2a) e músculo estriado cardíaco (Figura 2b). O grupo controle (T_{Controle}) apresentou degeneração vacuolar hepática moderada a acentuada (Figura 2d). Os grupos que passaram por um período de jejum ($T_{7 \times 14}$ e $T_{14 \times 14}$) apresentaram degeneração vacuolar hepática discreta com discreta trombose e atrofia hepática (Figura 2c).

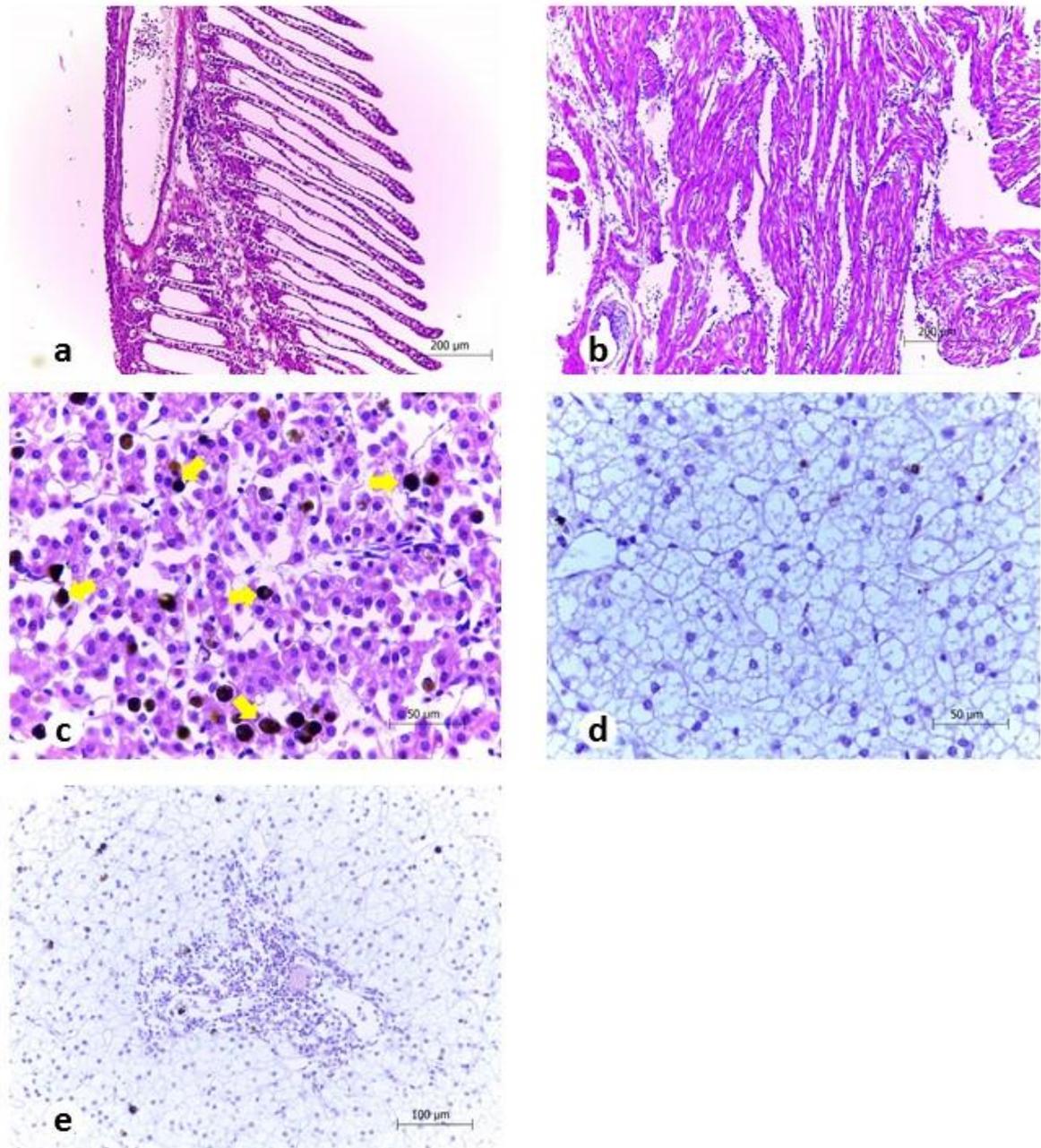


Figura 2 Histopatologia de órgãos da Viola-de-cara-curta (*Zapteryx brevirostris*), processamento de rotina com inclusão em parafina e coloração com HE. (a) Brânquia sem

