

**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**

**IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR E ASPECTOS BIOLÓGICOS DE  
ELASMOBRÂNQUIOS CAPTURADOS NA PESCA DE PARELHA NO SUDESTE  
E SUL DO BRASIL: CONTRIBUIÇÃO PARA GESTÃO PESQUEIRA**

**Beatriz Fabris Schmidt**

**Orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dra. Katharina Eichbaum Esteves**

**Co-orientador: Prof. Dr. Alberto Ferreira de Amorim**

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**

**Setembro-2013**

**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**

**IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR E ASPECTOS BIOLÓGICOS DE  
ELASMOBRÂNQUIOS CAPTURADOS NA PESCA DE PARELHA NO SUDESTE  
E SUL DO BRASIL: CONTRIBUIÇÃO PARA GESTÃO PESQUEIRA**

**Beatriz Fabris Schmidt**

**Orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dra. Katharina Eichbaum Esteves**

**Co-orientador: Prof. Dr. Alberto Ferreira de Amorim**

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**

**Setembro-2013**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

S3351

Schmidt, Beatriz Fabris

Identificação molecular e aspectos biológicos de elasmobrânquios capturados na pesca de parelha no Sudeste e Sul do Brasil : contribuição para gestão pesqueira / Beatriz Fabris Schmidt. -- São Paulo, 2013.

43f. ; il. ; gráf. ; tab.

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

Orientadora: Katharina Eichbaum Esteves

1. Raias. 2. Genética. 3. Biologia. 4. Conservação. 5. *Dasyatis* spp.  
6. *Atlantoraja castelnaui*. I. Esteves, Katharina Eichbaum. II. Título.

CDD 639

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

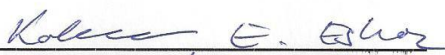
**CERTIFICADO DE APROVAÇÃO**

**“IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR E ASPECTOS BIOLÓGICOS DE  
ELASMOBRÂNQUIOS CAPTURADOS NA PESCA DE PARELHA  
NO SUDESTE E SUL DO BRASIL: CONTRIBUIÇÃO PARA  
GESTÃO PESQUEIRA”.**

**AUTOR: Beatriz Fabris Schmidt**

**ORIENTADOR: Katharina Eichbaum Esteves**

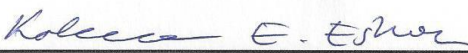
Aprovado como parte das exigências para obtenção do título de  
MESTRE EM AQUICULTURA E PESCA, Área de Concentração em  
Pesca, pela Comissão Examinadora:

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dra. Katharina Eichbaum Esteves

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Santiago Montealegre Quijano

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dra. Marcia Nunes Galvão

Data da realização: 19 de setembro de 2013

  
\_\_\_\_\_  
Presidente da Comissão Examinadora  
Prof. Dra. Katharina Eichbaum Esteves

***Dedico este trabalho a meus pais,***

***Eliane e Reinaldo...***

## **Agradecimentos**

Agradeço primeiramente aos meus pais, Eliane e Reinaldo, que me apoiaram incondicionalmente em todos os momentos, me incentivando desde o início. Sem vocês nada disso seria possível !!!

Agradeço ao professor Amorim, me deu a oportunidade de ingressar no mestrado, trabalhando com o que eu sempre gostei e me ensinou muita coisa sobre pesca.

Agradeço a professora Katharina Esteves por concordar em ser minha orientadora, e ao professor Alexandre Hilsdorf que abriu as portas de seu laboratório e me possibilitou aprender muita coisa sobre genética.

Agradeço a todos os professores que tive nesses dois anos, que com certeza contribuíram muito com minha formação acadêmica.

Agradeço em especial a Bruna Rodrigues e Juliana Di Biasi, que me ajudaram muito. Obrigada Bruna por me acompanhar nos desembarques, me ensinar muita coisa sobre pesca....Ju muito obrigada....sem você meu trabalho de Dna não teria saído.... você me ensinou muita coisa mesmo.....não tenho como agradecer as duas!!!!!!

Também agradeço a todos os amigos que fiz nesses dois anos, todas as pessoas que conheci....Obrigada em especial para a Roberta, que me abrigou na sua casa em Santos.....obrigada as estagiárias de Santos.....Aline, Julia, Helena, .....que me ajudaram muito nos desembarques.....obrigada ao pessoal de Mogi.....todos sempre muito legais.....

E por último, mas mais importante a Deus.....que me proporcionou tudo isso.....principalmente saúde para viver tudo isso.....

Foi uma experiência única, que levarei para o resto da minha vida!!!

## Sumário

Resumo.....	iii
Abstract.....	iv
1. Introdução.....	1
1.1. Revisão Bibliográfica.....	2
1.1.1. Pesca.....	2
1.1.2. PCR-RFLP na Identificação de Elasmobrânquios.....	4
2. Referências Bibliográficas.....	6
3. Objetivos.....	9
3.1. Objetivo Geral.....	9
3.2. Objetivos Específicos.....	9
4. Apresentação da Dissertação.....	10
Capítulo 1.....	11
Capítulo 2.....	25
5. Considerações Finais.....	43

## Resumo

A pesca intensiva vem levando ao declínio os estoques de inúmeras espécies marinhas, especialmente os elasmobrânquios. Nos arrastos de parelha, *Dasyatis spp* são uma das espécies de elasmobrânquios mais capturadas, porém há grande dificuldade de identificação taxonômica destes indivíduos, uma vez que são desembarcados em forma de carcaças. A raia *Atlantoraja castelnaui* também é frequentemente capturada e encontra-se ameaçada de extinção pela IUCN. Tendo em vista a necessidade de dados específicos sobre as capturas de elasmobrânquios para contribuir com a gestão pesqueira, o objetivo do trabalho foi identificar em nível de espécie as carcaças das raias do gênero *Dasyatis* do sudeste e sul do Brasil, através da técnica molecular de PCR-RFPL e analisar os aspectos biológicos do estoque de *Atlantoraja castelnaui*, ambas capturadas pelos arrastos de parelha entre os anos de 2011 e 2012, a fim de compreender o impacto desta pesca em suas populações. Através das amplificações da região COI com os *primers* universais para peixes R1 e F2 e da enzima de restrição Fok I, foram gerados fragmentos de DNA específicos para as 4 espécies de raias do gênero *Dasyatis*, com fragmentos de 390 e 260 pb para *D. hypostigma*, fragmentos de 300, 180 e 155 pb para *D. americana*, fragmentos de 370 e 300 pb para *D. guttata* e fragmentos de 410 e 200 pb para *D. centroura*. Depois a enzima foi usada na identificação de 97 amostras de tecidos das carcaças coletadas nos desembarques pesqueiros de parelha, evidenciando a ocorrência de 90,7% de *D. hypostigma*, 5,1% de *D. americana*, 2,1% de *D. guttata* e 2,1% de *D. centroura*. A técnica se mostrou eficiente na identificação das quatro espécies, podendo ser uma ferramenta importante para o monitoramento e conservação de tal grupo. Para *A. castelnaui* foram identificadas 216 exemplares, com 69 machos variando de 82,3 a 110,6 cm, 82 fêmeas de 84,3 a 121,2 cm e 65 indivíduos indeterminados de 56,9 a 83,2 cm de comprimento total. O menor volume desembarcado ocorreu no outono, no entanto não houve padrão de capturas para as demais estações do ano. O crescimento foi isométrico para machos e fêmeas. Houve predomínio nas capturas de indivíduos imaturos, principalmente fêmeas, mostrando ser uma espécie capturada indiscriminadamente e que requer iniciativas urgentes de preservação.

**Palavras chave:** Raias, genética, biologia, conservação, *Dasyatis spp*, *Atlantoraja castelnaui*.



## Abstract

Intensive fishing has led numerous marine species stocks to decline, especially elasmobranchs. In pair trawls, *Dasyatis spp* are one of the most elasmobranchs caught, but there is great difficulty in taxonomic identification of these individuals, once they are discharged in form of carcasses. The skate *Atlantoraja castelnaui* is also often caught and is endangered according to the IUCN. Given the need for catches specific data of elasmobranchs to contribute to fisheries management, the goal of the study was to identify to species level the carcasses rays of the genus *Dasyatis* of southeastern and southern Brazil, using the molecular technique PCR - RFPL and analyze the biological aspects of *Atlantoraja castelnaui* stock, both caught by pair trawls between 2011 and 2012, in order to understand the impact of fishing on their populations. Through the amplification of the COI region with universal primers F2 and R1 and fish restriction enzyme Fok I, were generated specific DNA fragments for the 4 species of the genus *Dasyatis*, with fragments of 390 and 260 bp for *D. hypostigma*, fragments of 300, 180 and 155 bp for *D. americana*, fragments of 370 and 300 bp for *D. guttata* and fragments of 410 and 200 bp for *D. centroura*. After the enzyme was used to identify 97 tissue samples from carcasses collected the fish landings, indicating the occurrence of 90.7 % of *D. hypostigma*, 5.1% of *D. americana*, 2.1% of *D. guttata* and 2.1 % of *D. centroura*. The technique is efficient for identification of the four species and could be an important tool for monitoring and conservation of such a group. To *A. castelnaui* 216 specimens were identified, with 69 males ranging from 82.3 to 110.6 cm, 82 females from 84.3 to 121.2 cm and 65 indeterminate individuals from 56.9 to 83.2 cm in total length. The lower volume landed occurred in the fall, however there was no pattern of catches for the other seasons. The growth was isometric for males and females. The immature individuals predominated in the catches, especially females, being a specie caught indiscriminately and require urgent conservation initiatives.

**Key Words:** Rays, genetics, biology, conservation, *Dasyatis spp*, *Atlantoraja castelnaui*.

## 1. Introdução

Cerca de 1.000 espécies de elasmobrânquios são conhecidas em todo o mundo (COMPAGNO, 2005), sendo que no Brasil são descritas 85 espécies de tubarões e 55 espécies de raias (SBEEL, 2005). São predominantemente predadores, o que os coloca no topo da cadeia alimentar, desempenhando um papel importante na estrutura e funcionamento das comunidades marinhas (CAMHI *et al.*, 1998). Além disso, são k-estrategistas, característica biológica que tornam esse grupo mais suscetível à sobrexplotação, uma vez que possuem baixa capacidade de sustentar grande pressão pesqueira (CAMHI *et al.*, 1998; STEVENS *et al.*, 2000; BONFIL e ABDULLA, 2001).

Embora sempre tenha havido comercialização da carne e subprodutos dos elasmobrânquios, sua captura era considerada incidental. Porém, nas últimas décadas este quadro se alterou, e em muitas regiões do país já estão ocorrendo pescarias dirigidas a essas espécies, devido à sua crescente valorização tanto no mercado interno como externo (SBEEL, 2005).

A pesca intensiva pode resultar em mudanças na abundância, estrutura de tamanho, parâmetros de histórias de vida e até mesmo levar à extinção de muitas espécies (STEVENS *et al.*, 2000). Devido ao seu baixo valor econômico, os elasmobrânquios geralmente não são alvo de pesquisas e medidas de conservação (BONFIL, 1994). A probabilidade de uma exploração sustentável é cada vez menor devido a falta de conhecimento sobre a biologia e ecologia de muitas espécies de tubarões e raias (GRAHAM *et al.*, 2001). Portanto, muitas espécies de elasmobrânquios encontram-se sobrexplotadas e ameaçadas de extinção (CAMHI *et al.*, 1998; MARTINS, 2007).

Estudos objetivando a sustentabilidade das espécies marinhas acabam sendo prejudicados pela ausência de informações a respeito do estado de seus estoques pesqueiros (SBEEL, 2005). No caso de tubarões e raias, a avaliação de seus estoques fica prejudicada pela limitação das estatísticas pesqueiras (ROSA e LIMA, 2008). Geralmente os indivíduos capturados, são agrupados em uma mesma categoria, gerando dados deficientes (PAESCH e MENESES, 1999). Porém a maioria de seus desembarques ainda não são registrados ou

identificados e há poucas publicações taxonômicas ou guias que possibilitem a identificação dessas espécies (BONFIL, 1994; CAMHI *et al.*, 1998).

Para correta avaliação dos estoques e futuras ações de manejo e conservação, são necessários mais dados a respeito da biologia e pesca de tal grupo, com a precisa identificação das espécies capturadas e desembarcadas (SBEEL, 2005). Só assim poderão ser tomadas medidas de conservação apropriadas que objetivem a sustentabilidade das populações em longo prazo (SHIVJI *et al.*, 2002).

Na pesca de arrasto de parelha que desembarca em Santos e Guarujá, *Dasyatis spp* e *Atlantoraja castelnaui* são um dos elasmobrânquios mais frequentemente capturados. Porém há grande dificuldade em identificar em nível de espécie as raias do gênero *Dasyatis*, uma vez que todos os elasmobrânquios capturados são desembarcados na forma de carcaças, sem cabeça, cauda e vísceras. Já *A. castelnaui* encontra-se ameaçada de extinção segundo a União Internacional para Conservação da Natureza (IUCN, 2013). Diante da necessidade de dados específicos que contribuam com a gestão pesqueira das espécies de elasmobrânquios, o objetivo deste trabalho é identificar em nível de espécie das raias do gênero *Dasyatis*, como também o estudo do estoque de *A. castelnaui* a fim de contribuir com dados pesqueiros específicos para futuras ações de manejo e conservação destas espécies.

## **1.1. Revisão da Literatura**

### **1.1.1. Pesca**

No Brasil, de acordo com o Ministério da Pesca e Aquicultura (BRASIL, 2011), a produção de pescado pela pesca extrativa marinha para o ano de 2011 foi de 553.455 t, sendo que os elasmobrânquios representaram 3,4% desse total. Os cações estiveram entre as espécies de peixes marinhos mais capturados para o mesmo ano. As regiões sudeste e sul, representaram 49,4% das capturas de 2011.

Os recursos pesqueiros demersais possuem grande importância e são mais abundantes na plataforma continental, associados a fundos de areia e lama (CASTRO, 2001). A pesca de arrasto de fundo causa sérios impactos às

comunidades bentônicas e demersais, sendo que o grau dessa alteração irá depender da frequência com que o arrasto é realizado (JENNINGS *et al.*, 2002). Este tipo de pesca acaba capturando espécies demersais com grande amplitude de comprimento, característica de artes de pesca pouco seletivas (PEREZ *et al.*, 1998). Também é considerada multiespecífica, e no sudeste e sul do Brasil é realizada tanto por arrastos simples e duplos como por arrastos de parelhas (CASTRO, 2001; PEREZ e PEZZUTO, 2001).

