



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS – UFAM
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS – FCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL E RECURSOS
PESQUEIROS - PPGCARP



TESE DE DOUTORADO

PERFIL HEMATOLÓGICO E CARACTERIZAÇÃO DE HEMOPARASITOS DE
ARRAIAS DE ÁGUA DOCE (CHONDRICHTHYES: POTAMOTRYGONINAE) DO
BAIXO RIO SOLIMÕES, AMAZONAS

MARCIO QUARA DE CARVALHO SANTOS

MANAUS - AM
2024

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS – UFAM
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS – FCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL E RECURSOS
PESQUEIROS - PPGCARP**

MARCIO QUARA DE CARVALHO SANTOS

**PERFIL HEMATOLÓGICO E CARACTERIZAÇÃO DE HEMOPARASITOS DE
ARRAIAS DE ÁGUA DOCE (CHONDRICHTHYES: POTAMOTRYGONINAE) DO
BAIXO RIO SOLIMÕES, AMAZONAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros, área de concentração: Uso Sustentável de Recursos Pesqueiros.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Adriano Teixeira de Oliveira

COORIENTADOR: Prof. Dr. Paulo Henrique Rocha Aride

**MANAUS - AM
2024**

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

S237p Santos, Marcio Quara de Carvalho
Perfil hematológico e caracterização de hemoparasitos de arraiais de água doce (Chondrichthyes: Potamotrygoninae) do baixo Rio Solimões, Amazonas / Marcio Quara de Carvalho Santos . 2024
131 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Adriano Teixeira de Oliveira
Coorientador: Paulo Henrique Rocha Aride
Tese (Doutorado em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Sangue. 2. elasmobrânquios. 3. hemoparasitos. 4. morfometria. 5. morfologia. I. Oliveira, Adriano Teixeira de. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

MARCIO QUARA DE CARVALHO SANTOS

PERFIL HEMATOLÓGICO E CARACTERIZAÇÃO DE HEMOPARASITOS DE ARRAIAS DE ÁGUA DOCE (CHONDRICHTHYES: POTAMOTRYGONINAE) DO BAIXO RIO SOLIMÕES, AMAZONAS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros, área de concentração em Uso Sustentável de Recursos Pesqueiros.

Aprovado em 26 de abril de 2024.

BANCA EXAMINADORA



Dr. Paulo Henrique Rocha Aride – Presidente
Instituto Federal do Amazonas



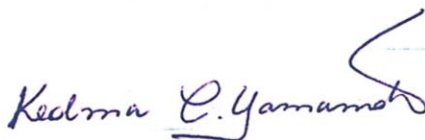
Dra. Cheila de Lima Boijink – Membro
Embrapa Amazônia Ocidental



Dr. Marcos Tavares Dias – Membro
Embrapa Amapá



Dra. Edsandra Campos Chagas – Membro
Embrapa Amazônia Ocidental



Dra. Kedma Cristine Yamamoto – Membro
Universidade Federal do Amazonas

Dedico este trabalho à minha família: o meu alicerce, a minha viga estrutural e o meu pilar de sustentação.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por guiar o meu caminho, pelo acalento nos momentos de incerteza e por zelar pela saúde da minha família, principalmente durante o período desafiador que foi a pandemia.

À minha família, que sempre esteve ao meu lado, tanto nos momentos difíceis, me dando forças, quanto nos momentos de felicidade, celebrando as conquistas.

À minha mãe, em especial, não somente pela confiança e palavras de incentivo e perseverança, mas também pelo auxílio durante as análises de campo. Como diz o repentista Jonas Bezerra: “...nas três letras de mãe tem tanto amor, que não há quem consiga descrever”.

Ao Instituto Federal do Amazonas (IFAM), em especial ao *Campus* Coari, por me liberar para cursar o doutorado.

À Universidade Federal do Amazonas (UFAM) pela infraestrutura e pelos excelentes profissionais que compõem o Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros (PPG-CARP), especialmente aos docentes que compartilharam os seus conhecimentos durante o andamento das disciplinas.

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) e em especial ao Laboratório de Ecofisiologia e Evolução Molecular (LEEM) e toda a sua equipe, pela assistência nas análises das enzimas plasmáticas e pela doação de reagentes.

Ao Laboratório de Limnologia da UFAM e sua equipe, pelo auxílio nas análises físicas e químicas da água.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa no Estado do Amazonas (FAPEAM) pelo apoio financeiro aos projetos.

Ao meu orientador Dr. Adriano Teixeira de Oliveira pela orientação, financiamento e contribuição intelectual durante o desenvolvimento da pesquisa.

Ao meu coorientador Dr. Paulo Henrique Rocha Aride pela contribuição intelectual, por todo apoio e por acreditar no meu sucesso e no sucesso deste trabalho.

Às doutoras Alzira Miranda de Oliveira, Ariany Rabello da Silva Liebl, Gabriela Tomas Jerônimo, Maria Cristina dos Santos e Sílvia Umeda Gallani, pelas contribuições durante a etapa de qualificação.

Aos doutores Marcos Tavares Dias, Cheila de Lima Boijink, Edsandra Campos Chagas e Kedma Cristine Yamamoto, pelas contribuições durante a etapa de defesa da tese.

Às doutoras Lúcia O'Dwyer, Livia Perles e Letícia Úngari, pelo esclarecimento de dúvidas sobre os hemoparasitos.

Aos integrantes do Laboratório de Tecnologia do Pescado da UFAM por terem me recebido e pela convivência durante o doutorado. Agradeço especialmente à Flávia Farias pela ajuda durante as análises hematológicas.

Aos pescadores: José Pedro, Antônio Tinoco e Luís Henrique pela ajuda durante as coletas de campo e na captura das arraias.

Aos alunos Bruno, Ana, Felipe, Sandra e Luiz pela ajuda durante a coleta de campo em Manaquiri.

À Giselane Campos, pelas nossas conversas e pelos sábios conselhos.

À Elenice Brasil, pela amizade de anos e por me ensinar, anos atrás, as práticas laboratoriais que hoje são o meu alicerce científico.

À Patrícia Monteiro, pela amizade de longa data. Como disse Vinícius de Moraes, "a gente não faz amigos, reconhece-os", e com toda a certeza você foi o maior presente que a vida acadêmica me deu.

A todos que participaram direta ou indiretamente para a concretização deste trabalho.

A TODOS VOCÊS MEU MUITO OBRIGADO!!!

Pedaços de mim

*Veza por outra a vida bate,
e como ela tem batido...
Quando a pancada é de jeito
me vejo no chão, caído.
Nessa hora me refaço,
renasço em cada pedaço
daquilo que foi partido.*

*Sei que uma só semente
não faz brotar um jardim.
Talvez se despedaçar
nem seja assim tão ruim.
Se um de mim já é forte,
não há um mal que suporte
vários pedaços de mim.*

Bráulio Bessa

RESUMO: A determinação do perfil hematológico e bioquímico plasmático bem como a avaliação hemoparasitária podem facilitar o diagnóstico do estado de saúde dos animais e contribuir para a produção animal, o manejo e a conservação de populações naturais. O objetivo geral deste estudo foi determinar o perfil hematológico, leucocitário e bioquímico plasmático, bem como caracterizar morfológica e morfometricamente as células sanguíneas e os hemoparasitos de duas espécies de arraias de água doce, *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbignyi*, provenientes da região do baixo Rio Solimões, estado do Amazonas, Brasil. No **capítulo 1** foi avaliado o perfil sanguíneo de 141 arraias (92 *P. motoro* e 49 *P. orbignyi*), onde não foi observado efeito do sexo sobre os parâmetros hematológicos das arraias, em contrapartida, os neonatos de *P. motoro* apresentaram um perfil hematológico basal em comparação aos juvenis. Este capítulo culminou no estabelecimento de intervalos hematológicos de referência para *P. motoro* e *P. orbignyi* em ambientes de água branca. No **capítulo 2** foi realizada a caracterização morfológica e morfométrica das células sanguíneas das arraias, sendo caracterizados os eritrócitos, eritroblastos, trombócitos, linfócitos, monócitos, heterófilos, eosinófilos e basófilos. Não foram encontrados indícios de anomalias eritrocitárias e as características morfológicas das células sanguíneas foram semelhantes às observadas em outras espécies de arraias de água doce. No entanto, o tamanho dos eritrócitos, monócitos e heterófilos foram significativamente distintos entre as espécies de arraias analisadas. No **capítulo 3** foi realizada a caracterização morfológica e morfométrica dos hemoparasitos presentes no sangue das arraias. Foram encontrados trofozoítos, pré-gamontes, macrogamontes e microgamontes de *Cyrtospora* sp. infectando majoritariamente os eritrócitos, embora formas parasitárias também tenham sido encontradas livres no sangue circulante. A prevalência geral foi de 49,2 %, enquanto a parasitemia foi baixa, variando de 0 a 1,9 %. Hipertrofia eritrocítica foi observada em eritrócitos infectados com pré-gamontes, macrogamontes e microgamontes em ambas as espécies de arraias. No **capítulo 4** foi avaliado o impacto da infecção hemoparasitária sobre o perfil hematológico e bioquímico plasmático das arraias. Não foi observado efeito da espécie e do sexo na prevalência e parasitemia hemoparasitária, assim como nos parâmetros sanguíneos analisados. Em contrapartida, as correlações negativas significativas da parasitemia com alguns parâmetros sanguíneos em ambas as arraias ressaltaram o potencial danoso que os hemoparasitos podem ocasionar em situações com elevada carga parasitária. Os resultados obtidos neste estudo são pioneiros para essas espécies amazônicas em ambientes de água branca e servirão de base para a avaliação do estado de saúde de arraias selvagens, podendo ser utilizados para a identificação de distúrbios hematológicos e para o acompanhamento das infecções hemoparasitárias.

ABSTRACT: The determination of the hematological and biochemical plasma profile and the hemoparasitic evaluation can facilitate the diagnosis of the health status of animals and contribute to animal production, management, and conservation of natural populations. The general objective of this thesis was to determine the hematological, leukocyte and plasma biochemical profiles, as well as to characterize the blood cells and the hemoparasites morphologically and morphometrically of two species of freshwater stingrays, *Potamotrygon motoro* and *Potamotrygon orbignyi*, from the lower Solimões River, Amazonas, Brazil. In **chapter 1**, the blood profile of 141 stingrays (92 *P. motoro* and 49 *P. orbignyi*) was evaluated, where no effect of sex was observed on the hematological parameters of the stingrays, on the other hand, the neonates of *P. motoro* presented a baseline hematological profile compared to juveniles. This chapter culminated in the establishment of reference hematological intervals for *P. motoro* and *P. orbignyi* in whitewater environments. In **chapter 2**, the morphological and morphometric characterization of the blood cells of the stingrays was performed, characterizing erythrocytes, erythroblasts, thrombocytes, lymphocytes, monocytes, heterophils, eosinophils and basophils. No evidence of erythrocyte abnormalities was found, and the morphological characteristics of the blood cells were similar to those observed in other species of freshwater stingrays. However, the size of erythrocytes, monocytes and heterophiles were significantly different among the stingray species analyzed. In **chapter 3**, the morphological and morphometric characterization of the hemoparasites present in the blood of the stingrays was performed. Trophozoites, pregamonts, macrogamonts and microgamonts of *Cyrtospora* sp. were found infecting mostly erythrocytes, although parasitic forms have also been found free in circulating blood. The overall prevalence was 49.2 %, while parasitemia was low, ranging from 0 to 1.9 %. Erythrocytic hypertrophy was observed in erythrocytes infected with pregamonts, macrogamonts and microgamonts in both stingray species. In **chapter 4**, the impact of hemoparasitic infection on the hematological and plasma biochemical profile of stingrays was evaluated. There was no effect of species and sex on the prevalence and hemoparasitic parasitemia, as well as no effect on the blood parameters analyzed. On the other hand, the significant negative correlations of parasitemia with some blood parameters in both stingrays highlighted the harmful potential that hemoparasites can cause in situations with high parasite load. The results obtained in this thesis are pioneers for these Amazonian species in whitewater environments and will serve as a basis for the evaluation of the health status of wild stingrays and can be used for the identification of hematological disorders and for the monitoring of hemoparasitic infections.

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA:

- Figura 1.** Arraias *Potamotrygon motoro* (A) e *Potamotrygon orbignyi* (B).....26
- Figura 2.** Estrutura geral típica de uma hemogregarina.....36

CAPÍTULO I: Perfil hematológico e bioquímico plasmático de duas espécies de arraias de água doce (Chondrichthyes: Potamotrygoninae) do baixo Rio Solimões, Amazonas:

- Figura 1.** Localização geográfica dos municípios de Manacapuru, Manaquiri e Iranduba, região do baixo Rio Solimões, estado do Amazonas, Brasil, com indicação dos pontos de coleta de *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbignyi*.....54
- Figura 2.** Níveis plasmáticos de triglicerídeos e colesterol total de juvenis machos e fêmeas de *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbignyi* proveniente da região do baixo rio Solimões, estado do Amazonas, Brasil.....61
- Figura 3.** Matriz de correlação de Spearman entre as variáveis hematológicas de (A) *Potamotrygon motoro* e (B) *Potamotrygon orbignyi* provenientes da região do baixo Rio Solimões, estado do Amazonas, Brasil.....62

CAPÍTULO II: Morfologia e morfometria das células sanguíneas de duas espécies de arraias de água doce (Chondrichthyes: Potamotrygoninae) do baixo Rio Solimões, na Amazônia Brasileira:

- Figura 1.** Comparação da área celular entre as células sanguíneas de *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbignyi* provenientes da região do baixo Rio Solimões, AM, Brasil.....82
- Figura 2.** Células sanguíneas de *Potamotrygon motoro* (I, II, III) e *Potamotrygon orbignyi* (IV, V, VI) coradas com May Grunwald-Giemsa-Wright.....85

CAPÍTULO III: Caracterização morfológica e morfométrica de *Cyrlia* sp. (Apicomplexa: Adeleorina) de *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbignyi* (Potamotrygonidae) do baixo Rio Solimões, Amazonas:

- Figura 1.** Formas parasitárias de *Cyrlia* sp. encontradas no sangue de *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbignyi*.....105

CAPÍTULO IV: A infecção por hemoparasitos afeta o perfil hematológico e bioquímico plasmático de *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbignyi* de vida livre?:

- Figura 1.** Eritrócitos maduros de *Potamotrygon motoro* (A) e *Potamotrygon orbignyi* (B) infectados com gametócitos de *Cyrlia* sp.....120

LISTA DE TABELAS

REVISÃO DE LITERATURA:

Tabela 1. Parâmetros eritrocitários de diferentes espécies de arraias da subfamília Potamotrygoninae. Valores expressam média \pm DP.....	30
Tabela 2. Trombograma e leucograma de diferentes espécies de arraias da subfamília Potamotrygoninae. Valores expressam média \pm DP.....	31
Tabela 3. Parâmetros bioquímicos plasmáticos de diferentes espécies de arraias da subfamília Potamotrygoninae. Valores expressam média \pm DP.....	32
Tabela 4. Eletrólitos e enzimas plasmáticas de diferentes espécies de arraias da subfamília Potamotrygoninae. Valores expressam média \pm DP.....	33
Tabela 5. Esquema taxonômico do Filo Apicomplexa, Subordem Adeleorina.....	35

CAPÍTULO I: Perfil hematológico e bioquímico plasmático de duas espécies de arraias de água doce (Chondrichthyes: Potamotrygoninae) do baixo Rio Solimões, Amazonas:

Tabela 1. Parâmetros físicos e químicos da água dos locais de captura das arraias <i>Potamotrygon motoro</i> e <i>Potamotrygon orbignyi</i> oriundas da região do baixo Rio Solimões, estado do Amazonas, Brasil.....	57
Tabela 2. Parâmetros biométricos de <i>Potamotrygon motoro</i> e <i>Potamotrygon orbignyi</i> entre os espécimes neonatos e juvenis (machos e fêmeas) oriundos da região do baixo Rio Solimões, estado do Amazonas, Brasil.....	58
Tabela 3. Hematologia comparativa entre neonatos e juvenis machos e fêmeas de <i>Potamotrygon motoro</i> oriundos da região do baixo Rio Solimões, estado do Amazonas, Brasil.....	59
Tabela 4. Hematologia comparativa entre juvenis machos e fêmeas de <i>Potamotrygon orbignyi</i> oriundos da região do baixo Rio Solimões, estado do Amazonas, Brasil.....	60
Tabela 5. Intervalos hematológicos de referência para <i>Potamotrygon motoro</i> proveniente da região do baixo Rio Solimões, estado do Amazonas, Brasil.....	63
Tabela 6. Intervalos hematológicos de referência para <i>Potamotrygon orbignyi</i> proveniente da região do baixo Rio Solimões, estado do Amazonas, Brasil.....	64

CAPÍTULO II: Morfologia e morfometria das células sanguíneas de duas espécies de arraia de água doce (Chondrichthyes: Potamotrygoninae) do baixo Rio Solimões, na Amazônia Brasileira:

Tabela 1. Parâmetros biométricos (média \pm desvio padrão) das células sanguíneas de *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbignyi* do baixo Rio Solimões, estado do Amazonas, Brasil.....83

CAPÍTULO III: Caracterização morfológica e morfométrica de *Cyrlia* sp. (Apicomplexa: Adeleorina) de *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbignyi* (Potamotrygonidae) do baixo Rio Solimões, Amazonas:

Tabela 1. Parâmetros morfométricos das formas parasitárias de *Cyrlia* sp. do sangue circulante de *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbignyi*. Valores expressam Média \pm DP.....104

Tabela 2. Morfometria (Média \pm DP) de eritrócitos de *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbignyi* não parasitados e parasitados com diferentes formas de *Cyrlia* sp.....105

CAPÍTULO IV: A infecção por hemoparasitos afeta o perfil hematológico e bioquímico plasmático de *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbignyi* de vida livre?:

Tabela 1. Índices parasitológicos de *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbignyi* infectadas com gametócitos de *Cyrlia* sp.....119

Tabela 2. Hematologia comparativa (Média \pm DP) entre juvenis de *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbignyi* não infectados e infectados com gametócitos de *Cyrlia* sp.....121

LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

AC – Acre
AE – Área do Eritrócito
AG – Aparelho de Golgi
ALP – Fosfatase Alcalina
ALT – Alanina Aminotransferase
AM – Amazonas
ANE – Área do Núcleo do Eritrócito
ANOVA – Análise de Variância
ANP – Área do Núcleo Parasitário
AP – Amapá
AST – Aspartato Aminotransferase
Bas – Basófilos
CE – Comprimento do Eritrócito
CEUA – Comitê de Ética no Uso de Animais
CHCM – Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média
CITES – Comércio Internacional de Espécies da Fauna e Flora Selvagens Ameaçadas de Extinção
CK – Creatina Quinase total
CNE – Comprimento do Núcleo do Eritrócito
CNP – Comprimento do Núcleo Parasitário
CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CP – Comprimento do Parasito
CO – Conóide
CONCEA – Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
DP – Desvio Padrão
EDTA – Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
Eos – Eosinófilos
FAPEAM – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas
FD – Fase de Desenvolvimento
GD – Grânulos densos
Hb – Concentração de Hemoglobina
Het – Heterófilos
Ht – Hematócrito
IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
ICMBio – Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade

IFAM – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas

LE – Largura do Eritrócito

Leu – Leucócitos

LD – Largura de Disco

L.I. – Limite Inferior

Lin – Linfócitos

LNE – Largura do Núcleo do Eritrócito

LNP – Largura do Núcleo Parasitário

LP – Largura do Parasito

L.S. – Limite Superior

Min – Mínimo

Max – Máximo

MGGW – May Grunwald-Giemsa-Wright

MN – Micronemas

MP – Microporo

MS – Microtúbulos Subpeliculares

MT – Mitocôndria

Mon – Monócitos

Neu – Neutrófilos

NI – Não Informado

NU – Núcleo

PC – Anéis Pré-conoidais

pH – Potencial Hidrogeniônico

PO – Anel Polar

PR – Paraná

RBC – Número de Eritrócitos

RE – Retículo Endoplasmático Rugoso

RP – Roptrias

Tromb – Trombócitos

UFAM – Universidade Federal do Amazonas

VCM – Volume Corpuscular Médio

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	19
2. OBJETIVOS.....	21
2.1. Objetivo geral.....	21
2.2. Objetivos específicos.....	21
3. HIPÓTESES.....	22
4. REVISÃO DE LITERATURA.....	23
4.1. As arraias de água doce.....	23
4.1.1. <i>Potamotrygon motoro</i>	25
4.1.2. <i>Potamotrygon orbignyi</i>	26
4.2. O perfil hematológico das arraias de água doce.....	27
4.3. Hemoparasitos de peixes.....	34
5. REFERÊNCIAS.....	39

CAPÍTULO I: Perfil hematológico e bioquímico plasmático de duas espécies de arraias de água doce (Chondrichthyes: Potamotrygoninae) do baixo Rio Solimões, Amazonas.....	50
Resumo.....	50
1. Introdução.....	51
2. Material e Métodos.....	53
2.1. Ética animal.....	53
2.2. Área de estudo e captura dos animais.....	53
2.3. Coleta sanguínea, biometria e classificação dos animais.....	54
2.4. Análises hematológicas.....	55
2.5. Monitoramento da qualidade da água.....	56
2.6. Análises estatísticas.....	56
3. Resultados.....	57
4. Discussão.....	65
Agradecimentos.....	71
Referências.....	71

CAPÍTULO II: Morfologia e morfometria das células sanguíneas de duas espécies de arraias de água doce (Chondrichthyes: Potamotrygoninae) do baixo Rio Solimões, na Amazônia Brasileira.....78

Resumo.....	78
1. Introdução.....	79
2. Material e Métodos.....	80
2.1 Ética animal.....	80
2.2 Captura dos animais e coleta sanguínea.....	80
2.3 Análises morfométricas e morfológicas das células sanguíneas.....	81
2.4 Análises estatísticas.....	81
3. Resultados.....	82
3.1 Análises morfométricas das células sanguíneas das espécies de arraias.....	82
3.2 Características morfológicas das células sanguínea das espécies de arraias.....	83
4. Discussão.....	86
Agradecimentos.....	91
Referências.....	92

CAPÍTULO III: Caracterização morfológica e morfométrica de *Cyrilia* sp. (Apicomplexa: Adeleorina) de *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbignyi* (Potamotrygonidae) do baixo Rio Solimões, Amazonas.....98

Resumo.....	98
1. Introdução.....	99
2. Material e Métodos.....	100
2.1 Área de estudo.....	100
2.2 Captura dos animais e coleta sanguínea.....	101
2.3 Análises dos hemoparasitos.....	101
2.4 Análise morfométrica dos eritrócitos parasitados e não parasitados.....	102
2.5 Análises estatísticas.....	102
3. Resultados.....	102
4. Discussão.....	106
Agradecimentos.....	109
Referências.....	109

CAPÍTULO IV: A infecção por hemoparasitos afeta o perfil hematológico e bioquímico plasmático de <i>Potamotrygon motoro</i> e <i>Potamotrygon orbignyi</i> de vida livre?.....	114
Resumo.....	114
1. Introdução.....	115
2. Material e Métodos.....	116
2.1 Captura dos animais e coleta sanguínea.....	116
2.2 Análises hematológicas.....	117
2.3 Análise dos hemoparasitos.....	118
2.4 Análises estatísticas.....	118
3. Resultados.....	119
4. Discussão.....	120
Agradecimentos.....	125
Referências.....	125
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	130

1. INTRODUÇÃO GERAL

A subfamília Potamotrygoninae é constituída por espécies de elasmobrânquios com ferrão localizado na cauda, sendo este o único táxon dentro da Classe Chondrichthyes composto por representantes exclusivamente dulciaquícolas e restritos a América do Sul (Carvalho, 2016a; Carvalho *et al.*, 2016). Em função da sua elevada biodiversidade e dos complexos padrões de policromatismo, as arraias de água doce têm apresentado um elevado potencial para a aquariofilia, podendo ser exportadas anualmente, em sistemas de quotas, até 20.600 espécimes pelos estados do Amazonas e Pará (IBAMA, 2008). Apesar dos potamotrigoníneos apresentarem importância ecológica e econômica para a região amazônica, as arraias de água doce ainda são pouco conhecidas sob o ponto de vista científico, sendo escassos os estudos que fortalecem o entendimento de seus aspectos fisiológicos no seu habitat natural (Wood *et al.*, 2002; Duncan *et al.*, 2009; Duncan e Fernandes, 2010; Duncan *et al.*, 2010a; Brinn *et al.*, 2012; Brito *et al.*, 2015; Oliveira *et al.*, 2016a; Oliveira *et al.*, 2016b).

Dentre as análises fisiológicas, a hematologia destaca-se por ser uma ferramenta valiosa para o diagnóstico do estado de saúde dos animais, tanto em ambiente natural como em cativeiro (Tavares-Dias e Moraes, 2004). O eritrograma pode ser usado para diagnosticar diferentes tipos de anemia, dentre outras doenças, e para caracterizar a demanda metabólica por oxigênio (Clauss *et al.*, 2008), além de ser o principal indicador das adaptações fisiológicas decorrentes das variações ambientais que ocorrem rotineiramente nos rios da região amazônica (Wood *et al.*, 2002). O leucograma possibilita o diagnóstico de leucopenia ou leucocitose, fornecendo indícios sobre o estado imunológico dos elasmobrânquios (Arnold, 2005), enquanto o perfil bioquímico plasmático é uma importante ferramenta biológica para avaliar condições de estresse, influência da dieta e equilíbrio osmorregulatório (Cain *et al.*, 2004).

De modo complementar aos valores do eritrograma, leucograma e bioquímica plasmática, outra análise que pode fornecer informações sobre o estado de saúde das arraias é a identificação, caracterização e quantificação dos hemoparasitos. Os protozoários sanguíneos utilizam o sangue do hospedeiro para crescimento e reprodução, podendo ser encontrados livres no sangue circulante ou no interior das células sanguíneas (Valkiunas, 2005). Em ambiente natural, as infecções hemoparasitárias raramente são fatais devido ao equilíbrio na relação parasito, hospedeiro e ambiente (Pavanelli *et al.*, 2008). No entanto, alterações no estado fisiológico e nutricional dos elasmobrânquios e as mudanças ambientais, como as sazonais, podem interferir nesta relação e favorecer a reprodução destes hemopatógenos, elevando os índices parasitários e tornando os hospedeiros mais suscetíveis aos predadores (Kadlec *et al.*,

2003). Em situações com elevada parasitemia, os parasitos sanguíneos podem ocasionar anemia e leucopenia, além de modificar a morfologia, morfometria e a capacidade carreadora de oxigênio dos eritrócitos, afetando diretamente o aporte energético e a saúde dos animais (Davies e Johnston, 2000; Smit *et al.*, 2006).

Os hemoparasitos também podem afetar o comércio desses elasmobrânquios ornamentais, pois as arraias capturadas na natureza raramente são submetidas ao manejo sanitário adequado durante o confinamento (Prang, 2008). A ausência de um rígido controle parasitológico, associada aos fatores estressantes do manejo, podem comprometer o sistema imunológico das arraias, agravando o quadro infeccioso hemoparasitário e resultando na redução da qualidade do animal comercializado e, eventualmente, na morte do hospedeiro (Úngari *et al.*, 2018).

O interesse da comunidade científica e o número de pesquisas com elasmobrânquios cresceram significativamente na última década, gerando informações fundamentais para a compreensão da biologia destes animais. Entretanto, as arraias de água doce ainda são pouco estudadas quando comparadas aos teleósteos e aos elasmobrânquios marinhos. No estado do Amazonas, as coletas de arraias vêm ocorrendo predominantemente na região do médio Rio Negro, o que se justifica pela elevada biodiversidade da localidade. No entanto, pouco se conhece sobre o perfil hematológico e sobre os hemoparasitos das arraias de água doce de outros locais do estado do Amazonas, principalmente dos rios e lagos de água branca próximos à região metropolitana de Manaus, que por serem mais próximos da capital do estado, podem exercer maior pressão sobre a homeostase e a parasitemia dos potamotrigoníneos.

Este estudo inédito estabeleceu valores hematológicos de referência para duas espécies de arraias em ambientes de água branca (*Potamotrygon motoro* Müller & Henle, 1841 e *Potamotrygon orbignyi* Castelnau, 1855), bem como caracterizou as células sanguíneas e os hemoparasitos presentes no sangue circulante destas espécies de arraias. Os resultados do presente estudo ampliam o conhecimento sobre a hematologia e o estado de saúde das arraias de água doce da região amazônica, gerando informações relevantes para a elaboração de estratégias de conservação de manejo para os potamotrigoníneos na natureza. Além disso, também são úteis para o desenvolvimento de estratégias de criação destas espécies em cativeiro, onde o sucesso produtivo depende do conhecimento dos aspectos biológicos destes animais em ambiente natural.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Investigar as características hematológicas bem como a morfologia e morfometria das células sanguíneas e os hemoparasitos de *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbignyi* da região do baixo Rio Solimões, estado do Amazonas, Brasil.

2.2. Objetivos Específicos

- Determinar e comparar o eritrograma, leucograma e bioquímica plasmática entre machos e fêmeas e entre as fases de desenvolvimento de *P. motoro* e *P. orbignyi*;
- Estabelecer o intervalo hematológico de referência para *P. motoro* e *P. orbignyi*;
- Caracterizar morfológica e morfometricamente as células sanguíneas de *P. motoro* e *P. orbignyi*;
- Caracterizar morfológica e morfometricamente os estágios evolutivos dos hemoparasitos presentes no sangue de *P. motoro* e *P. orbignyi*;
- Avaliar as alterações morfométricas eritrocitárias induzidas pelos hemoparasitos no sangue de *P. motoro* e *P. orbignyi*;
- Avaliar o efeito da hemoparasitose sobre os parâmetros sanguíneos de *P. motoro* e *P. orbignyi*.

3. HIPÓTESES

H₁: O perfil sanguíneo é diferente entre machos e fêmeas e entre as fases de desenvolvimento de *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbignyi*;

H₂: As características morfológicas e morfométricas das células sanguíneas são diferentes entre *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbignyi*;

H₃: As características morfométricas dos eritrócitos de *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbignyi* são alteradas pelos hemoparasitos;

H₄: As arraias *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbignyi* provenientes da região do baixo Rio Solimões apresentam hemoparasitos no sangue circulante;

H₅: Os hemoparasitos são morfológica e morfometricamente distintos em *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbignyi*;

H₆: Os parâmetros sanguíneos de *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbignyi* são influenciados pelos hemoparasitos.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1. AS ARRAIAS DE ÁGUA DOCE

Durante anos, as arraias da família Potamotrygonidae foram classificadas como elasmobrânquios de vida livre exclusivos de ambientes de água doce dos sistemas fluviais da América do Sul (Carvalho *et al.*, 2003). Recentemente, este táxon foi dividido em duas subfamílias: Styracurinae, composta por duas espécies marinhas com distribuição anfi-americana (Carvalho *et al.*, 2016a), e Potamotrygoninae, subfamília exclusivamente dulciaquícola, com 38 espécies válidas distribuídas nos gêneros *Heliotrygon*, *Paratrygon*, *Plesiotrygon* e *Potamotrygon* (Carvalho, 2016b; Carvalho, 2016c; Fontenelle e Carvalho, 2017; Silva e Loboda, 2019; Loboda *et al.*, 2021). Os táxons *Heliotrygon* e *Plesiotrygon* são constituídos por duas espécies cada (Rosa *et al.*, 1987; Carvalho e Lovejoy, 2011; Carvalho e Ragno, 2011), *Paratrygon* é composto por 3 espécies, sendo duas destas recentemente descritas (Loboda *et al.*, 2021), enquanto o gênero *Potamotrygon* destaca-se por ser o mais diversificado, com 31 espécies válidas, incluindo a nova espécie *Potamotrygon marquesi* (Silva e Loboda, 2019).

Os potamotrigoníneos podem ocorrer naturalmente em todos os países da América do Sul, com exceção do Chile, sendo que o Brasil se destaca por apresentar a maior riqueza, com 29 espécies válidas (Lasso *et al.*, 2016; Fontenelle e Carvalho, 2017; Silva e Loboda, 2019). Algumas espécies apresentam ampla distribuição como por exemplo, *Paratrygon aiereba*, *P. motoro* e *P. orbignyi*, e outras tem distribuição restrita como por exemplo, *Potamotrygon wallacei*, *Potamotrygon jabuti*, *Potamotrygon leopoldi* e *Potamotrygon henlei* que são espécies endêmicas das bacias dos rios Negro, Tapajós, Xingu e Tocantins, respectivamente (Carvalho *et al.*, 2003; Araújo, 2004; Carvalho, 2016b; Carvalho *et al.*, 2016b). Podem viver em habitats lênticos, como lagos e igapós, e lóticos, incluindo fortes correntezas (Almeida *et al.*, 2009), e nos mais diversos tipos de substrato, como fundos rochosos, arenosos, barrentos ou de folhiço (Rosa *et al.*, 2010).

As arraias de água doce possuem características biológicas semelhantes aos elasmobrânquios marinhos, como baixa fecundidade, crescimento lento, grande longevidade, padrões complexos de reprodução e maturação sexual tardia (Carrier *et al.*, 2004; Lameiras *et al.*, 2013). Estes aspectos resultam em baixas taxas de renovação populacional e, conseqüentemente, maior vulnerabilidade aos impactos provenientes da exploração pesqueira desordenada. Devido a esta vulnerabilidade, o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) proibiu, por meio da Instrução Normativa 118/06, a

pesca de arraias de água doce em território nacional (IBAMA, 2006). A proibição perdurou por dois anos até a publicação da Instrução Normativa 204/08 que liberou novamente o comércio de arraias, em sistema de cotas, para fins de ornamentação e aquarioria pelos estados do Amazonas e Pará (IBAMA, 2008).

A captura das arraias de água doce não é restrita apenas à pesca ornamental, pois os animais também são sujeitos à pesca comercial, havendo nos últimos anos um aumento significativo no consumo destes animais como alimento (Andrade *et al.*, 2024). Além disso, os constantes acidentes e ferimentos dos pescadores e da comunidade ribeirinha envolvendo os ferrões das arraias têm impulsionado a prática da pesca negativa, que consiste na captura dos animais para fins de mutilação, por meio da retirada da cauda, ou sacrifício do mesmo (Oliveira *et al.*, 2015a). Análises de estimativas espaciais da pressão da pesca sobre as arraias de água doce indicaram o declínio populacional de algumas espécies, como por exemplo, as da Bacia do Rio Paraná (Lucifora *et al.*, 2017). Recentemente, as espécies *P. aiereba*, *Potamotrygon constellata*, *Potamotrygon magdalenae*, *P. motoro*, *P. orbignyi*, *Potamotrygon schroederi*, *Potamotrygon scobina* e *Potamotrygon yepezi* provenientes da Colômbia foram adicionadas ao Apêndice III da Convenção sobre o Comércio Internacional das Espécies da Fauna e da Flora Selvagens Ameaçadas de Extinção (CITES), que indica as espécies cuja exploração necessita ser restrita ou impedida (CITES, 2023). *Paratrygon aiereba* também foi recentemente classificada como criticamente ameaçada de extinção, tendo a sua captura e comercialização proibida no Brasil (MMA, 2022). Estes dados têm evidenciado a vulnerabilidade destes elasmobrânquios e o impacto negativo da sobreexploração sobre o equilíbrio populacional destas espécies.