alteração microscópica após anestesia com eugenol 10x no tratamento controle; (b) Músculo estriado cardíaco sem alteração microscópica 10x no tratamento controle; (c) Fígado com degeneração vacuolar hepática discreta nos tratamentos que passaram pelo jejum (T7x14 e T14x14), com presença de melanomacrófagos (seta amarela) 40x; (d) Fígado com degeneração vacuolar hepática acentuada no tratamento controle (TControle) 40x; (e) Fígado com infiltrado periportal no tratamento com jejum mais severo (T14x14) 20x.

4. Discussão

A *Z. brevirostris* exibe ganho compensatório completo, mostrando-se tolerante a redução da disponibilidade de alimento, resultante por exemplo da poluição e sobrepesca de suas presas naturais. A hematologia está associada à privação alimentar e pode ser uma ferramenta para avaliar se a espécie está se alimentando adequadamente.

Desempenho zootécnico

O ganho compensatório completo foi alcançado no tratamento T_{7x14}, uma vez que os dados de desempenho zootécnico e de saúde, foram semelhantes ao grupo controle (T_{Controle}), porém em T_{14x14} houve apenas ganho compensatório parcial. Para espécies carnívoras e marinhas que apresentam ganho compensatório completo, temos uma semelhança na faixa etária, sendo que todos são adultos (Foss et al., 2009) e não há hiperfagia (Cho et al., 2006).

Diferente dos teleósteos, onde a hiperfagia, que é o aumento do consumo alimentar e o aumento da TCE são fatores fundamentais para alcançar o ganho compensatório completo (Sogard and Olla, 2002; Won and Borski, 2013). Pois com o maior consumo de alimento é possível recuperar as reservas lipídicas e acelerar o crescimento quantificado pela TCE (Won and Borski, 2013). Porém, o tratamento T_{7x14} não alterou o consumo diário de alimento (49,69g) com relação ao controle (53,31g) e o T_{14x14} reduziu em mais de 44% o consumo (29,73g). Resultados semelhante foram encontrados para *Paralichthys olivaceus* conhecido como linguado, onde os grupos que apresentaram ganho compensatório completo não apresentaram hiperfagia e os grupos que apresentaram ganho compensatório parcial reduziram o consumo diário de alimento (Cho et al., 2006).

Foi constatado em teleósteos que o consumo alimentar é dependente da quantidade ofertada e da frequência alimentar. Estes fatores influenciam a taxa de esvaziamento gástrico e o retorno do apetite, podendo resultar em alterações da massa gástrica (Riche et al., 2004). Aqui temos a redução do peso do estômago, representado pelo Índice Gastrossomático, e do intestino, Índice Enterossomático no tratamento que passou pelo

maior período de privação alimentar $T_{14 \times 14}$. Comprovando que o tecido responsável pela produção de enzimas e absorção de nutrientes foi reduzido. Esta resposta tem o objetivo de retornar o equilíbrio fisiológico, uma vez que houve redução drástica da quantidade de alimento consumida, o organismo reduz suas células digestivas em número ou tamanho, pois há um gasto energético para manter o metabolismo basal das células sobressalentes.