A pesca de parelha é direcionada para a captura de peixes demersais costeiros em águas relativamente rasas, e funciona com dois barcos trabalhando em conjunto, arrastando uma única rede que atua em contato com o fundo. Devido a queda do rendimento dos recursos tradicionalmente pescados, as frotas de arrasto de parelha acabam atuando sobre as espécies mais disponíveis em certos momentos, o que agrava ainda mais a situação dos estoques costeiros. As espécies alvo da pesca de parelha são o goete e a corvina, mas atualmente estão ocorrendo uma valorização de espécies de menor valor comercial, como os tubarões e as raias (CASTRO, 2000).

Entre os anos de 1981 e 1983, 90% dos elasmobrânquios demersais capturados na região sul do Brasil foram cações-anjo e raias. Espécies como *Squatina guggenheim*, *S. occulta*, *Sympterygia acuta*, *S. bonapartei*, *Myliobatis spp.* e *Atlantoraja castelnaui* representaram 80% da biomassa de elasmobrânquios bentônicos capturados (VOOREN, 1998). De acordo com MAZZOLENI e SCHWINGEL (1999), que analisaram os desembarques de elasmobrânquios em Itajaí (SC) de 1994 a 1999, a maioria dos elasmobrânquios da plataforma continental foi capturada pela pesca de arrasto.

Já no estado de São Paulo, a produção de elasmobrânquios sofreu grandes oscilações nos últimos 15 anos. As raias apresentaram tendência crescente, representando 20% da produção total dos peixes cartilagosos. A produção de raias representou apenas 3% da produção de elasmobrânquios em 1998, porém, a partir de 2004 passou a representar mais de 20%, atingindo 55% dessa produção em 2011 (INSTITUTO DE PESCA, 2013).

### 1.1.2. PCR-RFLP na Identificação de Elasmobrânquios

Muitas espécies de Chondrichthyes que são comercializadas não são reportadas nas estatísticas dos desembarques pesqueiros, principalmente devido à dificuldade de identificação de tais espécies (PEQUENÕ e LAMILLA, 1997). Uma das maiores dificuldades encontradas para a identificação adequada consiste no fato de que a maioria dos indivíduos são desembarcados sem cabeça, cauda e nadadeiras (SHIVJI *et al.*, 2002), destruindo assim características morfológicas necessárias para sua identificação (HEIST e GOLD, 1999).

Na pesca de parelha que desembarca em São Paulo, os elasmobrânquios são desembarcados na forma de carcaças, o que dificulta sua identificação e obtenção de dados de captura em nível de espécie. As raias do gênero *Dasyatis* são um dos grupos de elasmobrânquios mais capturados nestas pescarias e segundo a IUCN (2013) não há dados suficientes para estimar o *status* das populações de muitas espécies deste grupo. Além disso, há grande confusão taxonômica envolvendo algumas dessas espécies (FIGUEIREDO, 1977; SANTOS e CARVALHO, 2004), evidenciando a necessidade de identificação até o menor nível taxonômico.

A aplicação de ferramentas moleculares buscando a sustentabilidade e conservação dos elasmobrânquios tem se expandido nos últimos anos (DUDGEON *et al.*, 2012). A técnica de amplificação do DNA (PCR – *Polimerase Chain Reaction*) seguida de cortes enzimáticos, gerando fragmentos específicos para cada espécie (RFLP - *Restriction Fragment Length Polymorphism*), tem se mostrado eficiente na identificação de diferentes espécies deste grupo (CHAN *et al.*, 2003; ALVARADO BREMER *et al.*, 2005; MENDONÇA *et al.*, 2009).

Estudos para identificação molecular de tubarões foram feitos por HEIST e GOLD (1999), que usaram fragmentos de DNA mitocondrial (citocromo b) e genes de tRNA para identificar onze espécies da ordem Carcharhiniformes através da técnica de PCR-RFLP. CHAN *et al.* (2003) também usou a técnica da PCR para amplificar a região citocromo b do DNA mitocondrial, gerando assim fragmento de restrição específicos para identificar seis espécies do

gênero *Carcharhinus*. No Brasil, MENDONÇA *et al.* (2009) e PINHAL *et al.* (2009) também utilizaram PCR-RFLP para identificação de tubarões do gênero *Rhizoprionodon*.

Pesquisas com raias foram feitas por ALVARADO BREMER *et al.* (2005), que usaram a região mitocondrial citocromo oxidase I (COI) para identificar através de PCR-RFLP duas espécies de *Leucoraja* no Atlântico ocidental. SPIES *et al.* (2006), através de pesquisa com raias do Pacífico Norte, provaram que a região citocromo c oxidase subunidade I (mt-COI) do gene mitocondrial também pode ser usada na identificação de espécies. Já VALSECCHI *et al.* (2005) descrevem um novo conjunto de *primers* específicos para amplificar regiões do gene mitocondrial em raias do gênero *Raja* no mar Mediterrâneo. No Brasil, MARIGUELA *et al.* (2009) usaram os genes mitocondriais 16S e COI para identificar *Rhinobatos percellen*, *R. horkelli* e *Zapteryx brevirostris*.

## 2. Referências Bibliográficas

ALVARADO BREMER, J.R.; FRISK, M.G.; MILLER, T.J.; TURNER, J.; VINAS, J.; KWIL, K. 2005 Genetic identification of cryptic juveniles of little skate and winter skate. *Journal of Fish Biology*. 66: 1177-1182.

BONFIL, R. 1994 *Overview of world elasmobranch fisheries*. FAO Technical paper. n.341, 119p.

BONFIL, R. e ABDULLA, M. 2001 *Field Identification Guide to the Sharks and Rays of the Red Sea and Gulf of Aden*. Rome. FAO Species Identification Guide for Fishery Purposes. 2004. 71. 12p.

BRASIL. 2011 *Boletim estatístico da pesca e aquicultura*. Ministério da Pesca e Aquicultura. Brasil. Brasília.

CAMHI, M.; FOWLER, S.; MUSICK, J.; BRÄUTIGAM, A.; FORDHAM, S. 1998 *Sharks and their Relatives Ecology and Conservation*. Occas. Pap. IUCN Spec. Survival Comm. n.20, 63p.

CASTRO, P.M.G. 2000 *Estrutura e dinâmica da frota de paelhas do Estado de São Paulo e aspectos biológicos dos principais recursos pesqueiros demersais costeiros da região Sudeste/Sul do Brasil (23°- 29°S)*. São Paulo. (Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, USP).

CASTRO, P.M.G. 2001 Estrutura e dinâmica da frota de paelhas do estado de São Paulo e aspectos biológicos dos principais recursos demersais costeiros do Sudeste do Brasil (23° - 29°S). *Notas Téc. FACIMAR*, 5: 59-92.

CHAN, R.W.K.; DIXON, P.I.; PEPPERELL, J.G.; REID, D.D. 2003 Application of DNA-based for the identification of whaler sharks (*Carcharhinus* spp.) caught in protective beach meshing and by recreational fisheries off the coast of New South Wales. *Fishery Bulletin*, 101:910-914.

CHOW, S. 1993 PCR-RFLP analysis on thirteen western Atlantic snappers (subfamily Lutjaninae): a simple method for species and stock identification. *Fishery Bulletin*, 91: 619-627.

COMPAGNO, L.; DANDO, M.; FOWLER, S. L. 2005 *A field guide to the sharks of the world*. London: Harper Collins Publishers.

FIGUEIREDO, J.L. 1977 *Manual de Peixes Marinhos do Sudeste do Brasil*. São Paulo: Museu de Zoologia. Universidade de São Paulo. 104p.

FRISK, M.G. 2004 *Biology, life history and conservation of elasmobranchs with an emphasis on western atlantic skates*. 239p. (Tese de Doutorado. University of Maryland). Disponível em: <<http://drum.lib.umd.edu/handle/1903/1971>> Acesso em: 10 nov. 2011.

GRAHAM, K.J.; ANDREW, N.L.; HODGSON, K.E. 2001 Changes in relative abundance of sharks and rays on Australian South East fishery trawl grounds after twenty years of fishing. *Mar. Freshwater Res*, 52: 549-561.

HEIST, E.J. e GOLD, J.R. 1999b Genetic Identification of Sharks in the U.S. Atlantic large coastal Shark Fishery. *Fishery Bulletin*, 97: 53-61.

Instituto de Pesca do Estado de São Paulo. Unidade Laboratorial de Referência em Controle Estatístico da Produção Pesqueira Marinha do Instituto de Pesca <<http://www.pesca.sp.gov.br/estatistica.php>> Acessado em: out. 2013.

IUCN. 2013 *IUCN Red List of Threatened Species*. Version 2013.1. Disponível em: <[www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)>. Acesso em: 20 maio. 2013.

JENNINGS, S.; NICHOLSON, M.D.; DINMORE, T.A.; LANCASTER, J.E. 2002 Effects of chronic trawling disturbance on the production of infaunal communities. *Marine Ecology Progress Series*, 243: 251-260.

MARIGUELA, T.C.; DE-FRANCO, B.; ALMEIDA, T.V.V.; MENDONÇA, F.F.; GADIG, O. B. F.; FORESTI, F.; OLIVEIRA, C. 2009 Identification of guitarfish species *Rhinobatos percellen*, *R. horkelli*, e *Zapteryx brevirostris* (Chondrichthyes) using mitochondrial genes and RFLP technique. *Conservation Genetic Resource*, 1: 393-396.

MARTINS, R.R.M. 2007 *Avaliação da sustentabilidade dos elasmobrânquios demersais à pesca de arrasto de camarão no litoral norte do Estado de Santa Catarina*. Itajaí. 161p. (Dissertação de mestrado. Universidade do Vale do Itajaí: Centro de Ciências Tecnológicas da Terra e do Mar). Disponível em: <<http://siaibib01.univali.br/pdf/Raquel%20Renno%20Mascarenhas%20Martins.pdf>> Acesso em: 10 nov. 2011.

MAZZOLENI, R.C. e SCHWINGEL, P.R. 1999 Elasmobranch species landed in Itajaí Harbor Southern Brazil. *Notas Téc. FACIMAR*, 3: 111-118.

MENDONÇA, F.F.; HASHIMOTO, D.T.; PORTO-FORESTI, F.; OLIVEIRA, C.; GADIG, O.B.F.; FORESTI, F. 2009 Identification of the shark species *Rhizoprionodon lalandii* and *R. porosus* (Elasmobranchii, Carcharhinidae) by multiplex PCR and PCR-RFLP techniques. *Molecular Ecology Resources*, 9: 771-773.

PAESCH, L. e MENESES, P. 1999 Estudios Realizados Sobre Los Elasmobrânquios Dentro Del Rio De La Plata Y La Zona Comum De Pesca Argentino – Uruguaya En El Marco Del “Plan De Investigacion Pesquera”. Montevideo: Instituto Nacional de Pesca, Ministério de Ganadería, Agricultura y Pesca - Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo. 79p.

PEQUEÑO, G. e LAMILLA, J. 1997 Las pesquerías de condriictios en Chile: primer análisis. *Revista Biología Pesquera*, 26: 13-24.

PEREZ, J.A.A.; LUCATO, S.H.B.; ANDRADE, A.H.; PEZZUTO, P.R.; RODRIGUES RIBEIRO. 1998 Programa de amostragem da pesca industrial desenvolvido para o Porto de Itajaí, SC. *Notas Téc. FACIMAR*, 2: 93-108.

PEREZ, J.A.A. e PEZZUTO, P.R. 2001 Análise da dinâmica da pesca de arrasto do Sudeste e Sul do Brasil, entre 1997 e 1999, a partir de desembarques realizados no Porto de Itajaí – SC. *Notas Téc. FACIMAR*, 5: 59-92.



PINHAL, D.; GADIG, O.B.F.; MARTINS, C. 2009 Genetic identification of the sharks *Rhizoprionodon porosus* and *R. lalandii* by PCR-RFLP and nucleotide sequence analyses of 5S rDNA. *Conservation Genet Resour*, 1:35-38.

QUINTEIRO, J.; SOTELO, C.G.; REHBEIN, H.; PRYDE, S.E.; MEDINA, I.; PEDREZ-MARTIN, R.I.; REY-MENDEZ, Z.M.; MACHIE, I.M. 1998 Use of mtDNA direct polymerase chain reaction (PCR) sequencing and PCR-restriction fragment length polymorphism methodologies in species identification of canned tuna. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 1662-1669.

ROSA, R.S. e LIMA, F.C.T. 2008 Peixe. In: MACHADO, A.B.M.; DRUMMOND, G.M.; PAGLIA, A.P. *Livro vermelho da fauna ameaçada de extinção*. Brasil, DF: MMA. v.2.

SANTO, H.R.S. e CARVALHO, M.R. 2004 Description of a new species of whiptailed stingray from the southwestern atlantic ocean (Chondrichthyes, Myliobatiformes, Dasyatidae). *Boletim do Museu Nacional*, 516: 1-24.

SBEEI. 2005 *Plano Nacional para Conservação e Manejo dos Estoques de Peixes Elasmobrânquios no Brasil*. Recife: Sociedade Brasileira para o Estudo de Elasmobrânquios - SBEEI. 100p.

SHIVJI, M.S.; CLARKE, S.; PANK, M.; NATANSON, L.; KOHLER, N.; STANHOPE, M. 2002 Genetic Identification of Pelagic Shark Body Parts for Conservation and Trade Monitoring. *Conservation Biology*, 16: 1036-1047.

SPIES, I.B.; GAICHAS, S.; STEVENSON, D.E.; ORR, J.W.; CANINO, M.F. 2006 DNA-based identification of Alaska skates (*Amblyraja*, *Bathyraja* and *Raja*: Rajidae) using cytochrome c oxidase subunit I (col) variation. *Journal of Fish Biology*, 69: 283-292.

STEVENS, J.D.; BONFIL, R.; DULVY, N.K.; WALKER, P.A. 2000 The effects of Fishing on Sharks, Rays and Chimaeras (Chondrichthyans), and implications for marine ecosystems. *ICES Journal of Marine Science*, 57: 476-494.

VALSECCHI, E.; VACCHI, M.; di SCIARA, G.N. 2005 Characterization of a New Molecular Marker for Investigating Skate Population Genetics: Analysis of Three Mediterranean Skate Species (genus *Raja*) of Commercial Interest as a Test Case. *J. Northw. Atl. Fish. Sci.*, 35: 225-231.