Em relação ao nível trófico, os potamotrigoníneos são considerados mesopredadores na região Neotropical (Shibuya, 2022), apresentando uma dieta variada que inclui peixes, crustáceos e insetos. As espécies *P. motoro*, *P. orbignyi* e *P. aiereba* apresentam preferência alimentar por crustáceos, insetos e teleósteos, respectivamente, enquanto *P. wallacei* e *P. scobina* possuem uma dieta mais generalista sem demonstrar uma nítida preferência alimentar (Shibuya *et al.*, 2009; Gama e Rosa, 2015). De modo geral, as arraias podem apresentar preferências alimentares, mas tem plasticidade para consumirem os itens mais abundantes no ambiente e acompanhar a disponibilidade dos mesmos (Gama e Rosa, 2015).

Algumas características biológicas das arraias são mais próximas às observadas em mamíferos que em peixes ósseos. Possuem fecundação interna e viviparidade matotrófica, no entanto, são aplacentárias e com desenvolvimento de trofonema e secreção lipídica para a nutrição dos embriões (Garrone Neto, 2010). A gestação pode variar de 3 a 9 meses e apresenta

cuidado parental com a prole por até 30 dias após o parto (Araújo, 1998). Em contrapartida, assim como observado em teleósteos, apresenta dimorfismo sexual, sendo as fêmeas geralmente maiores que os machos, e a reprodução parece estar relacionada ao ciclo hidrológico (Araújo *et al.*, 2004; Garrone Neto, 2010). Por serem exclusivamente dulciaquícolas, são estenoalinas e hiperosmóticas em relação ao ambiente (Treberg *et al.*, 2006) e apresentam mecanismos osmorregulatórios para reduzir a perda de sais para o ambiente, como a ausência de excreção de sal pela glândula retal, sistema de reabsorção de eletrólitos pelos rins e transporte ativo de sais das brânquias para a corrente sanguínea (Thorson *et al.*, 1978; Duncan, 2016). As variações nas características fisiológicas dos potamotrigoníneos, ora parecidas com os elasmobrânquios marinhos, ora com os teleósteos de água doce, estendem-se aos parâmetros hematológicos, sendo observadas diversas mudanças interespecíficas em arraias.

4.1.1. *Potamotrygon motoro*

A arraia *Potamotrygon motoro* (Muller & Henle, 1841) (Figura 1A) é a espécie com maior distribuição dentro da subfamília Potamotrygoninae, presente desde o Rio Orinoco, na Venezuela, até o Rio La Plata, no Uruguai (Lasso *et al.*, 2013). No Brasil, ocorre em toda a bacia amazônica e na bacia Paraná-Paraguai, podendo ser encontrada em diferentes tipos de substrato (Rosa *et al.*, 2010). É policromática, sendo caracterizada pela presença de ocelos de tamanhos variados e tricolores, com mancha central amarela, anel intermediário laranja e anel externo preto (Loboda e Carvalho, 2013). São consideradas de grande porte, podendo ultrapassar 60 cm de largura de disco e pesar até 20 kg (Lasso *et al.*, 2013). Apresentam um amplo espectro alimentar, incluindo insetos, moluscos, crustáceos, anelídeos e peixes, sendo os crustáceos decápodes e os peixes os itens de maior importância (Almeida *et al.*, 2010). A reprodução está relacionada ao ciclo hidrológico do rio, com a fecundação ocorrendo durante a estação seca, uma gestação de aproximadamente seis meses e a temporada de nascimento durante o período chuvoso, apresentando uma fecundidade média de sete embriões (Charvet-Almeida *et al.*, 2005). É uma espécie economicamente importante para o estado do Amazonas, sendo utilizada para fins ornamentais e de consumo alimentar (Duncan *et al.*, 2010b). De acordo com a legislação brasileira, podem ser comercializados para a aquariorfilia, por meio de sistema de cotas, até 5.200 indivíduos por ano, sendo 4.000 pelo estado do Amazonas e 1.200 pelo Pará (IBAMA, 2006).

4.1.2. *Potamotrygon orbignyi*

A arraia *Potamotrygon orbignyi* (Castelnaud, 1855) (Figura 1B) é uma espécie amplamente distribuída no norte da América do Sul, ocorrendo desde a bacia do Orinoco, na Venezuela e Colômbia, nas Guianas, na bacia Amazônica brasileira, colombiana e peruana e na bacia do Tocantins-Araguaia, no Brasil (Lasso *et al.*, 2016). É considerada uma espécie de habitat generalista, podendo ser encontrada em ambientes lóticos e lênticos e nos três tipos de água (preta, branca e clara) (Rosa *et al.*, 2010). Pode atingir até 46 cm de largura de disco e 6,4 kg de peso corporal, tornando-a alvo da pesca comercial para fins de consumo alimentar (Lasso *et al.*, 2016).

A superfície dorsal destes organismos apresenta alto grau de policromatismo, com tons de marrom e padrões reticulados escuros e/ou manchas irregulares de diferentes tamanhos, o que dificulta a sua identificação (Rincon-Filho, 2006). É considerada carnívora: entomófaga-carcinófaga, alimentando-se preferencialmente de insetos da ordem Ephemeroptera (Shibuya *et al.*, 2009; Moro *et al.*, 2011). Possuem um período de gestação próximo a 11 meses e fecundidade embrionária média de dois embriões, com a cópula ocorrendo durante a estação das cheias, a gestação durante a estação de águas baixas e o parto durante a estação das cheias do próximo ciclo hidrológico (Charvet-Almeida *et al.*, 2005). Esta arraia é capturada majoritariamente para fins de ornamentação e aquariofilia, podendo ser comercializados até 2.400 indivíduos por ano, respeitando a largura de disco máxima de 30 cm (IBAMA, 2006), demonstrando a importância econômica desta espécie para a cadeia da pesca ornamental do estado do Amazonas.

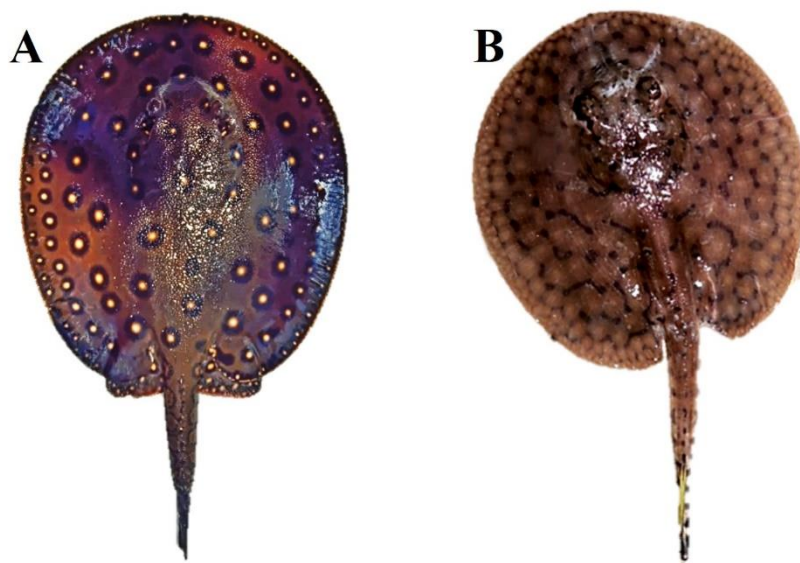


Figura 1. Arraias *Potamotrygon motoro* (A) e *Potamotrygon orbignyi* (B).

4.2. O PERFIL HEMATOLÓGICO DAS ARRAIAS DE ÁGUA DOCE

Os potamotrigoníneos constituem uma porção pouco conhecida da fauna de água doce quando comparados a outros grupos de vertebrados aquáticos (Lameiras *et al.*, 2013). Fatores como a dificuldade de captura e os riscos envolvendo o manuseio das arraias contribuem para a escassez de estudos sobre a biologia e fisiologia destes animais, principalmente em relação aos parâmetros hematológicos, que são muito reduzidos em comparação aos elasmobrânquios marinhos e principalmente aos teleósteos (Oliveira *et al.*, 2016a).

A hematologia é uma ferramenta tradicionalmente utilizada para monitorar a higidez de um animal, mas também pode ser útil para avaliar o estado de saúde de populações de peixes, pois desequilíbrios ambientais geralmente resultam em alterações sanguíneas que podem ser detectáveis (Tavares-Dias e Moraes, 2004). O eritrograma possibilita a detecção de policitemia e anemia, assim como a identificação dos tipos de alterações em processos relacionados ao tamanho dos eritrócitos (microcítica, normocítica ou macrocítica) ou à concentração de hemoglobina corpuscular média (hipocrômica ou normocrômica) e na perda de células sanguíneas (hemolítica ou hemorrágica) (Clauss *et al.*, 2008). A quantificação das populações leucocitárias fornece indícios sobre o estado imunológico dos animais (Oliveira *et al.*, 2016a). A granulocitose atua como um indicador de processo inflamatório, enquanto a monocitose representa a intensificação da atividade fagocitária (Clauss *et al.*, 2008). Alterações nos linfócitos podem indicar imunossupressão, em casos de linfopenia, e infecções recentes, em caso de linfocitose (Tavares-Dias e Moraes, 2004; Arnold, 2005). Os trombócitos, os quais são indicadores do equilíbrio hemostático, em peixes também podem apresentar atividade fagocitária (Tavares-Dias e Moraes, 2007; Tavares-Dias e Oliveira, 2009). A bioquímica plasmática apresenta alta sensibilidade quanto às interferências de fatores endógenos e exógenos sobre o equilíbrio homeostático, sendo um indicador do metabolismo energético e dos ajustes fisiológicos, principalmente osmorregulatórios e hormonais, de animais selvagens e em cativeiro (Cain *et al.*, 2004).

Apesar da importância, a interpretação das análises sanguíneas dos elasmobrânquios é complexa devido ao reduzido número de informações, pois há variação intra e interespecífica e influência de diversos fatores no eritrograma, leucograma e bioquímica plasmática (Greene *et al.*, 2018). Entre os fatores endógenos, os mais importantes são a variação genética, sexo, idade, fase de vida e estado fisiológico, enquanto entre os exógenos destacam-se temperatura, habitat, alterações sazonais, poluição e hábito alimentar (Wilhelm-Filho *et al.*, 1992; Brito *et al.*, 2015; Oliveira *et al.*, 2016a,b; Phillips *et al.*, 2016).

Os estudos hematológicos presentes na literatura constataram que os elasmobrânquios possuem um menor número de eritrócitos circulantes no sangue, em contrapartida, o tamanho celular é de duas a três vezes maior que o observado em teleósteos e a concentração de hemoglobina corpuscular média é superior, resultando em um sangue com baixa viscosidade. Estas características eritrocitárias apontam as arraias como organismos com baixa demanda por oxigênio e baixa taxa metabólica sendo, portanto, mais sedentárias que os tubarões e os teleósteos (Wilhelm-Filho *et al.*, 1992).

As arraias de água doce apresentam, em geral, baixos índices hematimétricos e reduzidos números de eritrócitos e de leucócitos totais quando comparado aos elasmobrânquios marinhos (Brito, 2012). Os resultados obtidos por Oliveira (2008) corroboram as afirmações sobre o modo de vida sedentário das arraias dulcícolas, pois o eritrograma de *P. wallacei* também apresentou valores inferiores aos observados em arraias marinhas. Em contrapartida, os parâmetros bioquímicos plasmáticos assemelharam-se mais aos dos teleósteos de água doce do que aos de seus relativos marinhos. Em relação aos leucócitos, foi relatada a presença de neutrófilos e eosinófilos no sangue de potamotrigoníneos (Griffith *et al.*, 1973), sendo o neutrófilo o tipo leucocitário mais abundante em *Potamotrygon falkneri*, *P. motoro* e *P. orbignyi* (Brito, 2012). Entretanto, resultados divergentes foram obtidos por Oliveira *et al.* (2016a), que não encontraram neutrófilos e eosinófilos no sangue de *P. motoro*, *P. wallacei* e *P. aiereba*, e identificaram, por meio de análises citoquímicas, apenas eritrócitos, trombócitos, linfócitos, monócitos, heterófilos e basófilos, todas células com características morfométricas semelhantes às observadas em tubarões e arraias marinhas. Tais discrepâncias podem estar relacionadas à dificuldade no método de coloração das extensões sanguíneas e/ou classificação errônea dos diferentes tipos leucocitários, fato comum em se tratando da identificação de leucócitos de peixes (Tavares-Dias e Moraes, 2004) ou, por exemplo, arraias.

Os trabalhos visando o estabelecimento do perfil hematológico de arraias de água doce estão reunidos nas Tabelas 1-4, com destaque para os estudos desenvolvidos por Brito *et al.* (2015), Oliveira *et al.* (2015b) e Oliveira *et al.* (2016a) que, juntos, determinaram o perfil sanguíneo de sete diferentes espécies de potamotrigoníneos. As espécies *P. falkneri* e *P. motoro*, provenientes do Rio Paraná (PR), e *P. orbignyi* e *P. scobina* coletadas no Rio Piririm (AP) não apresentaram diferenças hematológicas significativas entre as arraias capturadas no mesmo rio. Porém, os índices lipídicos e glicêmicos diferiram entre as arraias dessas diferentes bacias hidrográficas, provavelmente em decorrência das alterações na composição da dieta (Brito *et al.*, 2015). As espécies *P. motoro* e *P. aiereba* provenientes da região do médio Rio Negro (AM) apresentaram um padrão conservador, pois os parâmetros sanguíneos não foram

influenciados pelo sexo, fase de desenvolvimento e estado de prenhez. Em contrapartida, *P. wallacei*, da mesma localidade, apresentou influência da fase de desenvolvimento sobre o eritrograma e níveis plasmáticos de glicose, triglicerídeos e proteínas totais (Oliveira *et al.*, 2016a). Oliveira (2008) encontrou influência da sazonalidade do rio no perfil hematológico de *P. wallacei*, com aumento da concentração de hemoglobina, volume corpuscular médio, concentração de hemoglobina corpuscular média, provavelmente como uma tentativa de maximizar a captação de oxigênio e a produção energética. Efeito do rio também foi observado na composição dos principais osmólitos plasmáticos de 15 espécies de potamotrigoníneos provenientes de diferentes sistemas hidrográficos brasileiros, sendo constatado que as arraias ajustam os seus mecanismos osmorregulatórios de acordo com o ambiente em que vivem, com animais de rios de águas negras e claras apresentando níveis mais baixos de osmólitos que os encontrados nos rios de águas brancas (Duncan *et al.*, 2021), indicando que as características fisiológicas dos potamotrigoníneos podem estar diretamente associadas a fatores relacionados ao tipo de água onde habitam.

A grande variação intra e interespecífica e a forte interferência das variáveis ambientais nos parâmetros hematológicos das arraias, dificultam a extrapolação dos dados presentes na literatura para as demais espécies de potamotrigoníneos. As informações disponíveis ainda são fragmentadas e majoritariamente direcionadas para as espécies provenientes de ambientes de águas pretas da região amazônica, não havendo, até o momento, estudos sobre a caracterização do perfil hematológico e o estabelecimento de intervalos referenciais destes parâmetros para as arraias em ambientes de água branca.

Tabela 1. Parâmetros eritrocitários de diferentes espécies de arraias da subfamília Potamotrygoninae. Valores expressam média \pm DP.

Local de captura	Espécie	LD (cm)	Ht (%)	Hb (g dL ⁻¹)	RBC (10 ⁶ /μL ⁻¹)	VCM (fL)	CHCM (g dL ⁻¹)	Referências	
Rio Piririm (AP)	<i>P. orbignyi</i>	50,2 \pm 1,6	23,1 \pm 3,9	4,9 \pm 0,8	0,9 \pm 0,1	267,0 \pm 49,2	21,9 \pm 4,1	Brito <i>et al.</i> (2015)	
	<i>P. scobina</i>	50,8 \pm 3,6	22,0 \pm 4,6	5,2 \pm 1,1	1,4 \pm 0,4	171,0 \pm 32,5	23,7 \pm 2,2		
Rio Paraná (PR)	<i>P. falkneri</i>	32,0 \pm 1,7	21,3 \pm 0,8	4,3 \pm 0,2	0,8 \pm 0,1	288,0 \pm 33,4	20,8 \pm 1,1		
	<i>P. motoro</i>	30,3 \pm 1,2	19,6 \pm 1,6	4,2 \pm 0,4	0,7 \pm 0,1	325,0 \pm 59,4	22,2 \pm 1,9		
Rio Negro (AM)	<i>P. orbignyi</i>	NI	23,3 \pm 3,5	3,8 \pm 0,9	0,4 \pm 0,1	663,9 \pm 226,8	16,2 \pm 2,0	Oliveira <i>et al.</i> (2015b)	
	<i>P. schroederi</i>	NI	23,9 \pm 1,1	3,7 \pm 0,9	0,3 \pm 0,1	892,2 \pm 670,0	15,6 \pm 9,7		
	<i>P. motoro</i>		12,9 \pm 1,6	18,0 \pm 0,0	2,6 \pm 0,5	0,3 \pm 0,5	709,1 \pm 94,5	14,5 \pm 2,6	
			23,9 \pm 4,8	21,3 \pm 2,0	3,9 \pm 0,7	0,4 \pm 0,1	484,9 \pm 98,2	18,6 \pm 2,8	
			38,0 \pm 1,7	20,0 \pm 5,3	3,7 \pm 1,5	0,3 \pm 0,3	569,7 \pm 179,6	17,9 \pm 3,8	
			48,3 \pm 2,8	21,2 \pm 4,2	3,5 \pm 1,0	0,3 \pm 0,3	757,5 \pm 179,6	16,4 \pm 3,6	
	<i>P. wallacei</i>		8,1 \pm 0,8	14,6 \pm 3,7	2,2 \pm 0,7	0,3 \pm 0,1	420,4 \pm 83,1	15,4 \pm 4,3	Oliveira <i>et al.</i> (2016a)
			11,2 \pm 0,7	29,0 \pm 1,9	4,0 \pm 0,9	0,4 \pm 0,1	501,0 \pm 197,5	21,1 \pm 9,5	
			14,4 \pm 0,9	23,7 \pm 5,3	4,3 \pm 0,8	0,4 \pm 0,1	552,1 \pm 153,7	18,4 \pm 4,1	
			19,5 \pm 2,5	23,2 \pm 5,2	4,5 \pm 1,0	0,4 \pm 0,1	573,6 \pm 170,9	19,6 \pm 4,6	
<i>P. aiereba</i>		19,2 \pm 2,3	23,0 \pm 4,4	4,5 \pm 1,9	0,4 \pm 0,1	642,8 \pm 93,2	19,4 \pm 6,3		
		26,0 \pm 2,3	27,4 \pm 3,1	3,8 \pm 0,8	0,4 \pm 0,1	753,0 \pm 193,3	14,3 \pm 3,0		
		35,7 \pm 5,4	25,7 \pm 4,9	3,8 \pm 0,6	0,4 \pm 0,1	734,5 \pm 167,1	14,0 \pm 2,6		
Cativeiro	<i>P. magdalena</i>	20,3 \pm 1,3	19,5 \pm 2,8	4,8 \pm 0,6	0,3 \pm 0,1	781,3 \pm 148,7	24,5 \pm 2,2	Péres-Rojas <i>et al.</i> (2022)	

DP: desvio padrão; LD: largura de disco; Ht: hematócrito; Hb: concentração de hemoglobina; RBC: número de eritrócitos; VCM: volume corpuscular médio; CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média; AP: Amapá; PR: Paraná; AM: Amazonas; NI: não informado.

Tabela 2. Trombograma e leucograma de diferentes espécies de arraias da subfamília Potamotrygoninae. Valores expressão média \pm DP.

Local de captura	Espécie	LD (cm)	Tromb (μ L)	Leu (μ L)	Het (μ L)	Eos (μ L)	Lin (μ L)	Mon (μ L)	Neu (μ L)	Bas (μ L)	Referências	
Rio Piririm (AP)	<i>P. orbignyi</i>	50,2 \pm 1,6	1232 \pm 244	2555 \pm 447	782 \pm 154	8 \pm 6	403 \pm 113	150 \pm 43	1985 \pm 265	43 \pm 15	Brito <i>et al.</i> (2015)	
	<i>P. scobina</i>	50,8 \pm 3,6	1736 \pm 583	2299 \pm 581	851 \pm 301	0 \pm 0	594 \pm 169	73 \pm 32	737 \pm 172	43 \pm 28		
Rio Paraná (PR)	<i>P. falkneri</i>	32,0 \pm 1,7	1255 \pm 263	3618 \pm 399	232 \pm 34	30 \pm 13	1123 \pm 411	337 \pm 50	1892 \pm 195	9 \pm 5		
	<i>P. motoro</i>	30,3 \pm 1,2	1077 \pm 492	2520 \pm 501	147 \pm 35	20 \pm 14	718 \pm 189	234 \pm 76	1393 \pm 357	8 \pm 5		
Rio Negro (AM)	<i>P. orbignyi</i>	NI	1090 \pm 210	2790 \pm 280	903 \pm 29	NI	1301 \pm 299	880 \pm 221	NI	99 \pm 62		Oliveira <i>et al.</i> (2015b)
	<i>P. schroederi</i>	NI	1132 \pm 114	2900 \pm 430	851 \pm 302	NI	1282 \pm 480	690 \pm 120	NI	123 \pm 78		
	<i>P. motoro</i>		12,9 \pm 1,6	940	3055	611	NI	1527	855	NI	61	
			23,9 \pm 4,8	816 \pm 621	2908 \pm 617	860 \pm 416	NI	1700 \pm 1262	1367 \pm 872	NI	181 \pm 178	
			38,0 \pm 1,7	850 \pm 1202	8140 \pm 8923	891 \pm 33	NI	457	2251 \pm 2537	NI	325 \pm 459	
			48,3 \pm 2,8	800 \pm 507	2520 \pm 499	742 \pm 128	NI	1078 \pm 399	649 \pm 224	NI	98 \pm 143	
	<i>P. wallacei</i>		8,1 \pm 0,8	564 \pm 288	2763 \pm 526	761 \pm 152	NI	1240 \pm 425	748 \pm 221	NI	136 \pm 131	Oliveira <i>et al.</i> (2016a)
			11,2 \pm 0,7	1406 \pm 60	3112 \pm 231	656 \pm 15	NI	1386 \pm 358	894 \pm 14	NI	114 \pm 17	
			14,4 \pm 0,9	791 \pm 637	5925 \pm 3515	1028 \pm 516	NI	2342 \pm 1662	1882 \pm 1163	NI	244 \pm 216	
			19,5 \pm 2,5	822 \pm 669	3459 \pm 1630	688 \pm 363	NI	1688 \pm 985	1205 \pm 847	NI	111 \pm 117	
<i>P. aiereba</i>		19,2 \pm 2,3	636 \pm 280	2970 \pm 479	652 \pm 39	NI	1447 \pm 138	878 \pm 39	NI	159 \pm 141		
		26,0 \pm 2,3	610 \pm 367	2696 \pm 545	899 \pm 1	NI	1228 \pm 482	733 \pm 243	NI	190 \pm 147		
		35,7 \pm 5,4	700 \pm 461	2859 \pm 765	760 \pm 212	NI	1220 \pm 442	789 \pm 287	NI	177 \pm 179		
Cativeiro	<i>P. magdalenae</i>	20,3 \pm 1,3	6981 \pm 2894	6819 \pm 2966	2550 \pm 1952	18 \pm 31	4098 \pm 2684	152 \pm 81	NI	NI	Péres-Rojas <i>et al.</i> (2022)	

DP: desvio padrão; LD: largura de disco; Tromb: contagem de trombócitos; Leu: contagem de leucócitos totais; Het: heterófilos; Eos: eosinófilos; Lin: linfócitos; Mon: monócitos; Neu: neutrófilos; Bas: basófilos; AP: Amapá; PR: Paraná; AM: Amazonas; NI: não informado.

Tabela 3. Parâmetros bioquímicos plasmáticos de diferentes espécies de arraias da subfamília Potamotrygoninae. Valores expressam média \pm DP.

Local de captura	Espécie	LD (cm)	Proteínas plasmáticas (g dL ⁻¹)	Glicose (mg dL ⁻¹)	Colesterol (mg dL ⁻¹)	Triglicerídeos (mg dL ⁻¹)	Ureia (mg dL ⁻¹)	Referências	
Rio Piririm (AP)	<i>P. orbignyi</i>	50,2 \pm 1,6	2,0 \pm 0,2 *	44,0 \pm 8,0	34,6 \pm 6,5	38,8 \pm 17,6	38,3 \pm 17,6	Brito <i>et al.</i> (2015)	
	<i>P. scobina</i>	50,8 \pm 3,6	2,0 \pm 0,2 *	39,0 \pm 6,5	21,8 \pm 6,6	37,5 \pm 2,7	24,1 \pm 4,6		
Rio Paraná (PR)	<i>P. falkneri</i>	32,0 \pm 1,7	3,0 \pm 0,1 *	66,9 \pm 3,7	88,7 \pm 6,4	66,7 \pm 4,4	29,0 \pm 3,1		
	<i>P. motoro</i>	30,3 \pm 1,2	3,0 \pm 0,2 *	61,8 \pm 6,7	74,2 \pm 8,8	52,4 \pm 7,1	30,1 \pm 3,1		
Rio Negro (AM)	<i>P. orbignyi</i>	NI	1,0 \pm 0,2	39,6 \pm 1,8	57,9 \pm 11,6	70,0 \pm 26,2	16,8 \pm 3,6	Oliveira <i>et al.</i> (2015b)	
	<i>P. schroederi</i>	NI	1,5 \pm 0,9	21,6 \pm 10,8	69,6 \pm 11,6	70,0 \pm 52,5	16,2 \pm 12,6		
	<i>P. motoro</i>		12,9 \pm 1,6	0,8 \pm 0,4	31,9 \pm 16,2	69,8 \pm 6,3	58,7 \pm 4,8	40,2 \pm 10,2	
			23,9 \pm 4,8	1,0 \pm 0,3	34,6 \pm 9,6	51,6 \pm 23,5	60,8 \pm 20,7	9,6 \pm 3,0	
			38,0 \pm 1,7	0,7 \pm 1,0	32,0 \pm 10,1	37,8 \pm 5,6	82,0 \pm 37,0	6,0 \pm 3,0	
			48,3 \pm 2,8	1,3 \pm 0,4	28,9 \pm 10,2	69,0 \pm 40,4	81,4 \pm 20,5	12,6 \pm 3,6	
	<i>P. wallacei</i>		8,1 \pm 0,8	0,8 \pm 0,3	41,2 \pm 9,0	76,6 \pm 22,8	62,0 \pm 21,1	9,6 \pm 3,6	Oliveira <i>et al.</i> (2016a)
			11,2 \pm 0,7	1,0 \pm 0,1	20,4 \pm 5,4	32,6 \pm 6,6	30,8 \pm 13,4	18,6 \pm 1,2	
			14,4 \pm 0,9	1,0 \pm 0,3	32,4 \pm 9,6	50,9 \pm 21,6	56,8 \pm 17,0	8,4 \pm 4,2	
			19,5 \pm 2,5	1,2 \pm 0,3	31,7 \pm 9,8	57,4 \pm 23,5	60,5 \pm 19,9	7,8 \pm 2,4	
<i>P. aiereba</i>		19,2 \pm 2,3	1,4 \pm 0,6	13,0 \pm 3,7	72,6 \pm 34,4	87,5 \pm 43,8	28,8 \pm 15,0		
		26,0 \pm 2,3	1,3 \pm 0,2	17,2 \pm 6,5	63,6 \pm 15,8	105,4 \pm 57,6	25,8 \pm 17,4		
		35,7 \pm 5,4	1,5 \pm 0,1	17,6 \pm 3,7	56,7 \pm 21,5	104,9 \pm 45,8	25,8 \pm 19,8		
Cativeiro	<i>P. magdalenae</i>	20,3 \pm 1,3	1,9 \pm 0,3	25,0 \pm 4,4	49,8 \pm 12,7	53,6 \pm 21,8	5,1 \pm 2,2	Péres-Rojas <i>et al.</i> (2022)	
	<i>P. motoro</i>	NI	2,5 \pm 0,5	25,2 \pm 21,6	20,8 \pm 3,3	NI	0,6 \pm 0,4	Pronina <i>et al.</i> (2022)	

*Proteína sérica

DP: desvio padrão; LD: largura de disco; AP: Amapá; PR: Paraná; AM: Amazonas; NI: não informado.

Tabela 4. Eletrólitos e enzimas plasmáticas de diferentes espécies de arraias da subfamília Potamotrygoninae. Valores expressam média \pm DP.

Local de captura	Espécie	LD (cm)	Cloreto (mmol L ⁻¹)	Sódio (mmol L ⁻¹)	Potássio (mmol L ⁻¹)	AST (U L ⁻¹)	ALT (U L ⁻¹)	ALP (U L ⁻¹)	CK (U L ⁻¹)	Referências
Rio Piririm (AP)	<i>P. orbignyi</i>	50,2 \pm 1,6	154,9 \pm 9,8	164,7 \pm 19,6	6,0 \pm 1,1	68 \pm 13	13 \pm 2	77 \pm 11	7248 \pm 2755	Brito <i>et al.</i> (2015)
	<i>P. scobina</i>	50,8 \pm 3,6	150,9 \pm 32,6	156,1 \pm 31,6	8,0 \pm 3,7	79 \pm 20	19 \pm 8	32 \pm 6	1670 \pm 778	
Rio Paraná (PR)	<i>P. falkneri</i>	32,0 \pm 1,7	157,7 \pm 17,9	174,7 \pm 20,7	14,9 \pm 13,1	119 \pm 11	18 \pm 2	116 \pm 17	3593 \pm 1132	Oliveira <i>et al.</i> (2016a)
	<i>P. motoro</i>	30,3 \pm 1,2	159,0 \pm 14,5	173,5 \pm 16,4	10,1 \pm 11,6	111 \pm 36	25 \pm 5	124 \pm 16	904 \pm 363	
Rio Negro (AM)	<i>P. motoro</i>	12,9 \pm 1,6	122,2 \pm 13,0	126,1 \pm 22,3	11,6	NI	NI	NI	NI	Duncan <i>et al.</i> (2021)
		23,9 \pm 4,8	119,1 \pm 10,7	137,3 \pm 17,2	9,6 \pm 1,6	NI	NI	NI	NI	
		38,0 \pm 1,7	124,3 \pm 0,2	134,0 \pm 7,7	9,9 \pm 0,9	NI	NI	NI	NI	
		48,3 \pm 2,8	113,7 \pm 4,0	141,4 \pm 7,0	8,5 \pm 0,9	NI	NI	NI	NI	
	<i>P. wallacei</i>	8,1 \pm 0,8	125,5 \pm 10,6	135,7 \pm 14,2	8,8 \pm 1,4	NI	NI	NI	NI	
		11,2 \pm 0,7	139,6 \pm 2,5	137,6 \pm 9,3	7,8 \pm 0,2	NI	NI	NI	NI	
		14,4 \pm 0,9	126,6 \pm 20,3	139,9 \pm 16,8	10,1 \pm 1,2	NI	NI	NI	NI	
		19,5 \pm 2,5	124,4 \pm 19,6	143,1 \pm 19,8	9,4 \pm 2,2	NI	NI	NI	NI	
	<i>P. aiereba</i>	19,2 \pm 2,3	124,2 \pm 10,0	135,1 \pm 14,1	8,7 \pm 1,2	NI	NI	NI	NI	
		26,0 \pm 2,3	122,4 \pm 0,7	144,3 \pm 2,9	9,2 \pm 1,7	NI	NI	NI	NI	
		35,7 \pm 5,4	114,5 \pm 15,6	136,4 \pm 16,3	9,6 \pm 1,5	NI	NI	NI	NI	
Rio Manacapuru (AM)	<i>P. constellata</i>	NI	98,7 \pm 22,6	183,4 \pm 20,9	5,4 \pm 0,8	NI	NI	NI	NI	
	<i>P. motoro</i>	NI	104,5 \pm 14,5	190,4 \pm 33,7	6,4 \pm 0,7	NI	NI	NI	NI	
	<i>P. orbignyi</i>	NI	98,9 \pm 8,9	185,4 \pm 15,7	4,8 \pm 0,5	NI	NI	NI	NI	
Rio Branco (AC)	<i>P. Adamastor</i>	NI	95,5 \pm 25,4	195,5 \pm 11,4	5,7 \pm 1,2	NI	NI	NI	NI	
Rio Jutai (AM)	<i>P. motoro</i>	NI	102,8 \pm 20,8	213,7 \pm 30,8	7,5 \pm 2,1	NI	NI	NI	NI	
	<i>P. orbignyi</i>	NI	97,3 \pm 16,9	261,0 \pm 26,3	6,1 \pm 0,8	NI	NI	NI	NI	
	<i>P. aiereba</i>	NI	97,2 \pm 11,7	258,0 \pm 24,2	6,1 \pm 1,5	NI	NI	NI	NI	
Rio Nhamundá (AM)	<i>P. humerosa</i>	NI	97,5 \pm 6,7	209,5 \pm 56,4	7,5 \pm 1,0	NI	NI	NI	NI	
Rio Solimões (AM)	<i>P. motoro</i>	NI	108,4 \pm 9,8	230,4 \pm 11,4	6,5 \pm 0,5	NI	NI	NI	NI	
	<i>P. iwamae</i>	NI	99,8 \pm 13,4	280,8 \pm 45,5	7,7 \pm 0,9	NI	NI	NI	NI	

DP: desvio padrão; LD: largura de disco; AST: aspartato aminotransferase; ALT: alanina aminotransferase; ALP: fosfatase alcalina; CK: creatina quinase; AP: Amapá; PR: Paraná; AM: Amazonas; AC: Acre NI: não informado.