O crescimento do grupo controle pode ser considerado baixo. Um fator que contribuiu para isso foi que todos os animais utilizados no experimento são adultos, machos acima de 40 cm e fêmeas acima de 37 cm (Marion et al., 2011). Esse crescimento pequeno do grupo controle, contribuiu para que não houvesse diferença significativa entre as raia que se alimentaram todos os dias e aquelas que foram submetidas a um período de privação alimentar. Assim, podemos dizer que o ganho compensatório completo, não se dá pelo aumento do crescimento dos animais no período de realimentação, e sim pelo crescimento tão irrisório do grupo controle que um período sem alimento não interfere significativamente no seu crescimento. Resultando em semelhanças do desempenho dos animais que foram alimentados todos os dias ($T_{Controle}$) com aqueles submetidos a períodos de privação alimentar por 7 dias ($T_{7 \times 14}$). Já se sabe que a faixa etária interfere na resposta ao ganho compensatório (RIBEIRO e TSUZUKI, 2010; URBINATI et al., 2014) e maioria dos trabalhos que encontrou ganho compensatório parcial, ou seja, que não obtiveram os melhores resultados que é o ganho compensatório completo utilizaram formas jovens, que estão em fase de crescimento acelerado (RIBEIRO e TSUZUKI, 2010).

A conversão alimentar aparente (CAAp) se reduz em $T_{7 \times 14}$, comparado ao $T_{Controle}$, ou seja, com uma quantidade menor de alimento se produz uma maior quantidade de peso corporal. Assim, após o jejum os animais aproveitaram melhor o alimento, repondo suas reservas de energia e utilizando os nutrientes para o crescimento (Won and Borski, 2013). Foi o único índice zootécnico que se comportou como o esperado, pois era esperado que a conversão alimentar reduzisse e a taxa de crescimento específico aumentasse (Cho et al., 2006; Foss et al., 2009).

Com relação aos índices de desempenho, o hepatossomático (Tabela 1) se da pela relação do peso do fígado com o peso total das vísceras, ou seja, quanto maior o fígado, maior o índice e maior a reserva lipídica que a raia possui. O fígado é o principal local de armazenamento de triglicerídeos e, em algumas espécies de elasmobrânquios, 80% do peso deste órgão pode representar lipídeos. Esta reserva é a principal fonte de energia durante os períodos de jejum e em alguns casos auxilia na flutuabilidade (Grant et al.,

2012). Aqui os peixes do tratamento T_{14x14} apresentaram IHS menor em relação aos demais, isso significa que as raias consumiram suas reservas lipídicas para suprir as exigências de seu metabolismo basal, como já era esperado. A fosfatase alcalina, enzima que reflete lesões graves dos hepatócitos, não variou, ou seja, mesmo com o jejum prolongado e recorrente, a gliconeogênese hepática estava funcionando perfeitamente. Porém com o fígado sobrecarregado, outras funções desempenhadas por ele podem ter ficado comprometidas.

Hematologia

Devido à redução do VCM, HCM e hematócrito, as raias do T_{14x14} exibem anemia classificada como microcítica e hipocrômica, ou seja, os eritrócitos estão menores (menor VCM) e com menos hemoglobina (menor HCM), condição severa que leva a redução do hematócrito como o verificado neste trabalho. A causa mais comum deste tipo de anemia é a deficiência de ferro na dieta por um período prolongado. Durante a fagocitose dos eritrócitos senis, a hemoglobina é reciclada e o ferro é reaproveitado durante a síntese de novas células sanguíneas. Porém, a principal fonte deste nutriente é a dieta e o mecanismo de reciclagem não consegue suprir toda a demanda. Com uma dieta pobre neste íon, ocorrem mais divisões celulares do que o fisiológico, na expectativa que o ferro chegue e seja suficiente para preencher a nova célula com a concentração de hemoglobina adequada. Neste momento a anemia é classificada como microcítica normocrômica, quando a quantidade de hemoglobina dentro da célula de menor tamanho é considerada normal. Caso a deficiência se prolongue, a produção de hemoglobina não será mais suficiente, resultando em anemia microcítica hipocrômica, ou seja, os eritrócitos são menores e com pouca hemoglobina (Eivazi-Ziaei et al., 2008). Esta situação compromete o transporte de gases devido à redução do seu principal transportador. Este quadro de anemia se mostrou um sinal clínico grave, uma vez que a mortalidade neste grupo foi elevada (42,90%).