VOOREN, C.M. 1998 Elasmobrânquios demersais. In: SEELINGER, U.; ODEBRECHT, C.; CASTELLO, L.P. *Os ecossistemas costeiros e marinhos do extremo sul do Brasil*. Rio Grande: Ed.Ecoscientia. p.157-162.

WOLF, C.; BURGNER, M.; HUKBNER, P.; LUKTHY, J. 2000 PCR-RFLP Analysis of Mitochondrial DNA: Differentiation of Fish Species. *LWT – Food Science and Technology*, 33(2):144-150.

### **3. Objetivos**

#### **3.1. Objetivo Geral**

- Identificar em nível de espécie as raias *Dasyatis spp* e analisar os aspectos biológicos do estoque de *Atlantoraja castelnaui*, capturadas pela pesca de parelha no sudeste e sul do Brasil, desembarcadas em Santos e Guarujá.

#### **3.2. Objetivos específicos**

- Desenvolver uma metodologia para identificar em nível de espécie e quantificar as carcaças das raias do gênero *Dasyatis* através da técnica molecular de PCR-RFLP.

- Analisar a relação peso-comprimento, e a distribuição sazonal da raia *Atlantoraja castelnaui* a fim de compreender o impacto da pesca sobre o estoque desta região.

#### **4. Apresentação da dissertação**

Os resultados da presente dissertação são apresentados na forma de dois artigos científicos. O primeiro artigo consiste na identificação das espécies de raia do gênero *Dasyatis* através da técnica molecular de PCR-RFLP e será submetido para a revista ***Genetics and Molecular Biology***. O segundo artigo consiste no estudo dos aspectos biológicos da raia *Atlantoraja castelnaui*, e será submetido para a revista ***Boletim do Instituto de Pesca***.

**Capítulo 1:** Identificação das espécies de raias do gênero *Dasyatis* (Elasmobranchii, Dasyatidae) do sudeste e sul do Brasil através da técnica de PCR-RFLP.

**Capítulo 2:** Relação peso-comprimento e distribuição sazonal de *Atlantoraja castelnaui* (Ribeiro, 1907) (Elasmobranchii, Rajidae), capturada pela pesca de parelha no sudeste e sul do Brasil.

# **Capítulo 1**

**IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DAS ESPÉCIES DE RAIAS DO GÊNERO  
*Dasyatis* (ELASMOBRANCHII, DASYATIDAE) DO SUDESTE E SUL DO  
BRASIL ATRAVÉS DA TÉCNICA DE PCR-RFLP**

**Identificação molecular das espécies de raias do gênero *Dasyatis*  
(Elasmobranchii, Dasyatidae) do sudeste e sul do Brasil através da  
técnica de PCR-RFLP**

Beatriz F. Schmidt<sup>1\*</sup>; Katharina E. Esteves<sup>2</sup>; Alberto F. Amorim<sup>1</sup>; Alexandre W.  
S. Hilsdorf<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Centro do Pescado Marinho, Instituto de Pesca, APTA, Secretaria da Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo.

<sup>2</sup> Centro de Pesquisas e Desenvolvimento em Recursos Hídricos, Instituto de Pesca, APTA, Secretaria da Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo.

<sup>3</sup> Universidade de Mogi das Cruzes, Núcleo Integrado de Biotecnologia, Laboratório de Genética de Organismos Aquáticos e Aquicultura - Mogi das Cruzes, SP, Brasil.

\*Autor correspondente: bia\_fschmidt@hotmail.com

**Abstract**

The fisheries statistics and stocks assessment of many species of rays have been damaged by the lack of information on the species level. Given the difficulty of identification in landings, of the four species of the genus *Dasyatis* that occur in southeastern and southern Brazil, *D. hypostigma*, *D. americana*, *D. guttata* and *D. centroura*, the aim of this work was to develop a methodology of PCR-RFLP, to identify these species. Amplification of the COI region were made with universal primers for fish R1 and F2, generating approximately 650 bp amplicons, for subsequent sequencing. The restriction enzyme FokI was selected and generated specific DNA fragments of each species, with two fragments for *D. hypostigma* (390 and 260 bp), three fragments for *D. americana* (300, 180 e 155 bp), two fragments for *D. guttata* (370 e 300 bp) and two fragments for *D. centroura* (410 e 200 bp). After that, the enzyme was used to identify 97 samples of rays carcasses tissues, collected in fishing landings, evidencing the occurrence of 90,7% *D. hypostigma*, 5,1% *D. americana*, 2,1% *D. guttata* and 2,1% *D. centroura*. The visualization in agarose gel allowed a clear identification of the four species and can be an important tool in the conservation of such group.

**Key words:** Fishing, COI, restriction enzyme.

## Introdução

As raias da família Dasyatidae, são representadas por mais de 60 espécies distribuídas em cinco ou mais gêneros (LAST e STEVENS, 1994). No gênero *Dasyatis* são conhecidas cerca de 40 espécies, que habitam águas rasas tropicais e temperadas (McEACHRAN e CARVALHO, 2002). Pelo menos oito espécies deste gênero encontram-se no Brasil, e destas somente 4 habitam as regiões sudeste e sul: *Dasyatis hypostigma* (Santos e Carvalho, 2004), *Dasyatis americana* (Hildebrand e Schroeder, 1928), *Dasyatis guttata* (Bloch e Schneider, 1801) e *Dasyatis centroura* (Mitchill, 1815) (GOMES *et al.*, 2010). Enquanto *D. hypostigma* encontra-se restrita ao Sudoeste do Atlântico (SANTOS e CARVALHO, 2004; CHARVET-ALMEIDA e CARVALHO, 2006), *D. guttata* se distribui do sul do Brasil ao Sul do Golfo do México (ROSA e FURTADO, 2004), e *D. americana* e *D. centroura* se distribuem até o Atlântico Norte (GRUBBS *et al.*, 2006; ROSA *et al.*, 2007).

Há grande confusão taxonômica envolvendo algumas espécies de *Dasyatis*, como por exemplo, a espécie *D. hypostigma* que vinha sendo erroneamente identificada por muitos autores como *D. say* (SANTOS e CARVALHO, 2004). *D. hypostigma* está distribuída do Espírito Santo até o Rio Grande do Sul, provavelmente até Mar del Plata, já *D. say* está restrita ao noroeste do Atlântico, Golfo do México e Mar do Caribe (SANTOS e CARVALHO, 2004; CHARVET-ALMEIDA e CARVALHO, 2006; SNELSON *et al.*, 2006).

Embora não seja alvo preferencial da pesca, essas espécies têm sido frequentemente capturadas tanto pela pesca industrial como pela pesca artesanal (MAZZOLENI e SCHWINGEL, 1999; COSTA e CHAVES, 2006; TOMÁS *et al.*, 2010). De acordo com a União Internacional para Conservação da Natureza (IUCN, 2013) não há dados suficientes para determinar o *status* das populações de *D. hypostigma*, *D. americana* e *D. guttata*. Segundo PAESCH e MENESES (1999), dados pesqueiros deficientes podem ser resultado da falta de identificação em nível de espécie, uma vez que os elasmobrânquios capturados são geralmente agrupados na categoria “cações” e “raias”. Uma das maiores dificuldades encontradas para a identificação

adequada é que a maioria das espécies são desembarcadas sem cabeça, cauda e nadadeiras, destruindo assim características morfológicas necessárias para sua identificação (HEIST e GOLD, 1999; SHIVJI *et al.*, 2002).

A aplicação de ferramentas moleculares para tratar de questões ecológicas e evolutivas em elasmobrânquios tem se expandido (DUDGEON *et al.*, 2012). A técnica de amplificação do DNA (PCR – *Polimerase Chain Reaction*) seguida de cortes enzimáticos, gerando fragmentos específicos para cada espécie (RFLP - *Restriction Fragment Length Polymorphism*), tem sido eficiente na identificação de diferentes espécies deste grupo (CHAN *et al.*, 2003; ALVARADO BREMER *et al.*, 2005; MENDONÇA *et al.*, 2009).

Diante da dificuldade em identificar em nível de espécie os indivíduos do gênero *Dasyatis* capturados pela pesca de parelha no Sudeste e Sul do Brasil, uma vez que somente suas carcaças são desembarcadas, o objetivo deste trabalho foi desenvolver a técnica de PCR-RFLP para diferenciar e identificar as raias capturadas, contribuindo com dados de captura das quatro espécies.

## **Material e Métodos**

### *Coleta de dados*

As amostras foram obtidas entre maio de 2011 e maio de 2012, a partir dos desembarques da frota-de-parelha de Santos e Guarujá (SP), que atuam entre Ilha Grande (23°15`S) e Rio Grande (32°02'S) em profundidades de 15 a 70 m.

Um exemplar inteiro de cada uma das quatro espécies foi adquirido através dos pescadores para posterior identificação morfológica e molecular. A identificação morfológica foi feita segundo SANTOS e CARVALHO (2004) e GOMES *et al.* (2010). Tecido muscular foi retirado das quatro espécies e armazenado em etanol 95%. Os quatro exemplares foram preservados em formol 5% e armazenados no laboratório do Instituto de Pesca de Santos. Noventa e sete amostras de tecido muscular das carcaças das raias do gênero *Dasyatis* (Figura 1) foram coletadas nos desembarques pesqueiros e armazenadas em etanol 95%.



Figura 1 - Carcaças das raias do gênero *Dasyatis* capturadas pela pesca de parelha atuante nas regiões sudeste e sul do Brasil, e desembarcadas em Santos e Guarujá.

### *Extração do DNA e sequenciamento*

DNA dos tecidos das carcaças foi extraído pelo método de fenol-cloroformio (SAMBROOK *et al.*, 1986), e o DNA dos tecidos das quatro espécies foi extraído com o uso de *kit* de extração QIAmp (Qiagen Inc., Valencia, CA, U.S.A.)

Foram testados para as quatro espécies, os *primers* universais para peixes desenvolvidos por WARD *et al.* (2005) que amplificam o gene citocromo oxidase subunidade I (COI) do DNA mitocondrial: F1 (5'TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC3'), F2 (5'TCGACTAATCATAAAGATATCGGCAC3'), R1 (5'TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA3') e R2 (5'ACTTCAGGGTGACCGAAGAATCAGAA3').

A reação de PCR foi composta de 80 ng de DNA *template*, 10 µmol de cada *primer*, 2,5 mM de dNTPs, 2,7 mM de MgCl<sub>2</sub>, PCR *buffer* 10X, 1U de Taq DNA Polimerase (Fermentas Life Sciences, Brasil) e água esterilizada, em um volume final de 10 µl. A amplificação foi testada a temperaturas de anelamento de 50°C, 52°C, 54°C e 56°C, em 30 ciclos (3 min a 94°C, 30 s a 94°C, 40 s a 50-56°C, 1 min a 72°C). Os resultados foram visualizados em gel de agarose a 2%, corados com brometo de etídio, sob luz UV.

O DNA amplificado das quatro espécies foi purificado com o Kit de purificação ExoSap (ExoSap-it, GE Healthcare, Piscataway, NJ, USA) e região COI foi sequenciada. A qualidade das sequências foi analisada no programa CodonCode Aligner (CodonCode Corp., Dedham, MA, USA), e as sequências consenso foram obtidas pelo programa BioEdit Sequence Alignment Editor



7.0.9 (Hall, 1999), que posteriormente foram alinhadas com auxílio do comando Clustal W (THOMPSON *et al.*, 1994), implementado no programa Mega 5.0 (TAMURA *et al.*, 2011).

### PCR-RFLP

Através do programa Nbcutter (New England Biolabs, Beverly, MA) foram selecionadas as enzimas de restrição AseI, BclI e FokI, capazes de gerar fragmentos de DNA específicos para cada espécie. O produto de PCR de 8 µl foi digerido usando 4,000 U/ml de enzima, em um volume final de 20 µl, a temperatura de 37°C por 2 horas. Os fragmentos resultantes foram separados em gel de agarose a 3%, corados com brometo de etídio, sob luz UV, e comparados com marcador molecular de 100 pb. A enzima que apresentou melhor resultado foi utilizada na identificação das 97 amostras de tecido coletadas das carcaças.

### Resultados

A amplificação da região mitocondrial COI usando os primers R1 e F2, à temperatura de 52°C, mostraram os melhores resultados para as quatro espécies, gerando amplicóons com aproximadamente 650 pb (Figura 2).

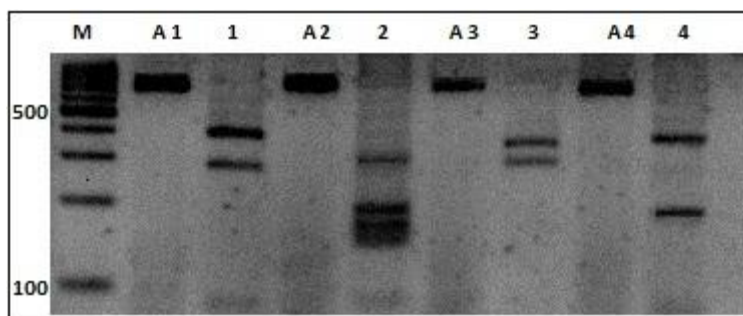


Figura 2 - PCR-RFLP usando *primers* universais para amplificação do gene citocromo oxidase subunidade I (COI) e enzima de restrição Fok I. A1 e 1 representam o amplicóon e o fragmento de restrição de *D. hypostigma* respectivamente, A2 e 2 de *D. americana*, A3 e 3 de *D.guttata* e A4 e 4 de *D. centroura*. M - Marcador de peso molecular de 100 pb.

As análises das sequências da região COI das quatro raias evidenciou pouca variação nucleotídica entre as espécies, mostrando que o gene COI é bem conservado.

Os cortes enzimáticos com as enzimas de restrição Asel e Bccl não resultaram em fragmentos específicos visíveis, capazes de identificar as quatro espécies. Porém a enzima de restrição FokI apresentou os melhores resultados, gerando fragmentos de DNA específicos para cada espécie, com *D. hypostigma* apresentando fragmentos de 390 e 260 pb, *D. americana* com fragmentos de 300, 180 e 155 pb, *D. guttata* com fragmentos de 370 e 300 pb e *D. centroura* com fragmentos de 410 e 200 pb (Figura 2). A tabela 1 mostra as sequências de nucleotídeos da região COI de cada raia e sítio de reconhecimento da enzima FokI.