4.3. HEMOPARASITOS DE PEIXES

A parasitologia é uma área em expansão por ser de interesse econômico para a piscicultura, seja ela comercial ou ornamental. Em ambiente natural, os estudos parasitológicos são de grande importância, pois os parasitos podem afetar vários processos ecológicos, como a seleção sexual, migração, competição, predação, especiação e extinção, moldando a dinâmica populacional de diferentes espécies de animais hospedeiros com interação direta ou indireta (Buck, 2019). Os peixes naturalmente abrigam uma variedade de parasitos que raramente são fatais quando são bem controlados pelo sistema imunológico dos hospedeiros (Tavares-Dias *et al.*, 2009). Contudo, o delicado equilíbrio existente entre o parasito, hospedeiro e ambiente pode ser facilmente alterado por diversos fatores endógenos e exógenos, tornando os peixes mais susceptíveis às infecções parasitárias (Pavanelli *et al.*, 2008).

Apesar da importância dos hemoparasitos, são poucos os estudos sobre os índices parasitológicos de potamotrigoníneos (Gama, 2016; Souza *et al.*, 2020), e são ainda mais escassas as informações sobre os parasitos sanguíneos presentes nas arraias de água doce (Brito, 2012; Magro *et al.*, 2016; Oliveira *et al.*, 2017). Os hematozoários são protozoários que utilizam o sangue do hospedeiro como habitat e incluem, entre outros, os filarídeos, que vivem nos tecidos de seus hospedeiros e liberam microfírias na circulação, os protozoários flagelados, que circulam no sangue periférico, bem como os esporozoários intracelulares, que completam parte do seu ciclo de vida dentro de células sanguíneas (Valkiunas, 2005).

Dentre os hematozoários mais comumente encontrados em peixes destacam-se as hemogregarinas, termo utilizado para agrupar os parasitos vermiformes e largos encontrados no interior de eritrócitos e, eventualmente, em leucócitos (Davies, 1995). A classificação taxonômica das hemogregarinas pertencentes ao Filo Apicomplexa está apresentada na Tabela 5, com destaque para a Subordem Adeleorina, que abriga os hemoparasitos presentes em peixes. Esta subordem é heterogênea e polifilética, sendo constituída por quatro famílias: Haemogregarinidae, Hepatozoidae, Karyolysidae e Dactylosomatidae (Úngari *et al.*, 2020). Historicamente, os parasitos sanguíneos foram incluídos no gênero *Haemogregarina*, devido à similaridade morfológica dos gametócitos. Porém, a grande diversidade de hospedeiros justificou a separação do grupo e a criação de distintas famílias dentro desta subordem (Davies e Johnston, 2000). A família Haemogregarinidae é atualmente constituída por três gêneros, *Haemogregarina*, *Cyrtilia* e *Desseria*, sendo os dois últimos descritos unicamente em peixes, enquanto as espécies de *Haemogregarina* também podem ser encontradas em anfíbios e répteis (Davies *et al.*, 2004; Hayes e Smit, 2019).

Tabela 5. Esquema taxonômico do Filo Apicomplexa, Subordem Adeleorina.

 Filo **Apicomplexa** Levine, 1970

 Classe **Sporozoa** Leuckart, 1879

 Subclasse **Coccidia** Leuckart, 1879

 Ordem **Eucoccidiorida** Léger & Duboscq, 1910

 Subordem **Adeleorina** Léger, 1911

 Família **Haemogregarinidae** Léger, 1911

 Gênero *Haemogregarina* Danilewsky, 1885

 Gênero *Cyrtia* Lainson, 1981

 Gênero *Desseria* Siddall, 1995

 Família **Hepatozoidae** Wenyon, 1926

 Gênero *Hepatozoon* Miller, 1908

 Família **Karyolysidae** Wenyon, 1926

 Gênero *Karyolysus* Labbé, 1894

 Gênero *Hemolivia* Petit, Landau, Baccam & Lainson, 1990

 Família **Dactylosomatidae** Jakowska & Negrelli, 1955

 Gênero *Dactylosoma* Labbé, 1894

 Gênero *Babesiosoma* Jakowska & Nigrelli, 1956

Os parasitos do filo Apicomplexa possuem um conjunto de organelas no ápice da célula, chamado complexo apical, além de um grupo de organelas citoplasmáticas, como os microtúbulos, micronemas e roptrias, responsáveis pelo processo de invasão nas células hospedeiras (Figura 2) (Siddall, 1995). Apresentam ciclo heteroxênico, tendo peixes, anfíbios e répteis como hospedeiros intermediários, e isópodes gnatídeos e sanguessugas como hospedeiros definitivos (Davies *et al.*, 2004). Nos invertebrados, as hemogregarinas são encontradas na hemocele, no intestino e no trato reprodutivo (Desser, 1993), e são transmitidas aos vertebrados durante a sucção do sangue pelo hospedeiro invertebrado ou penetram no organismo via sistema gastrointestinal, em casos de ingestão do invertebrado contaminado (Goertz, 2004). Nos vertebrados, os eritrócitos maduros são as principais células parasitadas e, no seu interior, os parasitos podem atingir um tamanho suficiente para deslocar e desintegrar o núcleo, além de romperem a membrana celular (Wozniak *et al.*, 1994), ocasionando um processo de anemia hemolítica (Davies, 1995).

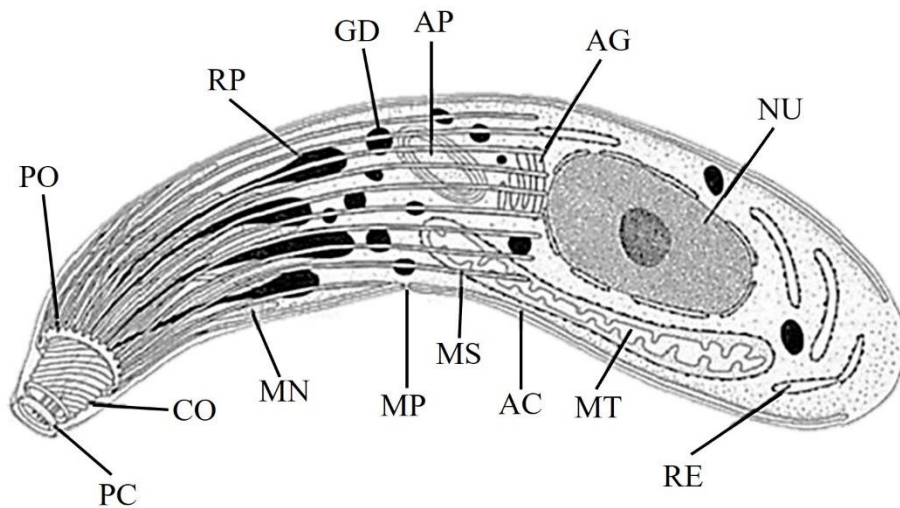


Figura 2. Estrutura geral típica de uma hemogregarina. Apicoplasto (AP), alvéolos corticais (AC), conóide (CO), grânulos densos (GD), retículo endoplasmático rugoso (RE), aparelho de Golgi (AG), microneemas (MN), microporo (MP), mitocôndria (MT), núcleo (NU), anéis pré-conoidais (PC), anel polar (PO), roptrias (RP), microtúbulos subpeliculares (MS). Fonte: adaptado de Votypka *et al.* (2017).

Em relação à reprodução, as hemogregarinas possuem um ciclo de vida complexo, podendo apresentar três estágios de desenvolvimento, sendo duas fases assexuadas, chamadas de merogonia e esporogonia, e uma sexuada, conhecida como gametogonia (Siddall, 1995). Os estágios de merogonia e a gametogonia ocorrem em peixes, enquanto a esporogonia ocorre nos hospedeiros invertebrados (Davies e Smit, 2001). Nos vertebrados, a fase de merogonia origina os merontes eritrócitos, com a formação de múltiplos merozoítos, que irão infectar outros eritrócitos, formando novos merontes ou gamontes (gametogonia). Os gamontes são os responsáveis pela formação dos gametas masculinos e femininos, entretanto, a maturação dos gametas e a subsequente recombinação através da fertilização geralmente ocorre nos invertebrados, por isso estes são considerados os hospedeiros definitivos (Smith *et al.*, 2002; O'Donoghue, 2017).

Durante o repasto sanguíneo, os gamontes intraeritrocitários são ingeridos pelos hospedeiros hematófagos, onde formam um complexo reprodutivo (singamia com sizígia). Através da gametogênese o microgamonte produz de um a quatro microgametas (gametas masculinos), onde cada um fecunda um macrogameta (gameta feminino). O zigoto formado se divide, produzindo oocistos nas microvilosidades da parede intestinal do hospedeiro. Os oocistos maduros produzem múltiplos esporozoítos (esporogonia), que migram para o somito anterior do invertebrado e originam os merontes primários, contendo os merozoítos. Estes

merozoítos se locomovem para a probóscide do vetor onde permanecem até a inoculação no hospedeiro vertebrado. A formação de oocisto, a quantidade de esporozoítos formados e o local de formação dos merontes variam de acordo com a espécie parasitária e os hospedeiros envolvidos (Desser, 1993; Siddall, 1995; Davies e Smit, 2001).

A identificação dos hemoparasitos é controversa, pois apenas hemogregarinas que infectam quelônios (Reptilia, Testudines) poderiam ser consideradas como *Haemogregarina* sensu stricto (Siddall, 1995), enquanto as encontradas em peixes deveriam ser classificadas como *Desseria* ou *Cyrilia*, ou ainda como *Haemogregarina* sensu lato (Davies e Smit, 2001). Para outros hospedeiros vertebrados, esses parasitos deveriam ser relatados como *Hepatozoon* (Família Hepatozoidae) (O'Donoghue, 2017). Como não existe um consenso na literatura, muitas espécies têm sido sujeitas a modificações e reclassificações (Lainson, 1981; Lainson, 1992; Siddall, 1995; Morsy *et al.*, 2013; Cook *et al.*, 2014).

No Brasil, existem poucos registros da ocorrência de hemogregarinas em peixes teleósteos, incluindo a presença de *Desseria mugili* em tainhas (*Mugil liza*), *Haemogregarina platessae* em linguado (*Paralichthys orbignyanus*) e *Cyrilia lignieresi* em muçum (*Synbranchus marmoratus*) (Siddall, 1995; Davies *et al.*, 2008; Eiras *et al.*, 2012). Recentemente, foi realizada a descrição de *Haemogregarina daviesensis* isolada a partir da piramboia (*Lepidosiren paradoxa*) proveniente do Rio Igarapé Fortaleza, no estado do Amapá (Esteves-Silva *et al.*, 2019). Também foi realizado o primeiro relato da ocorrência de *Hepatozoon* em peixes de vida livre, não sendo encontrado em estágios sanguíneos, porém cistos contendo cistozoítos foram observados no fígado de trairões (*Hoplias aimara*), apresentando 98,7% de identidade com *Hepatozoon caimani* detectado em jacaré-do-pantanal (*Caiman yacare*) (Cardoso *et al.*, 2022).

Em relação às arraias de água doce, foram encontrados hemoparasitos do gênero *Cyrilia* sp. nos estágios de trofozoítos, esquizontes, gamontes imaturos e gamontes nos eritrócitos de *P. aiereba*, *P. motoro* e *Potamotrygon* cf. *histris* da bacia do Rio Negro, AM (Magro, 2013; Magro *et al.*, 2016). A presença de *Haemogregarina* sp. foi relatada em *P. orbignyi* e *P. scorbina* coletadas no Rio Piririm, AP (Brito, 2012). Oliveira *et al.* (2017) registraram a ocorrência de gametócitos de *Cyrilia* sp. deslocando lateralmente o núcleo de eritrócitos de *P. wallacei* coletadas na região do médio Rio Negro e verificaram que a sazonalidade exerceu influência na ocorrência dos hemoparasitos encontrados, sendo a seca dos rios o período de maior susceptibilidade à infestação. Para os elasmobrânquios marinhos foi relatada a presença de *Haemogregarina delagei* no sangue das arraias *Raja brachyura*, *Raja microocellata* e *Raja* spp. (Aragort *et al.*, 2005), *Desseria dasyatis* na arraia *Dasyatis americana* (Siddall, 1995),

Desseria torpedinis na arraia *Torpedo* sp. (Siddall, 1995) e *Desseria harriottae* na quimera *Harriotta raleighana* (Davies *et al.*, 2012).

Além dos parasitos da subordem Adeleorina, também foram relatados hemoparasitos dos gêneros *Coccidia* e *Eimeria* no tubarão *Scyliorhinus canicula* (Xavier *et al.*, 2018), *Trypanosoma humboldti* no tubarão *Schroederichthys chilensis* (Valenzuela *et al.*, 2003), *Trypanosoma giganteum* nas arraias *R. brachyura*, *R. microocellata* e em *Raja* spp. (Aragort *et al.*, 2005), *Trypanosoma haploblephari* nos tubarões *Haploblepharus pictus* e *Haploblepharus edwardsii* (Yeld e Smit, 2006) e *Trypanosoma harriottae* na quimera *H. raleighana* (Davies *et al.*, 2012).

A escassez de informações sobre os hemoparasitos de peixes não diz respeito somente aos estudos de caracterização morfológica, morfométrica e molecular destes parasitos. A avaliação dos efeitos fisiológicos e da severidade das infecções causadas por hemogregarinas em elasmobrânquios de água doce também é escassa. Em ambiente natural, os parasitos geralmente mantêm uma relação não danosa com seus hospedeiros, mas dependendo do nível de infecção parasitária podem ocorrer ajustes fisiológicos compensatórios (Takemoto *et al.*, 2004). Nesse sentido, os parâmetros hematológicos podem ser utilizados como ferramenta complementar às repostas geradas pelo hospedeiro nas infecções parasitárias (Tavares-Dias e Moraes, 2004; Shah *et al.*, 2009).

Em anfíbios, a hemoparasitose desencadeou a eritropoiese, resultando em um aumento no número de eritroblastos no sangue periférico (Gonzalez *et al.*, 2021), enquanto a infecção por *Trypanosoma* sp. elevou a quantidade de eosinófilos e monócitos, estando os eosinófilos associados às infecções parasitárias, enquanto os monócitos são indicadores de inflamação crônica (Delgado *et al.*, 2022). Em quelônios, as hemogregarinas ocasionaram anemia hemolítica (Apache *et al.*, 2023) e a mobilização do sistema imune, com aumento dos leucócitos totais, linfócitos e eosinófilos (Adetunji e Adeyemo, 2020). Em serpentes, os hemoparasitos *Haemogregarina* sp. e *Hepatozoon* sp. afetaram o eritrograma, reduzindo a capacidade carreadora de oxigênio (Caudell *et al.*, 2002). Por outro lado, as infecções causadas por *Hepatozoon* spp. não afetaram os parâmetros hematológicos dos crocodilianos *Crocodylus niloticus* e *Caiman latirostris* (Leslie *et al.*, 2011; Nóbrega *et al.*, 2022) e das serpentes *Ophiophagus hannah* e *Homalopsis buccata* (Salakij *et al.*, 2002a,b). Para as arraias de água doce, as repostas fisiológicas induzidas por infecções hemoparasitárias ainda são desconhecidas, assim como a avaliação hemoparasitária das arraias em ambientes de água branca.

5. REFERÊNCIAS

- ADETUNJI, V. E.; ADEYEMO, O. K. Haematologic and biochemical parameters of Haemogregarine-infected and non-infected African hinge-Back tortoises in Ibadan, Nigeria. *Sahel. Journal of Veterinary Science*, v. 17, n. 4, p. 1-7, 2020.
- ALMEIDA, M. P.; BARTHEM, R. B.; VIANA, A. S.; CHARVET-ALMEIDA, P. Factors affecting the distribution and abundance of freshwater stingrays (Chondrichthyes: Potamotrygonidae) at Marajó Island, mouth of the Amazon River. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, v. 4, n. 1, p. 1-11, 2009.
- ALMEIDA, M. P.; LINS, P. M. O.; CHARVET-ALMEIDA, P.; BARTHEM, R. B. Diet of the freshwater stingray *Potamotrygon motoro* (Chondrichthyes: Potamotrygonidae) on Marajó Island (Pará, Brazil). *Brazilian Journal of Biology*, v. 70, n. 1, p. 155-162, 2010.
- ANDRADE, J. C.; OLIVEIRA, A. T.; AMAZONAS, M. G. F. M.; GALVAN, D.; TESSARO, L.; CONTE-JUNIOR, C. A. Fingerprinting based on spectral reflectance and chemometrics – An analytical approach aimed at combating the illegal trade of stingray meat in the Amazon. *Food Chemistry*, v. 436, 137637, 2024.
- APACHE, J.; RODRÍGUEZ-ALMONACID, C. C.; MORENO-TORRES, C. A.; GAMBOA-SUÁREZ, B. A.; MATTA, N. E. Hemoparasite occurrence and hematological/serum chemistry variations in *Podocnemis vogli* turtles: A comparative analysis between wild-residing infected specimens and captive non-infected counterparts. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, v. 45, p. 100928, 2023.
- ARAGORT, W.; ALVAREZ, M.; LEIRO, J.; SANMARTÍN, M. Blood protozoans in elasmobranchs of the family Rajidae from Galicia (NW Spain). *Diseases of Aquatic Organisms*, v. 65, p. 63-68, 2005.
- ARAÚJO, M. L. G. *Biologia reprodutiva e pesca de Potamotrygon sp. (Chondrichthyes - Potamotrygonidae) no médio Rio Negro, Amazonas*. 1998. 171 f. Dissertação (Mestrado em Biologia de Água Doce e Pesca Interior). Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus. 1998.
- ARAÚJO, M. L. G. *Resultados do Monitoramento da pesca de arraias de água doce utilizadas como peixe ornamental no Rio Tapajós*. Relatório Técnico Nº 01, 2004. 39 p.
- ARAÚJO, M. L. G.; CHARVET-ALMEIDA, P.; ALMEIDA, M. P.; PEREIRA, H. Freshwater stingrays (Potamotrygonidae): status, conservation and management challenges. *Information document AC 20*, v. 8, p. 1-6, 2004.
- ARNOLD, J. E. Hematology of the sandbar shark, *Carcharhinus plumbeus*: standardization of complete blood count techniques for elasmobranchs. *Veterinary Clinical Pathology*, v. 34, p. 115-123, 2005.
- BRINN, R. P.; MARCON, J. L.; GOMES, D. M.; ABREU, L. C.; BALDISSEROTO, B. Stress responses of the endemic freshwater cururu stingray (*Potamotrygon cf. histrix*) during

transportation in the Amazon region of the Rio Negro. *Comparative Biochemistry and Physiology A*, v.162, p. 139-145, 2012.

BRITO, F. M. M. *Variáveis hematológicas, hormonais, bioquímicas séricas e fauna parasitária em quatro espécies de raias do gênero Potamotrygon garman, 1877 (Myliobatiformes, Potamotrygonidae) de vida livre*. 2012. 63 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, São Paulo. 2012.

BRITO, F. M. M.; CLAUDIANO, G. S.; YUNIS, J.; MUNDIM, A. V.; TAVARES-DIAS, M.; VIADANNA, P. H. O.; MORAES, J. R. E.; MORAES, F. R. Hematology, biochemical profile and thyroid hormones of four species of freshwater stingrays of the genus *Potamotrygon*. *Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science*, v. 52, p. 249, 2015.

BUCK, J. C. Indirect effects explain the role of parasites in ecosystems. *Trends in Parasitology*, v. 35, p. 835-847, 2019.

CAIN, D. K.; HARMS, C. A.; SEGARS, A. Plasma biochemistry reference values of wild caught southern stingrays (*Dasyatis americana*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, v. 35, p. 471-476, 2004.

CARDOSO, W. A.; PERLES, L.; PICELLI, A. M.; CORREA, J. K.C.; ANDRÉ, M. R.; VIANA, L. A. *Hepatozoon* parasites (Apicomplexa: Hepatozoidae) in fish *Hoplias aimara* (Characiformes, Erythrinidae) from the Eastern Amazon, Brazil. *Parasitology Research*, v. 121, p. 1041-1046, 2022.

CARRIER, J. C.; PRATT, H. L.; CASTRO, J. I. Reproductive biology of elasmobranchs. In: CARRIER, J. C.; MUSICK, J. A.; HEITHAUS, M. R. (Org.). *Biology of sharks and their relatives*. Boca Raton: CRC Press, 2004. p. 269-286.

CARVALHO, M. R. Neotropical Stingrays: Family Potamotrygonidae. In: LAST, P. R.; NAYLOR, G. J. P.; SÉRET, B.; WHITE, W. T.; STEHMANN, M. F. W.; CARVALHO, M. R. (Org.). *Rays of The World*. New York: Cornell University Press, 2016a. p. 619-655.

CARVALHO, M. R. Description of two extraordinary new species of freshwater stingrays of the genus *Potamotrygon* endemic to the Rio Tapajós basin, Brazil (Chondrichthyes: Potamotrygonidae), with notes on other Tapajós stingrays. *Zootaxa*, v. 4167, p. 1-63, 2016b.

CARVALHO, M. R. *Potamotrygon rex*, a new species of Neotropical freshwater stingray (Chondrichthyes: Potamotrygonidae) from the middle and upper Rio Tocantins, Brazil, closely allied to *Potamotrygon henlei* (Castelnau, 1855). *Zootaxa*, v. 4150, p. 537-565, 2016c.

CARVALHO, M. R.; LOBODA, T. S.; SILVA, J. P. C. B. A new subfamily, Styracurinae and new genus, *Styracura*, for *Himantura schmardae* (Werner, 1904) and *Himantura pacifica* (Beebe & Tee-Van, 1941) (Chondrichthyes: Myliobatiformes). *Zootaxa*, v. 4175, p. 201-221, 2016a.

CARVALHO, M. R.; LOVEJOY, N. Morphology and phylogenetic relationships of a remarkable new genus and two new species of Neotropical freshwater stingrays from the Amazon basin (Chondrichthyes: Potamotrygonidae). *Zootaxa*, v. 2776, p. 13-48, 2011.

CARVALHO, M. R.; LOVEJOY, N. N.; ROSA, R. S. Family Potamotrygonidae (river stingrays). In: REIS, R. E.; KULLANDER, S. O.; FERRARIS JR., C. J. (Org.). *Check List of the Freshwater Fishes of South and Central América*. Porto Alegre: Edipucrs, 2003. p. 22-29.

CARVALHO, M. R.; RAGNO, M. P. An unusual, dwarf new species of Neotropical freshwater stingray, *Plesiotrygon nana* sp. nov., from the upper and mid Amazon basin: the second species of *Plesiotrygon* (Chondrichthyes: Potamotrygonidae). *Papéis Avulsos de Zoologia*, v. 51, n. 7, p. 101-138, 2011.

CARVALHO, M. R.; ROSA, R. S.; ARAÚJO, M. L. G. A new species of Neotropical freshwater stingray (Chondrichthyes: Potamotrygonidae) from the Rio Negro, Amazonas, Brazil: the smallest species of *Potamotrygon*. *Zootaxa*, v. 4107, n. 4, p. 566-586, 2016b.

CAUDELL, J. N.; WHITTIER, J.; CONOVER, M. R. The effects of haemogregarine- like parasites on brown tree snakes (*Boiga irregularis*) and slatey-grey snakes (*Stegonotus cucullatus*) in Queensland, Australia. *International Biodeterioration and Biodegradation*, v. 49, p. 113-119, 2002.

CHARVET-ALMEIDA, P.; ARAUJO, M.G.; ALMEIDA, M. Reproductive aspects of freshwater stingrays (Chondrichthyes: Potamotrygonidae) in the Brazilian Amazon Basin. *Journal Northwest Atlantic Fisheries Science*, v. 35, p. 165-171, 2005.

CITES - Convenção sobre o Comércio Internacional das Espécies Silvestres Ameaçadas de Extinção. Apêndices I, II e III. 2023.

CLAUSS, T. M.; DOVE, A. D. M.; ARNOLD, J. E. Hematologic Disorders of Fish. *Veterinary Clinics Exotic Animal Practice*, v. 11, p. 445-462, 2008.

COOK, C. A.; LAWTON, S. P.; DAVIES, A. J.; SMIT, N. J. Reassignment of the land tortoise haemogregarine *Haemogregarina fitzsimonsi* Dias 1953 (Adeleorina: Haemogregarinidae) to the genus *Hepatozoon* Miller 1908 (Adeleorina: Hepatozoidae) based on parasite morphology, life cycle and phylogenetic analysis of 18S. *Parasitology*, v.13, p. 1-10, 2014.

DAVIES, A. J. The biology of fish Haemogregarines. *Advances in Parasitology*, v. 36, p. 118-202, 1995.

DAVIES A. J.; AMADO, L. L.; COOK, R.; BIANCHINI, A.; EIRAS, J. C. Potential environmental and host gender influences on prevalence of *Haemogregarina platessae* (Adeleorina: Haemogregarinidae) and suspected *Haemohormidium terraenovae* (incertae sedis) in Brazilian flounder from the Patos Lagoon Estuary, Southern Brazil. *Folia Parasitologica*, v. 55, p. 161-170, 2008.

DAVIES, A. J.; HOSEIN, S.; MERRETT, N. R. Haemotozoans from deep water fishes trawled off the Cape Verde Islands and over the Porcupine Seabight, with a revision of species within the genus *Desseria* (Adeleorina: Haemogregarinidae). *Folia Parasitologica*, v. 59, p. 1-11, 2012.

DAVIES, A. J.; JOHNSTON, M. R. L. The biology of some intraerythrocytic parasites of fishes, amphibian and reptiles. *Advances in Parasitology*, v. 45, p. 2-89, 2000.

DAVIES, A. J.; SMIT, N. J. The life cycle of *Haemogregarina bigeima* (Adeleina: Haemogregarineidae) in South African hosts. *Folia Parasitologica*, v.48, p. 169-177, 2001.

DAVIES, A. J.; SMIT, N. J.; HAYES, P. M.; SEDDON, A. M.; WERTHEIM, D. *Haemogregarina bigeima* (Protozoa: Apicomplexa: Adeleorina) – past, present and future. *Folia Parasitologica*, v.51, p. 99-108, 2004.

DELGADO, A. B. I.; ZAVALA-NORZAGARAY, A. A.; ESPINOZA-ROMO, B. A.; ORTEGA-ANAYA, J. G.; LEY-QUIÑONEZ, C. P.; AGUIRRE, A.; RENDÓN-FRANCO, E. Hematologic parameters and the effect of hemoparasites of wild anurans in Northern Sinaloa, Mexico. *Veterinary Clinical Pathology*, v. 52, p. 386-395, 2023.

DESSER, S. S. The Haemogregarinidae and Lankesterellidae. In: KREIER, J. P. (Ed.). *Parasitic protozoa*, New York: Academic Press, p. 247-272. 1993.

DUNCAN, W. P. Ecofisiologia das raias de água doce (Potamotrygonidae): mecanismos de interação organismo-ambiente. In: LASSO, C. A.; ROSA, R. S.; MORALES-BETANCOURT, M. A.; GARRONE-NETO, D.; CARVALHO, M. R. (Org.). *XV. Rayas de agua dulce (Potamotrygonidae) de Suramérica. Parte II: Colombia, Brasil, Perú, Bolivia, Paraguay, Uruguay y Argentina*. Colombia: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, 2016. p. 45-66.

DUNCAN, W. P.; COSTA, O. T. F.; ARAÚJO, M. L. G.; FERNANDES, M. N. Ionic regulation and Na⁺-K⁺-ATPase activity in gills and kidney of the freshwater *Paratrygon aiereba* living in white and blackwaters in the Amazon Basin. *Journal of Fish Biology*, v. 74, p. 956-960, 2009.

DUNCAN, W. P.; COSTA, O. T. F.; SAKURAGUI, M. M.; FERNANDES, M. N. Functional morphology of the Gill in Amazonian freshwater stingrays (Chondrichthyes: Potamotrygonidae): implications for adaptation to freshwater. *Physiological and Biochemistry Zoology*, v. 83, p. 19-32, 2010.

DUNCAN, W. P.; FERNANDES, M. N. Physicochemical characterization of the White, Black, and clearwater Rivers of the Amazon Basin and its implications on the distribution of freshwater stingrays (Chondrichthyes, Potamotrygonidae). *PanAmerican Journal of Aquatic Sciences*, v. 5, p. 454-464, 2010.

DUNCAN, W. P.; INOMATA, S.; FERNANDES, M. N. Comércio de raias de água doce na região do médio Rio Negro, Estado do Amazonas, Brasil. *Revista Brasileira de Engenharia de Pesca*, v. 5., p. 13-22, 2010b.

DUNCAN, W. P.; MACHADO, R. N.; FERNANDES, M. N. Environmentally-induced osmoregulation in Neotropical freshwater stingrays (Myliobatiformes: Potamotrygoninae) after controlling for phylogeny. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, v. 262, p. 111076, 2021.

EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M.; PAVANELLI, G. C.; LUQUE, J. L. Checklist of protozoan parasites of fishes from Brazil. *Zootaxa*, v. 3221, p. 1-25, 2012.

ESTEVEZ-SILVA, P. H.; SILVA, M. R. L.; O'DWYER, L. H.; TAVARES-DIAS, M.; VIANA, L. A. *Haemogregarina daviesensis* sp. nov. (Apicomplexa: Haemogregarinidae) from South American lungfish *Lepidosiren paradoxa* (Sarcopterygii: Lepidosirenidae) in the eastern Amazon region. *Parasitology Research*, v. 118, p. 2773-2779, 2019.

FONTENELLE, J. P.; CARVALHO, M. R. Systematic revision of the *Potamotrygon scobina* Garman, 1913 species-complex (Chondrichthyes: Myliobatiformes: Potamotrygonidae), with the description of three new freshwater stingray species from Brazil and comments on their distribution and biogeography. *Zootaxa*, v. 4310, n. 1, p. 1-63, 2017.

GAMA, C. S. Parasitas de raias de água doce (Potamotrygonidae): estado atual do conhecimento e lista de espécies. In: LASSO, C. A.; ROSA, R.; MORALES-BETANCOURT, M. A.; GARRONE-NETO, D.; CARVALHO, M. R. (Org.). XV. *Rayas de agua dulce (Potamotrygonidae) de Suramérica. Parte II: Colombia, Brasil, Perú, Bolivia, Paraguay, Uruguay y Argentina*. Colombia: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, 2016. p.67-82.

GAMA, C. S.; ROSA, R. S. Uso de recursos e dieta das raias de água doce (Chondrichthyes, Potamotrygonidae) da Reserva Biológica do Parazinho, AP. *Biota Amazônia*, v. 5, n. 1, p. 90-98, 2015.

GARRONE NETO, D. Considerações sobre a reprodução de duas espécies de raias (Myliobatiformes, Potamotrygonidae) na região do Alto Rio Paraná, Sudeste do Brasil. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, v. 5, n. 1, p. 101-111, 2010.

GOERTZ, C. E. C. Protozoal Diseases of Elasmobranchs. In: SMITH, M.; WARMOLTS, D.; THONEY, D.; HUETER, R. (Org.). *The Elasmobranch Husbandry Manual: Captive Care of Sharks, Rays and their Relatives*. Ohio: Special Publication of the Ohio Biological Survey, 2004. p. 417-426.

GONZALEZ, L. P.; VARGAS-LEON, C. M.; FUENTES-RODRÍGUEZ, G. A.; CALDERON-ESPINOSA, M. L.; MATTA, N. E. Do blood parasites increase immature erythrocytes and mitosis in amphibians? *Revista de Biología Tropical*, v. 69, n.2, p. 615-624, 2021.

GREENE, W.; BROOKSHIRE, G.; DELAUNE, A. J. Hematologic and biochemical summary statistics in aquarium-housed spotted eagle rays (*Aetobatus narinari*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, v. 49, n. 4, p. 912-924, 2018.

GRIFFITH, R. W.; PANG, P. K. T.; SRIVASTAVA, A. K.; PICKFORD, G. E. Serum composition of freshwater stingrays (Potamotrygonidae) adapted to fresh and diluted sea water. *Biology Bulletin*, v. 144, p. 304-320, 1973.

HAYES, P. M.; SMIT, N. J. Molecular insights into the identification and phylogenetics of the cosmopolitan marine fish blood parasite, *Haemogregarina bigemina* (Adeleorina: Haemogregarinidae). *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, v. 8, p. 216-220, 2019.

IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. 2006. Instrução Normativa Nº. 118/2006.

IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. 2008. Instrução Normativa N°. 204/2008.

KADLEC, D.; SIMKOVÁ, A.; JARKOVSKÝ, J.; GELNAR, M. Parasite communities of freshwater fish under flood conditions. *Parasitology Research*, v. 89, n. 2, p. 272-283, 2003.

LAINSON, R. On *Cirilia gomesi* (Neiva e Pinto, 1926) gen. nov. (Haemogregarinidae) and *Trypanossoma bourouli* Neiva e Pinto, in the fish *Synbranchus marmoratus*: Simultaneous transmission by the leech *Haementeria lutzi*. In: Canning, E.U. Parasitological Topics Special publication. Society of Protozoologists, p. 150-158, 1981.

LAINSON, R. A protozoologist in Amazonia: neglected parasites, with particular reference to members of the Coccidia (Protozoa: Apicomplexa). *Journal of the Brazilian Association for the Advancement of Science*, v. 44, p. 81-93, 1992.

LAMEIRAS, J. L. V.; COSTA, O. T. F.; DOS-SANTOS, M. C.; DUNCAN, W. L. P. Arraias de água doce (Chondrichthyes – Potamotrygonidae): biologia, veneno e acidentes. *Scientia Amazonia*, v. 2, n. 3, p. 11-27, 2013.

LASSO, C. A.; ROSA, R.; SÁNCHEZ-DUARTE, P.; MORALES-BETANCOURT, M. A.; AGUDELO-CÓRDOBA, E. Rayas de agua dulce (Potamotrygonidae) de Suramérica. Parte I. Colombia, Venezuela, Ecuador, Perú, Brasil, Guyana, Surinam y Guayana Francesa: diversidad, bioecología, uso y conservación. Bogotá: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, 2013. 368p.

LASSO, C. A.; ROSA, R.; MORALES-BETANCOURT, M. A.; GARRONE-NETO, D.; CARVALHO, M. Rayas de agua dulce (Potamotrygonidae) de Suramérica. Parte II: Colombia, Brasil, Perú, Bolivia, Paraguay, Uruguay y Argentina. Bogotá: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, 2016. 435p.

LESLIE, A. J.; LOVELY, C. J.; PITTMAN, J. M. A preliminary disease survey in the wild Nile crocodile (*Crocodylus niloticus*) population in the Okavango Delta, Botswana. *Journal of the South African Veterinary Association*, v. 82, n. 3, p. 155-159, 2011.

LOBODA, T. S.; CARVALHO, M. R. Systematic revision of the *Potamotrygon motoro* (Müller & Henle, 1841) species complex in the Paraná-Paraguay basin, with description of two new ocellated species (Chondrichthyes: Myliobatiformes: Potamotrygonidae). *Neotropical Ichthyology*, v. 11, n. 4. p. 693-737, 2013.