As proteínas plasmáticas totais (PPT) são em sua maioria albumina, sendo o restante designado globulinas. A albumina é sintetizada no fígado (Dallagnol et al., 2014), que no tratamento T_{14x14} estava priorizando a gliconeogênese, para obter energia e suprir o seu metabolismo basal, resultando na redução significativa de PPT exibindo assim um quadro de hipoproteïnemia. Temos que a *Z. brevirostris* é resiliente ao jejum, porém esta característica tem um limite, que no jejum cíclico de 14 dias e realimentação por 14 dias (T_{14x14}) extrapola a capacidade de estabilização e resiliência da espécie.

No tratamento T_{14x14} houve redução dos níveis plasmáticos de creatinina. A determinação da creatinina plasmática é um marcador de função renal mais seguro do que a ureia. A creatinina sofre influência direta da dieta, ou seja, a alteração desse parâmetro pode estar associado à redução da dieta e não a lesão renal com comprometimento da filtração. Além disso, a creatinina sérica basal é diretamente ligada à massa corporal do animal, ou seja, animais com uma boa condição corporal (T_{Controle}) apresentam níveis normais de creatinina maiores do que animais com baixa condição corporal (T_{14x14}) (Heymsfield et al., 1982).

Na contagem diferencial de leucócitos houve aumento significativo de eosinófilos em T_{14x14}. Os eosinófilos são células que apresentam cromatina de coloração púrpura e grânulos citoplasmáticos eosinofílicos (Ranzani-Paiva et al., 2013) e tem seu aumento associado as parasitoses (Fujimoto et al., 2006). Todas as raias utilizadas no experimento possuem a mesma procedência e passaram pelo mesmo tratamento profilático, antes do início da presente experimentação. Nenhum procedimento contra endoparasitos foi realizado. Tendo em vista o aumento do número de eosinófilos em T_{14x14}, podemos atribuir a possíveis endoparasitos que se tornaram agressivos frente a um hospedeiro debilitado. A relação hospedeiro-parasito pode se desequilibrar devido a depressão do sistema imune do hospedeiro, que ocorre devido as altas densidades de estocagem, excesso de matéria orgânica no tanque e variedades bruscas de temperatura (Tavares-Dias et al., 2001). No presente estudo, a depressão do sistema imune foi causada pela baixa disponibilidade de alimento. Isso leva o hospedeiro a ficar mais sensível ao parasito, refletindo no aumento do número de eosinófilos em T_{14x14}.

O baixo número de monócitos encontrados, quando comparado a outros trabalhos de hematologia de raias, demonstra a boa qualidade de água e manejo destes animais (Ferreira et al., 2010). Os monócitos são os maiores leucócitos presentes na circulação dos peixes e, no tecido, são denominados macrófagos. São as principais células fagocitárias dos peixes e agem principalmente no foco inflamatório fagocitando debris celulares e microorganismos patogênicos (Ranzani-Paiva et al., 2013). A baixa abundância observada reflete, portanto a baixa presença de patógenos desafiando o sistema imune das raias. Uma das vantagens do sistema de recirculação, onde os animais foram mantidos, é o menor risco de introdução de microorganismos patogênicos no sistema e no presente estudo a água introduzida era de boa procedência e passava por filtragem mecânica antes de entrar nos tanques. Ainda assim, a água de todo o tanque foi filtrada a cada 45 minutos.

Histopatologia

O fígado é o principal órgão de acúmulo de reserva lipídica (Grant et al., 2012). Os animais do T_{Controle} apresentaram degeneração hepática moderada a acentuada, refletindo o maior acúmulo de lipídios no fígado, que acabam ocupando o espaço dos hepatócitos, levando a degeneração vacuolar. Como estes animais se alimentaram todos os dias, houve um maior depósito de gordura natural neste órgão. Enquanto que nos tratamentos que passaram por algum período de jejum T_{7x14} e T_{14x14} houve degeneração vacuolar hepática discreta, ou seja, acumularam menor teor de lipídios. As reservas lipídicas foram consumidas durante os períodos de jejum para a manutenção do metabolismo basal dos animais. Estas lesões microscópicas reforçam os resultados já demonstrados pelo Índice Hepatosomático, que foi estatisticamente maior no tratamento controle (Tabela 1).