Tabela 1 - Sequência de nucleotídeos da região citocromo oxidase subunidade I (COI) de *D. hypostigma*, *D. americana*, *D. guttata* e *D. centroura*. A sequência em vermelho representa o sítio de reconhecimento da enzima de restrição FokI.

Espécie	Sequências de nucleotídeos
<i>Dasyatis hypostigma</i>	5'AATCTAAGATATCGGCACCCTTTATTTAATCTTTGGTGCATGAGCGGGGATAGTGGGACTGGTCTTAGTCTGTTAATCCGACAGAGCTAAGCCAACCAAGGCGCATTATTAGGTGATGACCAGATCTATAATGTAATTGTACCAGCCACGGCTTCGTAATAATTTTCTCATAGTAATACCAATCATAATCGGAGGGTTTGGTAATTGACTAGTTCCCCTAATAATCGGCGCTCCAGACATAGCCTCCACGACTAAATAATAAGTTTTGACTCCTTCCCCATCTTTCCCTACTACTAGCCTCAGCAGGAGTAGAAGCCGGAGCTGGTACGGGATGAACAGTCTACCCTCATTAGCTGGCAATCTTGCACACGCTGGGGCTTCTGTAGACCTCGCTATCTTTCTCTTCATCTAGCCGGTGTTCCTATTCTAGCATCCATTAACCTCATTACAACAATTATTAATATGAAACCCCTGCAATCTCTCAATATCAAACACCTCTATTGGTTTGATCTATTCTCATTACAACAGTTCTCCTTTTATTACCTCCAGTCCGGCAGCAGGCTACTACTTCTCACAGATCGTAATCTTAACACAACCTTCTCGACCCGGCAGGTGGAGAGATCCCATTCTCTATCAACATCTCTTTTGATTCTTTGGCTC3'
<i>Dasyatis americana</i>	5'GCCAAAGAATCAGAAGAGATGTTGATAGAGAATGGGGTCTCCTCCGCTGCTGGATCGAAGAAGGTTGTGTTAAGATTACGATCTGTAAGAAGTATTGTAATGCCTGCCGCTAAAACCTGGGAGTGAGAGTAGAAGGAGAAGTGTGTAACGAGGATGGATCAGACAAAGAGAGGTTGTTGATATTGAGAAATTGCAGGGGTTTTATA TTAATAATTGTTGATGAAATTAATGGATGCTAAGATAGAGGAGACTCCGGCTAAGTGGAGGGAGAAGATAGTGAGATCTACAGAAGCTCCAGCATGTGCTAGATTGCCGGCTAATGGGGGATATACTGTTCCACCCTGTA CCAGCTCCAGCTTCTACTCCTGCCGAGGCTAGTAGTAAAGGAAAGGATGGGGGAAGAAGTCAAAAACCTTA TATTATTTATCCGTGGAAAAGCTATGTCTGGGGCACCATTATTAAGGGGACCAGTCAAGTACCAAACTCT CCAATCATAATTGGTATTACCATGAAGAAAATTATTACAAGGGCTGGGGCGTAAACGATTACGTTGTAGAT TTAGATCATCCCTAGTAATGCGCCTGGTTGACTTAATTCTGTCCGGATTAATAGGCTAAGACCAGTACCCA CTATCCCTGCTCATGCACCAAGACTAAATAAAGGGTGCCGATATCTTTAT3'
<i>Dasyatis guttata</i>	5'CCAAAGAATCAGAAGAGATGTTGATAGAGAATGGGGTCTCCTCCACCTGCTGGATCGAAGAAGGTTGTG TTAAGGTTACGGTCTGTAAGAAGTATTGTAATACCTGCTGCTAAAACCTGGAAGTGAGAGTAGAAGGAGAAG TGTGACGAGAATGGATCAGACAAAGAGAGGTTGTTGATATTGAGAAATTGCAGGGGTTTTATATTTAA TAATGTTGTGATAAAGTTGATAGATGCTAAAATAGAGGAGACTCCAGCTAAGTGGAGGGAGAAGATAGTG ATACTACAGAAGCTCCAGCATGTGCTAGATTGCCGGCTAGTGGGGGATATACTGTCCATCTGTACCAG CTCCAGCTTCTACTCCTGCTGAGGCTAGTAGTAGAAGGAAAGGATGGGGGAAGAAGTCAAAAACCTTATGTT ATTTATCCGTGGGAAAGCCATATCTGGGGCACCATTATTAAGGGGACCAGTCAATTGCCAAATCCTCCA ATTATAATTGGTATCACCATGAAGAAAATTATTACAAGGCGTGGGGCGTAAACGACTACATTATAGATTTGA TCATCTCCTAGTAATGCGCCTGGTTGACTCAGTTCTGTCCGAATTAATAGACTAAGACCAGTACCCACTAT CCCTGCTCATGCACCAAGACTAAATAAAGGGTGCCGATATCTTTT3'
<i>Dasyatis centroura</i>	5'GCTGCCAAAGAATCAGAATAGATGTTGATAGAGAATGGGGTCTCCTCCGCTGCTGGGTGCAAGAAGG TTGTGTTAAGATTACGGTCTGTGAGAAGTATAGTAATGCCTGCTGCTAGAACTGGGAGTGATAGTAAAAGG AGGACTGTTGTAATGAGATGATCAAAACAAAGAGAGGTTGTTGTTATTGGGAGATTGCAGGGGTTTTTA TGTGATAAATTGTTGTAATAAAGTTAATGGATGCTAGGATAGAGGAACACCGGCTAAATGGAGGGAAAAG ATAGCAAGATCTACGGAAGCTCCGGCGTGTGCAAGATTACCAGCTAACGGGGGGTAGACTGTTTCATCCTG TACCAGCCCGGGCTTCTACTCCTGCTGAGGCCAGCAGTAGAAGGAAAGATGGGGGAAGGAGTCAAAAAC TTATGTTATTTAGTGTGGAAGGCCATGTCCGGAGCACCAATTATCAAGGGGACTAGTCAATTACCAAAC CCTCCGATCATGATTGGTATTACTATGAAGAAAATTATTACGAAGGCGTGGGGCGGTGACAAATACATTGTA GATTTGGTATCACCCAAATAATGCGCCTGGTTGGCTTAATTCTGTTCCGGATTAATAGACTGAGACCAGTAC CCACTATCCCGCTCATGCACCAAGATTAATAAAGGGTGCCGATATCTTT3'

Das 97 amostras de carcaças analisadas, 90,7% foram identificadas como *D. hypostigma*, 5,1% como *D. americana*, 2,1 % como *D. guttata* e 2,1% como *D. centroura* (Figura 3).

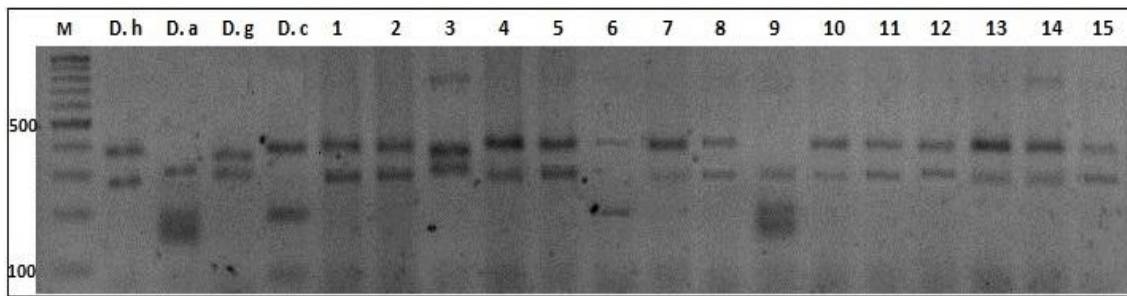


Figura 3 - PCR-RFLP das espécies de *Dasyatis* com a enzima de restrição FokI. D.h, D.a, D.g e D.c representam os fragmentos de restrição de *D. hypostigma*, *D. americana*, *D. guttata* e *D. centroura* respectivamente, usados como controle. Os números de 1 a 15 representam os fragmentos de restrição gerados a partir das amostras de tecidos coletadas nos desembarques. M - Marcador de peso molecular de 100 pb.

## Discussão

A falta de informações a respeito do estado dos estoques pesqueiros acaba afetando os estudos objetivando sua sustentabilidade (SBEEL, 2005). A ausência de uma clara identificação taxonômica das espécies comercializadas impossibilita a determinação do número exato de indivíduos e o número de cada espécie desembarcada (PEQUENÕ e LAMILLA, 1997; CHAN *et al.*, 2003). A identificação morfológica de muitas espécies se torna difícil pela prática de retirada da cabeça, cauda e nadadeiras nos desembarques pesqueiros (HEIST e GOLD, 1999; SHIVJI *et al.*, 2002). Diversas metodologias vêm sendo desenvolvidas usando marcadores moleculares na identificação de espécies. Os marcadores genéticos usados como ferramentas para determinar a composição das populações, podem ser uma maneira prática e econômica de desenvolver planos de uso sustentável e conservação dos recursos naturais (DE-FRANCO *et al.*, 2012).

Tanto a técnica de PCR-RFLP quanto de PCR-multiplex vem se mostrando eficientes na identificação de espécies de elasmobrânquios (SHIVJI *et al.*, 2002; ALVARADO BREMER *et al.*, 2005; DE-FRANCO *et al.*, 2009; MENDONÇA *et al.*, 2009). Foram desenvolvidos *primers* específicos para cada uma das quatro raias estudadas, com objetivo de desenvolver a técnica de PCR-multiplex. Contudo, houve pouca variação nucleotídica entre a região COI das quatro espécies, e os *primers* não geraram os resultados esperados. Portanto, apesar de ser considerada mais rápida e de menor custo (SHIVJI *et*

al., 2002) a técnica de PCR-multiplex não foi eficiente na identificação das espécies de raia do gênero *Dasyatis* que ocorrem na região sudeste e sul do Brasil.

Poucas informações sobre a identificação molecular de raias do gênero *Dasyatis* são encontradas em literatura. WARD *et al.* (2008) usando a região COI do gene mitocondrial, identificaram as raias *D. kuhlii* e *D. leylandi* na Austrália. Yoon *et al.* (2009) também usou a região COI para identificar espécies de *Dasyatis* da Coreia através da técnica de *microarray*. No Brasil, CARMONA *et al.* (2008) utilizaram o DNA mitocondrial 16S para identificar as raias *D. guttata* e *D. giejskesi* da região norte, através de matriz de divergência nucleotídica e de cladograma de agrupamento de vizinhos. VAZ *et al.* (2006) utilizando a técnica de RAPD, identificaram erroneamente um exemplar de *D. americana* como *D. centroura*, no estado do Ceará.

Apesar de serem frequentemente capturas, ainda são poucos os dados pesqueiros disponíveis sobre as quatro espécies de *Dasyatis* do sudeste e sul do Brasil, principalmente *D. hypostigma* devido aos erros de identificação realizados anteriormente a sua descrição (ROSA e FURTADO, 2004; CHARVET-ALMEIDA e CARVALHO, 2006; GRUBBS *et al.*, 2006; ROSA *et al.*, 2007). COSTA e CHAVES (2006) analisaram os arrastos da pesca artesanal em Santa Catarina e observaram que *D. hypostigma* é mais frequente do que *D. americana* e *D. guttata* em águas de até 20 metros de profundidade. TOMÁS *et al.* (2010) também reportaram maior ocorrência de *D. hypostigma* do que *D. guttata* na pesca de artesanal de emalhe no Rio de Janeiro.

Este estudo também evidencia que a grande maioria das espécies de *Dasyatis* capturadas pelos arrastos de parelha foram *D. hypostigma*. Esta é a menor espécie do gênero que habita a área, e ocorre até profundidade de 80 m, sendo mais abundante entre 5 e 40 m de profundidade (SANTOS e CARVALHO, 2004). As outras três espécies também ocorrem em águas costeiras rasas, com raras exceções para *D. centroura*, que já foi capturada a mais de 200 m de profundidade (GOMES *et al.*, 2010). Apesar das quatro espécies partilharem a mesma área, *D. hypostigma* apresentou ocorrência

muito maior do que as demais, possivelmente sendo a espécie deste gênero mais abundante na região de atuação da frota de parelha.

Os elasmobrânquios são capturados por diferentes artes de pesca, tanto pela pesca comercial e quanto pela artesanal (SBEEL, 2005). O número de espécies de elasmobrânquios capturadas é pequeno comparado com o número de teleósteos, resultando em falta de estudos de elasmobrânquios e inadequada avaliação de estoques aplicada a estes indivíduos, sendo necessária uma gestão especial para evitar grandes depleções (WALKER, 2005). Segundo a FAO, o Brasil tem registrado uma das maiores capturas de elasmobrânquios nos últimos anos (BONFIL *et al.*, 2005). A pesca extrativa no Brasil capturou 7.133 toneladas de batóideos em 2011, mas não há registros de captura por espécie (BRASIL, 2011). Há uma crescente pressão pesqueira sobre as espécies de *Dasyatis*, principalmente pela pesca artesanal (ROSA e FURTADO, 2004; CHARVET-ALMEIDA e CARVALHO, 2006; GRUBBS *et al.*, 2006; ROSA *et al.*, 2007), o que levou *D. centroura* ser considerada vulnerável no Município do Rio de Janeiro (BUCHUP *et al.*, 2000).

Além de possuir características únicas em sua biologia que tornam insustentável sua captura contínua em larga escala (CAMHI *et al.*, 1998; SIMPFENDORFER e KYNE, 2009), muitas espécies batóideos também são particularmente vulneráveis à pesca de arrasto devido ao seu estilo de vida demersal em fundos de substratos moles (EBERT e SULIKOWSKI, 2007), o que provavelmente influencia a estruturação genética populacional em escalas regionais para muitas espécies (DUDGEON *et al.*, 2012). Espécies com distribuição restrita também são vulneráveis e já estão sendo relatadas extinções locais para algumas espécies de raias (DULVY *et al.*, 2000; STEVENS *et al.*, 2000). Portanto as espécies de *Dasyatis* tornam-se mais vulneráveis à pesca devido às suas características biológicas, especialmente *D. hypostigma* que possui distribuição geográfica mais restrita do que as outras três espécies.