LOBODA, T. S.; LASSO, C. A.; ROSA, R. S.; CARVALHO, M. R. Two new species of freshwater stingrays of the genus *Paratrygon* (Chondrichthyes: Potamotrygonidae) from the Orinoco basin, with comments on the taxonomy of *Paratrygon aiereba*. *Neotropical Ichthyology*, v.19, n.2, e200083, 2021.

LUCIFORA, L. O.; BALBONI, L.; SCARABOTTI, P. A.; ALONSO, F. A.; SABADIN, D. E.; SOLARI, A.; VARGAS, F.; BARBINI, S. A.; MABRAGAÑA, E.; DÍAZ, J. M. A. Decline or stability of obligate freshwater elasmobranchs following high fishing pressure. *Biological Conservation*, v. 210, p. 293-298, 2017.

MAGRO, N. M. *Prevalência de Hemogregarina em Arraias de Água Doce (Potamotrygonidae) da Região Norte, com descrição de uma nova espécie do Gênero Cyrilia*. 2013. 69 f. Dissertação (Mestrado em Biologia de Parasitas e Microorganismos) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu. 2013.

MAGRO, N. M.; OLIVEIRA, A. T.; O'DWYER, L. H. First report and description of a *Cyrilia* sp. (Apicomplexa: Haemogregarinidae) from a freshwater cururu stingray *Potamotrygon cf. hystrix* (Elasmobranchii: Potamotrygonidae), from the Amazon Region, Brazil. *Journal of Fish Diseases*, v. 39, p. 907-911, 2016.

MMA – Ministério do Meio Ambiente. (2022). Portaria Nº 148, de 7 de junho de 2022.

MORO, G.; CHARVET, P.; ROSA, R. S. Aspectos da alimentação da raia de água doce *Potamotrygon orbignyi* (Chondrichthyes: Potamotrygonidae) da bacia do rio Parnaíba, nordeste do Brasil. *Revista Nordestina de Biologia*, v. 20, p. 47-57, 2011.

MORSY, K.; BASHTAR, A. R.; GHAFAR, F. A.; AL QURAI SHY, S.; AL HASHIMI, S.; AL GHAMDI, S.; SHAZLY, M. Developmental stages of *Hepatozoon seurati* (Laveran and Pettit 1911) comb. nov., a parasite of the corned viper *Cerastes cerastes* and the mosquito *Culex pipiens* from Egypt. *Parasitology Research*, v.112, p. 2533-2542, 2013.

NÓBREGA, Y. C.; MACHADO, Y.; CURBANI, F.; NOSSA, D. N.; ACOSTA, I. C.; FERREIRA, R. B.; SANTOS, M. R. D.; MENEZES, P. Q.; SILVA, T. T.; SRBEK-ARAUJO, A. C. Prevalence of haemogregarines and their effects on erythrocytic parameters in wild and captive *Caiman latirostris* (Crocodylia: Alligatoridae) in southeastern Brazil. *Herpetology*, v. 15, p. 657-662, 2022.

O'DONOGHUE, P. Haemoprotozoa: making biological sense of molecular phylogenies. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, v. 6, p. 241-256, 2017.

OLIVEIRA, A. T. *Caracterização hematológica de Potamotrygon cf. hystrix: subsídios ao manejo e conservação da espécie*. 2008. 99 f. Dissertação (Mestrado em Diversidade Biológica) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus. 2008.

OLIVEIRA, A. T.; ARAÚJO, M. L. G.; LEMOS, J. R. G.; SANTOS, M. Q. C.; PANTOJA-LIMA, J.; ARIDE, P. H. R.; TAVARES-DIAS, M.; MARCON, J. L. Ecophysiological interactions and water-related physicochemical parameters among freshwater stingrays. *Brazilian Journal of Biology*, v. 77, p. 616-621, 2016b.

OLIVEIRA, A. T.; ARAÚJO, M. L. G.; PANTOJA-LIMA, J.; ARIDE, P. H. R.; TAVARES-DIAS, M.; BRINN, R. P.; MARCON, J. L. *Cyrilia* sp. (Apicomplexa: Haemogregarinidae) in the Amazonian freshwater stingray *Potamotrygon wallacei* (cururu stingray) in different hydrological phases of the Rio Negro. *Brazilian Journal Of Biology*, v. 77, p. 413-416, 2017.

OLIVEIRA, A. T.; LIMA, E. C.; PAES, L. S.; SANTOS, S. M.; ARAÚJO, R. L.; PANTOJA-LIMA, J.; ARIDE, P. H. R. Relações entre as populações naturais de arraias de água doce (Myliobatiformes: Potamotrygonidae) e pescadores do baixo rio Juruá, Amazonas, Brasil. *Biota Amazônia*, v. 5, n. 3, p. 108-111, 2015a.

OLIVEIRA, A. T.; PANTOJA-LIMA, J.; ARIDE, P. H. R.; TAVARES-DIAS, M.; MARCON, J. L. Fisiologia de arraias de água doce: subsídios para aplicabilidade na aquicultura. In: TAVARES-DIAS, M.; MARIANO, W. S. (Eds). Aquicultura no Brasil: novas perspectivas. São Carlos: Pedro & João, v. 1, 2015b. p. 45-74.

OLIVEIRA, A. T.; SANTOS, M. Q. C.; ARAUJO, M. L. G.; LEMOS, J. R. G.; SALES, R. S. A.; PANTOJA-LIMA, J.; TAVARES-DIAS, M.; MARCON, J. L. Hematological parameters of three freshwater stingray species (Chondrichthyes: Potamotrygonidae) in the middle Rio Negro, Amazonas state. *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 69, p. 33-40, 2016a.

PAVANELLI, G. C.; EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M. *Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento*. 3. ed. Maringá: EDUEM, 2008. 311 p.

PÉREZ-ROJAS, J. G.; MEJÍA-FALLA, P. A.; NAVIA, A. F.; TARAZONA, A. M.; PARDO-CARRASCO, S. C. Hematology and blood biochemistry profile of the freshwater stingray *Potamotrygon magdalenae* as a tool for population assessment in artificial environments. *Brazilian Journal of Biology*, v. 82, p. e233780, 2022.

PHILLIPS, B. E.; CHRISTIANSEN, E. F.; STOSKOPF, M. K.; BROADHURST, H.; GEORGE, R.; HARMS, C. A. Comparison of hematology, plasma biochemistry, and blood gas variables between 2 venipuncture sites in Southern Stingrays (*Dasyatis americana*). *Veterinary Clinical Pathology*, v. 45, n. 4, p. 627-633, 2016.

PRANG, G. An industry analysis of the freshwater ornamental fishery with particular reference to the supply of Brazilian freshwater ornamentals to the UK market. *Uakari*, v. 3, n. 1, p. 7-51, 2008.

PRONINA, G. I.; ORLOV, A. M.; MEINTSER, I.V.; MAMYKINA, G. A. Components of Blood and Blood Cytochemical and Biochemical Characteristics of Three Cartilaginous Fish Species in Orders Orectolobiformes and Myliobatiformes. *Journal of Ichthyology*, v. 62, p. 1352-1360, 2022.

RINCON-FILHO, G. 2006. *Aspectos taxonômicos, alimentação, e reprodução da raia de água doce Potamotrygon orbignyi (Castelnau) (Elasmobranchii: Potamotrygonidae) no rio Paranã-Tocantins*. 2006. 132 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Rio Claro. 2006.

ROSA, R. S.; CASTELLO, H. P.; THORSON, T. B. *Plesiotrygon iwamae*, a new genus and species of Neotropical freshwater stingray (Chondrichthyes: Potamotrygonidae). *Copeia*, v. 2, p. 447-458, 1987.

ROSA, R. S.; CHARVET-ALMEIDA, P.; QUIJADA, C. C. D. Biology of the South American Potamotrygonid stingray. In: CARRIER, J. C.; MUSICK, J. A.; HEITHAUS, M. R. (Org.). *Biology of shark and their relatives: Biodiversity, adaptive physiology, and conservation*. Nova York: CRC Press, 2010. p. 241-281.

SALAKIJ, C.; SALAKIJ, J.; APIBAL, S.; NARKKONG, N. A.; CHANHOME, L. N. R. Hematology, morphology, cytochemical staining, and ultrastructural characteristics of blood cells in king cobras (*Ophiophagus hannah*). *Veterinary Clinical Pathology*, v. 31, n. 3, p. 116-126, 2002a.

- SALAKIJ, C.; SALAKIJ, J.; SUTHUNMAPINUNTA, P.; CHANHOMME, L. Hematology, morphology and ultrastructure of blood cells and blood parasites from Puff-faced watersnakes (*Homalopsis buccata*). *Kasetsart Journal of Social Sciences*, v. 36, n. 1, p. 35-43, 2002b.
- SHAH, A. W.; PARVEEN, M.; MIR, S. H.; SARWAR, S. G.; YOUSUF, A. R. Impact of helminth parasitism on fish hematology of Anchar Lake, Kashmir. *Pakistan Journal of Nutrition*, v. 8, p. 42-45, 2009.
- SHIBUYA, A. A review of the ecological role of the Neotropical freshwater stingrays (Chondrichthyes: Potamotrygoninae). *Food Webs*, v. 32, e00244, 2022.
- SHIBUYA, A.; ARAÚJO, M. L. G.; ZUANON, J. Analysis of stomach contents of freshwater stingrays (Elasmobranchii: Potamotrygonidae) from the middle Negro River, Amazonas, Brazil. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, v. 4, n. 4, p. 466- 465, 2009.
- SIDDALL, M. E. Phylogeny of adeleid blood parasites with a partial systematic revision of the haemogregarina complex. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, v. 42, p. 116-125, 1995.
- SILVA, J. P. C. B.; LOBODA, T. S. *Potamotrygon marquesi*, a new species of neotropical freshwater stingray (Potamotrygonidae) from the Brazilian Amazon Basin. *Journal of Fish Biology*, v. 95, p. 594-612, 2019.
- SMIT, N. J.; GRUTTER, A. S.; ADLARD, R. D.; DAVIES, A. J. Hematozoa of teleosts from Lizard Island, Australia, with some comments on their possible mode of transmission and the description of a new hemogregarine species. *The Journal of Parasitology*, v. 92, p. 778-788, 2006.
- SMITH, T.G.; WALLIKER, D.; RANFORD-CARTWRIGHT, L. C. Sexual differentiation and sex determination in the Apicomplexa. *Trends in Parasitology*, v. 18, p. 315-323, 2002.
- SOUZA, A. C. F.; GAMA, C. S.; COSTA, J. F.; COSTA, A. L. P.; VIANA, D. C. Parasitic indices of *Brevimulticaecum* sp. (Nematoda: Heterocheilidae) in *Potamotrygon motoro* (Chondrichthyes: Potamotrygonidae) captured in the Archipelago of Bailique, Macapá. *Ensaio e Ciência*, v. 24, p. 511-515, 2020.
- TAKEMOTO, R. M.; LIZAMA, M. A. P.; GUIDELLI, G. M.; PAVANELLI, G. C. Parasitas de peixes de águas continentais. In: RANZANI-PAIVA, M. J. T.; TAKEMOTO, R. M.; LIZAMA, M. A. P. (Org.). *Sanidade de Organismos Aquáticos*. São Paulo: Editora Varela, 2004. p. 179-197.
- TAVARES-DIAS, M.; LEMOS, J. R. G.; MARTINS, M. L.; JERONIMO, G. T. Metazoan and protozoan parasites of freshwater ornamental fish from Brazil. In: TAVARES-DIAS, M. (Org.). *Manejo e Sanidade de Peixes em Cultivo*. Macapá: Embrapa Amapá, 2009. p. 469-494.
- TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F. R. *Hematologia de peixes teleósteos*. Ribeirão Preto: Villimpress, 2004. 144 p.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F. R. Leukocyte and thrombocyte reference values for channel catfish (*Ictalurus punctatus* Raf), with an assessment of morphologic, cytochemical and ultrastructural features. *Veterinary Clinical Pathology*, v. 36, p. 49-54, 2007.

TAVARES-DIAS, M.; OLIVEIRA, S. R. A review of the blood coagulation system of fish. *Brazilian Journal of Biosciences*, v. 7, p. 205-224, 2009.

THORSON, T. B.; WOOTON, R. M.; GEORGI, T. A. Rectal gland of freshwater stingrays, *Potamotrygon* spp. (Chondrichthyes: Potamotrygonidae). *Biology Bulletin*, v. 154, p. 508-516, 1978.

TREBERG, J. R.; SPEERS-ROESCH, B.; PIERMARINI, P. M.; IP, Y. K.; BALLANTYNE, J. S.; DRIEDZIC, W. R. The accumulation of methylamine counteracting solutes in elasmobranchs with differing levels of urea: a comparison of marine and freshwater species. *Journal of Experimental Biology*, v. 209, n. 5, p. 860-870, 2006.

ÚNGARI, L. P.; NETHERLANDS, E. C.; QUAGLIATTO SANTOS, A. L.; ALCANTARA, E. P.; EMMERICH, E.; DA SILVA, R. J.; O'DWYER, L. H. A new species, *Dactylosoma piperis* n. sp. (Apicomplexa, Dactylosomatidae), from the pepper frog *Leptodactylus labyrinthicus* (Anura, Leptodactylidae) from Mato Grosso State, Brazil. *Parasite*, v. 27, p. 73, 2020.

ÚNGARI, L. P.; SANTOS, A. L.; O'DWYER, L. H.; SILVA, M. R. L.; MELO FAVA, N. N.; PAIVA, G. C. M.; PINTO, R.; CURY, M. C. *Haemogregarina podocnemis* sp. nov.: description of a new species of *Haemogregarina* Danilewsky 1885 (Adeleina: Haemogregarinidae) in free-living and captive yellow-spotted river turtles *Podocnemis unifilis* (Testudines: Podocnemididae) from Brazil. *Parasitology Research*, v. 117, p. 1535-1548, 2018.

VALENZUELA, A.; OYARZÚN, C.; SILVA, V. Células sanguíneas de *Schroederichthys chilensis* (Guichenot 1848) (Elasmobranchii, Scyliorhinidae): La serie blanca. *Gayana*, v. 67, p. 130-137, 2003.

VALKIUNAS, G. *Avian malaria parasites and other haemosporidea*. Boca Raton: CRC Press, 2005. 946 p.

VOTYPKA, J.; MODRY, D.; OBORNIK, M.; SLAPETA, J.; LUKES, J. Apicomplexa. In: ARCHIBALD, J. M.; SIMPSON, A. G. B.; SLIVOVITZ, C. H. (Eds). *Handbook of the Protists*. Switzerland: Springer, 2017. p. 567-634.

WILHELM-FILHO, D.; EBLE, G. J.; KASSNER, G.; CAPRARIO, F. X.; DAFRET, A. L.; OHIRA, M. Comparative Hematology in Marine Fish. *Comparative Biochemistry and Physiology*, v. 102, p. 311-321, 1992.

WOOD, C. M.; MATSUO, A. Y. O.; GONZALEZ, R. J.; WILSON, R. W.; PATRICK, M. L.; VAL, A. L. Mechanisms of ion transport in *Potamotrygon*, a stenohaline freshwater elasmobranch native to the ion-poor blackwaters of the Rio Negro. *The Journal of Experimental Biology*, v. 205, p. 3039-3054, 2002.

WOZNIAK, E. J.; MCLAUGHLIN, G. L.; TELFORD, S. R. Description of the vertebrate stages of a hemogregarine species naturally infecting Mojave Desert Sidewinders (*Crotalus cerastes cerastes*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, v. 25, n. 1, p. 103-110, 1994.

XAVIER, R.; SEVERINO, R.; PÉREZ-LOSADA, M.; GESTAL, C.; FREITAS, R.; HARRIS, D.J.; VERÍSSIMO, A.; ROSADO, D.; CABLE, J. Phylogenetic analysis of apicomplexan parasites infecting commercially valuable species from the North-East Atlantic reveals high levels of diversity and insights into the evolution of the group. *Parasites & Vectors*, v. 11, p. 1-12, 2018.

YELD, E.; SMIT, N. J. A new species of *Trypanosoma* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) infecting catsharks from South Africa. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, v. 86, p. 829-833, 2006.

CAPÍTULO I

PERFIL HEMATOLÓGICO E BIOQUÍMICO PLASMÁTICO DE DUAS ESPÉCIES DE ARRAIAS DE ÁGUA DOCE (CHONDRICHTHYES: POTAMOTRYGONINAE) DO BAIXO RIO SOLIMÕES, AMAZONAS

Marcio Quara de Carvalho Santos^{1,2}, Flávia Dayane Felix Farias¹, Paulo Henrique Rocha Aride³, Adriano Teixeira de Oliveira^{1,3}

¹Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros (PPG-CARP), Universidade Federal do Amazonas (UFAM), AM, Brasil. Avenida Rodrigo Otávio, 6200 – Coroado, CEP: 69080-900. Manaus, Amazonas.

²Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas (IFAM), Campus Coari, AM, Brasil. Estrada Coari Itapéua, s/n – Itamarati, CEP: 69460-000. Coari, Amazonas.

³Laboratório de Morfofisiologia Animal, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas (IFAM), Campus Manaus Centro, AM, Brasil. Avenida Sete de Setembro, 1975 – Centro, CEP: 69020-120. Manaus, Amazonas.

RESUMO: A avaliação dos parâmetros hematológicos e bioquímicos plasmáticos, e o subsequente estabelecimento de intervalos de referência, pode facilitar o diagnóstico do estado de saúde dos animais e contribuir para a produção animal, manejo e conservação de populações naturais. O objetivo deste estudo foi determinar os parâmetros sanguíneos de espécimes selvagens das arraias *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbignyi* provenientes da região do baixo Rio Solimões, estado do Amazonas, Brasil, estabelecendo valores sanguíneos de referência para ambas as espécies. Foram capturadas 141 arraias, sendo 92 de *P. motoro* e 49 de *P. orbignyi*, de ambos os sexos e em diferentes fases de desenvolvimento (neonatos e juvenis). Os parâmetros hematológicos e bioquímicos plasmáticos foram determinados de acordo com metodologias preconizadas na literatura. Não foi observado efeito do sexo sobre os parâmetros hematológicos dos animais juvenis para ambas as espécies. Os neonatos de *P. motoro* apresentaram parâmetros hematológicos diferentes dos indivíduos juvenis, com valores menores para hematócrito, hemoglobina, número de eritrócitos, concentração de hemoglobina corpuscular média, número de monócitos, níveis de glicose plasmática, proteínas totais, albumina e globulina. Em contrapartida, os níveis de colesterol total e ureia foram significativamente superiores nos neonatos em comparação aos juvenis da mesma espécie. A

comparação entre as espécies revelou valores inferiores de triglicerídeos e colesterol total em *P. orbignyi* de ambos os sexos. Em função da ausência de efeito do sexo, os dados de machos e fêmeas de cada espécie foram agrupados para o estabelecimento de intervalos hematológicos de referência com maior robustez. Estes resultados são os primeiros para essas espécies amazônicas em ambientes de água branca e servirão de base para a avaliação do estado de saúde de arraiais de ambiente natural, podendo ser utilizados para a identificação de distúrbios hematológicos e acompanhamento das adaptações fisiológicas desses animais em situações de alterações ambientais.

Palavras-chave: elasmobrânquios, hemograma, leucograma, ornamentais, saúde animal.

1. INTRODUÇÃO

As arraiais da subfamília Potamotrygoninae representam o único táxon dentro da Classe Chondrichthyes composto por elasmobrânquios exclusivamente dulciaquícolas e restritos às águas continentais da América do Sul (Carvalho, 2016; Carvalho *et al.*, 2016). Em função da elevada diversidade e dos padrões complexos de policromatismo, estes organismos têm apresentado um elevado potencial para a aquariofilia, sendo de alto interesse por países como Estados Unidos, Japão, Taiwan e Alemanha (Lasso *et al.*, 2016). Além disso, as arraiais também vêm sendo utilizadas como fonte alimentar (Duncan *et al.*, 2010), tendo sido realizado investigações sobre a análise de risco de consumo na avaliação de mercúrio (Oliveira *et al.*, 2023) e a detecção de fraudes na comercialização de arraiais de água doce, na qual são tradicionalmente comercializadas como sendo do gênero *Potamotrygon*, porém se trata de *Paratrygon aiereba* (Andrade *et al.*, 2024), que é uma espécie criticamente ameaçada (MMA, 2022).

Dentre as espécies de arraiais de água doce, *Potamotrygon motoro* (Müller & Henle, 1841) e *Potamotrygon orbignyi* (Castelnau, 1855) se destacam dos seus congêneres por apresentar ampla distribuição, ocorrendo desde a bacia do Rio Orinoco, na Venezuela, passando pela bacia Amazônica, no Brasil, até a bacia do Prata, na Argentina/Uruguai (Lasso *et al.*, 2016). Os indivíduos de menor porte (largura de disco < 30 cm) de ambas as espécies possuem um elevado interesse para fins ornamental, podendo ser exportados pelo Brasil para a aquariofilia (IBAMA, 2008), enquanto os animais de maior porte são utilizados para fins de consumo alimentar (Duncan *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2023; Andrade *et al.*, 2024).

Apesar de serem um importante componente da biodiversidade Amazônica e de relevância econômica para o comércio, as arraiais de água doce ainda são pouco conhecidas sob

os aspectos biológicos, sendo escassos os estudos que fortalecem o entendimento de seus aspectos fisiológicos em habitat natural (Oliveira *et al.*, 2015; 2016; 2017). Fatores como a dificuldade de captura e a presença de ferrão na cauda, o qual confere riscos de acidentes durante o manuseio do animal, contribuem para a escassez de estudos sobre a fisiologia dessas espécies de arraias, principalmente em relação aos parâmetros hematológicos, que são muito reduzidos em comparação aos elasmobrânquios marinhos e, principalmente, aos teleósteos (Brinn *et al.*, 2012; Brito *et al.*, 2015; Oliveira *et al.*, 2015; 2016; Santos *et al.*, 2020; Pérez-Rojas *et al.*, 2022).

A hematologia é uma ferramenta tradicionalmente utilizada para monitorar o estado de higidez de um indivíduo ou população, no entanto, também pode ser útil para avaliar o estado de saúde de populações de elasmobrânquios, pois, modificações ambientais geralmente resultam em alterações sanguíneas detectáveis (Semeniuk *et al.*, 2009; Oliveira *et al.*, 2016; Santos *et al.*, 2020). A caracterização do estado de saúde é muitas vezes baseada na avaliação dos constituintes sanguíneos, utilizando valores de referência do hemograma, leucograma e bioquímica plasmática, no entanto, existem várias espécies de arraias para as quais esses intervalos de referência são escassos ou desconhecidos (Pronina *et al.*, 2022). São diversos os fatores que podem interferir nos parâmetros hematológicos tornando difícil o estabelecimento do intervalo sanguíneo de referência para uma determinada espécie. Além dos fatores endógenos tais como sexo, tamanho e fase de desenvolvimento, e fatores exógenos tais como propriedades físico-químicas da água, habitat e hábito alimentar, também podem influenciar as propriedades hematológicas desses organismos aquáticos (Oliveira *et al.*, 2016; Oliveira *et al.*, 2017; Oliveira *et al.*, 2015; Pérez-Rojas *et al.*, 2022). A grande variação intra e interespecífica e a interferência das variáveis ambientais nos parâmetros sanguíneos das arraias impossibilitam a extrapolação dos dados da literatura para as demais espécies da subfamília Potamotrygoninae (Brito *et al.*, 2015; Oliveira *et al.*, 2016).

Além disso, os estudos da literatura com arraias de água doce em ambiente natural foram realizados majoritariamente em ambientes de água preta na bacia do Rio Negro, estado do Amazonas (Wood *et al.*, 2002; Duncan *et al.*, 2009; Duncan e Fernandes, 2010; Duncan *et al.*, 2010; Brinn *et al.*, 2012; Brito *et al.*, 2015; Oliveira *et al.*, 2016; Oliveira *et al.*, 2017; Lima *et al.*, 2021; Morales-Gamba *et al.*, 2021), não havendo, até o momento, estudos sobre a determinação de intervalos hematológicos de referência para arraias provenientes de ambientes de água branca na bacia hidrográfica Amazônica.

Com intuito de aumentar o conhecimento sobre a biologia de espécies da subfamília Potamotrygoninae, este estudo teve como objetivo comparar os parâmetros sanguíneos de *P.*

motoro e *P. orbignyi* de ambos os sexos e em diferentes fases do desenvolvimento, bem como estabelecer intervalos de referência para ambas as espécies de ambientes de água branca da região do baixo Rio Solimões, estado do Amazonas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Ética animal

As espécies *P. motoro* e *P. orbignyi* utilizadas neste estudo não estão listadas no Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio). Os animais foram coletados sob licença de captura de animais silvestres para atividades com finalidades científicas emitida pelo ICMBio (Autorização SISBIO/ICMBio: 41350-6) e todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas (2019/010.02.0905), de acordo com as diretrizes do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

2.2. Área de estudo e captura dos animais

As arraias *P. motoro* e *P. orbignyi* foram coletadas em praias de água branca na região do baixo Rio Solimões, no entorno dos municípios de Manaquiri, Manacapuru e Iranduba, no estado do Amazonas, Brasil (Figura 1). As capturas ocorreram durante o período de setembro de 2022 a fevereiro de 2023 nas três localidades, o que compreende o fim da vazante, seca e início da enchente. Em Manaquiri, foi realizada uma coleta adicional em maio de 2022, o que compreende o período de cheia. No total, foram capturadas 141 arraias, sendo 92 espécimes de *P. motoro* e 49 espécimes de *P. orbignyi*, de ambos os sexos e em diferentes fases de desenvolvimento. Ambas as espécies foram encontradas compartilhando o mesmo habitat. As coletas ocorreram no período noturno, sendo os juvenis capturados com auxílio de rede de arrasto, enquanto os neonatos foram capturados com auxílio de rede de mão (rapiché). Foram usadas redes de arrasto medindo 100x5m e malha de 35mm entre nós opostos. Cada ponto amostral foi constituído por dois arrastos consecutivos ao longo de praias de areia das três localidades. Imediatamente após a captura, as arraias foram anestesiadas com solução de benzocaína (1:20,000) para a obtenção das amostras sanguíneas. A identificação das espécies arraias capturadas foi realizada segundo as recomendações de Rosa e Carvalho (2016) e Lasso *et al.* (2016).

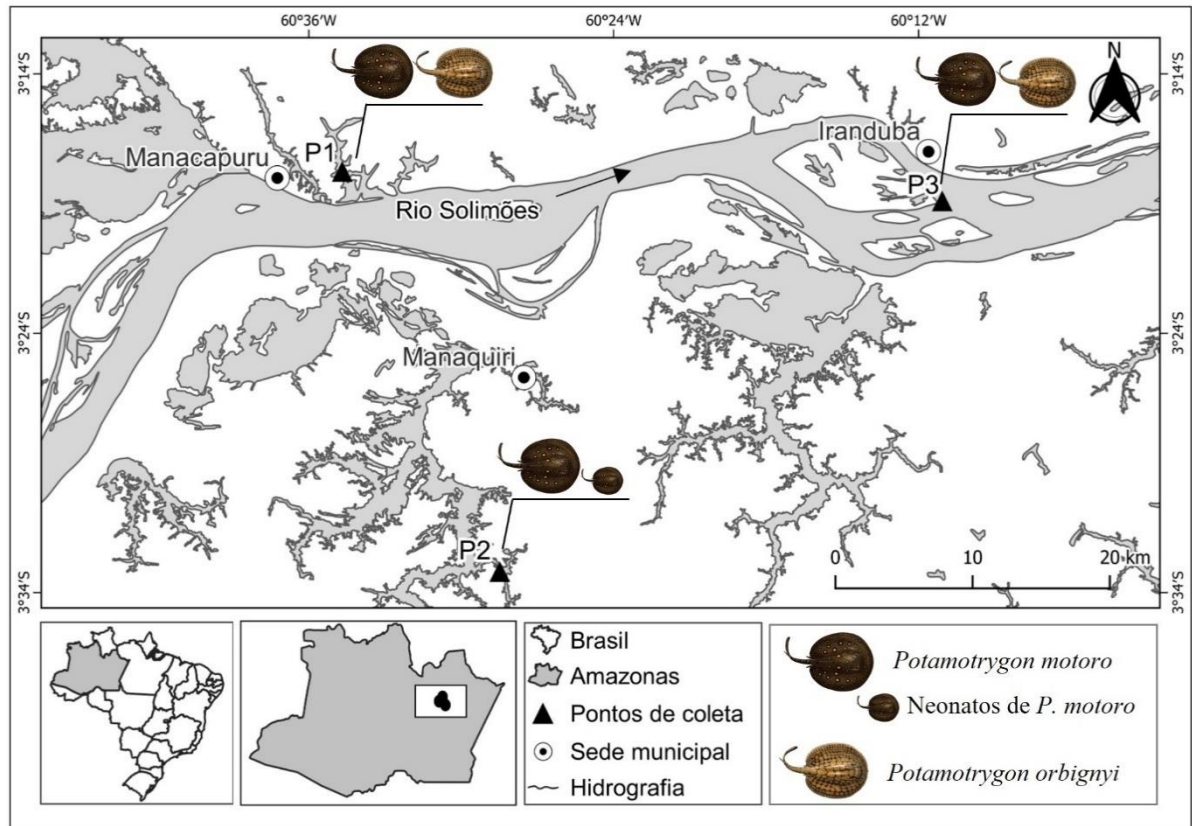


Figura 1. Localização geográfica dos municípios de Manacapuru, Manaquiri e Iraduba, região do baixo Rio Solimões, estado do Amazonas, Brasil, com indicação dos pontos de coleta de *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbignyi*. As imagens das arraias indicam as espécies.

2.3. Coleta sanguínea, biometria e classificação dos animais

Os procedimentos de manuseio e coleta sanguínea seguiram as recomendações de Oliveira *et al.* (2012), sendo a amostra de sangue obtida através da punção da artéria branquial utilizando seringas contendo anticoagulante o EDTA 10%. O eritograma e as extensões sanguíneas foram realizados em campo, enquanto o plasma foi obtido por centrifugação a 2.680 x g por 10 minutos (SciSpin Mini Microfuge, UE) e armazenado em nitrogênio líquido e, posteriormente, em freezer -80°C até o momento da determinação dos constituintes bioquímicos no laboratório.

Após a coleta sanguínea, foi realizada a biometria de todos os animais, sendo mensurado o comprimento total (cm), largura de disco (cm) e peso (g). A fase de desenvolvimento foi determinada a partir das medidas da largura do disco (LD). Para *P. motoro* (neonatos, $LD \leq 14,0$ cm; juvenis, $14,1 < LD \leq 35,0$ cm; subadultos, $35,0 < LD \leq 40,0$; e adultos, $LD > 40,0$ cm) a classificação foi determinada de acordo com Araújo (1999). Para *P. orbignyi* (neonatos, $LD \leq 13,9$ cm; juvenis, $14,0 < LD \leq 26,0$ cm; e adultos, $LD > 26,1$ cm) a classificação seguiu as

recomendações de Lasso *et al.* (2013). A determinação sexual foi realizada por observação macroscópica externa do cláster, sendo presente nos machos e ausente nas fêmeas. Os animais foram marcados e, após a recuperação da anestesia, foram devolvidos para seus respectivos locais de captura.

2.4. Análises hematológicas

O hematócrito (Ht) foi determinado pelo método de microhematócrito, a concentração de hemoglobina [Hb] foi determinada pelo método da cianometahemoglobina e a contagem de eritrócitos (RBC) foi feita em câmara de Neubauer, após a diluição do sangue em solução de formol-citrato. A partir dos valores de Ht, Hb e RBC de cada indivíduo, foram calculados os índices hematimétricos: volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM).

A contagem do número total de leucócitos e trombócitos, bem como a contagem diferencial de leucócitos, foram realizadas em extensões sanguíneas coradas com uma combinação de May Grunwald-Giemsa-Wright, de acordo com as recomendações de Tavares-Dias e Moraes (2006). Para a identificação dos tipos celulares foram atribuídas as nomenclaturas utilizadas em estudos prévios com potamotrigoníneos (Brito *et al.*, 2015; Oliveira *et al.*, 2016; 2021 e Pérez-Rojas *et al.*, 2022).

Os metabólitos plasmáticos foram determinados com auxílio de kits comerciais específicos para cada constituinte (Labtest Diagnóstica S.A., Brasil). A concentração de proteínas plasmáticas totais foi determinada pelo método de biureto modificado. O nível de albumina foi determinado pelo método de verde de bromocresol. A concentração de globulina foi calculada a partir da subtração dos valores de proteínas plasmáticas totais e albumina, para posterior determinação da relação albumina:globulina. A glicose plasmática foi determinada pelo método da glicose oxidase. Os triglicerídeos, colesterol total e ácido úrico foram determinados por método enzimático-colorimétrico. A ureia foi determinada pela metodologia da urease modificada. Os níveis plasmáticos de cloreto, fósforo e magnésio foram determinados pelos métodos de tiocianato de mercúrio, fosfomolibdato UV e azul de xilidila, respectivamente, com auxílio de kits comerciais específicos (In Vitro Diagnóstica Ltda, Brasil). Todas essas análises foram lidas em espectrofotômetro com diferentes comprimentos de onda (Shimadzu Corp., UV-1280, Japão). As concentrações de sódio e potássio foram determinadas em fotômetro de chama (Digimed DM 61, Brasil). As enzimas plasmáticas Aspartato Aminotransferase (AST), Alanina Aminotransferase (ALT) e Creatina Quinase Total (CK) foram determinadas pelo método cinético UV e a Fosfatase Alcalina (ALP) foram determinadas

pelo método p-Nitrofenilfosfato, com auxílio de kits comerciais específicos (Labtest Diagnóstica S.A., Brasil) e análises em leitor de microplaca (Molecular Devices SpectraMax Plus 384, EUA).

2.5. Monitoramento da qualidade da água

Durante as coletas de campo foram mensurados os parâmetros físicos e químicos da qualidade de água dos locais de captura das arraias, sendo aferidos os níveis de oxigênio dissolvido, temperatura, condutividade elétrica e potencial hidrogeniônico (pH), com auxílio de um medidor multiparâmetro (Thermo Fisher Scientific Inc., Orion 5-Star Plus, EUA). As concentrações de amônia total e nitrito foram determinadas pelo método espectrofotométrico segundo Verdouw *et al.* (1978) e Boyd e Tucker (1992), respectivamente. Alcalinidade e dureza total foram determinadas pelo método titulométrico, segundo Boyd e Tucker (1992).