As raias foram submetidas a anestesia com eugenol (63 mg.L⁻¹) para microchipagem e biometria inicial e no final do experimento a eutanásia foi realizada com sobredose de eugenol 168 mg.L⁻¹. Durante os procedimentos o tempo de indução e recuperação foram rápidos (menor do que 3 minutos) e na análise histopatológica as brânquias se mostraram saudáveis e sem alterações, ao contrário do relatado por Neiffer and Stamper (2009), que citam o eugenol como a principal causa de necrose leve em exposições seriadas ao eugenol.

5. Conclusão

A Viola-de-cara-curta (*Z. brevirostris*) se mostrou uma espécie apta ao cativeiro. Respondendo bem a dieta fornecida e ao manejo operacional empregado. Permitindo um manejo operacional tranquilo, desde a captura, manutenção, contenção e coleta de amostras sanguíneas. A espécie exibe ganho compensatório completo, se mostrando resiliente frente a períodos cíclicos de jejum de uma semana. Porém, exibe ganho compensatório parcial, quando submetida a períodos de privação alimentar mais severos que podem comprometer a sobrevivência da espécie. O hematócrito, proteína plasmática total, creatinina e os índices hematimétricos são parâmetros hematológicos que sinalizam o jejum na espécie.

6. Referências

- Arnold, J.E., 2005. Hematology of the sandbar shark, *Carcharhinus plumbeus*: standardization of complete blood count techniques for elasmobranchs. *Vet. Clin. Pathol.* 34, 115–123.
- Ali, M.; Nicieza, A.; Wootton, R. J. 2003 Compensatory growth in fishes: a response to growth depression. *Fish and fisheries*, 4, 147-190.
- Bornatowski, H., Robert, M.D.C., Costa, L., 2010. Feeding of guitarfish *Rhinobatos percellens* (Walbaum, 1972) (Elasmobranchii, Rhinobatidae), the target of artisanal fishery in southern Brazil. *Brazilian J. Oceanogr.* 58, 45–52.
- Chatakondi, N.G., Yant, R.D., 2001. Application of compensatory growth to enhance production in channel catfish *Ictalurus punctatus*. *J. World Aquac. Soc.* 32, 278–285.
- Cho, S.H., Lee, S.M., Park, B.H., Ji, S.C., Lee, J., Bae, J., Oh, S.Y., 2006. Compensatory growth of juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus* L., and changes in proximate composition and body condition indexes during fasting and after refeeding in summer season. *J. World Aquac. Soc.* 37, 168–174.
- Dallagnol, J.M., Higuchi, L.H., Maluf, M.L.F., Feiden, A., Boscolo, W.R., 2014. Issn: 2316-4093. *Acta Iguazu* 3, 97–108.
- Dapp, D.R., Huveneers, C., Walker, T.I., Drew, M., Reina, R.D., 2016. Moving from measuring to predicting Bycatch mortality: predicting the capture condition of a longline caught pelagic shark. *Front. Mar. Sci.* 2, 1–10.
- Dove, A., Arnold, J., Clauss, T., 2010. Blood cells and serum chemistry in the world's largest fish: the whale shark *Rhincodon typus*. *Aquat. Biol.* 9, 177–183.
- Dulvy, N.K., Fowler, S.L., Musick, J.A., Cavanagh, R.D., Kyne, P.M., Harrison, L.R., Carlson, J.K., Davidson, L.N. k, Fordham, S. V., Francis, M.P., Pollock, C.M., Simpfendorfer, C.A., Burgess, G.H., Carpenter, K.E., Compagno, L.J. v, Ebert, D.A., Gibson, C., Heupel,