No entanto, avaliar sua vulnerabilidade é difícil, devido à prática de agregar dados de capturas (DULVY *et al.*, 2000). Entre as dificuldades que impedem o desenvolvimento de planos eficientes para a gestão de

elasmobrânquios, talvez a dificuldade mais importante envolva a falta de dados de captura espécie específica e de desembarques (MENDONÇA *et al.*, 2011). A precisa identificação das espécies é um pré-requisito para a gestão eficaz da pesca e dados de captura são usados para estimar a biomassa e estabelecer quotas de captura (WARD, 2000). Os resultados deste trabalho mostram que a técnica de PCR -RFLP pode ser eficiente em identificar as quatro espécies e servir como uma indicação das taxas de captura atuais, além de resolver problemas de erros de identificação, e pode ser rotineiramente implementada para monitoramento de desembarques e elaboração de planos para a gestão da pesca.

### Referências Bibliográficas

ALVARADO BREMER, J.R.; FRISK, M.G.; MILLER, T.J.; TURNER, J.; VINAS, J.; KWIL, K. 2005 Genetic identification of cryptic juveniles of little skate and winter skate. *Journal of Fish Biology*. 66: 1177-1182.

BRASIL. 2011 *Boletim estatístico da pesca e aquicultura*. Ministério da Pesca e Aquicultura. Brasil. Brasília.

BONFIL, R.; AMORIM, A.; SIMPFENDORFER, C.A. 2005. Regional Overview: Southwest Atlantic. In: FOWLER, S.L.; CAMHI, M.; BURGESS, G.H.; CAILLIET, G.M.; FORDHAM, S.V.; CAVANAGH, R.D.; SIMPFENDORFER, C.A.; MUSICK, J.A. (eds). *Sharks, Rays and Chimaeras: The Status of the Chondrichthyan Fishes*. IUCN SSC Shark Specialist Group. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK. p. 131-140.

BUCKUP, P.A.; NUNAN, G.W.; GOMES, U.L.; COSTA, W.J.E.M.; GADIG, O.B.F. 2000. Peixes. In: Rio de Janeiro 2000. Espécies ameaçadas de extinção no Município do Rio de Janeiro: flora e fauna. Rio de Janeiro, Secretaria Municipal de Meio Ambiente. p. 52–60.

CARMONA, N.; SAMPAIO, I.; SANTOS, S.; SOUZA, R.F.C.; SCHNEIDER, H. 2008 Identificação de arraias marinhas comerciais da costa norte brasileira com base em sequências de DNA mitocondrial. *Bol. Téc. Cient. CEPNOR*, 8(1): 51-58.

CAMHI, M.; FOWLER, S.; MUSICK, J.; BRÄUTIGAM, A.; FORDHAM, S. 1998 Sharks and their Relatives Ecology and Conservation. *Occas. Pap. IUCN Spec. Survival Comm.* n.20.

CARVET-ALMEIDA, P. e CARVALHO, M.R. 2006 *Dasyatis hypostigma*. In: IUCN 2011 *IUCN Red List of Threatened Species*. Version 2011.2. Disponível em: <[www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)>. Acesso em: 24 set. 2013.

CHAN, R.W.K.; DIXON, P.I.; PEPPERELL, J.G.; REID, D.D. 2003 Application of DNA-based for the identification of whaler sharks (*Carcharhinus* spp.) caught in protective beach meshing and by recreational fisheries off the coast of New South Wales. *Fishery Bulletin*, 101: 910-914.

COSTA, L. e CHAVES, P.T.C. 2006 Elasmobrânquios capturados pela pesca artesanal na costa sul do Paraná e norte de Santa Catarina, Brasil. *Biota Neotropica*, 6(3): 1-10.

DE-FRANCO, B.A.; MENDONÇA, F.F.; HASHIMOTO, D.T.; PORTO-FORESTI, F.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F. 2009 Forensic identification of the guitarfish species *Rhinobatos horkelii*, *R. percellens*, and *Zapteryx brevirostris* using multiplex-PCR. *Molecular Ecology Resources*, 10: 197-199.

DE-FRANCO, B.A.; MENDONÇA, F.F.; OLIVEIRA, C.; FORESTI, F. 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.

DUDGEON, C.L.; BLOWER, D.C.; BRODERICK, D.; GILES, J.L.; HOLMES, B.J.; KASHIWAGI, T.; KRUCK, N. C.; MORGAN, J. A. T; TILLET, B. J.; OVENDEN, J. R. 2012 A review of the application of molecular genetics for fisheries management and conservation of sharks and rays. *Journal of Fish Biology*, 80: 1789–1843.

DULVY, N.K.; METCALFE, J.D.; GLANVILLE, J.; PAWSON, M.G.; REYNOLDS, J.D. 2000 Fishery stability, local extinctions, and shifts in community structure in skates. *Conservation Biology*, 14(1): 283-293.

EBERT, D.A. e SULIKOWSKI, J.A. 2007 Biology of skates. *Netherlands: Springer*. 243p.

GOMES, U.L.; SIGNORI, C.N.; GADIG, O.B.F.; SANTOS, H.R.S. 2010 Guia para identificação de tubarões e raias do Rio de Janeiro. 1ª ed. Rio de Janeiro: Technical Books. 234p.

GRUBBS, R.D.; SNELSON, F.; PIERCY, A.; ROSA, R.S.; FURTADO, M. 2006 *Dasyatis americana*. In: IUCN 2013. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2013.1. <[www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)>. Acesso em: 24 set. 2013.

HALL, T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41: 95-98.

HEIST, E.J. e GOLD, J.R. 1999b Genetic Identification of Sharks in the U.S. Atlantic large coastal Shark Fishery. *Fishery Bulletin*, 97: 53-61.

IUCN. 2013 *IUCN Red List of Threatened Species*. Version 2013.1. Disponível em: <[www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)>. Acesso em: 20 maio. 2013.

LAST, P.R. e STEVENS, J.D. 1994 *Sharks and Rays of Australia*. Australia: CSIRO Division of Fisheries. 513p.

- MAZZOLENI, R.C. e SCHWINGEL, P.R. 1999 Elasmobranch species landed in Itajaí Harbor Southern Brazil. *Notas Téc. FACIMAR*, 3: 111-118.
- MCEACHRAN, J.D. e CARVALHO, M.R. 2002 Dasyatidae. In: CARPENTER, K.E. (Ed.) *The Living Marine Resources of the Western Central Atlantic. Volume 1: Introduction, Molluscs, Crustaceans, Hagfishes, Sharks, Batoid fishes and Chimaeras*. Rome: FAO. p.562-571.
- MENDONÇA, F.F.; HASHIMOTO, D.T.; PORTO-FORESTI, F.; OLIVEIRA, C.; GADIG, O.B.F.; FORESTI, F. 2009 Identification of the shark species *Rhizoprionodon lalandii* and *R. porosus* (Elasmobranchii, Carcharhinidae) by multiplex PCR and PCR-RFLP techniques. *Molecular Ecology Resources*, 9: 771-773.
- MENDONÇA, F.F.; OLIVEIRA, C.; BURGESS, G.; COELHO, R.; PIERCY, A.; GADIG, O. B. F.; FORESTI, F. 2011 Species delimitation in sharpnose sharks (genus *Rhizoprionodon*) in the western Atlantic Ocean using mitochondrial DNA. *Conserv Genet*, 12:193–200.
- PAESCH, L. e MENESES, P. 1999 Estudios Realizados Sobre Los Elasmobrânquios Dentro Del Rio De La Plata Y La Zona Comum De Pesca Argentino – Uruguay En El Marco Del “Plan De Investigacion Pesquera”. Montevideo: Instituto Nacional de Pesca, Ministério de Ganadería, Agricultura y Pesca - Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo. 79p.
- PEQUEÑO, G. e LAMILLA, J. 1997 Las pesquerías de condriictios en Chile: primer análisis. *Revista Biología Pesquera*, 26: 13-24.
- ROSA, R.S. e FURTADO, M. 2004 *Dasyatis guttata*. In: IUCN 2013. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2013.1. <[www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)>. Acesso em: 24 set. 2013.
- ROSA, R.S.; FURTADO, M.; SNELSON, F.; PIERCY, A.; GRUBBS, R.D.; SERENA, F; MANCUSI, C. 2007 *Dasyatis centroura*. In: IUCN 2013. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2013.1. <[www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)>. Acesso em: 24 set. 2013.
- SAMBROOK, J.; FRITSCH, E.F; MANIATIS, T. 1986 *Molecular cloning: a laboratory manual*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press. 417p.
- SANTO, H.R.S. e CARVALHO, M.R. 2004 Description of a new species of whiptailed stingray from the southwestern atlantic ocean (Chondrichthyes, Myliobatiformes, Dasyatidae). *Boletim do Museu Nacional*, 516: 1-24.
- SBEEI. 2005 *Plano Nacional para Conservação e Manejo dos Estoques de Peixes Elasmobrânquios no Brasil*. Recife: Sociedade Brasileira para o Estudo de Elasmobrânquios - SBEEI. 100p.
- SHIVJI, M.S.; CLARKE, S.; PANK, M.; NATANSON, L.; KOHLER, N.; STANHOPE, M. 2002 Genetic Identification of Pelagic Shark Body Parts for Conservation and Trade Monitoring. *Conservation Biology*, 16: 1036-1047.



SIMPFENDORFER, C.A. e KYNE, P.M. 2009 Limited potential to recover from overfishing raises concerns for deep-sea sharks, rays and chimaeras. *Environ. Conserv*, 36: 97-103.

SNELSON, F.; PIERCY, A.; GRUBBS, D. 2006 *Dasyatis say*. In: IUCN 2011. *IUCN Red List of Threatened Species*. Version 2011.2. Disponível em: <[www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)>. Acesso em: 23 nov. 2011.

STEVENS, J.D.; BONFIL, R.; DULVY, N.K.; WALKER, P.A. 2000 The effects of Fishing on Sharks, Rays and Chimaeras (Chondrichthyans), and implications for marine ecosystems. *ICES Journal of Marine Science*, 57: 476-494.

TAMURA, K.; PETERSON, D.; PETERSON, N.; STECHER, G.; NEI, M.; KUMAR, S. 2011 MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol*, 28: 2731–9.

THOMPSON, J.D.; HIGGINS, D.G.; GIBSON, T.J. 1994 ClustalW—improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res*, 22: 4673–4680.

TOMÁS, A.R.G.; GOMES, U.L.; FERREIRA, B.P. 2010 Distribuição temporal dos elasmobrânquios na pesca de pequena escala da Barra de Guaratiba, Rio de Janeiro, Brasil. *Bol. Inst. Pesca*, 36(4): 317-324.

WALKER, T.I. 2005 Management measures. In: MUSICK, J.A.; BONFIL, R. (eds) *Management Techniques for Elasmobranch Fisheries*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations. p. 216-242.

WARD, R. D. 2000: Genetics in Fisheries Management. *Hydrobiol*, 420: 191–201.

VAZ, L.A.L.; CARREIRO, C.R.P.; GOULART-FILHO, L.R.; FURTADO-NETO M.A.A. 2006 Relações filogenéticas em raias (*Dasyatis*, Elasmobranchii) do Estado do Ceará, Brasil. *Arq. Ciên. Mar*, 39: 86-88.

WARD, R. D.; ZEMLAK, T. S.; INNES, B. H.; LAST, P. R.; HEBERT, P. D. N. 2005. DNA Barcoding Australia's fish species. *Phil Trans Royal Soc B*, 360: 1847-1857.

WARD, R.D.; HOLMES, B.H.; WHITE, W.T.; LAST, P.R. 2008 DNA barcoding Australian chondrichthyans: results and potential uses in conservation. *Marine and Freshwater Research*, 59(1): 57-71.

YOON, H.K.; JEONG, D.; CHUNG, I.H.; JUNG, J.W.; OH, M.J.; KIM, S.; LEE, Y.H.; KIM, C.G.; HWANG, S.Y. 2009 Rapid species identification of elasmobranch fish (Skates and rays) using Oligonucleotide Microarray. *Biochip Journal*, 3(1): 87-96.

## **Capítulo 2**

**RELAÇÃO PESO-COMPIMENTO E DISTRIBUIÇÃO SAZONAL DE  
*Atlantoraja castelnaui* (RIBEIRO, 1907) (ELASMOBRANCHII, RAJIDAE),  
CAPTURADA PELA PESCA DE PARELHA NO SUDESTE E SUL DO  
BRASIL**

**Relação peso-comprimento e distribuição sazonal de *Atlantoraja castelnaui* (Ribeiro, 1907) (Elasmobranchii, Rajidae), capturada pela pesca de parelha no sudeste e sul do Brasil**

Beatriz F. Schmidt<sup>1\*</sup>, Katharina E. Esteves<sup>2</sup>, Alberto F. Amorim<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro do Pescado Marinho, Instituto de Pesca, APTA, Secretaria da Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo.

<sup>2</sup> Centro de Pesquisas e Desenvolvimento em Recursos Hídricos, Instituto de Pesca, APTA, Secretaria da Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo.

\* Email: bia\_fschmidt@hotmail.com

**Resumo.** *Atlantoraja castelnaui* é uma espécie de Rajidae endêmica do Atlântico Sul, que é constantemente capturada principalmente pela pesca de arrasto e já integra lista de espécies ameaçadas da IUCN. Foram acompanhados entre 2011 e 2012 os desembarques em Santos e Guarujá, da frota de arrasto-de-parelha que atua no sudeste e sul do Brasil entre profundidades de 15 a 70 m. Foram observados 216 exemplares, com 69 machos variando de 82,3 a 110,6 cm, 82 fêmeas de 84,3 a 121,2 cm e 65 indivíduos indeterminados de 56,9 a 83,2 cm de comprimento total. O menor volume desembarcado ocorreu no outono, no entanto não houve padrão de capturas para as demais estações do ano. O crescimento foi isométrico para machos e fêmeas. Houve predomínio nas capturas de indivíduos imaturos, principalmente fêmeas, mostrando ser uma espécie suscetível a exploração e que requer iniciativas de preservação. Este artigo pretende proporcionar subsídios visando sua conservação.