2.6. Análises estatísticas

Todos os resultados quantitativos foram inicialmente analisados quanto aos pressupostos de homoscedasticidade das variâncias, pelo teste de Levene, e de normalidade dos resíduos, pelo teste de Shapiro-Wilk. Os parâmetros sanguíneos foram submetidos a uma estatística descritiva para obtenção de média, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo. Os valores sanguíneos de referências foram apresentados em 25^o-75^o percentis e em intervalo de confiança de 90 % (Friedrichs *et al.*, 2012).

Para as variáveis com distribuição normal e homocedástica foi utilizado o teste-*t* de Student para a comparação entre os parâmetros sanguíneos dos juvenis machos e fêmeas de *P. orbigny*, e análise de variância (ANOVA) para a comparação dos parâmetros sanguíneos entre neonatos, juvenis machos e juvenis fêmeas de *P. motoro*, seguido do teste a posteriori de Tukey, admitindo o intervalo de confiança de 95%. O teste de ANOVA também foi utilizado para comparar os parâmetros de qualidade de água das três localidades, bem como para analisar os dados biométricos das arraias e os parâmetros sanguíneos dos juvenis machos e fêmeas entre as duas espécies analisadas.

Para as variáveis não paramétricas foram utilizados os testes de Mann-Whitney (U) para a comparação entre juvenis machos e fêmeas de *P. orbigny*, e o teste de Kruskal-Wallis para a comparação entre neonatos, juvenis machos e juvenis fêmeas de *P. motoro*, seguido do teste a posteriori de Dunn. Todas as análises foram realizadas a 5 % de significância, com auxílio do software Statistica, versão 10.0 (StatSoft, Inc., EUA). A avaliação das correlações entre as

variáveis hematológicas foi realizada por meio de uma matriz de correlação de Spearman, com auxílio do Software OriginPro, versão 2023b (OriginLab Corporation, EUA).

3. RESULTADOS

Os parâmetros físicos e químicos da água dos locais de captura das arraias *P. motoro* e *P. orbigny* estão apresentados na Tabela 1. Não foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) nos parâmetros de qualidade da água entre os três locais de coleta (Manaquiri, Manacapuru e Iranduba).

Tabela 1. Parâmetros físicos e químicos da água dos locais de captura das arraias *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbigny* oriundas da região do baixo Rio Solimões, estado do Amazonas, Brasil. Valores expressam média \pm desvio padrão. Não foram observadas diferenças significativas entre os municípios de acordo com o teste de ANOVA ($p < 0,05$).

Parâmetros	Municípios		
	Manaquiri	Manacapuru	Iranduba
pH	6,29 \pm 0,15	6,41 \pm 0,26	6,32 \pm 0,11
Oxigênio dissolvido (mg L ⁻¹)	3,90 \pm 0,72	4,33 \pm 0,41	4,35 \pm 0,20
Temperatura (°C)	30,6 \pm 1,9	30,6 \pm 0,7	30,7 \pm 0,8
Condutividade elétrica (μ S cm ⁻¹)	87,7 \pm 10,5	91,1 \pm 11,8	96,7 \pm 7,8
Alcalinidade (mg L ⁻¹)	47,5 \pm 9,3	56,2 \pm 4,8	58,7 \pm 4,7
Dureza total (mg L ⁻¹)	38,8 \pm 4,8	46,1 \pm 7,9	45,3 \pm 5,6
Nitrito (mg L ⁻¹)	0,019 \pm 0,008	0,011 \pm 0,009	0,015 \pm 0,007
Amônia total (mg L ⁻¹)	0,10 \pm 0,04	0,09 \pm 0,05	0,10 \pm 0,04

O número amostral e os dados biométricos das arraias estudadas estão presentes na Tabela 2. Nenhuma das arraias capturadas apresentou evidências físicas de problemas tais como deformidades, lacerações, descolorações e mutilação. Não houve diferenças biométricas significativas entre os juvenis de ambos os sexos e entre as espécies estudadas, sendo apenas os neonatos significativamente menores ($p < 0,05$) em todos os parâmetros corporais mensurados em comparação aos juvenis.

Tabela 2. Parâmetros biométricos de *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbignyi* para neonatos e juvenis (machos e fêmeas) oriundos da região do baixo Rio Solimões, estado do Amazonas, Brasil. Valores expressam média \pm DP. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre os diferentes estágios de desenvolvimento das arraias usando o teste de ANOVA ($p < 0,05$).

Municípios	Espécies	FD	Sexo	N	Largura de disco (cm)	Comprimento total (cm)	Peso (g)
Manaquiri	<i>P. motoro</i>	Neonatos	ND	11	12,3 \pm 1,4 ^a	22,4 \pm 2,7 ^a	101,8 \pm 31,9 ^a
		Juvenis	Macho	8	22,1 \pm 7,1 ^b	38,3 \pm 12,7 ^b	683,8 \pm 610,2 ^b
			Fêmea	12	18,9 \pm 4,3 ^b	32,9 \pm 8,1 ^b	435,8 \pm 207,5 ^b
Manacapuru	<i>P. motoro</i>	Juvenis	Macho	19	22,2 \pm 2,3 ^b	39,1 \pm 3,4 ^b	572,6 \pm 218,0 ^b
			Fêmea	12	24,2 \pm 2,2 ^b	40,3 \pm 3,2 ^b	680,0 \pm 194,7 ^b
	<i>P. orbignyi</i>	Juvenis	Macho	11	22,1 \pm 3,5 ^b	40,0 \pm 7,1 ^b	647,4 \pm 370,1 ^b
			Fêmea	14	23,2 \pm 2,8 ^b	40,9 \pm 6,5 ^b	606,4 \pm 212,2 ^b
Iranduba	<i>P. motoro</i>	Juvenis	Macho	13	23,6 \pm 2,4 ^b	40,1 \pm 3,8 ^b	640,8 \pm 145,1 ^b
			Fêmea	17	23,1 \pm 3,0 ^b	39,8 \pm 5,3 ^b	654,7 \pm 228,9 ^b
	<i>P. orbignyi</i>	Juvenis	Macho	11	22,4 \pm 2,4 ^b	39,5 \pm 5,1 ^b	619,1 \pm 219,8 ^b
			Fêmea	13	23,9 \pm 2,5 ^b	40,9 \pm 4,5 ^b	700,0 \pm 173,9 ^b

DP: desvio padrão; FD: Fase de desenvolvimento, N: Número amostral, ND: Não determinado.

Não foi observada diferença significativa nos parâmetros hematológicos das arraias capturadas durante as diferentes fases do ciclo hidrológico. Os dados sanguíneos de neonatos e dos juvenis machos e fêmeas de *P. motoro* estão presentes na Tabela 3. Não foram observadas diferenças significativas entre os juvenis machos e fêmeas dessa espécie para nenhum dos parâmetros analisados. Contudo, os neonatos apresentaram valores significativamente menores ($p < 0,05$) de Ht, Hb, RBC, CHCM e número de monócitos, assim como nas concentrações de glicose plasmática, proteínas totais, albumina e globulina. Em contrapartida, os níveis plasmáticos de colesterol total e ureia foram significativamente maiores ($p < 0,05$) neste mesmo grupo em comparação aos demais. Em relação à *P. orbignyi*, não foi observado efeito do sexo sobre os parâmetros hematológicos dos juvenis da espécie (Tabela 4). A comparação entre os espécimes machos e fêmeas das duas espécies de arraias revelou diferenças significativas ($p < 0,05$) apenas nos níveis de triglicerídeos e colesterol total, sendo inferiores em *P. orbignyi*, de ambos os sexos (Figura 2).

Tabela 3. Hematologia comparativa entre neonatos e juvenis machos e fêmeas de *Potamotrygon motoro* oriundos da região do baixo Rio Solimões, estado do Amazonas, Brasil. Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas pelo teste de ANOVA ($p < 0,05$).

Parâmetros	<i>Potamotrygon motoro</i>						p
	Neonato (n= 11)		Juvenil				
	Média	DP	Macho (n= 40)		Fêmea (n= 41)		
		Média	DP	Média	DP		
Hematócrito (%)	16,1 ^a	3,6	20,6 ^b	4,5	20,1 ^b	4,1	0,049
Hemoglobina (g dL ⁻¹)	2,54 ^a	0,78	3,84 ^b	1,02	3,88 ^b	0,93	0,007
RBC (x10 ⁶ µL ⁻¹)	0,25 ^a	0,06	0,35 ^b	0,08	0,36 ^b	0,08	0,018
VCM (fL)	638,4	95,7	590,7	83,9	556,9	90,2	0,060
CHCM (g dL ⁻¹)	15,7 ^a	2,2	18,6 ^b	2,7	19,3 ^b	2,9	0,013
Trombócitos (µL)	927,8	527,2	1300,8	552,8	1440,2	720,3	0,170
Leucócitos (µL)	2821,8	873,3	3604,1	1100,9	3965,8	1258,3	0,066
Linfócitos (µL)	1704,6	763,8	1877,6	811,7	2001,7	700,7	0,599
Linfócitos (%)	58,5	9,7	51,1	9,8	51,2	10,1	0,227
Monócitos (µL)	584,5 ^a	99,5	935,9 ^b	329,3	1072,1 ^b	445,8	0,012
Monócitos (%)	21,9	6,0	26,4	6,3	26,8	7,8	0,288
Heterófilos (µL) *	507,1	132,0	723,1	258,7	823,6	419,9	0,185
Heterófilos (%)	18,5	3,5	20,6	6,4	20,1	7,5	0,777
Eosinófilos (µL)	7,9	9,6	26,1	24,0	19,5	24,4	0,160
Eosinófilos (%)	0,33	0,40	0,71	0,66	0,51	0,60	0,210
Basófilos (µL)	17,7	10,7	46,1	41,2	47,8	38,5	0,207
Basófilos (%)	0,75	0,52	1,30	1,16	1,29	1,0	0,479
Glicose (mmol L ⁻¹)	1,84 ^a	0,69	2,64 ^b	0,65	2,92 ^b	0,72	<0,001
Proteínas totais (g L ⁻¹)	7,3 ^a	2,2	11,9 ^b	2,2	11,6 ^b	2,3	<0,001
Albumina (g L ⁻¹)	1,2 ^a	0,7	2,4 ^b	0,8	2,3 ^b	0,8	0,002
Globulina (g L ⁻¹)	6,1 ^a	2,2	9,5 ^b	1,7	9,3 ^b	2,0	<0,001
Relação A:G	0,22	0,16	0,25	0,08	0,24	0,09	0,729
Triglicerídeos (mmol L ⁻¹)	0,53	0,15	0,56	0,12	0,58	0,12	0,605
Colesterol total (mmol L ⁻¹)	1,60 ^a	0,24	1,27 ^b	0,21	1,28 ^b	0,22	0,001
Ácido úrico (µmol L ⁻¹)	55,3	17,8	84,5	39,8	89,2	47,6	0,153
Ureia (mmol L ⁻¹)	6,42 ^a	1,45	4,35 ^b	1,16	4,83 ^b	1,37	<0,001
Cloreto (mmol L ⁻¹)	122,3	20,8	119,5	14,1	122,2	15,5	0,719
Sódio (mmol L ⁻¹)	216,1	21,7	241,6	26,4	239,5	30,0	0,085
Potássio (mmol L ⁻¹)	8,40	0,85	7,85	1,18	7,64	1,15	0,247
Magnésio (mmol L ⁻¹)	2,18	0,29	1,87	0,42	1,92	0,40	0,172
Fósforo (mmol L ⁻¹)	2,52	0,33	2,46	0,30	2,63	0,34	0,057
AST (U L ⁻¹)	38,2	10,8	39,2	10,7	38,6	12,0	0,968
ALT (U L ⁻¹)	3,48	1,16	3,85	0,76	3,91	1,05	0,621
ALP (U L ⁻¹)	26,4	5,5	30,2	11,1	30,8	9,9	0,610
CK (U L ⁻¹)	444,0	144,6	687,4	340,8	666,7	332,9	0,304

N, número amostral; DP, desvio padrão; RBC, número de eritrócitos; VCM, volume corpuscular médio; CHCM, concentração de hemoglobina corpuscular média; Relação A:G, relação albumina/globulina; AST, aspartato aminotransferase; ALT, alanina aminotransferase; ALP, fosfatase alcalina; CK, creatina quinase total.

* Parâmetros não atenderam a premissa paramétrica e foram comparados pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

Tabela 4. Hematologia comparativa entre juvenis machos e fêmeas de *Potamotrygon orbignyi* oriundos da região do baixo Rio Solimões, estado do Amazonas, Brasil. Não foram detectadas diferenças significativas entre os sexos de acordo com o teste-*t* de Student ($p < 0,05$).

Parâmetros	<i>Potamotrygon orbignyi</i>				<i>p</i>
	Macho (n= 22)		Fêmea (n= 27)		
	Média	DP	Média	DP	
Hematócrito (%)	20,9	1,8	19,9	2,6	0,15
Hemoglobina (g dL ⁻¹)	4,13	0,58	3,81	0,55	0,06
RBC (x10 ⁶ μL ⁻¹)	0,36	0,04	0,35	0,06	0,49
VCM (fL)	604,8	55,9	578,8	58,4	0,12
CHCM (g dL ⁻¹)	19,2	1,83	19,0	2,2	0,77
Trombócitos (μL)	1599,3	432,1	1507,8	582,7	0,54
Leucócitos (μL)	4140,5	1147,7	4227,9	1229,8	0,80
Linfócitos (μL)	2085,3	664,2	2238,8	680,0	0,43
Linfócitos (%)	50,8	11,3	54,1	12,2	0,34
Monócitos (μL)	946,4	366,5	988,8	492,6	0,74
Monócitos (%)	22,8	5,8	22,9	7,0	0,97
Heterófilos (μL)	1045,4	524,5	934,7	491,2	0,45
Heterófilos (%)	24,8	9,5	21,4	8,3	0,19
Eosinófilos (μL)	15,2	20,3	22,4	26,4	0,29
Eosinófilos (%)	0,39	0,51	0,54	0,60	0,36
Basófilos (μL)	48,3	31,5	43,2	27,4	0,55
Basófilos (%)	1,23	0,86	1,07	0,69	0,49
Glicose (mmol L ⁻¹)	2,54	0,45	2,51	0,68	0,91
Proteínas totais (g L ⁻¹)	11,2	1,6	11,5	2,2	0,70
Albumina (g L ⁻¹)	2,3	0,8	2,6	0,8	0,14
Globulina (g L ⁻¹)	9,0	1,3	8,9	1,7	0,81
Relação A:G	0,26	0,10	0,29	0,07	0,15
Triglicerídeos (mmol L ⁻¹)	0,44	0,08	0,45	0,07	0,68
Colesterol total (mmol L ⁻¹)	1,12	0,21	1,12	0,20	0,95
Ácido úrico (μmol L ⁻¹)	95,2	33,3	102,9	39,3	0,46
Ureia (mmol L ⁻¹)	4,78	1,36	4,27	1,21	0,18
Cloreto (mmol L ⁻¹)	122,4	13,9	123,0	13,1	0,87
Sódio (mmol L ⁻¹)	232,2	23,1	232,5	31,3	0,98
Potássio (mmol L ⁻¹) *	7,55	1,31	7,67	0,93	0,63
Magnésio (mmol L ⁻¹)	1,80	0,46	1,88	0,38	0,46
Fósforo (mmol L ⁻¹) *	2,55	0,19	2,66	0,32	0,30
AST (U L ⁻¹)	41,6	11,6	40,5	12,1	0,75
ALT (U L ⁻¹)	3,88	0,85	3,88	1,07	0,99
ASP (U L ⁻¹)	34,9	14,5	31,4	13,2	0,39
CK (U L ⁻¹)	702,8	372,3	684,6	412,9	0,87

N, número amostral; DP, desvio padrão; RBC, número de eritrócitos; VCM, volume corpuscular médio; CHCM, concentração de hemoglobina corpuscular média; Relação A/G, relação albumina:globulina; AST, aspartato aminotransferase; ALT, alanina aminotransferase; ALP, fosfatase alcalina; CK, creatina quinase total.

* Parâmetros não atenderam a premissa paramétrica e foram comparados pelo teste de Mann-Whitney ($p < 0,05$).

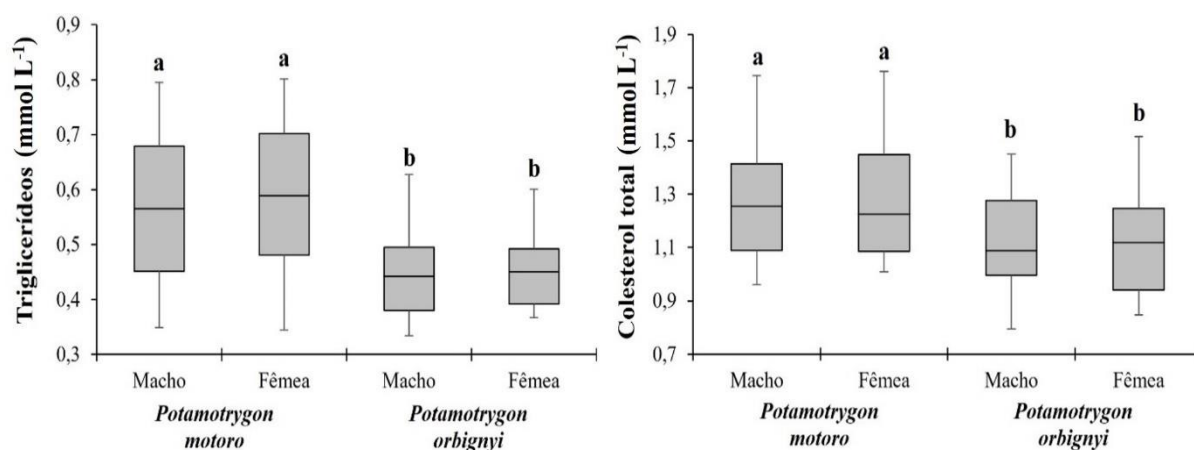


Figura 2. Níveis plasmáticos de triglicerídeos e colesterol total de juvenis machos e fêmeas de *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbignyi* proveniente da região do baixo Rio Solimões, estado do Amazonas, Brasil. Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de ANOVA ($p < 0,05$).

As matrizes de correlação entre os parâmetros hematológicos de *P. motoro* e *P. orbignyi* estão presentes na Figura 3. Apesar de algumas relações significativas ($p < 0,05$), apenas as correlações entre Ht-Hb, Ht-RBC, Hb-RBC, leucócitos totais-linfócitos (μL), leucócitos totais-monócitos (μL), leucócitos totais-heterófilos (μL), proteína-albumina, proteína-globulina, albumina-relação albumina:globulina apresentaram uma correlação positiva forte ($P \geq 0,7$) para ambas as espécies. A relação fosfatase alcalina-creatina quinase apresentou uma correlação positiva forte ($P \geq 0,7$) apenas para *P. orbignyi* (Figura 3B).

Os resultados deste trabalho culminaram no estabelecimento de intervalos hematológicos de referência para a *P. motoro* (Tabela 5) e *P. orbignyi* (Tabela 6), sendo este o primeiro estudo de caracterização hematológica de ambas as espécies de arraia de água doce na região do baixo Rio Solimões, estado do Amazonas.

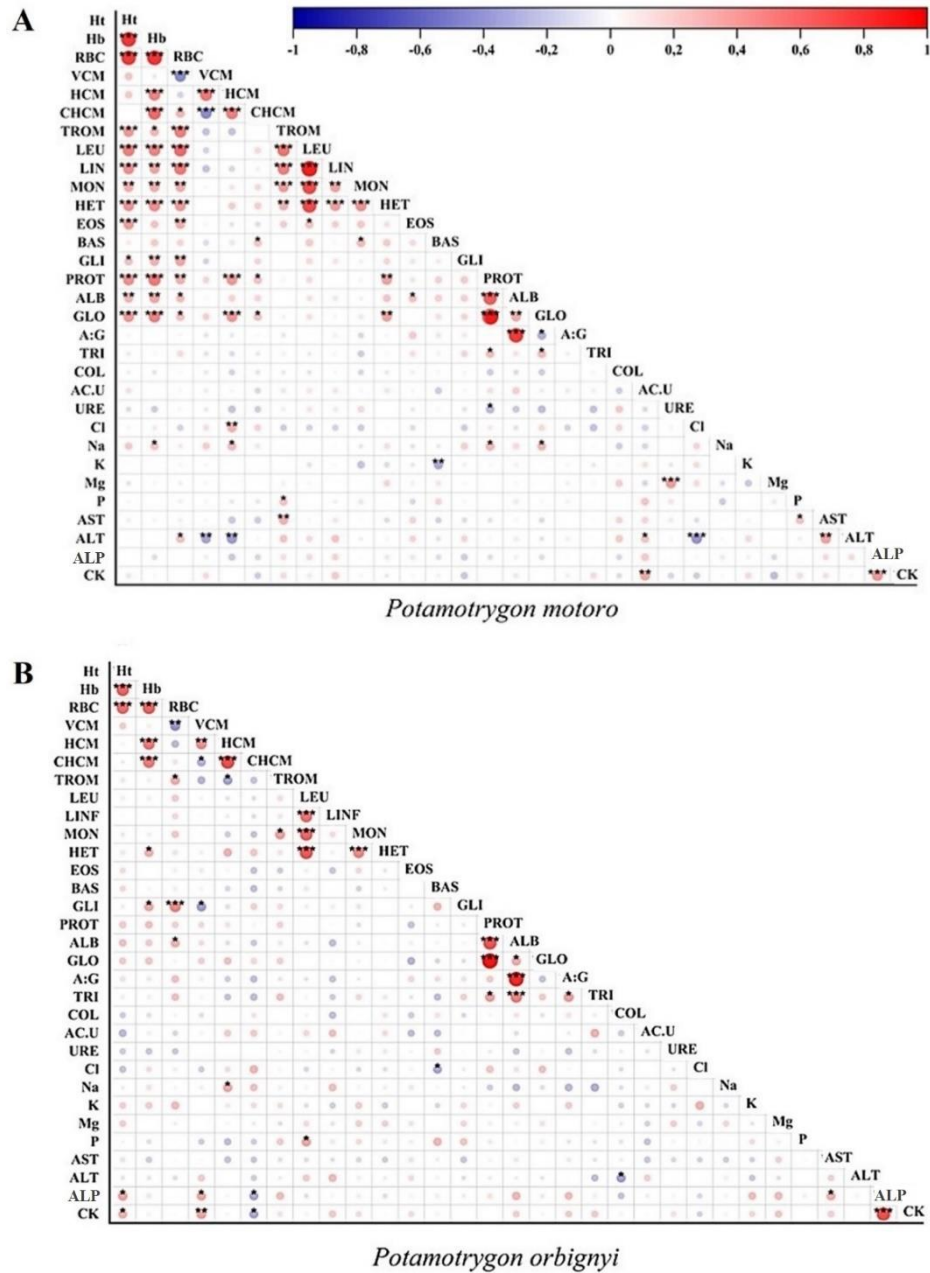


Figura 03. Matriz de correlação de Spearman entre as variáveis hematológicas de (A) *Potamotrygon motoro* e (B) *Potamotrygon orbignyi* do baixo Rio Solimões, estado do Amazonas, Brasil. As correlações positivas estão em vermelho e as negativas estão em azul. O valor da correlação é representado pelo tamanho do círculo. As correlações significativas foram indicadas com * ($p < 0,05$), ** ($p < 0,01$) e *** ($p < 0,001$). Ht, hematócrito; Hb, hemoglobina; RBC, número de eritrócitos; VCM, volume corpuscular médio; HCM, hemoglobina corpuscular média; CHCM, concentração de hemoglobina corpuscular média; TROM, trombócitos; LEU, leucócitos totais; LIN, linfócitos (μL); MON, monócitos (μL); HET, heterófilos (μL); EOS, eosinófilos (μL); BAS, basófilos (μL); GLI, glicose plasmática; PROT, proteínas plasmáticas; ALB, albumina; GLO, globulina; A:G, Relação Albumina:Globulina; TRI, triglicerídeos; COL, colesterol total; AC.U, ácido úrico; URE, ureia; Cl, cloretos; Na, sódio; K, potássio; Mg, magnésio; P, fósforo; AST, aspartato aminotransferase; ALT, alanina aminotransferase; ALP, fosfatase alcalina; CK, creatina quinase total.

Tabela 5. Intervalos hematológicos de referência para *Potamotrygon motoro* (n = 92) proveniente da região do baixo Rio Solimões, estado do Amazonas, Brasil.

Parâmetros	Média	DP	Mediana	Min	Max	Percentil		Intervalo de confiança (90%)	
						25°	75°	L.I.	L.S.
						Hematócrito (%)	20,0	4,4	20,3
Hemoglobina (g dL ⁻¹)	3,76	1,01	3,80	1,31	7,01	3,11	4,42	3,58	3,95
RBC (x10 ⁶ µL ⁻¹)	0,35	0,08	0,34	0,19	0,55	0,29	0,41	0,33	0,36
VCM (fL)	578,9	89,6	576,3	380,0	820,5	530,9	637,0	562,5	595,4
CHCM (g dL ⁻¹)	18,7	2,9	18,7	11,0	28,0	17,2	20,6	18,2	19,3
Trombócitos (µL) *	1336,4	639,5	1151,3	487,5	2960,0	810,0	1787,5	1218,9	1453,9
Leucócitos (µL)	3710,1	1188,7	3585,0	1301,7	6650,0	2875,0	4292,5	3491,7	3928,5
Linfócitos (µL) *	1920,9	755,4	1764,9	644,3	4244,4	1343,8	2249,1	1782,1	2059,7
Linfócitos (%) *	51,7	10,0	50,3	33,0	75,0	44,0	58,5	49,9	53,6
Monócitos (µL)	971,6	395,1	926,7	287,8	2101,6	680,4	1233,6	899,0	1044,2
Monócitos (%)	26,2	7,0	26,8	10,5	39,5	20,5	31,5	24,9	27,5
Heterófilos (µL) *	752,6	343,6	716,3	112,9	1716,4	518,2	887,8	689,5	815,8
Heterófilos (%)	20,2	6,7	20,0	5,5	38,5	15,5	24,0	19,0	21,5
Eosinófilos (µL) *	21,8	23,8	17,6	0,0	90,3	0,0	37,8	17,4	26,2
Eosinófilos (%) *	0,60	0,63	0,50	0,00	2,50	0,00	1,00	0,48	0,71
Basófilos (µL) *	44,8	39,0	39,6	0,0	163,2	16,0	68,0	37,6	52,0
Basófilos (%) *	1,26	1,07	1,00	0,00	4,00	0,50	2,00	1,07	1,46
Glicose (mmol L ⁻¹)	2,71	0,74	2,67	1,15	4,90	2,23	3,19	2,57	2,84
Proteínas totais (g L ⁻¹)	11,4	2,5	11,6	4,4	16,4	9,8	13,0	10,9	11,8
Albumina (g L ⁻¹)	2,2	0,9	2,2	0,5	4,5	1,6	2,9	2,1	2,4
Globulina (g L ⁻¹)	9,2	2,1	9,2	3,6	13,6	7,7	10,5	8,8	9,5
Relação A:G	0,25	0,09	0,24	0,05	0,52	0,17	0,30	0,23	0,26
Triglicerídeos (mmol ⁻¹ L) *	0,57	0,12	0,58	0,30	0,80	0,46	0,69	0,55	0,59
Colesterol total (mmol L ⁻¹)*	1,31	0,23	1,27	0,96	1,94	1,10	1,45	1,26	1,35
Ácido úrico (µmol L ⁻¹) *	84,5	42,8	74,3	17,2	207,6	51,7	117,1	76,7	92,2
Ureia (mmol L ⁻¹)	4,74	1,38	4,54	1,96	8,83	3,60	5,73	4,49	4,99
Cloreto (mmol L ⁻¹)	121,0	15,2	123,4	92,3	161,1	109,9	130,1	118,2	123,7
Sódio (mmol L ⁻¹)	238,6	28,3	241,3	180,3	301,7	215,3	258,4	233,5	243,6
Potássio (mmol L ⁻¹) *	7,80	1,15	7,46	5,53	10,73	6,96	8,46	7,59	8,00
Magnésio (mmol L ⁻¹)	1,92	0,41	1,93	1,14	2,89	1,61	2,32	1,85	1,99
Fósforo (mmol L ⁻¹)	2,60	0,33	2,59	1,96	3,21	2,30	2,76	2,50	2,62
AST (U L ⁻¹) *	38,9	11,2	35,9	18,6	64,2	30,5	46,1	36,8	40,9
ALT (U L ⁻¹)	3,86	0,93	3,87	1,72	6,30	3,44	4,43	3,69	4,03
ALP (U L ⁻¹) *	30,6	9,7	26,3	18,7	61,8	24,9	32,5	28,8	32,4
CK (U L ⁻¹) *	662,7	330,7	596,3	167,5	1423,8	412,3	911,2	601,9	723,5

N, número amostral; DP, desvio padrão; Min, mínimo; Max, máximo; L.I., limite inferior; L.S., limite superior; RBC, número de eritrócitos; VCM, volume corpuscular médio; CHCM, concentração de hemoglobina corpuscular média; Relação A:G, relação albumina/globulina; AST, aspartato aminotransferase; ALT, alanina aminotransferase; ALP, fosfatase alcalina; CK, creatina quinase total.

* Parâmetros que não atenderam a premissa de distribuição Gaussiana pelo teste de Shapiro-Wilk (p<0,05).

Tabela 6. Intervalos hematológicos de referência para *Potamotrygon orbignyi* (n= 49) proveniente da região do baixo Rio Solimões, estado do Amazonas, Brasil.

Parâmetros	Média	DP	Mediana	Min	Max	Percentil		Intervalo de confiança (90%)	
						25°	75°	L.I.	L.S.
Hematócrito (%) *	20,5	2,5	20,0	15,0	28,0	19,5	22,0	19,9	21,1
Hemoglobina (g dL ⁻¹)	3,96	0,58	4,07	2,83	5,59	3,53	4,27	3,82	4,10
RBC (x10 ⁶ µL ⁻¹)	0,35	0,05	0,35	0,23	0,48	0,33	0,37	0,34	0,36
VCM (fL) *	590,5	58,2	579,7	447,9	714,3	560,7	631,6	576,6	604,4
CHCM (g dL ⁻¹) *	19,1	2,0	18,7	15,1	22,6	17,6	20,8	18,6	19,6
Trombócitos (µL)	1548,9	517,4	1510,0	460,0	2880,0	1190,0	1935,0	1424,9	1672,9
Leucócitos (µL) *	4188,7	1182,2	4083,8	2185,0	6776,7	3460,0	4537,5	3905,4	4471,9
Linfócitos (µL)	2126,0	602,3	2116,8	1053,0	3663,0	1793,8	2536,7	1980,1	2271,9
Linfócitos (%) *	52,7	11,8	49,5	33,0	76,0	43,5	60,0	49,8	55,5
Monócitos (µL) *	939,1	384,4	937,6	298,2	2097,9	618,7	1116,5	846,0	1032,2
Monócitos (%) *	22,8	6,4	22,0	10,5	38,5	18,5	27,0	21,3	24,4
Heterófilos (µL)	984,4	504,2	972,9	148,2	2172,6	592,3	1258,1	863,6	1105,2
Heterófilos (%)	22,9	8,9	24,0	6,0	44,0	15,5	28,5	20,8	25,1
Eosinófilos (µL) *	19,2	23,9	15,7	0,0	86,9	0,0	32,2	13,5	24,9
Eosinófilos (%) *	0,47	0,56	0,50	0,00	2,00	0,00	1,00	0,33	0,60
Basófilos (µL) *	45,5	29,1	43,5	0,0	106,3	32,3	65,6	38,5	52,4
Basófilos (%) *	1,14	0,76	1,00	0,00	3,00	0,50	1,50	0,96	1,33
Glicose (mmol L ⁻¹)	2,53	0,58	2,61	1,27	3,73	2,05	2,98	2,39	2,67
Proteínas totais (g L ⁻¹)	11,4	2,0	11,4	7,1	15,9	10,0	12,6	10,9	1,18
Albumina (g L ⁻¹)	2,4	0,8	2,4	1,0	4,0	2,0	3,0	2,3	2,6
Globulina (g L ⁻¹)	8,9	1,5	8,8	5,5	11,9	7,7	9,8	8,6	9,3
Relação A:G	0,28	0,09	0,28	0,12	0,49	0,22	0,32	0,25	0,30
Triglicerídeos (mmol L ⁻¹) *	0,45	0,08	0,44	0,33	0,63	0,39	0,50	0,43	0,47
Colesterol total (mmol L ⁻¹)	1,12	0,20	1,12	0,80	1,52	0,94	1,28	1,07	1,17
Ácido úrico (µmol L ⁻¹) *	99,3	36,3	98,7	39,3	174,3	69,0	130,3	90,4	108,2
Ureia (mmol L ⁻¹)	4,50	1,29	4,46	2,29	7,58	3,58	5,31	4,19	4,81
Cloreto (mmol L ⁻¹)	122,7	13,4	124,2	94,2	149,4	112,9	131,5	119,5	125,9
Sódio (mmol L ⁻¹)	232,4	27,7	231,4	179,5	292,4	214,6	252,2	225,7	239,0
Potássio (mmol L ⁻¹) *	7,62	1,11	7,35	6,02	10,35	6,66	8,43	7,35	7,88
Magnésio (mmol L ⁻¹)	1,84	0,41	1,88	1,23	2,91	1,56	2,08	1,75	1,94
Fósforo (mmol L ⁻¹)	2,62	0,27	2,58	2,12	3,23	2,39	2,76	2,55	2,68
AST (U L ⁻¹)	41,0	11,8	42,1	21,3	65,2	30,1	50,5	38,1	43,8
ALT (U L ⁻¹)	3,88	0,97	3,87	1,72	6,44	3,22	4,30	3,65	4,11
ALP (U L ⁻¹) *	33,0	13,8	26,9	18,8	73,2	24,2	39,6	29,7	36,3
CK (U L ⁻¹) *	692,8	391,2	546,1	137,4	1735,3	392,0	964,8	599,0	786,5

N, número amostral; DP, desvio padrão; Min, mínimo; Max, máximo; L.I., limite inferior; L.S., limite superior; RBC, número de eritrócitos; VCM, volume corpuscular médio; CHCM, concentração de hemoglobina corpuscular média; Relação A:G, relação albumina/globulina; AST, aspartato aminotransferase; ALT, alanina aminotransferase; ALP, fosfatase alcalina; CK, creatina quinase total.

* Parâmetros que não atenderam a premissa de distribuição Gaussiana pelo teste de Shapiro-Wilk (p<0,05).