- M.R., Livingstone, S.R., Sanciangco, J.C., Stevens, J.D., Valenti, S., White, W.T., 2014. Extinction risk and conservation of the world's sharks and rays. *Elife* 3, 1–34.
- Eivazi-Ziaei, J., Dastgiri, S., Pourebrahim, S., Soltanpour, R., 2008. Usefulness of red blood cell flags in diagnosing and differentiating thalassemia trait from iron-deficiency anemia. *Hematology* 13, 253–6.
- Eslamloo, K., Morshedi, V., Azodi, M., Ashouri, G., Ali, M., Iqbal, F., 2012. Effects of starvation and re-feeding on growth performance, feed utilization and body composition of tinfoil barb (*Barbonymus schwanenfeldii*). *World J. Fish Mar. Sci.* 4, 489–495.
- Ferreira, C.M., Field, C.L., Tuttle, A.D., 2010. Hematological and plasma biochemical parameters of aquarium-maintained cownose rays. *J. Aquat. Anim. Health* 22, 123–128.
- Foss, A., Imsland, A.K., Vikingstad, E., Stefansson, S.O., Norberg, B., Pedersen, S., Sandvik, T., Roth, B., 2009. Compensatory growth in atlantic halibut: effect of starvation and subsequent feeding on growth, maturation, feed utilization and flesh quality. *Aquaculture* 290, 304–310.
- Fujimoto, R.Y., Santana, C.A., Carvalho, W.L.C. de, Diniz, D.G., Barros, Z.M.N. de, Varella, J.E. de A., Guimarães, M.D.F., 2006. Hematologia e parasitas metazoários de camurim (*Centropomus undecimalis*, Bloch, 1792) na região Bragantina, Bragança-Pará. *Bol. do Inst. Pesca* 35, 441–450.
- Grant, K.R., Campbell, T.W., Silver, T.I., Olea-Popelka, F.J., 2012. Validation of an ultrasound guided technique to establish a liver to coelom ratio and a comparative analysis of the ratios among acclimated and recently wild caught southern stingrays, *Dasyatis americana*. *Zoo Biol.* 32, 104–111.
- Griffiths, S.P., 2000. The use of clove oil as an anaesthetic and method for sampling intertidal rockpool fishes. *J. Fish Biol.* 57, 1453–1464.
- Hayard, R.S., Noltie, D.B., Wang, N., 1997. Use of compensatory growth to double hybrid sunfish growth rates. *Am. Fish. Soc.* 126, 316–322.

- Heymsfield, S.B., McManus, C., Smith, J., Stevens, V., Nixon, D.W., 1982. Anthropometric measurement of muscle mass: revised equations for calculating bone-free arm muscle area. *Am. J. Clin. Nutr.* 36, 680–690.
- Holling, C.S., 1973. Resilience and stability of ecological systems. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 4, 1–23.
- Marion, C., Vaske-Junior, T., Gadig, O.B.F., Martins, I.A., 2011. Feeding habits of the shortnose guitarfish *Zapteryx brevirostris* in southeastern Brazil. *Brazilian J. Biol.* 71, 83–89.
- Natt, M.P., Herrick, C.A., 1952. A new blood diluents for counting the erythrocytes and leucocytes of the chicken. *Poult. Sci.* 31, 735–738.
- Neiffer, D.L., Stamper, M.A., 2009. Fish sedation, analgesia, anesthesia, and euthanasia: considerations, methods, and types of drugs. *ILAR J.* 50, 343–360.
- Pinheiro, H.T., Martins, A.S., 2009. Estudo comparativo da captura artesanal do camarão sete-barbas e sua fauna acompanhante em duas áreas de pesca do litoral do estado do Espírito Santo, Brasil. *Bol. do Inst. Pesca São Paulo* 35, 215–225.
- Ranzani-Paiva, M.J.T., Pádua, S.B. de, Tavares-Dias, M., Egami, M.I., 2013. Métodos para análise hematológica em peixes, 1ª. ed. Maringá.
- Ribeiro, F.F., Tsuzuki, M.Y., 2010. Compensatory growth responses in juvenile fat snook, *Centropomus parallelus* Poey, following food deprivation. *Aquac. Res.* 41, 226–233.
- Riche, M., Haley, D.I., Oetker, M., Garbrecht, S., Garling, D.L., 2004. Effect of feeding frequency on gastric evacuation and the return of appetite in tilapia *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture* 234, 657–673.
- Rodrigues, E., Medeiros, A., Rosa, R., Bacila, M., 1999. Carbohydrate metabolism in fish erythrocytes: blood glucose compartmentalization. *Arch. Vet. Sci.* 4, 99–102.
- Rosenfeld, G., 1947. Corante pancromático para hematologia e citologia clínica. Nova