**Palavras-chave:** pesca, raias, espécie ameaçada

**Abstract.** *Length-weight relationship and seasonal distribution of *Atlantoraja castelnaui* (Ribeiro, 1907) (Elasmobranchii, Rajidae), captured by the pair trawl in southeastern and southern Brazil.* *Atlantoraja castelnaui* is an endemic Rajidae species of the South Atlantic which is constantly caught mainly by trawling and already integrates the endangered species list of IUCN. The aim of this work was analyze the length-weight relationships and seasonal distribution of *A. castelnaui*, captured by pair trawl. The pair trawl fleet operates in southern and southeastern Brazil at depths between 15 to 70 m, and the landings were followed in Santos and Guarujá, between 2011 and 2012. A total of 216 specimens were observed, with 69 males ranging from 82.3 to 110.6 cm, 82 females from 84.3 to 121.2 and 65 indeterminate individuals from

56.9 to 83.2 cm of total length. The lowest catch occurred in the fall, however there was no pattern of catches for the other seasons. The growth was isometric for males and females. Immature individuals predominated in the catches, especially females which seem to be more susceptible to exploitation, requiring preservation initiatives.

**Key words:** fishing, skates, threatened specie

## INTRODUÇÃO

*Atlantoraja castelnaui* (Ribeiro, 1907) é uma espécie de raia da ordem Rajiformes, da família Rajidae, endêmica do Atlântico Sul Ocidental (FIGUEIREDO, 1977), que se distribui do Estado do Rio de Janeiro até Argentina (HOZBOR *et al.*, 2004; GOMES *et al.*, 2010). No Brasil, a espécie ocorre em profundidades de 10 a 220 m (VOOREN, 1998; ODDONE e AMORIM, 2007). *A. castelnaui* é a maior e uma das comuns espécies de rajides que ocorrem na região (FIGUEIREDO, 1977), com machos e fêmeas podendo atingir 110 e 116 cm de comprimento total, respectivamente (ODDONE e AMORIM, 2007).

As populações de elasmobrânquios estão sendo impactadas direta e indiretamente pela pesca intensiva, ameaçando um grande número de espécies (BONFIL, 1994; CAMHI *et al.*, 1998). As raias do gênero *Atlantoraja* são frequentemente capturadas, com finalidade de exportação de sua carne principalmente para o mercado Asiático (CASARINI, 2006). Não há estatística detalhada de seus desembarques, uma vez que as espécies de raias são agrupadas em uma mesma categoria. A pesca intensiva e a baixa qualidade de informações vêm levando muitas espécies de elasmobrânquios demersais a sobrexplotação no Atlântico sudoeste (VOOREN e KLIPPEL, 2005). *A. castelnaui* vem sofrendo alta pressão pesqueira, com declínio de 75% de sua biomassa entre 1994 e 1999 no Brasil, Uruguai e Argentina (HOZBOR *et al.*, 2004), sendo classificada como em perigo de extinção pela Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas da União Internacional para Conservação da Natureza (IUCN, 2013). Porém no Brasil a espécie não integra a lista de fauna ameaçada de extinção (ROSA e LIMA, 2008).

Para promover o manejo pesqueiro, pesquisas são necessárias para melhorar o entendimento da dinâmica dos ecossistemas marinhos sobre uma escala espacial e temporal (JAUREGUIZAR *et al.*, 2006). Adicionalmente, o estudo da relação peso-comprimento de uma espécie de peixe pode ser utilizado para abordar diversos

aspectos que envolvam a distinção de pequenas unidades taxonômicas (LE CREN, 1951), fornecendo informações básicas para os estudos de biologia pesqueira, importantes para um manejo racional da pesca. Diante da vulnerabilidade de tal espécie e da necessidade de maiores informações, o objetivo do presente trabalho foi analisar a relação peso-comprimento e a distribuição sazonal dos indivíduos de *A. castelnaui* provenientes da frota comercial de arrasto-de-parelha que desembarca nas cidades de Santos e Guarujá, Estado de São Paulo.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Obtenção de dados

Foram analisadas um total de 216 carcaças identificadas como *Atlantoraja castelnaui* entre janeiro de 2011 a dezembro de 2012. As carcaças foram identificadas segundo FIGUEIREDO (1977) e GOMES *et al.* (2010), a partir da coloração dorsal do disco escura ou parda coberta por pontuações negras (Fig. 1).



Figura 1. Carcaça de *Atlantoraja castelnaui* desembarcado em Santos e Guarujá pela pesca de parelha.

As amostras foram obtidas em desembarques da frota-de-parelha, que atua entre Ilha Grande (23°15'S) e Rio Grande (32°02'S), em profundidades de 15 a 70 m (Fig. 2). As redes usadas pelas embarcações apresentavam 58 m de comprimento, 4 a 5 m de altura e malha de 50 a 75 mm. Foram realizadas cinco coletas ao longo de cada estação do ano, considerando verão: janeiro, fevereiro e março; outono: abril, maio e junho; inverno: julho, agosto e setembro; primavera: outubro, novembro e dezembro.

Os exemplares de *A. castelnaui* normalmente são desembarcados eviscerados, sem cabeça e cauda (Fig. 1), portanto as medidas biométricas coletadas foram peso da carcaça (PC), através de balança digital com precisão de 1 g, e largura do disco (LD), que segundo HUBBS e ISHIYAMA (1968) compreende a distância entre as extremidades das nadadeiras peitorais, através de fita métrica com precisão de 1 mm.

Para estimar o comprimento total (CT) destes exemplares, foram utilizados indivíduos de *A. castelnaui* da coleção do Núcleo de Pesquisa e Estudos de Chondrichthyes - NUPEC. Foram medidos o comprimento total e largura do disco destas raias, ajustando-se as regressão  $CT=0,0085 \times LD^{2,8758}$  e  $CT=0,0033 \times LD^{3,1423}$  para machos e fêmeas respectivamente, e através destas obteve-se os comprimentos totais das 216 raias analisadas. Para estimar os respectivos pesos totais (PT) foi usada a equação  $Wt=5,038+1,641Wc$ , desenvolvida por CASARINI (2006).

A identificação do sexo foi feita com base na presença (em machos) ou ausência (em fêmeas) de espinhos alares nas nadadeiras peitorais, em indivíduos acima de 84 cm de comprimento total (ODDONE *et al.*, 2008). Os demais indivíduos foram considerados como indeterminados. Foram utilizados os comprimentos médios de 50% de maturidade gonadal (TLM50), estabelecido por ODDONE *et al.* (2008), como critério para separar indivíduos maduros e imaturos (macho com 91,1cm e fêmea com 105,5 cm).

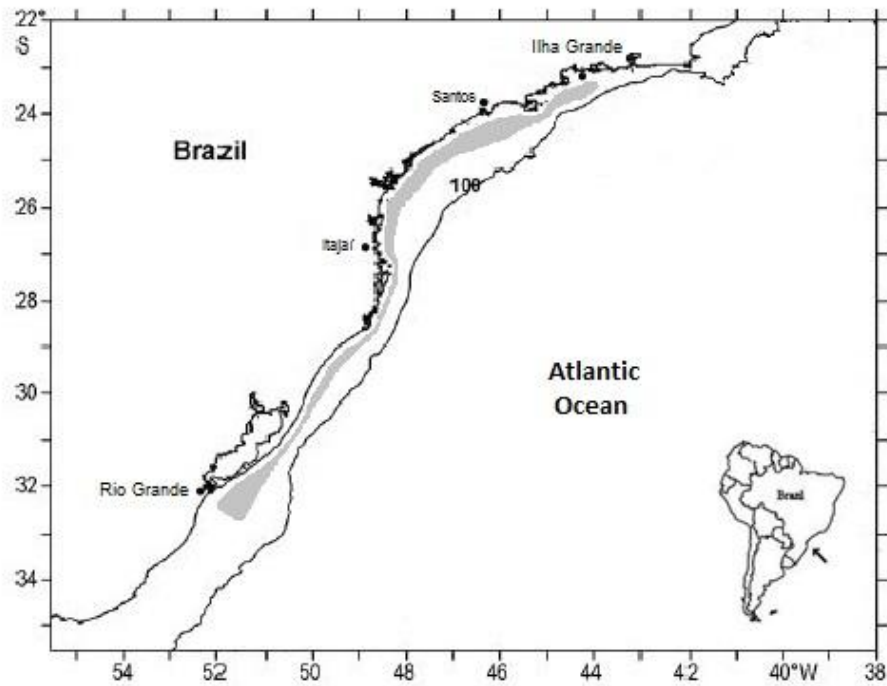


Figura 2. Mapa da área das capturas de *Atlantoraja castelnaui* no sudeste e sul do Brasil. A área cinza representa informações obtidas da área de atuação frota de parelha.

### Análise de dados

Os dados de CT e PT de *A. castelnaui* foram submetidos a uma análise exploratória para posterior verificação de normalidade e homocedasticidade (TRIOLA, 2005). Para verificar diferenças entre as médias de CT e PT de machos, fêmeas e indivíduos indeterminados entre os anos foi usado teste t. Para comparar os valores de CT e PT entre machos e fêmeas de 2011 e 2012 foi usado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis (ZAR,1984). Em todas as análises foram considerados nível de significância de 0,05.

Foram feitas distribuições anuais de frequência de comprimento total (amplitude de classe de 10 cm) e por estação do ano. O teste de Kolmogorov-Smirnov foi usado para comparar as distribuições de frequência por classe de comprimento entre machos e fêmeas e teste Qui-quadrado para testar a proporção sexual entre as estações do ano. Para comparar as médias de CT entre as estações do ano foram usados o teste de Kruskal-Wallis (ZAR,1984).

A relação peso-comprimento foi ajustada para machos, fêmeas e indivíduos indeterminados segundo o modelo potencial ( $W_t = aTL^b$ ) utilizando o método dos

mínimos quadrados (SPARRE e VENEMA, 1997). Para comparação dos modelos ajustados entre machos e fêmeas foi usado teste t. O valor do coeficiente angular b foi comparado com o valor teórico 3 através de teste t para verificar a natureza do crescimento (isométrico/alométrico) (ZAR,1984).

## RESULTADOS

### Frequência de ocorrência

Foram registrados 216 exemplares de *A. castelnaui*, sendo 69 machos, 82 fêmeas e 65 indivíduos indeterminados, com amplitudes de comprimento total presentes na Tabela I. Os machos apresentaram maior frequência de indivíduos na classe de 90-110 cm de comprimento para 2011 e 2012, enquanto que as fêmeas apresentaram maior frequência de indivíduos na classe de 100-110 cm de comprimento nos dois anos estudados. Já os indeterminados foram mais frequentes na classe de 70-80 cm de comprimento (Fig. 3).

Tabela I: Número total de indivíduos (N), Amplitude de Comprimento Total (mínimo e máximo) e porcentagem de indivíduos maduros e imaturos para Machos (M), Fêmeas (F), Indivíduos Indeterminados (ID) de *Atlantoraja castelnaui* para 2011 e 2012.

	N	Comprimento Total		%	
		Mínimo	Máximo	Maduros	Imaturos
M 2011	32	82.3	109.5	26.0	4.8
F 2011	34	84.3	121.2	15.4	17.3
ID 2011	38	61.1	82.1	-	36.5
<b>Total</b>	<b>104</b>	-	-	<b>41.4</b>	<b>58.6</b>
M 2012	37	85.0	110.6	28.6	4.4
F 2012	48	85.2	112.3	14.3	28.6
ID 2012	27	56.9	83.2	-	24.1
<b>Total</b>	<b>112</b>	-	-	<b>42.9</b>	<b>57.1</b>



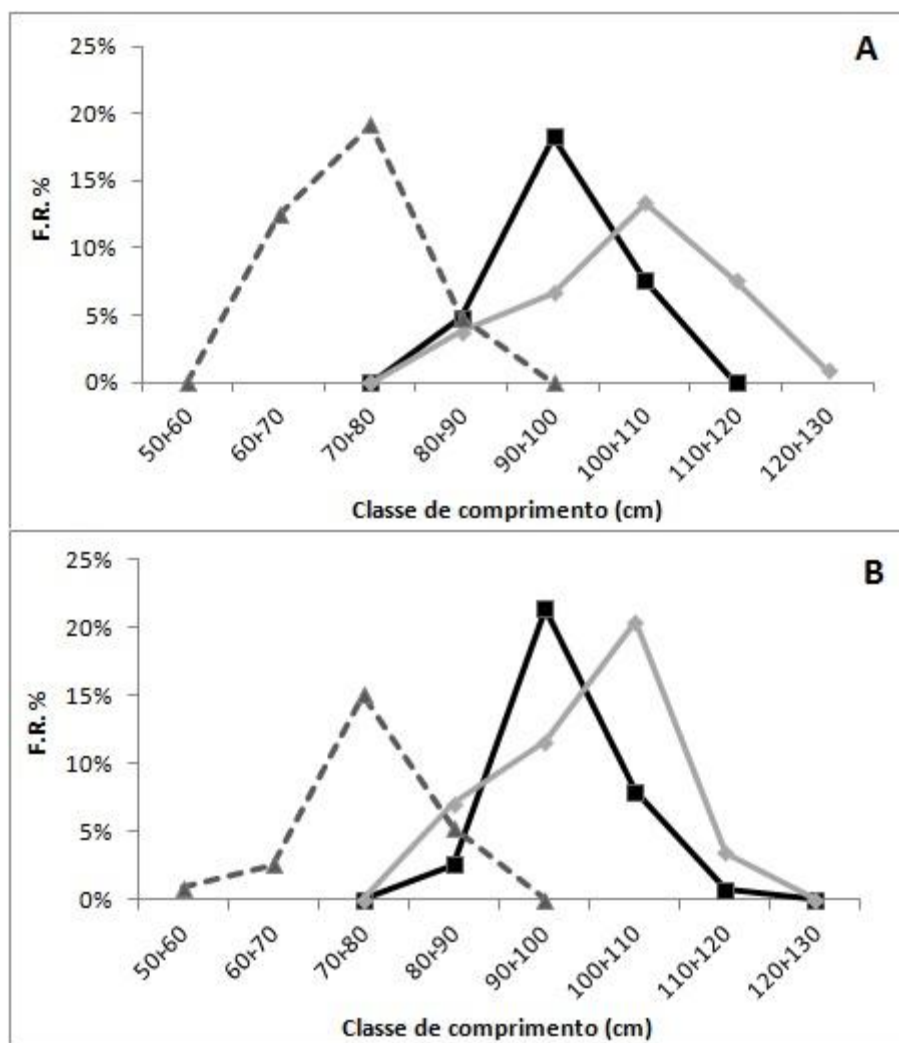


Figura 3. Distribuições de frequência relativa por classe de comprimento total para machos (linha preta sólida), fêmeas (linha cinza sólida) e indivíduos indeterminados (linha preta tracejada) de *Atlantoraja castelnaui* para 2011 (A) e 2012 (B).