4. DISCUSSÃO

Nos últimos anos, embora tenha ocorrido um aumento de pesquisas avaliando as propriedades hematológicas de elasmobrânquios, essas informações ainda são reduzidas para várias espécies de arraias de água doce, principalmente considerando diversidade da subfamília Potamotrygoninae, que conta com 38 espécies distribuídas em quatro gêneros: *Paratrygon*, *Heliotrygon*, *Plesiotrygon* e *Potamotrygon* (Fontenelle *et al.*, 2021), em diversos sistemas fluviais amazônicos com características limnológicas distintas (Sioli, 1984). De acordo com nosso conhecimento, este é o primeiro estudo fornecendo valores de referência para os parâmetros hematológicos e bioquímicos plasmáticos de *P. motoro* e *P. orbignyi* provenientes de ambientes de água branca da bacia Amazônica.

Os rios da Amazônia são bastante heterogêneos, apresentando colorações e características químicas distintas, sendo classificados em três categorias: as águas pretas que são de cor marrom, ricas em matéria orgânica dissolvida, pH entre 3,8 a 4,9 e pobres em eletrólitos, as águas claras que são transparentes, têm pouco material em suspensão, pH entre 4,5 a 7,0 e são pobres em eletrólitos e águas brancas que são turvas, ricas em material em suspensão, tem pH entre 6,2 a 7,2, elevada concentração de nutrientes e eletrólitos (Sioli, 1984). Como consequência dessas diferenças, espécies com ampla distribuição geográfica, como as do presente estudo, podem apresentar alta variação fisiológica (Duncan e Fernandes, 2010), resultando em propriedades hematológicas distintas em função dos mecanismos adaptativos induzidos pelas características da qualidade da água. No presente estudo, as propriedades físico-químicas da água dos três locais de captura apresentaram valores dentro do esperado para águas brancas da região Amazônica (Queiroz *et al.*, 2009; Duncan *et al.*, 2021). Além disso, a ausência de diferenças significativas entre os pontos amostrais demonstram que a água não foi um fator que causou diferenças hematológicas entre as duas espécies de arraias estudadas.

A ausência da captura de indivíduos subadultos e adultos de ambas as espécies investigadas no presente estudo estão relacionadas à ocupação de diferentes habitats pelas arraias ao longo da vida e ao apetrecho de pesca utilizado, visto que os espécimes de menor porte estão associados à margem dos rios e lagos, possibilitando a captura por meio de rede de arrasto, enquanto os animais de maior porte habitam a calha dos rios, sendo capturados com espinhel (Lasso *et al.*, 2013; Shibuya, 2022). Em estudos hematológicos, o tempo de captura dos animais é um fator importante a ser considerado, visto que o intervalo de tempo entre a captura até o momento da coleta sanguínea pode causar respostas primárias e secundárias de

estresse, podendo alterar o hemograma e os parâmetros bioquímicos plasmáticos (Semeniuk *et al.*, 2009; Brinn *et al.*, 2012; Skomal e Mandelman, 2012). Considerando que a captura por meio de espinhel pode envolver a retenção do animal por várias horas até o momento da coleta sanguínea, comprometendo gravemente o equilíbrio fisiológico e até mesmo a sobrevivência (Brito *et al.*, 2015; Rangel *et al.*, 2021; Scarponi *et al.*, 2021), optou-se pela não utilização deste apetrecho de pesca e exclusão de espécimes de arraias de maior porte do presente estudo. Além disso, a legislação brasileira permite, para fins de ornamentação e aquarofilia, a utilização de espécimes de *P. motoro* e *P. orbignyi* com até 30 cm de largura de disco, ficando vetada a exploração de organismos adultos (IBAMA, 2008).

A presença de neonatos de *P. motoro*, assim como a predominância da espécie em uma das localidades de estudo (Lago Andiroba, Manaquiri, Amazonas) sugere que esta seja uma área de berçário/crescimento. As arraias de água doce utilizam preferencialmente regiões rasas do rio e com elevada disponibilidade de alimentos para dar à luz, conferindo maior proteção contra os predadores e ocasionando um maior adensamento de neonatos e juvenis de menor porte nestas regiões (Araújo, 1999). Esta estratégia reprodutiva de parto em áreas rasas também é observada nas arraias marinhas *Dasyatis crysonota*, *Dasyatis americana* e *Dasyatis marianae* (Yokota e Lessa, 2006; 2007). Mais estudos são necessários para a confirmação da utilização da localidade como área de parto/berçário por *P. motoro* e, conseqüentemente, para a sua classificação como área prioritária para a conservação da espécie.

No presente estudo, não foram observadas diferenças nos parâmetros hematológicos e bioquímicos plasmáticos entre machos e fêmeas de *P. motoro* e *P. orbignyi*, resultados semelhantes aos observados para as arraias dulcícolas *Potamotrygon wallacei*, *Potamotrygon motoro*, *Paratrygon aiereba* (Oliveira *et al.*, 2016) e *Potamotrygon magdalenae* (Pérez-Rojas *et al.*, 2022), bem como para as arraias marinhas *Dasyatis americana* (Cain *et al.*, 2004), *Rhinoptera bonasus* (Ferreira *et al.*, 2010; Cusack *et al.*, 2016) e *Raja undulata* (Morón-Elorza *et al.*, 2022a), demonstrando que o sexo não foi um fator determinante no perfil hematológico dessas arraias. Embora o presente estudo tenha analisado apenas indivíduos sexualmente imaturos, a ausência do efeito do sexo na hematologia foi também relatada entre machos e fêmeas adultos de três espécies da subfamília Potamotrygoninae (Oliveira *et al.*, 2016).

A fase de desenvolvimento de *P. motoro* influenciou fortemente os parâmetros sanguíneos, sendo observado valores inferiores no eritrograma dos neonatos, de modo semelhante ao observado em *P. wallacei* (Oliveira *et al.*, 2021). Em contrapartida, não foram encontradas diferenças nos parâmetros eritrocitários entre neonatos e juvenis de *P. motoro* e *P. aiereba* provenientes de água preta da bacia do médio Rio Negro (Oliveira *et al.*, 2016), o que

foi atribuído ao baixo número amostral de *P. motoro* (n= 3) e ao maior porte dos neonatos de *P. aiereba* (19,2 ± cm de LD). De modo geral, peixes mais novos são mais sedentários em comparação com organismos mais velhos (Walsh e Luer, 2004; Grant e Campbell, 2020), no entanto, à medida que o organismo cresce, a atividade metabólica aumenta, resultando no incremento da capacidade carreadora de oxigênio, e, conseqüentemente, na modificação do perfil eritrocitário do animal (Jawad *et al.*, 2004).

O sedentarismo dos neonatos também pode justificar as baixas concentrações de glicose plasmática, proteínas totais, albumina e globulina em comparação aos juvenis de *P. motoro* deste estudo, visto que quanto mais lento o metabolismo, menor é a mobilização dos substratos energéticos por meio da ativação das vias catabólicas (Walsh e Luer, 2004). Por outro lado, os níveis de colesterol total foram superiores nos neonatos do presente estudo, assim como observado em *P. wallacei*, o que foi atribuído à influência do vitelo presente nessa fase de desenvolvimento dos indivíduos (Oliveira *et al.*, 2016). A ureia também foi superior nos neonatos do presente estudo, assim como em neonatos de *P. motoro* provenientes do Rio Negro (Oliveira *et al.*, 2016), demonstrando ser uma característica ontogenética da espécie. Considerando a atrofia da glândula retal dos potamotrigoníneos, que resultaram na incapacidade de acúmulo de ureia no sangue (Thorson *et al.*, 1967), esse aumento da ureia pode estar relacionado à composição da dieta (Oliveira *et al.*, 2016), pois o consumo de alimentos ricos em proteína pode elevar as taxas de excreção nitrogenada e ocasionar um aumento temporário nos níveis de ureia (Kajimura *et al.*, 2006; Pérez-Rojas *et al.*, 2022). Os neonatos de *P. motoro* do presente estudo apresentaram menor número de monócitos, assim como descrito para *P. wallacei* (Oliveira *et al.*, 2016). Porém, essa redução pode não indicar imunossupressão, visto que os valores encontrados foram semelhantes aos relatados para outras espécies de arraias de água doce (Oliveira *et al.*, 2015; 2016).

Considerando a padronização na captura dos animais e que as arraias juvenis não apresentaram diferenças biométricas, podemos inferir que os menores valores nos níveis plasmáticos de triglicérides e colesterol total em *P. orbignyi*, quando em comparados a *P. motoro*, não são indicadores de estresse ou efeito ontogenético, estando provavelmente relacionados aos diferentes hábitos alimentares dessas espécies. *Potamotrygon motoro* possui uma dieta rica em gorduras, se alimentando de crustáceos e teleósteos, enquanto *P. orbignyi* possui uma dieta basicamente insetívora, com predomínio de larvas de libélula Gomphidae (Shibuya *et al.*, 2009; Shibuya, 2022).

Ao comparar os resultados obtidos no presente estudo com as informações disponíveis na literatura, foi possível verificar que o eritrograma das arraias analisadas apresentou valores

dentro dos níveis relatados em potamotrigoníneos de outras localidades (Brinn *et al.*, 2012; Oliveira *et al.*, 2015; 2016; Santos *et al.*, 2020; Pérez-Rojas *et al.*, 2022), demonstrando que, independentemente da localidade, espécie e sexo, os valores tipicamente baixos são característicos do grupo, sendo evidente a diferença em comparação aos elasmobrânquios marinhos (Ferreira *et al.*, 2010; Persky *et al.*, 2012; Cusack *et al.*, 2016; Grant e Campbell, 2020) e, principalmente, aos peixes teleósteos (Wilhelm Filho *et al.*, 1992; Tavares-Dias e Moraes, 2006; Aride *et al.*, 2021; Castro *et al.*, 2021). Embora os elasmobrânquios apresentem menor número de eritrócitos, o tamanho dessa célula é duas a três vezes maior que o observado em peixes teleósteos, resultando em um sangue de baixa viscosidade, típico de animais sedentários (Wilhelm Filho *et al.*, 1992). Resultados contrários foram observados em *P. falkneri* e *P. motoro*, provenientes do Rio Paraná (PR), e em *P. orbignyi* e *P. scobina*, provenientes do Rio Piririm (AP), os quais apresentaram tamanho de eritrócitos duas a três vezes maior, enquanto o VCM apresentou a metade dos valores relatados para *P. orbignyi*, *P. schroederi*, *P. motoro*, *P. wallacei* e *P. aiereba* do Rio Negro (AM) (Brito *et al.*, 2015; Oliveira *et al.*, 2015; 2016), indicando possivelmente respostas secundárias de estresse (Semeniuk *et al.*, 2009; Skomal e Mandelman, 2012), provavelmente devido a utilização de espinhel como apetrecho de pesca naquele estudo.

O número de leucócitos totais e trombócitos totais encontrados no presente estudo, assim como a sua elevada variação intraespecífica, foram similares aos relatados na literatura para *P. motoro*, *P. orbignyi*, *P. wallacei*, *P. aiereba* e *P. magdalena* (Oliveira *et al.*, 2015; 2016; Pérez-Rojas *et al.*, 2022). No presente estudo, a contagem diferencial de leucócitos evidenciou um predomínio de linfócitos, seguido por monócitos e heterófilos, indicando a importância desses leucócitos no sistema imune nas espécies de arraias analisadas, o que foi corroborado pela forte correlação positiva encontrada entre os leucócitos totais e essas três populações de leucócitos. Elevados valores de linfócitos, monócitos e heterófilos também foram relatados para *P. wallacei*, *P. motoro*, *P. aiereba*, *P. orbignyi* e *P. schroederi* da bacia do Rio Negro (Oliveira *et al.*, 2015; 2016). Além disso, estudos de caracterização citoquímica de leucócitos demonstraram que os heterófilos são granulócitos de grande importância na defesa imunológica dos potamotrigoníneos amazônicos *P. wallacei*, *P. motoro* e *P. aiereba* (Oliveira *et al.*, 2021). Os basófilos são descritos como raros em elasmobrânquios, e quando presentes, são encontrados em baixa quantidade (Dove *et al.*, 2010; Brito *et al.*, 2015; Oliveira *et al.*, 2015; Cusack *et al.*, 2016; Oliveira *et al.*, 2016; Grant e Campbell, 2020). No presente estudo foi registrada a presença de eosinófilos e a ausência de neutrófilos no sangue de *P. motoro* e *P. orbignyi*. No entanto, a presença das populações de leucócitos em arraias de água doce é

controversa, sendo ambos encontrados em *P. motoro*, *P. orbignyi* e *P. falkneri* (Brito *et al.*, 2015) e estando ausentes em *P. wallacei*, *P. motoro*, *P. schroederi*, *P. orbignyi* e *P. aiereba* da região do médio Rio Negro (Oliveira *et al.*, 2015; 2016). Esses resultados contraditórios em relação aos leucócitos granulócitos ocorrem devido à falta de uma padronização na identificação e nomenclatura desses tipos celulares para os elasmobrânquios, sendo um entrave para uma melhor compreensão das particularidades imunológicas de indivíduos dessa subfamília (Arnold, 2005).

Diferentemente do observado em arraiais marinhas (Morón-Erloza *et al.*, 2022a), as espécies dulcícolas apresentam uma ampla variação no perfil bioquímico plasmática, o que pode ser reflexo da influência de fatores exógenos, tais como a diversidade de habitats, hábitos alimentares e as propriedades físico-químicas da água (Brito *et al.*, 2015; Oliveira *et al.*, 2017). Os níveis de colesterol e triglicérides dos potamotrigoníneos são influenciados pela dieta, o que também foi observado no presente estudo, sendo superiores em espécies com dieta altamente calórica (Péres-Rojas *et al.*, 2022).

Baixos valores de glicose são comumente observados em arraiais e tubarões saudáveis (Morón-Erloza *et al.*, 2022a,b), sendo o aumento deste um indicador bioquímico de estresse (Semeniuk *et al.*, 2009; Skomal e Mandelman, 2012; Grant e Campbell, 2020). No entanto, é importante considerar que o presente estudo, assim como outros realizados com arraiais de água doce (Brinn *et al.*, 2012; Brito *et al.*, 2015; Oliveira *et al.*, 2015; 2016; Pérez-Rojas *et al.*, 2022), não utilizaram fluoreto de sódio para a inibição da via glicolítica, o que pode ter contribuído para os baixos valores de glicose nas arraiais aqui estudadas.

Os potamotrigoníneos amazônicos apresentaram um padrão conservador para proteínas totais, albumina, globulina e ácido úrico (Brito *et al.*, 2015; Oliveira *et al.*, 2015; 2016). As concentrações de cloreto, potássio, magnésio e fósforo de arraiais do presente estudo foram similares às relatadas para várias espécies de arraiais de água doce provenientes de diferentes sistemas fluviais amazônicos (Brito *et al.*, 2015; Oliveira *et al.*, 2016; Duncan *et al.*, 2021). Em contrapartida, os níveis plasmáticos de ureia e sódio foram maiores que os relatados para as arraiais provenientes do Rio Negro (Oliveira *et al.*, 2015; 2016), mas apresentaram valores similares aos relatados para *Heliotrygon gomesi*, *Plesiotrygon iwamae* e *P. motoro* de ambiente de água branca do Rio Solimões (Duncan *et al.*, 2021). A arraia *P. aiereba* proveniente de ambientes de água branca também apresentou maiores concentrações de sódio e ureia em comparação com as de ambientes de água preta (Duncan *et al.*, 2009). Os padrões osmorregulatórios dos potamotrigoníneos estão ligados às variáveis ambientais (Duncan *et al.*, 2021), de modo semelhante ao observado em peixes teleósteos dulcícolas (Duncan *et al.*, 2009).

Diferentemente de várias espécies de elasmobrânquios marinhos, as arraias de água doce mantêm-se hiperosmóticas em relação ao meio, nesse sentido, rios com elevadas concentrações de eletrólitos, como os de água branca do presente estudo, induzem a um maior transporte de sódio contra um gradiente químico pela enzima Na^+/K^+ -ATPase, impulsionando a captação iônica pelas brânquias e a reabsorção dos íons nos túbulos renais distais, mantendo o equilíbrio osmorregulatório (Duncan *et al.*, 2021).

A avaliação de ALT, AST, ALP e CK tem sido pouco explorada em pesquisas com arraias (Cain *et al.*, 2004; Ferreira *et al.*, 2010; Cusack *et al.*, 2016; Grant e Campbell, 2020; Morón-Elorza *et al.*, 2022a), principalmente em arraias de água doce (Brito *et al.*, 2015; Pronina *et al.*, 2022). Estas enzimas são intracelulares, portanto, o aumento significativo destes componentes no plasma pode ser um indicativo de ruptura celular e potencial necrose (Renshaw *et al.*, 2012). Neste trabalho, os valores dessas enzimas foram mais próximos aos observados nas arraias *R. undulata* (Morón-Elorza *et al.*, 2022a) e *R. bonasus* (Ferreira *et al.*, 2010) mantidas em aquários marinhos, do que aos relatados para as arraias dulcícolas *P. falkneri*, *P. motoro*, *P. scobina* e *P. orbigny* de ambiente natural no estado do Amapá, na Amazônia brasileira (Brito *et al.*, 2015). Embora diferentes fatores possam causar alterações nas concentrações enzimáticas, tais como diferença de espécie, dieta, fase de crescimento e condições fisiológicas (Otway, 2015), os valores elevados observados nos potamotrigoníneos *P. falkneri*, *P. motoro*, *P. scobina* e *P. orbigny* (Brito *et al.*, 2015) provavelmente podem ser uma consequência do apetrecho de pesca utilizado para captura destas arraias (espinhel), visto que a demora na captura pode causar estresse e, conseqüentemente, danos teciduais gerados ao organismo dos animais (Wells *et al.*, 1986; Cusack *et al.*, 2016). Os valores de CK relatados no presente estudo, assim como a alta variação intraespecífica, foram superiores aos relatados para tubarões (Harms *et al.*, 2002; Dove *et al.*, 2010; Persky *et al.*, 2012), porém são semelhantes aos observados em arraias *P. motoro* (Pronina *et al.*, 2022) e *R. undulata* (Morón-Elorza *et al.*, 2022a) mantidas em aquário. Os valores elevados de CK, bem como a correlação fortemente positiva observada entre CK-ALP de *P. orbigny*, podem estar relacionados com o aumento da fadiga muscular devido a tentativa de fuga do organismo no momento da captura com as redes de arrasto. Baixos valores plasmáticos de AST, ALT e ALP, como observado no presente estudo, são indicativos de força e estabilidade das membranas celulares de hepatócitos e cardiomiócitos (Pronina *et al.*, 2022).

Nos elasmobrânquios, são escassas as pesquisas visando o estabelecimento de valores hematológicos de referência (Harms *et al.*, 2002; Cain *et al.*, 2004; Otway, 2015; Morón-Elorza *et al.*, 2022a,b). Considerando as dificuldades de captura e os riscos envolvidos durante a

manipulação dos elasmobrânquios, os intervalos de referência para tubarões e arraias são calculados, geralmente, com uma quantidade relativamente pequena de indivíduos, ou seja, menos que 30 (Harms *et al.*, 2002; Cain *et al.*, 2004; Otway, 2015). No presente estudo, os intervalos de referência foram estabelecidos com base em uma amostragem de 92 indivíduos de *P. motoro* e 49 de *P. orbignyi*, gerando valores de referência mais confiáveis que podem ser usados para comparação destas espécies de arraias de água doce também em outros ambientes naturais.

Para concluir, as informações aqui geradas aumentam os dados sobre parâmetros hematológicos e bioquímico plasmáticos para espécies de elasmobrânquios de água doce. Porém, são ainda necessários estudos visando a caracterização de parâmetros sanguíneos de arraias de maior tamanho da região do baixo Rio Solimões, bem como de outras espécies de potamotrigoníneos provenientes de sistemas fluviais amazônicos ainda não estudados.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) pelo financiamento da pesquisa por meio do Programa Biodiversa (Edital 007/21, processo 01.02.016301.03250/2021-78) e do Programa Estratégico de Desenvolvimento do Setor Primário Amazonense (Edital 008/2021, processo 01.02.016301.03216/2021-01). MQCS agradece ao Instituto Federal do Amazonas (IFAM) pela liberação para cursar o doutorado. Em adição, ATO agradece à concessão da bolsa de produtividade em pesquisa e à bolsa de pós-doutorado sênior do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (processos 315713/2020-8 e 102455/2022-8).

REFERÊNCIAS

Andrade, J. C.; Oliveira, A. T.; Amazonas, M. G. F. M.; Galvan, D.; Tessaro, L.; Conte-Junior, C. A. (2024). Fingerprinting based on spectral reflectance and chemometrics – An analytical approach aimed at combating the illegal trade of stingray meat in the Amazon. *Food Chemistry*, 436: 137637. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137637>

Araújo, M. L. G. (1999). *Plano de Monitoramento de arraias de água Doce*. Convênio IBAMA-AM/ACEPOAM, 31p.

Aride, P. H. R.; Oliveira, A. M.; Ferreira, M. S.; Liebl, A. R. S.; Comassetto, L. E.; Ladislau, D. S.; Bassul, L. A.; Silva, B. R.; Mattos, D. C.; Lavander, H. D.; Souza, A. B.; Polese, M. F.; Ribeiro, M. W. S.; Castro, P. D. S.; Oliveira, A. T. (2021). Growth and hematological responses of tambaqui, *Colossoma macropomum* fed different levels of rice, *Oryza* spp. *Brazilian Journal of Biology*, 81: 962–968. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.232560>.

Arnold, J. E. (2005). Hematology of the sandbar shark, *Carcharhinus plumbeus*: Standardization of complete blood count techniques for elasmobranchs. *Veterinary Clinical Pathology*, 34: 115–123. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165x.2005.tb00023.x>

Boyd, E.; Tucker, C. S. (1992). *Water quality and pond soil analyses for aquaculture*. Auburn: Auburn University. 300p.

Brinn, R. P.; Marcon, J. L.; Gomes, D. M.; Abreu, L. C.; Baldisseroto, B. (2012). Stress responses of the endemic freshwater cururu stingray (*Potamotrygon cf. histrix*) during transportation in the Amazon region of the Rio Negro. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 162: 139–145. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpa.2011.07.004>

Brito, F. M. M.; Claudiano, G. S.; Yunis, J.; Mundim, A. V.; Tavares-Dias, M.; Viadanna, P. H. O.; Moraes, J. R. E.; Moraes, F. R. (2015). Hematology, biochemical profile and thyroid hormones of four species of freshwater stingrays of the genus *Potamotrygon*. *Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science*, 52: 249–256. <http://dx.doi.org/10.11606/issn.1678-4456.v52i3p249-256>

Cain, D. K.; Harms, C. A.; Segars A. (2004). Plasma biochemistry reference values of wild-caught southern stingrays (*Dasyatis americana*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 35: 471–476. <http://dx.doi.org/10.1638/03-107>

Carvalho, M. R. (2016). Neotropical Stingrays. Family Potamotrygonidae. In: Last, P.; White, W.; Carvalho, M.; Séret, B.; Stehmann, M.; Naylor, G. (Eds): Rays of the World. Australia: CSIRO Publishing, pp. 619–655.

Carvalho, M. R.; Loboda, T. S.; Silva, J. P. C. B. (2016). A new subfamily, Styracurinae, and new genus, *Styracura*, for *Himantura schmardae* (Werner, 1904) and *Himantura pacifica* (Beebe and Tee-Van, 1941) (Chondrichthyes: myliobatiformes). *Zootaxa*, 4175: 201–221. <http://dx.doi.org/10.11646/zootaxa.4175.3.1>

Castro, P. D. S.; Ladislau, D. S.; Ribeiro, M. W. S.; Lopes, A. C. C.; Lavander, H. D.; Bassul, L. A.; Mattos, D. C.; Liebl, A. R. S.; Aride, P. H. R.; Oliveira, A. T. (2021). Hematological parameters of three species of tucunarés (*Cichla* spp.) from Lake Balbina, Presidente Figueiredo, Amazonas. *Brazilian Journal of Biology*, 81: 62-68. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.219409>

Cusack, L.; Field, C. L.; Hoopes, L.; McDermott, A.; Clauss, T. (2016). Comparison of pre and postquarantine blood chemistry and hematology values from wild-caught Cownose rays (*Rhinoptera bonasus*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 47: 493–500. <https://doi.org/10.1638/2015-0267.1>

Dove, A.; Arnold, J.; Clauss, T. (2010). Blood cells and serum chemistry in the world's largest fish: the whale shark *Rhincodon typus*. *Aquatic Biology*, 9: 177–183. <https://doi.org/10.3354/ab00252>

Duncan, W. P.; Machado, R. N.; Fernandes, M. N. (2021). Environmentally-induced osmoregulation in Neotropical freshwater stingrays (Myliobatiformes: Potamotrygoninae) after

controlling for phylogeny. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 262: 111076. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2021.111076>

Duncan, W. P.; Costa, O. T. F.; Araújo, M. L. G.; Fernandes, M. N. (2009). Ionic regulation and Na⁺-K⁺-ATPase activity in gills and kidney of the freshwater *Paratrygon aiereba* living in white and blackwaters in the Amazon Basin. *Journal of Fish Biology*, 74: 956–960. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2008.02156.x>

Duncan, W. P.; Costa, O. T. F.; Sakuragui, M. M.; Fernandes, M. N. (2010). Functional morphology of the Gill in Amazonian freshwater stingrays (Chondrichthyes: Potamotrygonidae): implications for adaptation to freshwater. *Physiological and Biochemistry Zoology*, 83: 19–32. <https://doi.org/10.1086/605458>

Duncan, W. P.; Fernandes, M. N. (2010). Physicochemical characterization of the White, Black, and clearwater Rivers of the Amazon Basin and its implications on the distribution of freshwater stingrays (Chondrichthyes, Potamotrygonidae). *PanAmerican Journal of Aquatic Sciences*, 5: 454–464.

Ferreira, C. M.; Field, C. L.; Tuttle, A. D. (2010). Hematological and plasma biochemical parameters of aquarium-maintained cownose rays. *Journal of Aquatic Animal Health*, 22: 123–128. <http://dx.doi.org/10.1577/H09-048.1>

Fontenelle, J. P.; Lovejoy, N. R.; Kolmann, M.; Marques, F. P. L. (2021). Molecular phylogeny for the Neotropical freshwater stingrays (Myliobatiformes: Potamotrygoninae) reveals limitations of traditional taxonomy. *Biological Journal of the Linnean Society*, 134: 381–401. <https://doi.org/10.1093/biolinnean/blab090>

Friedrichs, K. R.; Harr, K. E.; Freeman, K. P.; Szladovits, B.; Walton, R. M.; Barnhart, K. F.; Blanco-Chavez, J. (2012). ASVCP reference interval guidelines: determination of de novo reference intervals in veterinary species and other related topics. *Veterinary Clinical Pathology*, 41: 441–453. <https://doi.org/10.1111/vcp.12006>

Grant, K.; Campbell, T. (2020). Hematology and plasma biochemistry value differences between acclimated and recently captive female southern stingrays, *Dasyatis americana*. *The Journal of Zoo and Aquarium Research*, 8: 59–66. <https://doi.org/10.19227/jzar.v8i1.254>

Harms, C.; Ross, T.; Segars, A. (2002). Plasma Biochemistry Reference Values of Wild Bonnethead Sharks, *Sphyrna tiburo*. *Veterinary Clinical Pathology*, 31: 111–115. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2002.tb00289.x>

IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. (2008). Instrução Normativa N°. 204/2008.

Jawad, L. A.; Al-Mukhtar, M. A.; Ahmed, H. K. (2004). The relationship between haematocrit and some biological parameters of the Indian shad, *Tenualosa ilisha* (Family Clupeidae). *Animal Biodiversity and Conservation*, 27: 47–52.

Kajimura M.; Walsh, P. J.; Mommsen, T. P.; Wood, C. M. (2006). The dogfish shark (*Squalus acanthias*) increases both hepatic and extrahepatic ornithine urea cycle enzyme activities for

nitrogen conservation after feeding. *Physiological and Biochemical Zoology*, 79: 602–13. <https://doi.org/10.1086/501060>

Lasso, C. A.; Rosa, R.; Morales-Betancourt, M. A.; Garrone-Neto, D.; Carvalho, M. (2016). Rayas de agua dulce (Potamotrygonidae) de Suramérica. Parte II: Colombia, Brasil, Perú, Bolivia, Paraguay, Uruguay y Argentina. Bogotá: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, 435p.

Lasso, C. A.; Rosa, R.; Sánchez-Duarte, P.; Morales-Betancourt, M. A.; Agudelo-Córdoba, E. (2013). Rayas de agua dulce (Potamotrygonidae) de Suramérica. Parte I. Colombia, Venezuela, Ecuador, Perú, Brasil, Guyana, Surinam y Guayana Francesa: diversidad, bioecología, uso y conservación. Bogotá: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, 368p.

Lima, C. L.; Morales-Gamba, R. D.; Malcher Neto, T. S.; Barcellos, J. F. M.; Heinzmann, B. M.; Schmidt, D.; Baldisserotto, B.; Marcon, J. L. (2021). Eugenol and Lippia alba essential oils as effective anesthetics for the Amazonian freshwater stingray *Potamotrygon wallacei* (Chondrichthyes, Potamotrygonidae). *Fish Physiology and Biochemistry*, 47: 2101–2120. <https://doi.org/10.1007/s10695-021-01029-1>

MMA – Ministério do Meio Ambiente. (2022). Portaria N° 148, de 7 de junho de 2022.

Morales-Gamba, R. D.; Araújo, M. L.G.; Barcellos, J. F.; Marcon, J. L. (2021). Follicular growth and sex steroids in adult females of the endemic Amazonian freshwater stingray *Potamotrygon wallacei* (Chondrichthyes, Potamotrygonidae). *Environmental Biology of Fishes*, 104: 1665–1672. <https://doi.org/10.1007/s10641-021-01191-8>

Morón-Elorza, P.; Rojo-Solis, C.; Steyrer, C.; Álvaro-Álvarez, T.; Valls-Torres, M.; Encinas, T.; García-Párraga, D. (2022b). Hematology and Plasma Chemistry Reference Values in Nursehound Shark (*Scyliorhinus Stellaris*) Maintained Under Human Care. *Frontiers in Veterinary Science*, 11: 909834. <https://dx.doi.org/10.3389/fvets.2022.909834>

Morón-Elorza, P.; Steyrer, C.; Rojo-Solís, C.; Álvaro-Álvarez, T.; Valls-Torres, M.; Encinas, T.; García-Párraga, D. (2022a). Hematology and plasma biochemistry reference values of juvenile undulate rays (*Raja undulata*) under human care. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 53: 504–514. <https://doi.org/10.1638/2021-0140>

Oliveira, A. T.; Lemos, J. R. G.; Santos, M. Q. C.; Pantoja-Lima, J.; Aride, P. H. R.; Araújo, M. L. G.; Tavares-Dias, M.; Marcon, J. L. (2021). Morphological, cytochemical and ultrastructural aspects of blood cells in freshwater stingray species in the middle Rio Negro basin of Amazonian Brazil. *Scientific Reports*, 11: 15685. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95183-4>

Oliveira, A. T.; Pantoja-Lima, J.; Aride, P. H. R.; Tavares-Dias, M.; Marcon, J. L. (2015). Fisiologia de arraias de água doce: subsídios para aplicabilidade na aquicultura. In: Tavares-Dias, M.; Mariano, W. S. (Eds): Aquicultura no Brasil: novas perspectivas. São Carlos: Pedro & João, v. 1, pp. 45-74.

Oliveira, A. T.; Rodrigues, P. A.; Ramos Filho, A. M.; Gomes, M. F. S.; Liebl, A. R. S.; Pinho, J. V.; Aride, P. H. R.; Conte-Junior, C. A. (2023). Levels of Total Mercury and Health Risk

Assessment of Consuming Freshwater Stingrays (Chondrichthyes: Potamotrygoninae) of the Brazilian Amazon. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 20: 6990. <https://doi.org/10.3390/ijerph20216990>

Oliveira, A. T.; Araújo, M. L. G.; Lemos, J. R. G.; Santos, M. Q. C.; Pantoja-Lima, J.; Aride, P. H. R.; Tavares-Dias, M.; Marcon, J. L. (2017). Ecophysiological interactions and water-related physicochemical parameters among freshwater stingrays. *Brazilian Journal of Biology*, 77: 616-621. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.01816>

Oliveira, A. T.; Lemos, J. R.; Santos, M. Q. C.; Araújo, M. L. G.; Tavares-Dias, M.; Marcon, J. L. (2012). Procedimentos de manuseio e coleta sanguínea em arraias de água doce. Macapá: Embrapa Amapá, 22p.

Oliveira, A. T.; Santos, M. Q. C.; Araújo, M. L. G.; Lemos, J. R. G.; Sales, R. S. A.; Pantoja-Lima, J.; Tavares-Dias, M.; Marcon, J. L. (2016). Hematological parameters of three freshwater stingray species (Chondrichthyes: Potamotrygonidae) in the middle Rio Negro, Amazonas state. *Biochemical Systematics and Ecology*, 69: 33-40. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2016.07.002>

Otway, N. M. (2015). Serum biochemical reference intervals for free-living Sand Tiger sharks (*Carcharias taurus*) from east Australian waters. *Veterinary Clinical Pathology*, 44: 262–274. <https://doi.org/10.1111/vcp.12254>

Pérez-Rojas, J. G.; Mejía-Falla, P. A.; Navia, A. F.; Tarazona, A. M.; Pardo-Carrasco, S. C. (2022). Hematology and blood biochemistry profile of the freshwater stingray *Potamotrygon magdalenae* as a tool for population assessment in artificial environments. *Brazilian Journal of Biology*, 82: e233780. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.233780>

Persky, M. 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: 842–851. <https://dx.doi.org/10.1638/2012-0002R1.1>

Pronina, G. I.; Orlov, A. M.; Meintser, I.V.; Mamykina, G. A. (2022). Components of Blood and Blood Cytochemical and Biochemical Characteristics of Three Cartilaginous Fish Species in Orders Orectolobiformes and Myliobatiformes. *Journal of Ichthyology*, 62: 1352–1360. <https://doi.org/10.1134/S0032945222060248>

Queiroz, M. M. A.; Horbe, A. M. C.; Seyler, P.; Moura, C. A. V. (2008). The Solimões river hydrochemistry between Manacapuru and Alvarães: Amazonas - Brazil. *Acta Amazonica*, 39: 943-952.

Rangel, B. R.; Rodrigues, A.; Moreira, R. G. (2021). Capture and handling stress in incidentally captured rays from small-scale fishing: A physiological approach. *Oecologia Australis*, 25: 190-196. <https://doi.org/10.4257/oeco.2021.2501.20>

Renshaw, G. M. C.; Kutek, A. K.; Grant, G. D.; Anoopkumar-Dukie, S. (2012). Forecasting elasmobranch survival following exposure to severe stressors. *Comparative Hematology in Marine Fish. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 162: 101–112. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2011.08.001>

Rosa, R. S.; Carvalho, M. R. (2016). Claves para la identificación de las rayas de agua Dulce (Potamotrygonidae). In: Lasso, C. A.; Rosa, R.; Morales-Betancourt, M.A.; Garrone-Neto, D.; Carvalho, M. R. (Eds.): Rayas de agua dulce (Potamotrygonidae) de Suramerica. Parte II: Colombia, Brasil, Perú, Bolivia, Paraguay, Uruguay y Argentina. Serie Recursos Hidrobiológicos y Pesqueros Continentales de Colombia, XV. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Bogotá, pp 105–125.