- combinação dos componentes do May-Grünwald e do Giemsa num só corante de emprego rápido. Mem. Inst. Butantan 20, 329–334.
- Seixas, S.R.D.C., Hoeffel, J.L.D.M., Renk, M., Silva, B.N. Da, Lima, F.B. De, 2014. Percepção de pescadores e maricultores sobre mudanças ambientais globais, no litoral Norte Paulista, São Paulo, Brasil. Rev. Gestão Costeira Integr. 14, 51–64.
- Sogard, S.M., Olla, B.L., 2002. Contrasts in the capacity and underlying mechanisms for compensatory growth in two pelagic marine fishes. Mar. Ecol. Prog. Ser. 243, 165–177.
- Tavares-Dias, M., Martins, M.L., Moraes, F.R., 2001. Fauna parasitária de peixes oriundos de “pesque-pague” do município de Franca, São Paulo, Brasil. I. Protozoários. Acta Sci. - Biol. Sci. 18, 67–69.
- Türkmen, S., Eroldoğan, O.T., Yılmaz, H.A., Ölçülü, A., Inan, G.A.K., Erçen, Z., Tekelioğlu, N., 2012. Compensatory growth response of european sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) under cycled starvation and restricted feeding rate. Aquac. Res. 43, 1643–1650.
- Urbinati, E.C., Sarmiento, S.J., Takahashi, L.S., 2014. Short-term cycles of feed deprivation and refeeding promote full compensatory growth in the amazon fish matrinxã (*Brycon amazonicus*). Aquaculture 433, 430–433.
- Vainikka, A., Huusko, R., Hyvärinen, P., Korhonen, P.K., Laaksonen, T., Koskela, J., Vielma, J., Hirvonen, H., Salminen, M., 2012. Food restriction prior to release reduces precocious maturity and improves migration tendency of atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 69, 1981–1993.
- Vooren, C.M., Amónaca, A.F., Massa, A., Hozbor, N., 2006. *Zapteryx brevirostris*. IUCN 2014. IUCN Red List Threat. Species. Version 2014.1.
- Wintrobe, M.M., 1934. Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of varius vertebrates. Folia Haematol. 51, 32–49.

- Won, E.T., Borski, R.J., 2013. Endocrine regulation of compensatory growth in fish. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. 4, 1–14.
- Wosnick, N., Freire, C.A., 2013. Some euryhalinity may be more common than expected in marine elasmobranchs: The example of the South American skate *Zapteryx brevirostris* (Elasmobranchii, Rajiformes, Rhinobatidae). *Comp. Biochem. Physiol. - A Mol. Integr. Physiol.* 166, 36–43.
- Yengkokpam, S., Sahu, N.P., Pal, A.K., Debnath, D., Kumar, S., Jain, .K.K, 2014. Compensatory growth, feed intake and body composition of *Labeo rohita* fingerlings following feed deprivation. *Aquac. Nutr.* 20, 101–108.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo teve como objetivo avaliar a resposta fisiológica do ganho compensatório da raia Viola-de-cara-curta *Zapteryx brevirostris* durante períodos cíclicos de jejum. Conseguimos alcançar o objetivo previsto inicialmente para esse estudo, obtendo bons e significativos resultados.

Por meio dos experimentos realizados conseguimos detectar que a espécie apresenta ganho compensatório completo quando submetida a períodos cíclicos de privação alimentar, sugerindo resiliência frente ao início da redução dos recursos alimentares.

Porém com períodos mais severos de jejum, como em ciclos de 14 dias e alimentação por 14 dias, os animais já se mostram debilitados. Acarretando em alterações hematológicas, no hematócrito, níveis de proteína plasmática total, creatinina e os índices hematimétricos, indicando que uma restrição mais severa poderia comprometer a sobrevivência de uma população.