As fêmeas foram maiores que os machos em ambos os anos, com diferença significativa de CT e PT entre machos e fêmeas ( $p < 0,05$ ). Porém não houve diferença significativa de tais valores quando comparado machos de 2011 e 2012, assim como fêmeas e indivíduos indeterminados ( $p > 0,05$ ).

A proporção sexual total foi de 1:1 para os dois anos. A tabela II mostra os valores de  $X^2$  para cada estação do ano. Através do teste de Kolmogorov-Smirnov observou-se diferença significativa nas distribuições de frequência por classe de comprimento entre os sexos ( $p < 0,05$ ) para 2011, mas não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) para 2012.

Tabela II: Número de machos e fêmeas (n) capturados por estação do ano e valor do teste do Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) de *A. castelnaui* para 2011 e 2012.

Estações do ano	n Machos	n Fêmeas	$\chi^2$
Verão 2011	9	12	0,43
Outono 2011	4	5	0,11
Inverno 2011	3	6	1
Primavera 2011	16	11	0,93
Total 2011	32	34	0,06
Verão 2012	27	26	0,02
Outono 2012	0	1	1
Inverno 2012	3	10	3,77
Primavera 2012	7	11	0,89
Total 2012	37	48	1,42

Em 2011 a maioria dos machos foi capturada na primavera, as fêmeas no verão e indeterminados no inverno. Já em 2012 todos os grupos foram mais capturados no verão. O outono é a estação em que os indivíduos são menos capturados (Fig. 4).

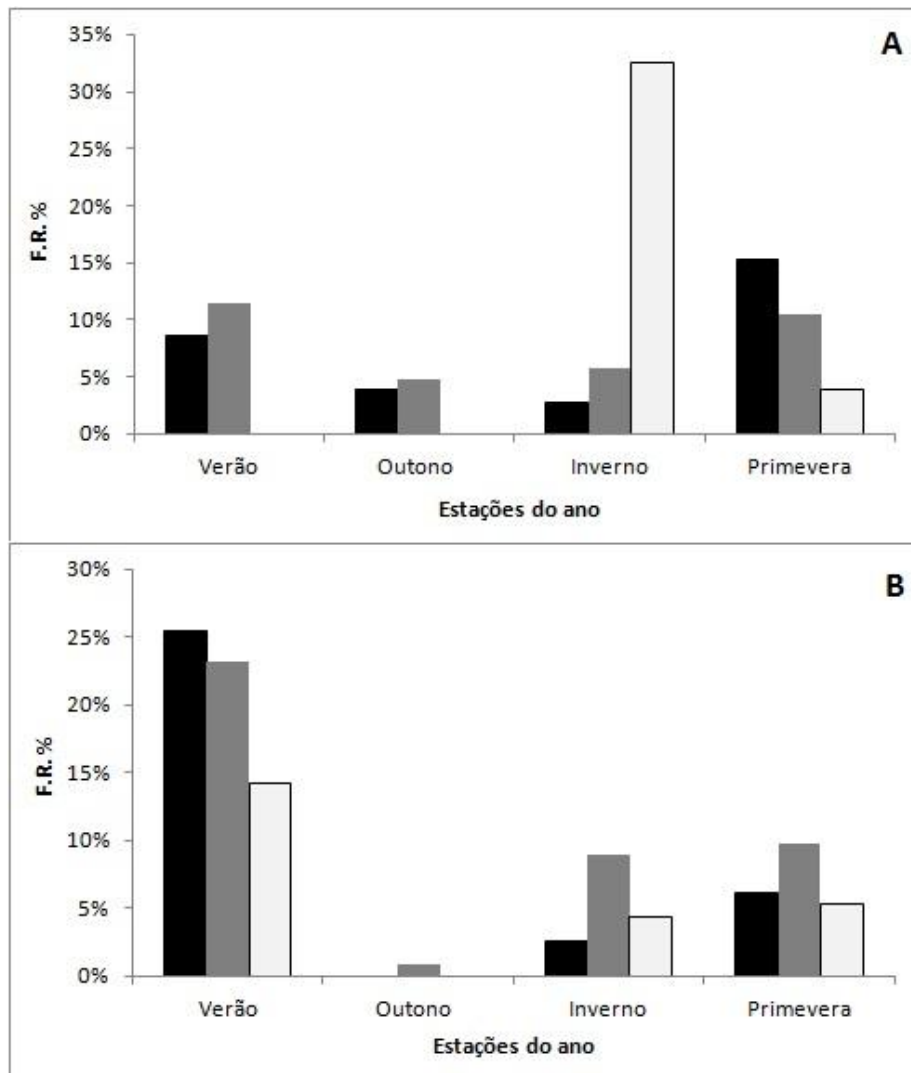


Figura 4. Distribuição sazonal de frequência relativa de machos (barra preta), fêmeas (barra cinza) e indivíduos indeterminados (barra branca) de *Atlantoraja castelnaui* para 2011 (A) e 2012 (B).

Machos maduros foram predominantes em todas as estações do ano para ambos os anos (Fig. 5). Em 2011 fêmeas maduras foram predominantes no verão e primavera, e imaturas nas demais estações, porém em 2012 fêmeas imaturas predominaram em todas as estações do ano (Fig. 5). Os menores indivíduos ocorreram no inverno e verão para 2011 e 2012 respectivamente (Fig. 5). No total mais da metade dos indivíduos capturados para cada ano eram imaturos (Tabela I). Não ocorreram diferenças significativas de CT entre as estações do ano para machos e para indivíduos indeterminados em 2011 e 2012 e para fêmeas em 2012, porém houve diferença significativa de CT entre inverno-verão e inverno-primavera para fêmeas em 2011.

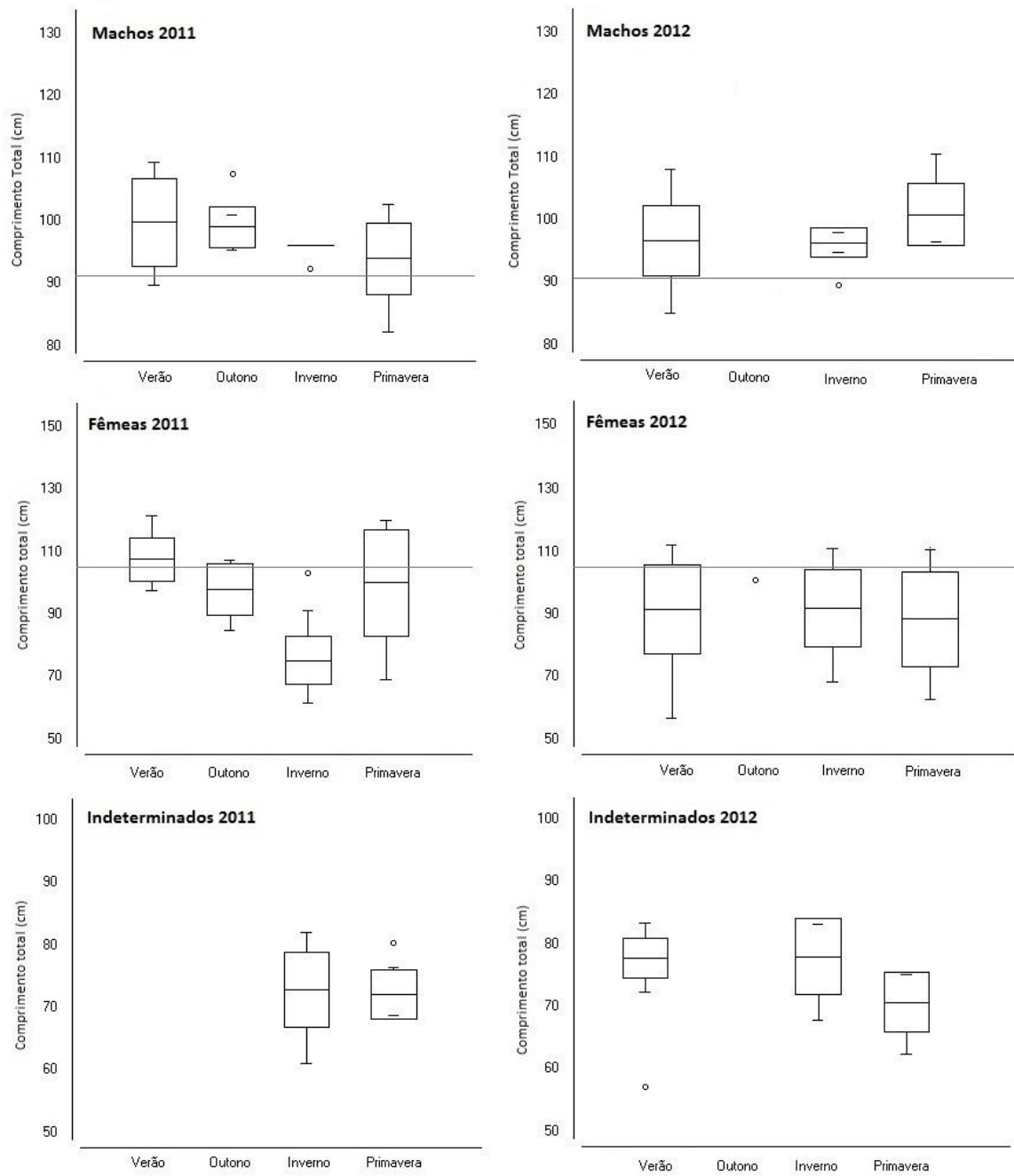


Figura 5. Bloxpot da média e desvio padrão do comprimento total médio de *Atlantoraja castelnaui* em função das estações do ano para machos, fêmeas e indeterminados para 2011 e 2012, onde a linha cinza representa o comprimento de maturidade gonadal relatado por ODDONE *et al.*(2008).

## Relação peso - comprimento

As estimativas dos parâmetros da relação PT-CT são encontradas na Tabela III e Figura 6. Comparando regressões entre machos e fêmeas, observou-se diferença significativa entre os valores de inclinação e intercepto.

Tabela III: Parâmetros da relação PT-CT de *Atlantoraja castelnaui*: CT = comprimento total (cm), PT = peso total (g), R<sup>2</sup> = coeficiente de correlação, P = probabilidade da regressão, n = tamanho amostral.

Gênero	Equação	R <sup>2</sup>	P	n
M	PT = 0.0213CT <sup>2.707</sup>	0.81	< 0.0001	62
F	PT = 0.0177CT <sup>2.771</sup>	0.87	< 0.0001	75
ID	PT = 0.0144CT <sup>2.805</sup>	0.86	< 0.0001	59

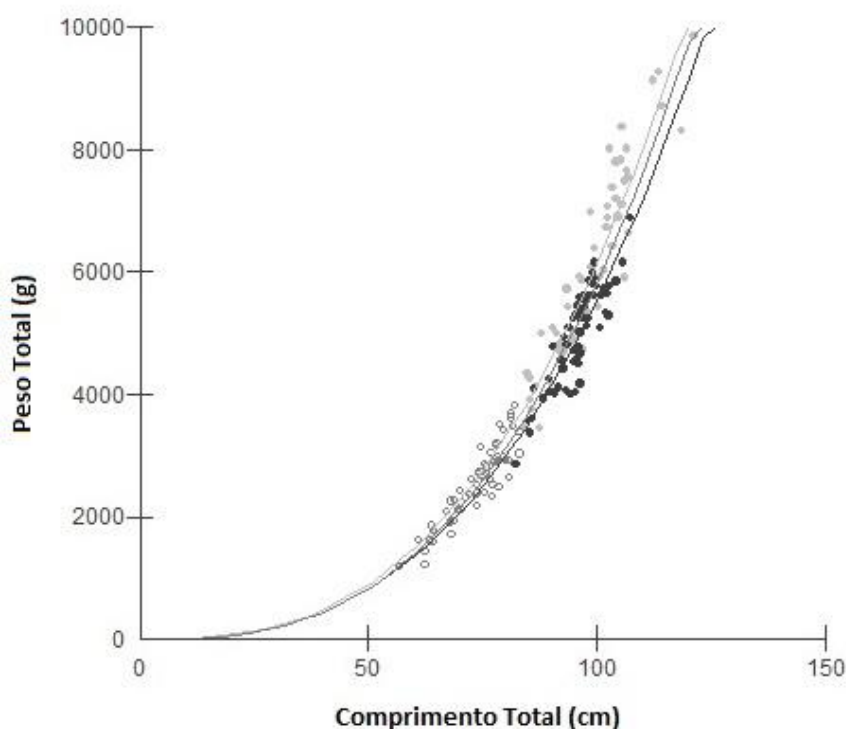


Figura 6. Relação entre peso total e comprimento total (PT-CT) de *Atlantoraja castelnaui* para machos (círculo preto cheio), fêmeas (círculo cinza cheio) e indeterminados (círculo preto vazio).

De acordo com a comparação do coeficiente angular  $b$  com o valor teórico 3, machos e fêmeas apresentaram crescimento isométrico ( $b=3$ ) (Tabela IV).

Tabela IV: Dados para determinação do tipo de crescimento de *Atlantoraja castelnaui*:  $b$  = estimativa do coeficiente angular, g.l.= graus de liberdade, P = probabilidade da comparação de  $b$  com valor teórico 3 e natureza do crescimento.

Gênero	$b$	g.l.	P	Crescimento
Machos	2.707	60	> 0.05	isométrico
Fêmeas	2.771	73	> 0.05	isométrico

## DISCUSSÃO

No presente trabalho foi estimado um valor máximo de 121,2 cm de CT para fêmeas, valor acima do observado por ODDONE e AMORIM (2007), que relataram CT máximo para fêmeas de 116 cm, sugerindo a existência de fêmeas maiores. ODDONE *et al.* (2008) observaram a formação de espinhos alares em machos a partir de 84 cm de CT, porém foi encontrado um macho com CT estimado de 82,3 cm apresentando tal estrutura. Fêmeas foram maiores que machos, característica que já vem sendo observada para rajidae (ODDONE e VOOREN, 2004; LICANDEO *et al.* 2007; ODDONE e AMORIM, 2007; ORLANDO *et al.*, 2011). ORLANDO *et al.* (2011) reportaram maior vulnerabilidade de fêmeas ao arrasto do que machos devido ao seu maior tamanho, porém segundo PEREZ *et al.* (1998) os arrastos são pouco seletivos e capturam grande amplitude de comprimentos.