Santos, J. M.; Ribeiro Neto, D. G.; Marques, E. E.; Seibert, C. S. (2020). Adaptações fisiológicas de arraias *Potamotrygon rex* (Potamotrygonidae) frente às alterações sazonais no ambiente. *Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais*, 11: 409–423. <https://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2020.007.0033>

Scarponi, V.; Gennari, E.; Hughes, W. (2021). Physiological response to capture stress in endemic Southern African catsharks (Family Scyliorhinidae). *Journal of Fish Biology*, 99: 186–196. <https://doi.org/10.1111/jfb.14710>

Semeniuk, C. A.; Bourgeon, S.; Smith, S. L.; Rothley, K. D. (2009). Hematological differences between stingrays at tourist and non-visited sites suggest physiological costs of wildlife tourism. *Biological Conservation*, 142: 1818–1829. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocon.2009.03.022>

Shibuya, A.; Araújo, M. L. G.; Zuanon, J. A. (2009). Analysis of stomach contents of freshwater stingrays (Elasmobranchii, Potamotrygonidae) from the middle Negro River, Amazonas, Brazil. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 4: 466–475.

Shibuya, A. (2022). A review of the ecological role of the Neotropical freshwater stingrays (Chondrichthyes: Potamotrygoninae). *Food Webs*, 32: e00244. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fooweb.2022.e00244>

Sioli, H. (1984). The Amazon and its main effluents: hydrography, morphology of the river courses, and river types. In: Sioli, H. (Ed): The Amazon, Limnology and landscape ecology of a mighty tropical river and its basin. Dr. W. Junk Publishers, Dordrecht, pp. 127–166.

Skomal, G. B.; Mandelman, J. W. (2012). The physiological response to anthropogenic stressors in marine elasmobranch fishes: A review with a focus on the secondary response. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 162: 146–155 <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpa.2011.10.002>

Tavares-Dias, M.; Moraes, F. R. (2006). Hematological parameters for the *Brycon orbignyanus*, 1850 (Osteichthyes: Characidae) intensively bred. *Hidrobiológica*, 16: 273–276.

Thorson, T. B.; Cowan, C. M.; Watson, D. E. (1967). *Potamotrygon* spp.: elasmobranchs with low urea content. *Science*, 158: 375–377. <https://doi.org/10.1126/science.158.3799.375>

Verdouw, H.; Van Eched, C. J. A.; Dekkers, E. M. J. (1978). Ammonia determination based on indophenol formation with sodium silicylate. *Water Research*, 12: 397–402.

Walsh, C. J.; Luer, C. A. (2004). Elasmobranch hematology: identification of cell types and practical applications. In: Smith, M.; Warmolts, D.; Thoney, D.; Hueter, R. (Eds): The

Elasmobranch Husbandry Manual: Captive Care of Sharks, Rays and their Relatives. Ohio Biological Survey, Columbus, Ohio, pp. 307–323.

Wells, R. M. G.; McIntyre, R.H.; Morgan, A. K.; Davie, P. S. (1986). Physiological stress responses in big gamefish after capture: Observations on plasma chemistry and blood factors. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 84: 565–571. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(86\)90366-X](https://doi.org/10.1016/0300-9629(86)90366-X)

Wilhelm Filho, D.; Eble, G. J.; Kassner, G.; Caprario, F. X.; Dafret, A. L.; Ohira, M. (1992). Comparative Hematology in Marine Fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 102: 311-321. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(92\)90141-C](https://doi.org/10.1016/0300-9629(92)90141-C)

Wood, C. M.; Matsuo, A. Y. O.; Gonzalez, R. J.; Wilson, R. W.; Patrick, M. L.; Val, A. L. (2002). Mechanisms of ion transport in *Potamotrygon*, a stenohaline freshwater elasmobranch native to the ion-poor blackwaters of the Rio Negro. *The Journal of Experimental Biology*, 205: 3039-3054. <https://doi.org/10.1242/jeb.205.19.3039>

Yokota, L.; Lessa, R. P. (2006). A nursery area for sharks and rays in northeastern Brazil. *Environmental Biology of Fishes*, 75: 349–360. <https://doi.org/10.1007/s10641-006-0038-9>

Yokota, L.; Lessa, R. P. (2007). Reproductive biology of three ray species: *Gymnura micrura* (Bloch & Schneider, 1801), *Dasyatis guttata* (Bloch & Schneider, 1801) and *Dasyatis marianae* (Gomes, Rosa & Gadig, 2000), caught by artisanal fisheries in Northeastern Brazil. *Cahiers de Biologie Marine*, 48: 249-257.

CAPÍTULO II

MORFOLOGIA E MORFOMETRIA DAS CÉLULAS SANGUÍNEAS DE DUAS ESPÉCIES DE ARRAIAS DE ÁGUA DOCE (CHONDRICHTHYES: POTAMOTRYGONINAE) DO BAIXO RIO SOLIMÕES, NA AMAZÔNIA BRASILEIRA

Marcio Quara de Carvalho Santos^{1,2}, Flávia Dayane Felix Farias¹, Paulo Henrique Rocha Aride³, Adriano Teixeira de Oliveira^{1,3}

¹Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros (PPGCARP), Faculdade de Ciências Agrárias (FCA), Universidade Federal do Amazonas (UFAM), AM, Brasil. Avenida Rodrigo Otávio, 6200 – Coroado, CEP: 69080-900. Manaus, Amazonas.

²Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas (IFAM), Campus Coari, AM, Brasil. Estrada Coari-Itapéua, s/n – Itamarati, CEP: 69460-000. Coari, Amazonas.

³Laboratório de Morfofisiologia Animal, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas (IFAM), Campus Manaus Centro, AM, Brasil. Avenida Sete de Setembro, 1975 – Centro, CEP: 69020-120. Manaus, Amazonas.

RESUMO: A avaliação citomorfológica do sangue periférico fornece informações sobre o estado de saúde dos animais, além de serem indicadores de contaminação ambiental. No entanto, dados relativos ao tamanho e formato das células sanguíneas dos elasmobrânquios são limitados. O objetivo deste trabalho foi determinar as características morfológicas e morfométricas das células sanguíneas de *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbignyi*. As arraias foram capturadas em ambientes de água branca na região do baixo Rio Solimões, estado do Amazonas, Brasil, e o sangue foi obtido através da punção da artéria branquial utilizando seringas com EDTA 10%. Para as análises morfológicas e morfométricas das células foram confeccionadas extensões sanguíneas coradas com May Grunwald-Giemsa-Wright. Foram identificados eritrócitos, eritroblastos, trombócitos, linfócitos, monócitos, heterófilos, eosinófilos e basófilos no sangue de ambas as espécies de arraias. Não foram encontrados indícios de anormalidades nos eritrócitos e nas características morfológicas das células sanguíneas, as quais foram similares às descritas para outras espécies de arraias de água doce. Apesar do formato semelhante, o tamanho dos eritrócitos, monócitos e heterófilos foram diferentes entre ambas as espécies de arraias. As informações deste estudo auxiliam o

desenvolvimento de biomarcadores de contaminação aquática, além de servirem para comparação destas espécies de arraias de água doce em outros ambientes, bem como para outras espécies de arraias.

Palavras-chave: arraias, eritrócitos, leucócitos, morfologia, morfometria, trombócitos

1. INTRODUÇÃO

A avaliação qualitativa e quantitativa das células sanguíneas constitui uma das maneiras mais elementares para avaliar o estado de saúde dos animais (Arnold, 2005). Em peixes, a quantificação de eritrócitos e trombócitos, bem como a contagem diferencial de leucócitos, são consideradas práticas rotineiras para o diagnóstico de processos patológicos (Tavares-Dias e Barcellos, 2005; Dove *et al.*, 2010; Brito *et al.*, 2015; Oliveira *et al.*, 2016; Castro *et al.*, 2021; Pérez-Rojas *et al.*, 2022). Porém, estudos sobre a caracterização morfológica e morfométrica das células sanguíneas de arraias de água doce são menos frequentes, resultando em escassez de informações para várias espécies amazônicas (Oliveira *et al.*, 2021).

Além de serem indicadores de distúrbios sanguíneos, como por exemplo, processos anemiantes (Stacy *et al.*, 2011), as alterações no tamanho e formato celular, bem como anormalidades nucleares, também são úteis em pesquisas toxicológicas e de monitoramento ambiental, visto que algumas mudanças morfológicas são bioindicadoras de exposição à poluentes genotóxicos e metais pesados (Witeska *et al.*, 2010; Kumar *et al.*, 2016; Imsonpang *et al.*, 2024). No entanto, para que tais alterações sejam interpretadas corretamente, são necessários estudos de descrições citomorfológicas sanguíneas de animais saudáveis em seu habitat natural (Walsh e Luer, 2004).

Em mamíferos, as células do sangue apresentam funções definidas e são de fácil identificação, pois possuem características morfológicas bem estabelecidas (Canfield, 1998; Stacy *et al.*, 2011). Contudo, em vertebrados não mamíferos, o papel funcional e a identificação celular, principalmente das populações leucocitárias, ainda são controversos. A inconsistência na classificação das células sanguíneas ocorre não somente devido à ausência de uma padronização nas metodologias e colorações utilizadas, mas principalmente, pela falta de conhecimento sobre as linhagens celulares destes animais (Claver e Quaglia, 2009). Apesar dos diversos estudos investigando os aspectos morfológicos e morfométricos das células sanguíneas de várias espécies (Aragort *et al.*, 2005; Old e Huveneers, 2006; Pistol *et al.*, 2007; Dove *et al.*, 2010; Gallo *et al.*, 2015; Gutiérrez-Cervantes *et al.*, 2022), essas informações são escassas

principalmente para as espécies de arraias da subfamília Potamotrygoninae (Pádua *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2021).

A subfamília Potamotrygoninae é composta por espécies de arraias adaptadas à vida exclusivamente em ambientes de água doce (Duncan *et al.*, 2010), onde exercem papel ecológico de mesopredadores com baixo risco de predação (Shibuya, 2022). Além de representarem um importante componente da biodiversidade amazônica, espécies como *Potamotrygon motoro* (Muller & Henle, 1841) e *Potamotrygon orbignyi* (Castelnau, 1855) despertaram o interesse do mercado internacional de elasmobrânquios ornamentais, apresentando elevada importância socioeconômica para a região amazônica (Oliveira *et al.*, 2016).

Este estudo teve como objetivo caracterizar a morfologia e morfometria das células sanguíneas de *P. motoro* e *P. orbignyi* do baixo Rio Solimões, estado do Amazonas, Brasil.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Ética animal

As arraias *P. motoro* e *P. orbignyi* foram coletadas sob licença de captura de animais silvestres para atividades com finalidades científicas emitida pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) (Autorização SISBIO/ICMBio: 41350-6) e todos os procedimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas (2019/010.02.0905), de acordo com as diretrizes do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

2.2 Captura dos animais e coleta sanguínea

As arraias *P. motoro* e *P. orbignyi* foram capturadas durante o período de novembro/2022 a fevereiro/2023, em praias de água branca na região do baixo rio Solimões, Amazonas, Brasil (coordenadas geográficas: 03°17'38.4"S e 60°34'40.8"W; 03°33'22.9"S e 60°28'28.8"W; 03°18'48.2"S e 60°11'03.8"W). Os locais de captura apresentaram as seguintes características físicas e químicas da água (Média ± DP): pH: 6,3 ± 0,2, O₂ dissolvido: 4,2 ± 0,5 mg L⁻¹, temperatura: 30,6 ± 1,1 °C, condutividade elétrica: 91,8 ± 7,4 µS cm⁻¹, alcalinidade: 54,2 ± 7,9 mg L⁻¹, dureza total: 43,4 ± 6,6 mg L⁻¹, nitrito: 0,02 ± 0,01 mg L⁻¹ e amônia total: 0,10 ± 0,04 mg L⁻¹.

Foram capturados 30 espécimes de *P. motoro* e 30 de *P. orbignyi*, de ambos os sexos, com seguintes dados biométricos (média \pm DP): 23,0 \pm 2,7 cm de largura de disco, 39,4 \pm 4,5 cm de comprimento total e 628,5 \pm 186,8 g de peso corporal; 23,1 \pm 2,7 cm de largura de disco, 40,3 \pm 5,6 cm de comprimento total e 636,1 \pm 205,9 g de peso corporal, respectivamente. As coletas foram realizadas no período noturno com auxílio de rede de arrasto, sendo os animais anestesiados com solução de benzocaína (1:20,000) imediatamente após a captura. O sangue foi obtido por punção da artéria branquial utilizando seringas contendo EDTA 10% e destinado à confecção de extensões sanguíneas. Os animais foram marcados e, após a recuperação da anestesia foram devolvidos aos locais de captura.

2.3 Análises morfométricas e morfológicas das células sanguíneas

Para as análises morfológicas e morfométricas dos eritrócitos, trombócitos e leucócitos foram feitas extensões sanguíneas coradas com uma combinação de May Grunwald-Giemsa-Wright (MGGW) (Tavares-Dias e Moraes, 2003). Todas as extensões sanguíneas foram analisadas em microscópio óptico (Bioptika B60) com câmera acoplada. Para as análises morfométricas foram mensuradas a área total da célula (μm^2), o maior e menor diâmetro da célula e do núcleo (μm), bem como a área nuclear (μm^2). A área citoplasmática (μm^2) foi obtida pela diferença entre a área total e a área do núcleo. As medições foram determinadas com auxílio do software de análise de imagens Mosaic 2.2.1 (Tucson Photonics Co., China). Todos os tipos celulares foram analisados e identificados de acordo com a presença ou não de grânulos no citoplasma e outras características citoplasmáticas. Os eritrócitos também foram analisados quanto à ocorrência de anomalias eritrocitárias. As identificações e descrições morfológicas foram realizadas com base nos estudos de Arnold (2005), Claver e Quaglia (2009) e Oliveira *et al.* (2021).

2.4 Análises estatísticas

Todos os dados morfométricos foram inicialmente submetidos aos testes de homocedasticidade de Levene e normalidade de Shapiro-Wilk. Como os dados não atenderam às premissas dos testes paramétricos, foi utilizado teste de Mann-Whitney (U) para a comparação de cada variável morfométrica entre *P. motoro* e *P. orbignyi*. A comparação entre a área total das células sanguíneas de cada espécie de arraia foi feita usando o teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste a posteriori de Dunn. Todas as análises foram realizadas a 5% de significância, com auxílio do software Statistica, versão 10.0 (StatSoft, Inc., EUA).

3. RESULTADOS

3.1 Análises morfométricas das células sanguíneas das espécies de arraias

Nas extensões sanguíneas de *P. motoro* e *P. orbigny* foram identificados oito tipos celulares: eritrócitos, eritroblastos, trombócitos, linfócitos, monócitos, heterófilos, eosinófilos e basófilos. Os dados morfométricos das células sanguíneas de ambas as espécies estão apresentados na Tabela 1. Os eritroblastos, trombócitos, linfócitos, eosinófilos e basófilos apresentaram tamanhos similares ($p>0,05$) entre as duas espécies de arraias. Os monócitos e heterófilos de *P. orbigny* foram significativamente menores ($p<0,05$), enquanto os eritrócitos apresentaram valores significativamente maiores ($p<0,05$) de diâmetro menor, área citoplasmática e área celular em comparação aos eritrócitos de *P. motoro*.

A comparação entre a área total dos tipos celulares encontrados no sangue periférico de *P. motoro* e *P. orbigny* estão apresentados na Figura 1. Eritrócitos, monócitos e heterófilos foram as células de maior tamanho em *P. motoro*, porém em *P. orbigny*, os eritrócitos foram o tipo celular com maior área total, seguido pelos eritroblastos e eosinófilos. Trombócitos, linfócitos e basófilos foram as menores células em ambas as espécies.

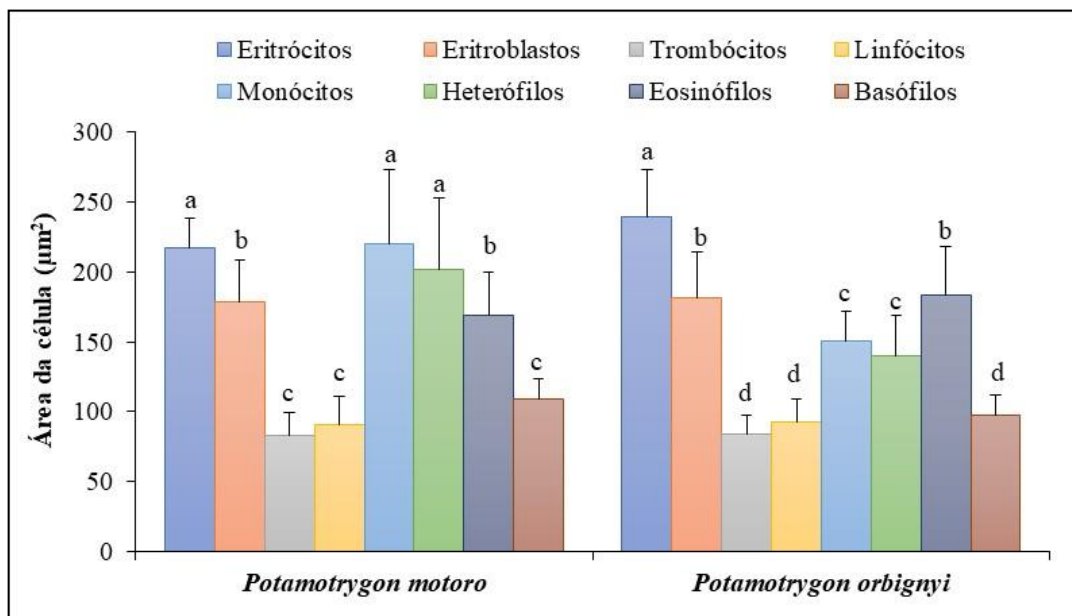


Figura 1. Comparação da área celular (μm^2) entre as células sanguíneas de *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbigny* provenientes da região do baixo Rio Solimões, Amazonas, Brasil. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p<0,05$) entre os tipos celulares de cada espécie pelo teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn.

Tabela 1. Parâmetros biométricos (média \pm desvio padrão) das células sanguíneas de *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbignyi* do baixo Rio Solimões, estado do Amazonas, Brasil. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as espécies para um mesmo parâmetro pelo teste de Mann-Whitney.

Tipos Celulares	Espécies	Célula			Núcleo			AC (μm^2)
		Diâmetro maior (μm)	Diâmetro menor (μm)	Área total (μm^2)	Diâmetro maior (μm)	Diâmetro menor (μm)	Área do núcleo (μm^2)	
Eritrócitos *	<i>P. motoro</i>	19,7 \pm 1,4	13,9 \pm 1,0 ^a	217,6 \pm 20,5 ^a	7,1 \pm 0,5	4,9 \pm 0,6	28,7 \pm 2,7	189,0 \pm 19,3 ^a
	<i>P. orbignyi</i>	20,1 \pm 1,2	15,1 \pm 1,4 ^b	239,2 \pm 34,3 ^b	7,1 \pm 0,5	4,8 \pm 0,5	28,5 \pm 2,7	210,8 \pm 32,4 ^b
Eritroblastos **	<i>P. motoro</i>	17,2 \pm 1,3	12,9 \pm 1,4	178,5 \pm 30,1	10,0 \pm 0,9	8,3 \pm 0,7	69,0 \pm 12,0	109,4 \pm 22,3
	<i>P. orbignyi</i>	17,3 \pm 1,5	12,9 \pm 1,5	181,1 \pm 33,0	10,0 \pm 1,1	8,3 \pm 0,8	68,5 \pm 15,3	112,5 \pm 22,0
Trombócitos *	<i>P. motoro</i>	18,6 \pm 2,6	7,1 \pm 1,4	82,7 \pm 16,5	10,1 \pm 1,2	5,4 \pm 1,1	45,7 \pm 11,8	37,0 \pm 10,6
	<i>P. orbignyi</i>	17,1 \pm 2,8	7,4 \pm 1,0	84,0 \pm 13,8	9,8 \pm 1,3	5,7 \pm 1,1	49,2 \pm 14,7	34,8 \pm 7,7
Linfócitos *	<i>P. motoro</i>	11,2 \pm 1,7	9,4 \pm 1,6	90,8 \pm 20,3	9,0 \pm 1,2	7,9 \pm 1,5	61,6 \pm 13,8	29,2 \pm 10,5
	<i>P. orbignyi</i>	11,7 \pm 1,3	10,0 \pm 1,3	92,4 \pm 16,4	9,2 \pm 1,1	7,8 \pm 1,0	60,9 \pm 12,0	31,5 \pm 7,2
Monócitos *	<i>P. motoro</i>	19,7 \pm 3,3 ^a	14,2 \pm 2,3 ^a	220,1 \pm 52,8 ^a	ND	ND	86,2 \pm 17,7 ^a	133,9 \pm 41,8 ^a
	<i>P. orbignyi</i>	14,6 \pm 1,2 ^b	12,9 \pm 1,3 ^b	150,5 \pm 21,0 ^b	ND	ND	67,9 \pm 11,9 ^b	82,6 \pm 16,0 ^b
Heterófilos **	<i>P. motoro</i>	17,2 \pm 2,6 ^a	14,8 \pm 2,3 ^a	202,2 \pm 50,4 ^a	ND	ND	ND	ND
	<i>P. orbignyi</i>	13,6 \pm 1,7 ^b	12,1 \pm 1,4 ^b	131,6 \pm 29,8 ^b	ND	ND	ND	ND
Eosinófilos ***	<i>P. motoro</i>	15,6 \pm 1,9	13,8 \pm 1,4	171,2 \pm 34,6	ND	ND	ND	ND
	<i>P. orbignyi</i>	16,1 \pm 2,0	14,2 \pm 1,4	183,4 \pm 34,6	ND	ND	ND	ND
Basófilos ***	<i>P. motoro</i>	13,0 \pm 1,6	10,8 \pm 1,4	108,1 \pm 14,4	ND	ND	ND	ND
	<i>P. orbignyi</i>	12,6 \pm 1,0	10,4 \pm 1,0	99,8 \pm 14,9	ND	ND	ND	ND

AC, área citoplasmática; ND, não determinado.

* indica 100 células mensuradas; ** indica 50 células mensuradas; *** indica 25 células mensuradas.

3.2 Características morfológicas das células sanguíneas das espécies de arraias

Não foram observadas características morfológicas distintas entre as células sanguíneas de *P. motoro* e *P. orbignyi*, ou entre machos e fêmeas de cada espécie. Os eritrócitos (Figura 2-III, IV) maduros apresentaram tamanho, forma e coloração homogênea. O formato da célula foi

tipicamente oval, sendo essa a maior célula no sangue periférico das duas espécies de arraiais (Figura 01). O núcleo apresentou-se posicionado no centro da célula, com formato alongado e polos arredondados. No interior do núcleo dos eritrócitos foi observada cromatina densa e com coloração basofílica, variando do azul ao roxo escuro. Não foram observadas anomalias eritrocitárias. Eventualmente foram encontrados eritrócitos infectados por gametócitos de um hemoparasito intraeritrocitário da família Haemogregarinidae, com o núcleo deslocado lateralmente (Figura 2-III). O citoplasma foi abundante e hialino, com coloração azul claro.

Os eritroblastos foram significativamente menores em comparação aos eritrócitos para ambas as espécies (Tabela 1), apresentando formato de oval a circular, com citoplasma menos abundante e de coloração basofílica ou hialina e núcleo com cromatina frouxa localizado no centro da célula (Figura 2- III).

Os trombócitos (Figura 2- I, IV) foram as menores células sanguíneas em ambas as espécies, juntamente com os linfócitos e basófilos (Tabela 1), apresentando formato variando de elíptico a fusiforme. O citoplasma foi escasso, geralmente restrito aos polos da célula, sem presença de grânulos e levemente acidofílico com coloração hialina ou rosa claro. O núcleo foi elíptico, acompanhando o formato da célula, de cor basofílica e cromatina densa.

Os linfócitos (Figura 2- I, V) apresentaram formato variando de circular a irregular, com citoplasma escasso e basofílico, variando de azul claro a azul escuro. O núcleo é basofílico, ocupando a maior parte do citoplasma e acompanhando o formato da célula, com cromatina frouxa e pequenas áreas de cromatina condensada. Eventualmente, foram observadas projeções citoplasmáticas e a presença de vacúolos.

Os monócitos (Figura 2- I, VI) foram morfometricamente menores em *P. orbigny* (Tabela 1), no entanto, não foram observadas distinções morfológicas entre as duas espécies de arraiais. O formato é volumoso, predominantemente ovalado, com citoplasma abundante e levemente basofílico, com a presença ocasional de vacúolos citoplasmáticos de tamanhos variados. O núcleo é excêntrico, com coloração roxa, largo e com formato variando de irregular a reniforme, com a presença de cromatina frouxa.

Em relação aos leucócitos granulócitos, foram identificados três tipos celulares: heterófilos, eosinófilos e basófilos. Os heterófilos (Figura 2- I, II, IV) foram células de grande tamanho, apresentando a mesma área celular que os eritrócitos em *P. motoro*, mas sendo apenas o segundo maior granulócito em *P. orbigny* (Figura 1). O formato da célula foi arredondado, variando de circular a oval, com citoplasma preenchido por grânulos fusiformes de coloração acidofílica e basofílica. O núcleo, geralmente encoberto pelos grânulos, apresentou coloração

variando de azul claro a azul escuro, com disposição excêntrica, formato irregular ou segmentado, e cromatina densa.

Os eosinófilos (Figura 2- II, VI) apresentaram formato variando de circular a oval. O citoplasma foi abundante e preenchido por grânulos circulares acidofílicos com coloração alaranjada. O núcleo, geralmente encoberto pelos grânulos citoplasmáticos, apresentou formato irregular e disposição excêntrica.

Os basófilos (Figura 2- II, V) foram os menores granulócitos para ambas as espécies (Figura 1). O formato foi predominantemente esférico, com citoplasma abundante e preenchido com grânulos esféricos e coloração fortemente basofílica e tamanhos variados. O núcleo foi circular, excêntrico e encoberto pelos grânulos citoplasmáticos, dificultando a visualização.

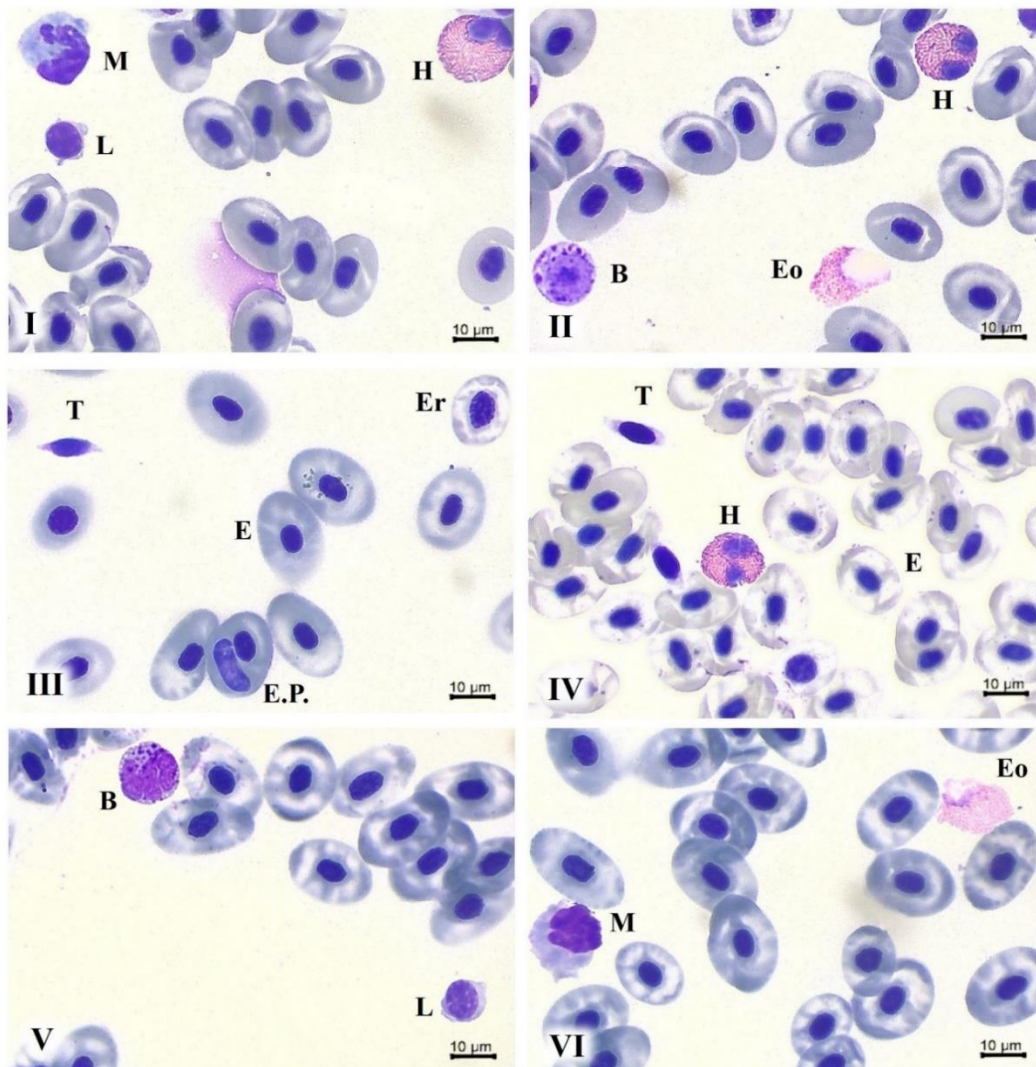


Figura 2. Células sanguíneas de *Potamotrygon motoro* (I, II, III) e *Potamotrygon orbignyi* (IV, V, VI) coradas com May Grünwald-Giemsa-Wright. Eritrócito (E), Eritroblasto (Er), Eritrócito parasitado com núcleo deslocado pelo hemoparasito (E.P.), Trombócito (T), Monócito (M), Linfócito (L), Heterófilo (H), Eosinófilo (Eo), Basófilo (B). Barra = 10 µm.

4. DISCUSSÃO

A avaliação citomorfológica do sangue periférico pode fornecer informações não somente sobre a demanda metabólica de oxigênio, hemostasia e funcionamento do sistema imunológico de um indivíduo ou de uma população (Stacy *et al.*, 2011), mas também pode indicar condições ambientais (Ergene *et al.*, 2007). A ocorrência de anomalias eritrocitárias tais como núcleo irregular, vacuolização, células binucleadas e núcleos entalhados são indicadores da presença de substâncias clastogênicas na água, podendo revelar ambientes aquáticos altamente poluídos (Ergene *et al.*, 2007; Strunjak-Perovic *et al.*, 2009; Witeska *et al.*, 2010; Azevedo *et al.*, 2012; Parrino *et al.*, 2018). No presente estudo, não foram observadas tais anomalias eritrocitárias em *P. motoro* e *P. orbigny*, indicando que a região do baixo Rio Solimões, no estado do Amazonas, não apresenta poluentes genotóxicos ou que a capacidade depurativa da região é elevada devido à maior diluição dos poluentes como resultado do processo de circulação da água (Almeida *et al.*, 2021).

Em relação às análises morfológicas das células sanguíneas, a ausência de uma padronização metodológica tem gerado resultados inconsistentes para vertebrados não mamíferos (Claver e Quaglia, 2009), incluindo arraias de água doce. A utilização de diferentes corantes tipo-Romanovisky como Leishman, Wright, May-Grunwald e Giemsa, bem como as suas diferentes combinações, tem ocasionado resultados distintos, podendo levar a erros na identificação de um tipo celular (Oliveira *et al.*, 2021). Outro fator igualmente desafiador, especialmente para elasmobrânquios, é a presença de células imaturas no sangue periférico, uma vez que a replicação, assim como a maturação dos eritrócitos ocorre na circulação sanguínea desses organismos (Walsh e Luer, 2004). Nesse sentido, estágios imaturos dos eritrócitos como rubríctos, metarubríctos e reticulócitos, além de eritrócitos exibindo anisocitose e policromasia, podem ser erroneamente identificados como leucócitos imaturos, linfócitos ou trombócitos (Satake *et al.*, 2009; Stacy *et al.*, 2011).

Em arraias, os eritrócitos são nucleados, assim como nos demais vertebrados não mamíferos (Claver e Quaglia, 2009). No presente estudo, os eritrócitos de ambas as espécies de arraias apresentaram formato similar aos observados em *P. motoro* de diferentes bacias hidrográficas (Pádua *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2021), *Potamotrygon wallacei*, *Paratrygon aireba* (Oliveira *et al.*, 2021) e *Potamotrygon magdalenae* (Pérez-Rojas *et al.*, 2022). Alterações no tamanho e formato dos eritrócitos geralmente são respostas fisiológicas adaptativas às condições ambientais, podendo ser indicadores de anemia, estresse oxidativo e exposição à agentes genotóxicos (Fazio, 2019). Considerando ainda que, além da função primária de transporte de oxigênio, os eritrócitos de peixes expressam genes e têm indícios de

respostas imunológicas, deformações eritrocitárias em abundância podem indicar comprometimento do sistema imunológico dos animais (Shen *et al.*, 2018).

As análises morfométricas revelaram que os eritrócitos foram maiores em *P. orbignyi* que em *P. motoro*. Uma vez que o método de captura das arraias do presente estudo foi padronizado e que ambas as espécies estavam na mesma faixa de tamanho, essa diferença no tamanho dos eritrócitos pode estar relacionada à variações interespecíficas (Stacy *et al.*, 2011). Porém, os eritrócitos de *P. motoro*, *P. wallacei* e *P. aiereba* da bacia do médio Rio Negro, apresentaram características morfométricas semelhantes entre si (Oliveira *et al.*, 2021), no entanto, *P. motoro* oriunda da bacia do Paraná, região sudeste do Brasil, apresentou os menores valores de tamanho de eritócitos relatados na literatura para potamotrigoníneos (Pádua *et al.*, 2010). O tamanho relativamente grande dos eritrócitos (19-20 μm de diâmetro maior) de arraias do presente estudo foi consistente com o maior tamanho observado em animais ectotérmicos (peixes, anfíbios e répteis) em comparação com animais endotérmicos (aves e mamíferos) (Lewis, 1996). Sob o aspecto evolutivo, eritrócitos maduros nucleados são característicos de vertebrados inferiores, indicando menor demanda de oxigênio (Claver e Quaglia, 2009). Por outro lado, a perda de núcleo nos eritrócitos em mamíferos possibilita trocas gasosas mais eficientes e maior capacidade de transporte de oxigênio (Anderson *et al.*, 2018).