Segundo POZ LOURO (1995) e ODDONE e AMORIM (2007), indivíduos jovens estão distribuídos em áreas de até 50 m, enquanto que adultos ocorrem entre 50 e 100 m de profundidade para a região sudeste e sul do Brasil. Porém no presente trabalho, entre profundidades de 15 a 70 m para a mesma região, houve predomínio nas capturas de machos adultos e fêmeas jovens. Todos os indivíduos indeterminados eram jovens e tiveram grande representação nas capturas. De acordo com ORLANDO *et al.* (2011), a baixa presença de juvenis pode estar ligada a seletividade do aparelho de pesca, ou pela sua ausência nas áreas em que a frota atua. Nota-se que na área de atuação da frota de parelha houve predomínio de indivíduos jovens, o que deve estar associado mais à distribuição da espécie do que a seletividade do aparelho de pesca, uma vez que o arrasto é pouco seletivo.

Segundo ODDONE e VOOREN (2005), aparentemente o ciclo reprodutivo de *A. castelnaui* é anual e não há períodos específicos de vitelogênese e desova. Porém, de

acordo com PERES e VOOREN (1993) pode haver maior ocorrência de fêmeas maduras no verão devido aos picos de desova de fêmeas em janeiro, o que pode ser verificado no presente trabalho, uma vez que a maior porcentagem de fêmeas maduras ocorreu na primavera e verão para 2011 e verão para 2012.

Há uma tendência de diminuição de tamanho dos indivíduos do verão para a primavera, o que está relacionado com padrões migratórios, possivelmente associados à reprodução (ORLANDO *et al.*, 2011). No presente trabalho essa diminuição é observada para machos e para fêmeas em 2011, mas não para 2012, quando menores comprimentos de machos, fêmeas e indivíduos indeterminados ocorreram no verão.

A proporção sexual esteve dentro do esperado de 1:1 para todo período. Apesar de raramente serem encontrados em grupos (POZ LOURO, 1995), machos e fêmeas de *A. castelnaui* compartilham a mesma área ao longo de todo ano, não havendo segregação entre os sexos (ODDONE e AMORIM, 2007).

Um padrão de crescimento vem sendo relatado para *A. castelnaui*, *A. cyclophora* e *R. agassizi*, onde machos possuem maior largura de disco que fêmeas nos primeiros estágios de vida e nos estágios mais avançados fêmeas se tornam mais largas (ODDONE e VOOREN, 2004; ODDONE e AMORIM, 2007; ODDONE *et al.* 2007). Porém, não foi possível observar tal característica neste trabalho devido à impossibilidade de determinar o gênero dos menores indivíduos.

De acordo com os valores do coeficiente angular  $b$  encontrados neste trabalho, machos e fêmeas possuem crescimento isométrico, indicando que crescem igualmente (JONES *et al.*, 1999). Porém ODDONE e AMORIM (2007) obtiveram crescimento alométrico positivo para machos e fêmeas quando considerado o peso total e isométrico quando considerado o peso eviscerado.

Nos últimos anos um grande declínio tem sido documentado para muitas espécies de raias. Em vista de seu alto endemismo, as raias representam um dos grupos mais ameaçados entre todas as espécies marinhas (STEVENS *et al.*, 2000). Como consequência, extinções locais vêm ocorrendo para algumas espécies de raias da família Rajidae (DULVY *et al.*, 2000), uma vez que apresentam baixa capacidade de dispersão e recolonização de áreas afetadas pela pesca (DULVY e REYNOLDS, 2002).

Apesar de serem consideradas k-estrategistas, apresentando baixa taxa de crescimento, maturidade tardia e alta longevidade (WALKER e HISLOP, 1998; STEVENS *et al.*, 2000), a família Rajidae possui alta fecundidade (FRISK, *et al.*, 2005) e desenvolvimento reprodutivo ovíparo, o que diminui seu risco de extinção (GARCIA *et al.*, 2007). Porém, como retratado neste trabalho e por ORLANDO *et al.* 2011, indivíduos jovens, principalmente fêmeas de *A. castelnaui* vêm sendo capturados em grande quantidade pela pesca, não contribuindo para a reposição de seus estoques. Isso é preocupante uma vez que tal espécie também integra a lista vermelha da IUCN. Além disso, DULVY *et al.* (2000) afirmam que maiores tamanhos corporais possuem menor taxa de crescimento, o que aumenta a vulnerabilidade de *A. castelnaui*, uma vez que é a maior espécie de rajidae que habita a área. Assim tal estudo evidencia a necessidade de monitoramento de suas capturas a fim de evitar maiores prejuízos a sua população e até mesmo possíveis riscos de extinções locais.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BONFIL, R. 1994 Overview of world elasmobranch fisheries. *FAO Technical Paper*, n.341, 119p.
- CAMHI, M.; FOWLER, S.; MUSICK, J.; BRÄUTIGAM, A.; FORDHAM, S. 1998 Sharks and their Relatives Ecology and Conservation. *Occas. Pap. IUCN Spec. Survival Comm.* n.20.
- CASARINI, L.M. 2006 *Dinâmica populacional de raias demersais do gênero Atlantoraja e Rioraja (Elasmobranchii, Rajidae) da costa sudeste e sul do Brasil*. São Paulo. 206p. (Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo).
- DULVY, N.K.; METCALFE, J.D.; GLANVILLE, J.; PAWSON, M.G.; REYNOLDS, J.D. 2000 Fishery stability, local extinctions, and shifts in community structure in skates. *Conservation Biology*, 14(1): 283-293.
- DULVY, N.K. e REYNOLDS, J.D. 2002 Predicting extinction vulnerability in skates. *Conservation Biology*, 16: 440-450.
- FIGUEIREDO, J.L. 1977 *Manual de Peixes Marinhos do Sudeste do Brasil*. São Paulo: Museu de Zoologia. Universidade de São Paulo. 104p.



FRISK, M.G.; MILLER, T.J.; DULVY, N.K. 2005 Life histories and vulnerability to exploitation of elasmobranchs: inferences from elasticity, perturbation and phylogenetic analyses. *Journal of the Northwest Atlantic Fishery Science*, 35: 27– 45.

GARCIA, V.B.; LUCIFORA, L.O.; MYERS, R.A. 2007 The importance of habitat and life history to extinction risk in sharks, skates, rays and chimaeras. *Proc. R. Soc. B*, 275: 83– 89.

GOMES, U.L.; SIGNORI, C.N.; GADIG, O.B.F.; SANTOS, H.R.S. 2010 Guia para identificação de tubarões e raias do Rio de Janeiro. 1ª ed. Rio de Janeiro: Technical Books. 234p.

HOZBOR, N.; MASSA, A.; VOOREN, C.M. 2004 *Atlantoraja castelnaui*. In: IUCN 2011. *IUCN Red List of Threatened Species*. Version 2013.1. Disponível em: <[www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)>. Acesso em: 10 jan. 2013.

HUBBS, C.L. e ISHIYAMA, R. 1968 Methods for the Taxonomic Study and Description of Skates (Rajidae). *Copeia*, 3: 483-491.

IUCN, 2013 IUCN red list of threatened species. Disponível em: <[www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)>. Acesso em: 10 jan. 2013.

JAUREGUIZAR, A.J.; MENNI, R.; LASTA, C.; GUERRERO, R. 2006 Fish assemblages of the northern Argentine coastal system: spatial patterns and their temporal variations. *Fish. Oceanogr*, 15(4): 326–344.

JONES, R.E.; PETRELL, R.J.; PAULY, D. 1999 Using modified length–weight relationships to assess the condition of fish. *Aquacultural Engineering*, 20: 261–276.

LE CREN, E.D. 1951 The Length-Weight Relationship and Seasonal Cycle in Gonad Weight and Condition in the Perch (*Perca fluviatilis*). *Journal of Animal Ecology*, 20 (2): 201-219.

LICANDEO, R.; CERNA, F.; CESPEDES, R. 2007 Age, growth, and reproduction of the roughskin skate, *Dipturus trachyderma*, from the southeastern Pacific. *ICES Journal of Marine Science*, 64 (1):141-148.

ODDONE, M.C. e VOOREN, C.M. 2004 Distribution, abundance and morphometry of *Atlantoraja cyclophora* (Regan, 1903) (Elasmobranchii: Rajidae) with regard to salinity,

temperature and depth in southern Brazil, south-western Atlantic. *Neotropical Ichthyology*, 2(3):137-144.

ODDONE, M.C. e VOOREN, C.M. 2005 Reproductive biology of *Atlantoraja cyclophora* (Regan 1903) (Elasmobranchii, Rajidae) off southern Brazil. *ICES Journal of Marine Science*, 62(6):1095-1103.

ODDONE, M.C. e AMORIM, A.F. 2007 Length-weight relationships, condition and population structure of the genus *Atlantoraja* (Elasmobranchii, Rajidae, Arhynchobatidae) in South-eastern Brazilian waters, SW Atlantic Ocean. *Journal of the Northwest Atlantic Fishery Science*, 38: 43-52.

ODDONE, M.C.; AMORIM, A.F.; MANCINI, P.L.; NORBIS, W.; VELASCO, G. 2007 The reproductive biology and cycle of *Rioraja agassizi* (Müller and Henle, 1841) (Chondrichthyes, Rajidae), in southeast Brazil, SW Atlantic Ocean. *Scientia Marina*, 71(3): 593-604

ODDONE, M.C.; AMORIM, A.F.; MANCINI, P.L. 2008 Reproductive biology of the spotback skate, *Atlantoraja castelnaui* (Ribeiro, 1907) (Chondrichthyes, Rajidae), in southeastern Brazilian waters. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 43(2): 327-334.

ORLANDO, L.; PEREYRA, I.; PAESCH, L.; NORBIS, W. 2011 Size and sex composition of two species of the genus *atlantoraja* (Elasmobranchii, Rajidae) caught by the bottom trawl fisheries operating on the Uruguayan continental shelf (southwestern atlantic ocean). *Brazilian Journal of Oceanography*, 59(4): 357-364.

PERES, J.A e VOOREN, C.M. 1993 Ciclo reproductivo de quatro espécies do gênero *Raja* do Sul do Brasil. In: REUNIÃO GRUPO DE TRABALHO PESCA E PESQUISA TUBARÕES E ARRAIAS NO BRASIL, Recife, Pernambuco.

PEREZ, J.A.A.; LUCATO, S.H.B.; ANDRADE, A.H.; PEZZUTO, P.R.; RODRIGUES RIBEIRO. 1998 Programa de amostragem da pesca industrial desenvolvido para o Porto de Itajaí, SC. *Notas Téc. FACIMAR*, 2: 93-108.

PONZ LOURO, M. 1995 *Estratégias e táticas reprodutivas de elasmobrânquios no ecossistema de Ubatuba, SP, Brasil*. São Paulo. 95p. (Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo).

ROSA, R.S. e LIMA, F.C.T. 2008 Os peixes brasileiros ameaçados de extinção. In: *Livro vermelho das espécies ameaçadas de extinção*. Brasília: MMA.

SPARRE, P. e VENEMA, S.C. 1997 *Introdução à avaliação de manancias de peixes tropicais*. Parte 1. Roma: Fao Manual. 404p.

STEVENS, J.D.; BONFIL, R.; DULVY, N.K.; WALKER, P.A. 2000 The effects of Fishing on Sharks, Rays and Chimaeras (Chondrichthyans), and implications for marine ecosystems. *ICES Journal of Marine Science*, 57: 476-494.

TRIOLA, M.F. 2005 *Introdução à estatística*. 9ª ed. Rio de Janeiro. 682p.

VOOREN, C.M. 1998 Elasmobrânquios demersais. In: Seeliger U.; Odebrecht, C.; Castello, J. P. *Os ecossistemas costeiro e marinho do extremo sul do Brasil, Rio Grande*. Rio Grande: Ecoscientia.

VOOREN, C. M. e KLIPPEL, S. 2005 Biologia e status de conservação do cação-listrado *Mustelus fasciatus*: In: VOOREN, C. M.; KLIPPEL S. (Ed.). *Ações para a conservação de tubarões e raias no sul do Brasil*. Porto Alegre: Igaré, p. 83-96.

ZAR, J.H. 1984 *Biostatistical Análisis*. 2ª ed. Upper Saddle River, NJ: Prentice-Hall International. 718p.

WALKER, P.A. e HISLOP, J.R.G. 1998 Sensitive skates or resilient rays? Spatial and temporal shifts in ray species composition in the central and north-western North Sea between 1930 and the present day. *ICES Journal of Marine Science*, 55: 392 - 402.

## 5. Considerações Finais

Apesar de ser considerada incidental, a pesca de elasmobrânquios vêm crescendo, e inúmeras espécies encontram-se ameaçadas de extinção. Tais espécies geralmente não são alvo de iniciativas de conservação e manejo, e há grande escassez de dados a respeito de sua biologia e pesca. Sem dados de qualidade não há como realizar o manejo adequado, objetivando a conservação destas espécies em longo prazo.

Nos desembarques de parelha de Santos e Guarujá somente as carcaças dos elasmobrânquios são desembarcados, e as espécies capturadas são agrupadas em uma mesma categoria. Em busca de dados específicos para uma correta estatística pesqueira e avaliação de estoques, visando o manejo adequado das espécies de elasmobrânquios, o objetivo do trabalho foi identificar em nível de espécies as carcaças das raias do gênero *Dasyatis* e analisar os impactos da pesca na raia *Atlantoraja castelnaui*, espécie ameaçada de extinção.

A técnica molecular de PCR-RFLP se mostrou eficiente na identificação das espécies de raia *Dasyatis*. Também foi possível observar que a grande maioria das espécies capturadas são *D. hypostigma*, evidenciando a grande ocorrência desta espécie na área de atuação dos arrastos de parelha. Essa técnica pode ser de grande utilidade na identificação de carcaças, contribuindo para geração de dados específicos e conseqüentemente para o manejo e conservação deste grupo.

As análises da pesca de parelha sobre *A. castelnaui* mostrou que indivíduos jovens vêm sendo capturados, principalmente fêmeas. Isso é preocupante uma vez que esta espécie encontra-se ameaçada de extinção. Portanto este estudo evidencia a necessidade urgente de iniciativas de manejo para a espécie, visando sua conservação.