Aproximadamente 1% dos eritrócitos circulantes pode ser composto por eritrócitos imaturos (Campbell, 2012). Neste estudo, os eritroblastos foram menores, com formato mais arredondado e núcleos maiores em comparação aos eritrócitos maduros, corroborando as informações presentes na literatura para elasmobrânquios (Old e Huveneers, 2006; Claver e Quaglia, 2009; Pádua *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2021). A razão núcleo/citoplasma é muito maior nos eritroblastos, mas decresce à medida que as células amadurecem, permitindo o aumento gradativo da hemoglobina no citoplasma dos eritrócitos (Grant, 2015). O aumento do número de eritroblastos no sangue circulante representa um aumento na eritropoiese, podendo indicar um mecanismo compensatório mediante um quadro anêmico acentuado ou algum processo patológico (Satake *et al.*, 2009).

No presente estudo, foi detectada a presença de gametócitos de parasitos intracelulares em *P. orbignyi* e *P. motoro*, alterando, portanto, o tamanho e formato dos eritrócitos. Resultados semelhantes foram relatados em *P. aiereba*, *P. motoro* e *P. wallacei* da bacia do Rio Negro, onde foram encontrados gametócitos de hemoparasitos do gênero *Cyrtilia* (Magro *et al.*, 2016), e em *P. orbignyi* e *P. scorbina* no Rio Piririm, no estado do Amapá, com a presença de eritrócitos parasitados por *Haemogregarina* sp. (Brito *et al.*, 2015). Oliveira *et al.* (2017) também registraram a ocorrência de gametócitos de *Cyrtilia* sp. deslocando lateralmente o

núcleo de eritrócitos de *P. wallacei* da região do médio rio Negro e verificaram que a sazonalidade exerceu influência na ocorrência dos hemoparasitos, sendo a seca do rio o período de maior susceptibilidade à infestação.

Os trombócitos de elasmobrânquios atuam no processo de hemostasia, pois possuem fatores plaquetários e sistema canalicular conectado à superfície (Daimon e Uchida, 1985; Pica *et al.*, 1990), sendo considerados análogos às plaquetas dos mamíferos (Walsh e Luer, 2004). Atividades fagocitárias em peixes também foram atribuídas à este tipo celular (Stokes e Firkin, 1971; Kollner *et al.*, 2004; Passantino *et al.*, 2005; Tavares-Dias e Moraes, 2007; Tavares-Dias e Oliveira, 2009). Os trombócitos de *P. orbignyi* e *P. motoro* do presente estudo apresentaram características morfológicas similares às observadas em *P. wallacei*, *P. motoro*, *P. aiereba* e *P. magdalenae* (Pádua *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2021; Pérez-Rojas *et al.*, 2022) e em elasmobrânquios marinhos (Valenzuela *et al.*, 2003; Old e Huvneers, 2006; Dove *et al.*, 2010; Morón-Elorza *et al.*, 2022a). Há descrições na literatura sobre um segundo tipo de trombócito contendo finos grânulos em forma de bastonetes no citoplasma de várias espécies de tubarões da ordem Carcharhiniformes (Stokes e Firkin, 1971; Morrow e Pulsford, 1980; Arnold, 2005; Persky *et al.*, 2012; Morón-Elorza *et al.*, 2022b), no entanto, ainda não existem registros deste tipo celular nas arraias de água doce. O papel específico dos trombócitos granulados em elasmobrânquios permanece desconhecido (Arnold e Delaune, 2022).

De modo semelhante aos eritrócitos, os leucócitos também apresentam diferentes estágios de maturação no sangue circulante, o que pode dificultar a identificação destes tipos celulares (Walsh e Luer, 2004). Devido às variações no tamanho e forma de monócitos pequenos e linfócitos grandes, esses podem ser facilmente confundidos (DaMatta *et al.*, 2009). Pequenos, médios e grandes linfócitos com diferentes graus de maturação, podem ser encontrados no sangue circulante de elasmobrânquios (Walsh e Luer, 2004). Além disso, os linfócitos reativos podem apresentar tamanho de 2 a 3 vezes maior que os linfócitos não ativados (Clauss *et al.*, 2008), contribuindo para a grande variação observada nesta população de leucócitos. Em geral, linfócitos são os leucócitos mais abundantes na circulação de espécies de elasmobrânquios saudáveis, pois desempenham papel importante na imunidade mediada por células e na produção de anticorpos (Walsh e Luer, 2004; Claver e Quaglia, 2009). No presente estudo, os linfócitos apresentaram formato variando de circular a irregular e alta relação núcleo/citoplasma, o que também foi observado em outras espécies de arraias de água doce (Pádua *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2021; Pérez-Rojas *et al.*, 2022; Pronina *et al.*, 2022), assim como em elasmobrânquios marinhos (Valenzuela *et al.*, 2003; Aragort *et al.*, 2005; Arnold, 2005; Old e Huvneers, 2006; Dove *et al.*, 2010; Morón-Elorza *et al.*, 2022a).

Nos peixes, os monócitos apresentam a mesma função que nos mamíferos, sendo considerados leucócitos de grande importância na resposta imunológica devido a sua capacidade de fagocitose, produção de citocinas e por serem as células primárias na apresentação dos antígenos (Hrubec e Smith, 2000). No presente estudo com *P. orbignyi* e *P. motoro*, as características morfológicas dos monócitos foram semelhantes à de vertebrados em geral (Claver e Quaglia, 2009). Porém, foram mais similares à de outros potamotrigoníneos (Pádua *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2021; Pérez-Rojas *et al.*, 2022). A presença ocasional de vacúolos citoplasmáticos relatados na literatura, assim como neste estudo, pode ser um indicativo de monócitos reativos e ativados (Hrubec e Smith, 2000). Em relação ao tamanho, os monócitos de *P. motoro* foram similares aos relatados para a mesma espécie em diferentes bacias hidrográficas brasileiras (Pádua *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2021). No entanto, *P. orbignyi* apresentou células menores, com medidas próximas às observadas nos tubarões *O. ornatos* e *O. maculatus* (Old e Huvneers, 2006) e inferiores às de *P. wallacei* e *P. aiereba* (Oliveira *et al.*, 2021).

A inconsistência na identificação das células sanguíneas de peixes é particularmente evidente para os leucócitos, principalmente granulócitos. No presente estudo, foram identificados três tipos de granulócitos: heterófilos, eosinófilos e basófilos, no entanto, alguns autores descreveram dois, três ou quatro tipos diferentes de granulócitos no sangue periférico de elasmobrânquios (Walsh e Luer, 2004). No sangue do tubarão *Carcharhinus pumbeus* foram relatadas seis populações de leucócitos granulócitos (Arnold, 2005). Essa grande variação é um reflexo da falta de padronização na nomenclatura dos leucócitos granulócitos, visto que, em geral, a identificação destes é feita com critérios baseados em mamíferos, o que não representa a realidade que ocorre em elasmobrânquios (Arnold, 2005; Walsh e Luer, 2004; Stacy *et al.*, 2011). A grande heterogeneidade no tamanho, forma e afinidade tintorial dos grânulos citoplasmáticos dos peixes cartilaginosos também são fatores que dificultam a identificação e a denominação empregada (Walsh e Luer, 2004).

Em elasmobrânquios, a presença concomitante de heterófilos e neutrófilos é controversa, pois alguns autores relatam a presença de ambos leucócitos (Sherburne, 1973; Arnold, 2005; Dove *et al.*, 2010; Pádua *et al.*, 2010; Persky *et al.*, 2012; Brito *et al.*, 2015; Cusack *et al.*, 2016; Morón-Elorza *et al.*, 2022b), enquanto outros relatam apenas a presença de heterófilos (Valenzuela *et al.*, 2003; Semeniuk *et al.*, 2009; Oliveira *et al.*, 2016; Grant e Campbel, 2020; Oliveira *et al.*, 2021; Morón-Elorza *et al.*, 2022a; Pérez-Rojas *et al.*, 2022) ou de neutrófilos na circulação sanguínea de elasmobrânquios (Aragort *et al.*, 2005; Old e Huvneers, 2006; Pronina *et al.*, 2022). Embora essas duas populações de leucócitos

apresentem características morfológicas distintas, são consideradas funcionalmente equivalentes (Hrubec e Smith 2010; Walsh e Luer, 2004), representando uma primeira linha de defesa da resposta imunológica inata contra infecções bacterianas, seja por ação de fagocitose ou atividade microbicida (Stacy *et al.*, 2022). Para evitar tais controvérsias, alguns autores (Claver e Quaglia, 2009) propuseram a utilização do termo neutrófilo apenas para mamíferos, no entanto, nomenclaturas diversas continuam sendo utilizadas (Arnold, 2005). Além disso, denominações como granulócitos eosinofílicos finos e granulócitos eosinofílicos grossos têm sido utilizadas para descrever heterófilos e eosinófilos, respectivamente (Arnold, 2005; Persky *et al.*, 2012; Cusack *et al.*, 2016; Morón-Elorza *et al.*, 2022a; Stacy *et al.*, 2022), e granulócitos do tipo I, tipo II e tipo III, para se referir a heterófilos, neutrófilos e eosinófilos, respectivamente (Grant e Campbel, 2020).

No presente estudo, não foram encontrados neutrófilos na corrente sanguínea das duas espécies de arraias, os heterófilos encontrados apresentaram características morfológicas semelhantes as descritas para outras espécies de arraias de água doce (Pádua *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2021; Pérez-Rojas *et al.*, 2022). O tamanho dos heterófilos de *P. orbignyi* deste estudo foram semelhantes aos relatados para outras espécies de arraias de água doce (Pádua *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2021) e para o tubarão *S. chilensis* (Valenzuela *et al.*, 2003), no entanto, *P. motoro* apresentou heterófilos maiores, semelhantes aos relatados para tubarões *Rhincodon typus* (Dove *et al.*, 2010).

Os heterófilos e eosinófilos podem ser diferenciados pelo formato e coloração de seus diferentes grânulos citoplasmáticos, pois os heterófilos são fusiformes de coloração basofílica e acidofílica, enquanto os eosinófilos são arredondados de coloração alaranjada (Walsh e Luer, 2004; Arnold, 2005; Stacy *et al.*, 2022). Embora os eosinófilos sejam raramente detectados no sangue de peixes teleósteos (Walsh e Luer, 2004), em elasmobrânquios esta célula é frequentemente encontrada, mas geralmente em baixo número no sangue circulante (Aragort *et al.*, 2005; Arnold, 2005; Old e Huvneers, 2006; Dove *et al.*, 2010; Pádua *et al.*, 2010; Brito *et al.*, 2015; Cusack *et al.*, 2016; Pérez-Rojas *et al.*, 2022; Pronina *et al.*, 2022). Em contrapartida, não foram encontrados eosinófilos no sangue periférico de *P. motoro*, *P. wallacei* e *P. orbignyi* da bacia do Rio Negro, Amazonas (Oliveira *et al.*, 2016; Oliveira *et al.*, 2021). A função dos eosinófilos ainda não está totalmente elucidada, mas eles parecem ser análogos aos mastócitos de mamíferos (Secombes e Ellis, 2012), estando associados à estímulos antigênicos e infestações parasitárias (Valenzuela *et al.*, 2003). O tamanho dos eosinófilos deste estudo com *P. motoro* e *P. orbignyi* foram similares aos descritos para outros elasmobrânquios, incluindo arraias de água doce e tubarões (Valenzuela *et al.*, 2003; Dove *et al.*, 2010; Pádua *et al.*, 2010).

Os basófilos são células facilmente identificadas devido à presença dos grânulos basofílicos no citoplasma (Walsh e Luer, 2004). No entanto, essa população celular tem sido considerada ausente no sangue circulante de vários elasmobrânquios (Sherburne, 1973; Valenzuela *et al.*, 2003; Aragort *et al.*, 2005; Arnold, 2005; Old e Huveneers, 2006; Semeniuk *et al.*, 2009; Morón-Elorza *et al.*, 2022a,b; Pérez-Rojas *et al.*, 2022) ou podem estar presentes em número baixo (Dove *et al.*, 2010; Pádua *et al.*, 2010; Brito *et al.*, 2015; Cusack *et al.*, 2016; Oliveira *et al.*, 2016; Grant e Campbel, 2020; Oliveira *et al.*, 2021; Pronina *et al.*, 2022). Essa baixa ocorrência de basófilos relatada para elasmobrânquios pode ser uma consequência da utilização de fixadores e corantes tipo-Romanovsky contendo álcool ou metanol, que não preservam corretamente os seus grânulos (Hrubec e Smith, 2010) ou da utilização do anticoagulante heparina que pode causar degranulação nestes granulócitos. A função dos basófilos ainda não está bem esclarecida em elasmobrânquios, mas nos mamíferos está relacionada aos processos inflamatórios e reações de hipersensibilidade (Secombes e Ellis, 2012). Os basófilos de *P. motoro* e *P. orbigny* do presente estudo apresentaram tamanho similar aos relatados para *P. motoro* (Pádua *et al.*, 2010) e *P. wallacei*, *P. motoro* e *P. aiereba* (Oliveira *et al.*, 2021).

Em conclusão, verificou-se que as células sanguíneas de *P. motoro* e *P. orbigny* apresentam características morfológicas e morfométricas similares às de outras espécies de arraias de água doce, no entanto, a falta de uma padronização na identificação e nomenclatura dos leucócitos de elasmobrânquios continua sendo um problema para o melhor entendimento das particularidades dessas células em arraias de água doce. Além disso, estudos devem ser direcionados para elucidar a função das diferentes populações de leucócitos em elasmobrânquios de água doce. Finalmente, os resultados obtidos podem servir de referência para a comparação dessas espécies de arraias em outros ambientes.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) pelo financiamento da pesquisa por meio do Programa Biodiversa (Edital 007/21, processo 01.02.016301.03250/2021-78) e do Programa Estratégico de Desenvolvimento do Setor Primário Amazonense (Edital 008/2021, processo 01.02.016301.03216/2021-01). Marcio Quara de Carvalho Santos agradece ao Instituto Federal do Amazonas (IFAM) pela liberação para cursar o doutorado. Em adição, Adriano Teixeira de Oliveira agradece à concessão da bolsa de produtividade em pesquisa e à bolsa de pós-doutorado sênior do Conselho Nacional

de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (processos 315713/2020-8 e 102455/2022-8).

REFERÊNCIAS

Almeida, I. W.; Maciel, G. F.; Almeida, R. F. B. Capacidade de autodepuração de corpos d'água urbanos em situações de vazões críticas: o caso do córrego pernada, Paraíso do Tocantins - TO. *Revista Gestão e Sustentabilidade Ambiental*. 10, 218–238. <https://doi.org/10.19177/rgsa.v10e42021218-238> (2021).

Anderson, H. L.; Brodsky, I. E.; Mangalmurti, N. S. The Evolving Erythrocyte: Red Blood Cells as Modulators of Innate Immunity. *J Immunol*. 201, 1343–1351. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1800565> (2018).

Aragort, W.; Alvarez, M. F.; Leiro, J. L.; Sanmartín, M. L. Blood protozoans in elasmobranchs of the family Rajidae from Galicia (NW Spain). *Dis. Aquat. Org.* 65, 63–68. <https://doi.org/10.3354/dao065063> (2005).

Arnold, J. E. Hematology of the sandbar shark, *Carcharhinus plumbeus*: Standardization of complete blood count techniques for elasmobranchs. *Vet. Clin. Pathol.* 34, 115–123. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165x.2005.tb00023.x> (2005).

Arnold, J. E.; Delaune, A. Schalm's veterinary hematology. In: Brooks, M. B.; Harr, K. E.; Seelig, D. M.; Wardrop, K. J.; Weiss, D. J. (Eds): Schalm's Veterinary Hematology (ed 7). Hoboken, NJ: Wiley, pp 1166–1175, 2022.

Azevedo, J. S.; Braga, E. S.; Ribeiro, C. A. O. Nuclear abnormalities in erythrocytes and morphometric indexes in the catfish *Cathorops spixii* (Ariidae) from different sites on the southeastern Brazilian coast. *Braz. J. Oceanogr.* 60, 323–30. (2012).

Brito, F. M. M.; Claudiano, G. S.; Yunis, J.; Mundim, A. V.; Tavares-Dias, M.; Viadanna, P. H. O.; Moraes, J. R. E.; Moraes, F. R. Hematology, biochemical profile and thyroid hormones of four species of freshwater stingrays of the genus *Potamotrygon*. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 52, 249–256. <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.v52i3p249-256> (2015).

Campbell, T. W. Hematology of reptiles. In: Thrall, M. A.; Weiser, G.; Allison, R. W.; Campbell, T. W. (Eds.): Veterinary Hematology and Clinical Chemistry, Londres, Wiley-Blackwell, pp. 277-297, 2012.

Canfield, P.J. 1998. Comparative cell morphology in the peripheral blood film from exotic and native animals. *Aust. Vet. J.* 76, 793–800. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1998.tb12328.x> (1998).

Castro, P. D. S.; Ladislau, D. S.; Ribeiro, M. W. S.; Lopes, A. C. C.; Lavander, H. D.; Bassul, L. A.; Mattos, D. C.; Liebl, A. R. S.; Aride, P. H. R.; Oliveira, A. T. Hematological parameters of three species of tucunarés (*Cichla* spp.) from Lake Balbina, Presidente Figueiredo, Amazonas. *Braz. J. Biol.* 80, 1–7. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.219409> (2021).

Clauss, T. M.; Dove, A. D.; Arnold, J. E. Hematologic disorders of fish. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract.* 11, 445–462. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2008.03.007> (2008).

Claver, J. A.; Quaglia, A. I. E. Comparative Morphology, Development, and Function of Blood Cells in Nonmammalian Vertebrates. *J. Exot. Pet Med.* 18, 87–97. <https://doi.org/10.1053/j.jepm.2009.04.006>. (2009).

Clewley, A.; Kocan, R. M.; Kocan, A. A. An intraerythrocytic parasite from the spiny dogfish, *Squalus acanthias* L., from the Pacific Northwest. *J. Fish Dis.* 25, 693–696. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2761.2002.00417.x> (2002).

Cusack, L.; Field, C. L.; Hoopes, L.; McDermott, A.; Clauss, T. Comparison of pre and postquarantine blood chemistry and hematology values from wild-caught Cownose rays (*Rhinoptera bonasus*). *J Zoo Wild Med.* (2016) 47, 493–500. <https://doi.org/10.1638/2015-0267.1> (2016).

Daimon, T.; Uchida, K. Ultrastructural evidence of the existence of the surface connected canalicular system in the thrombocyte of the shark (*Triakis scyllia*). *J. Anat.* 141, 193–200. (1985).

Damatta, R. A.; Ribeiro, M. L. S.; Carvalho, T. M. U.; Nascimento, J. L. M. Caracterização morfológica e funcional de leucócitos de peixes. In: Tavares-Dias M. (Ed): Manejo e sanidade de peixes em cultivo. Embrapa, Amapá, Macapá, pp 314–329, 2009.

Dove, A.; Arnold, J.; Clauss, T. Blood cells and serum chemistry in the world's largest fish: the whale shark *Rhincodon typus*. *Aquat. Biol.* 9, 177–183. <https://doi.org/10.3354/ab00252> (2010).

Duncan, W. P.; Costa, O. T. F.; Sakuragui, M. M.; Fernandes, M. N. Functional morphology of the gill in Amazonian freshwater stingrays (Chondrichthyes: Potamotrygonidae): implication for adaptation to freshwater. *Physiol. Biochem. Zool.* 83, 19–32. <https://doi.org/10.1086/605458> (2010).

Ergene, S.; Cavas, T.; Celik, A.; Koleli, N.; Aymak, C. Evaluation of river water genotoxicity using the piscine micronucleus test. *Environ. Mol. Mutagen.* 48, 421–429. <https://doi.org/10.1002/em.20291> (2007).

Fazio, F. Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: a review. *Aquaculture* 500, 237–242. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.10.030> (2019).

Gallo, S. S. M.; Ederli, N. B.; Bôa-Morte, M. O.; Oliveira, F. C. R. Hematological, morphological and morphometric characteristics of blood cells from rhea, *Rhea Americana* (Struthioniformes: Rheidae): a standard for Brazilian birds. *Braz. J. Biol.* 75, 953–962. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.03414> (2015).

Grant, K. R. Fish hematology and associated disorders. *Vet. Clin. North. Am. Exot. Anim. Pract.* 18, 83–103. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2014.09.007> (2015).

Grant, K.; Campbell, T. Hematology and Plasma Biochemistry Value Differences Between Acclimated and Recently Captive Female Southern Stingrays, *Dasyatis Americana*. *JZAR* 8, 59–66. <https://doi.org/10.19227/jzar.v8i1.254> (2020).

Gutiérrez-Cervantes, A.; Ahuja-Aguirre, C. C.; López-deBuen, L.; Viveros-Peredo, S. A. Blood cell morphology and leukocyte differential of Morelet's crocodile (*Crocodylus moreletii*) (Crocodylidae). *Acta biol. Colomb.* 27, 17–27. <https://doi.org/10.15446/abc.v27n1.85418> (2021).

Hrubec, T. C.; Smith, A. S. Hematology of fish. In: Feldman, B. F.; Zinkl, J. G.; Jain, N. C. (Eds): *Schalm's Veterinary Hematology*. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, pp 1120-1125, 2000.

Imsonpang, S.; Kawjaeng, N.; Jeamah, A.; Senarat, S.; Kosiyachinda, P.; Kenthao, A.; Pongsakul, T.; Phinrub, W.; Janyong, S. Comparative morphology of blood cells of *Ambassis nalua*, *A. vachelli* and *Inegocia japonica*. *Vet. Integr. Sci.* 22, 19–27. <https://doi.org/10.12982/VIS.2024.002> (2024).

Kollner, B.; Fischer, U.; Rombout, J. H. W. M.; Taverne-Thiele, J. J.; Hansen, J. D. Potential involvement of rainbow trout thrombocytes in immune functions: a study using a panel of monoclonal antibodies and RT-PCR. *Dev. Comp. Immunol.* 28, 1049–1062 <https://doi.org/10.1016/j.dci.2004.03.005> (2004).

Kumar, R.; Banerjee, T. K. Arsenic induced hematological and biochemical responses in nutritionally important catfish *Clarias batrachus* (L.). *Toxicol. Rep.* 3, 148–152. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2016.01.001> (2016).

Lewis, J. H. Comparative Hematology. In: Lewis, J. H (Ed): *Comparative Hemostasis in Vertebrates*. Springer, New York, pp 361–376, 1996.

Magro, N. M., Oliveira, A. T.; O'Dwyer, L. H. First report and description of a *Cyrtilia* sp. (Apicomplexa: Haemogregarinidae) from a freshwater cururu stingray *Potamotrygon cf. hystrix* (Elasmobranchii: Potamotrygonidae), from the Amazon Region, Brazil. *J. Fish Dis.* 39, 907–911. <https://doi.org/10.1111/jfd.12425> (2016).

Morón-Elorza, P.; Rojo-Solis, C.; Steyrer, C.; Álvaro-Álvarez, T.; Valls-Torres, M.; Encinas, T.; García-Párraga, D. Hematology and Plasma Chemistry Reference Values in Nursehound Shark (*Scyliorhinus Stellaris*) Maintained Under Human Care. *Front Vet Sci.* 11, 909834. <https://dx.doi.org/10.3389/fvets.2022.909834> (2022b).

Morón-Elorza, P.; Steyrer, C.; Rojo-Solís, C.; Álvaro-Álvarez, T.; Valls-Torres, M.; Encinas, T.; García-Párraga, D. Hematology and plasma biochemistry reference values of juvenile undulate rays (*Raja undulata*) under human care. *J. Zoo Wildl. Med.* 53, 504–514. <https://doi.org/10.1638/2021-0140> (2022a).

Morrow, W.; Pulsford, A. Identification of peripheral blood leucocytes of the dogfish (*Scyliorhinus canicula* L) by electron microscopy. *J. Fish Biol.* 17, 461–475. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1980.tb02779.x> (1980).

Old, J. M.; Huvneers, C. Morphology of the blood cells from three species of wobbegong sharks (*Orectolobus* species) on the east coast of New South Wales. *Zoo Biol.* 25, 73–82. <https://doi.org/10.1002/zoo.20079> (2006).

Oliveira, A. T.; Araújo, M. L. G.; Pantoja-Lima, J.; Aride, P. H. R.; Tavares-Dias, M.; Brinn, R. P.; Marcon, J. L. *Cyrlia* sp. (Apicomplexa: Haemogregarinidae) in the Amazonian freshwater stingray *Potamotrygon wallacei* (cururu stingray) in different hydrological phases of the Rio Negro. *Braz J Biol.* 77, 413–416. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.00416> (2017).

Oliveira, A. T.; Lemos, J. R. G.; Santos, M. Q. C.; Pantoja-Lima, J.; Aride, P. H. R.; Araújo, M. L. G.; Tavares-Dias, M.; Marcon, J. L. Morphological, cytochemical and ultrastructural aspects of blood cells in freshwater stingray species in the middle Rio Negro basin of Amazonian Brazil. *Sci Rep* 11, 15685. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95183-4> (2021).

Oliveira, A. T.; Santos, M. Q. C.; Araújo, M. L. G.; Lemos, J. R. G.; Sales, R. S. A.; Aride, P. H. R.; Pantoja-Lima, J.; Tavares-Dias, M.; Marcon, J. L. Hematological parameters of three freshwater stingray species (Chondrichthyes: Potamotrygonidae) in the middle Rio Negro, Amazonas state. *Biochem. Syst. Ecol.* 69, 33–40. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2016.07.002> (2016).

Pádua, S. B.; Ventura, A. S.; Satake, F.; Ishikawa, M. M. Características morfológicas, morfométricas e citoquímicas das células sanguíneas da arraia ocelata *Potamotrygon motoro* (Elasmobranchii, Potamotrygonidae): estudo de caso. *Ensaios e Ciência.* 14, 147–158. (2010).

Parrino, V.; Cappello, T.; Costa, G.; Cannavà, C.; Sanfilippo, M.; Fazio, F.; Fasulo, S. Comparative study of haematology of two teleost fish (*Mugil cephalus* and *Carassius auratus*) from different environments and feeding habits. *Eur. Zool. J.* 85, 193–199. <https://doi.org/10.1080/24750263.2018.1460694> (2018).

Passantino, L.; Cianciotta, A.; Patruno, R.; Ribaud, M. R.; Jirillo, E.; Passantino, G. F. Do fish thrombocytes play an immunological role? Their cytoenzymatic profiles and function during an accidental piscine candidiasis in aquarium. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* 27, 345–356. <https://doi.org/10.1081/iph-200067959> (2005).

Pérez-Rojas, J. G.; Mejía-Falla, P. A.; Navia, A. F.; Tarazona, A. M.; Pardo-Carrasco, S. C. Hematology and blood biochemistry profile of the freshwater stingray *Potamotrygon magdalenae* as a tool for population assessment in artificial environments. *Braz. J. Biol.* 82, 1–11. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.233780> (2022).

Persky, M. E.; Williams, J. J.; Burks, R. E.; Bowman, M. R.; Ramer, J. C.; Proudfoot, J. S. Hematologic, plasma biochemistry, and select nutrient values in captive smooth dogfish (*Mustelus canis*). *J. Zoo. Wildl. Med.* 43, 842–851. <https://dx.doi.org/10.1638/2012-0002R1.1> (2012).

Pica, A.; Lodato, A.; Grimaldi, M. C.; Della Corte, F. Morphology, origin and functions of the thrombocytes of elasmobranchs. *Ach Ital Anat Embriol.* 95, 187–207. (1990).

- Pistol, D. L.; Issa, J. P. M.; Caetano, F. H.; Lunardi, L. O. Morphological characterization of the leukocytes in circulating blood of the turtle (*Phrynops hilarii*). *Int. J. Morphol.* 25, 677–682. (2007).
- Pronina, G. I.; Orlov, A. M.; Meintser, I.V.; Mamykina, G. A. Components of Blood and Blood Cytochemical and Biochemical Characteristics of Three Cartilaginous Fish Species in Orders Orectolobiformes and Myliobatiformes. *J. Ichthyol.* 62, 1352–1360. <https://doi.org/10.1134/S0032945222060248> (2022).
- Satake, F.; Pádua, S. B.; Ishikawa, M. M. Distúrbios morfológicos em células sanguíneas de peixes em cultivo: uma ferramenta prognóstica. In: Tavares-Dias M. (Ed): Manejo e sanidade de peixes em cultivo. Embrapa, Amapá, Macapá, pp 330–345, 2009.
- Secombes, C. J.; Ellis, A. E. The Immunology of Teleosts. In: Roberts, R. J. (Ed): *Fish Pathology (ed 4)*. London: Wiley-Blackwell, pp 144–166, 2012.
- Semeniuk, C. A.; Bourgeon, S.; Smith, S. L.; Rothley, K. D. Hematological differences between stingrays at tourist and non-visited sites suggest physiological costs of wildlife tourism. *Biol. Conserv.* 142, 1818–1829. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocon.2009.03.022> (2009).
- Shen, Y.; Wang, D.; Zhao, J.; Chen, X. Fish red blood cells express immune genes and responses. *Aquac. Fish.* 3, 14–21. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2018.01.001> (2018).
- Sherburne, S. Cell types, differential cell counts, and blood cell measurements of a Portuguese shark, *Centroscyrnus coelolepis*, captured at 700 fathoms. *Fish. Bull.* 71, 435–439 (1973).
- Shibuya, A. A review of the ecological role of the Neotropical freshwater stingrays (Chondrichthyes: Potamotrygoninae). *Food Webs*, 32: e00244. <http://dx.doi.org/110.1016/j.fooweb.2022.e00244> (2022).
- Stacy, N. I.; Alleman, R.; Sayler, K. A. Diagnostic hematology of reptiles. *Clinics in Laboratory Medicine* 31, 87–108. <https://doi.org/10.1016/j.cll.2010.10.006> (2011).
- Stacy, N. I.; Hollinger, C.; Arnold, J. E.; Cray, C.; Pendl, H.; Nelson, P. J.; Harvey, J. W. Left shift and toxic change in heterophils and neutrophils of non-mammalian vertebrates: A comparative review, image atlas, and practical considerations. *Vet Clin Pathol.* 51, 18–44. <https://doi.org/10.1111/vcp.13117> (2022).
- Stokes, E. E.; Firkin, B. G. Studies of the peripheral blood of the Port Jackson shark (*Heterodontus portusjacksoni*) with particular reference to the thrombocyte. *Br. J. Haematol.* 20, 427–35. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.1971.tb07054.x> (1971).
- Strunjak-Perovic, I.; Topic Popovic, N.; Coz-Rakovac, R.; Jadan, M. Nuclear abnormalities of marine fish erythrocytes. *J. Fish. Biol.* 74, 2239–2249. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2009.02232.x> (2009).
- Tavares-Dias, M.; Barcellos, J. F. M. Peripheral blood cells of the armored Catfish *Hoplosternum littorale* Hancock, 1828: A morphological and cytochemical study. *Braz. J. Morphol. Sci.* 26, 157–162. (2005).

Tavares-Dias, M.; Moraes, F. R. Características hematológicas da *Tilapia rendalli* Boulenger, 1896 (Osteichthyes: Cichlidae) capturada em “Pesque-Pague” de Franca, São Paulo, Brasil. *Biosci. J.* 19, 103–110 (2003).

Tavares-Dias, M.; Moraes, F. R. Leukocyte and thrombocyte reference values for channel catfish (*Ictalurus punctatus* Raf), with an assessment of morphologic, cytochemical and ultrastructural features. *Vet. Clin. Pathol.* 36, 49–54. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2007.tb00181.x> (2007).

Tavares-Dias, M.; Oliveira, S. R. A review of the blood coagulation system of fish. *Braz J Biosci.* 7, 205–224. (2009).

Valenzuela, A.; Oyarzún, C.; Silva, V. Células sanguíneas de *Schroederichthys chilensis* (Guichenot 1848) (Elasmobranchii, Scyliorhinidae): la série blanca. *Gayana* 67, 130–136. <https://doi.org/10.4067/S0717-65382003000100018> (2003).

Walsh, C. J.; Luer, C. A. Elasmobranch hematology: identification of cell types and practical applications. In: Smith, M.; Warmolts, D.; Thoney, D.; Hueter, R. (Eds): *The Elasmobranch Husbandry Manual: Captive Care of Sharks, Rays and their Relatives*. Ohio Biological Survey, Columbus, Ohio, pp 307–323, 2004.

Witeska, M.; Kondera, E.; Szymanska, M.; Ostrysz, M. Hematological changes in Common Carp (*Cyprinus carpio*) after short-term lead (Pb) exposure. *Pol. J. Environ. Stud.* 19, 825–831. (2010).

CAPÍTULO III

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E MORFOMÉTRICA DE *Cyrlia* sp. (APICOMPLEXA: ADELEORINA) DE *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbignyi* (POTAMOTRYGONIDAE) DO BAIXO RIO SOLIMÕES, AMAZONAS.

Marcio Quara de Carvalho Santos^{1,2}, Flávia Dayane Felix Farias¹, Paulo Henrique Rocha Aride³, Adriano Teixeira de Oliveira^{1,3}

¹Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros (PPGCARP), Faculdade de Ciências Agrárias (FCA), Universidade Federal do Amazonas (UFAM), AM, Brasil. Avenida Rodrigo Otávio, 6200 – Coroado, CEP: 69080-900. Manaus, Amazonas.

²Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas (IFAM), Campus Coari, AM, Brasil. Estrada Coari-Itapéua, s/n – Itamarati, CEP: 69460-000. Coari, Amazonas.

³Laboratório de Morfofisiologia Animal, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas (IFAM), Campus Manaus Centro, AM, Brasil. Avenida Sete de Setembro, 1975 – Centro, CEP: 69020-120. Manaus, Amazonas.

RESUMO: As parasitoses ocasionadas por protozoários sanguíneos são frequentemente estudadas em anfíbios, répteis e aves, no entanto, para arraia de água doce essas informações são escassas. O objetivo deste estudo foi caracterizar morfológica e morfometricamente *Cyrlia* sp. no sangue das arraia *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbignyi* naturalmente infectadas e avaliar as alterações eritrocitárias induzidas pelos parasitos sanguíneos. As arraia foram coletadas em ambientes de água branca da região do baixo Rio Solimões, estado do Amazonas, Brasil. Foram capturados 130 espécimes juvenis de ambos os sexos (81 *P. motoro* e 49 *P. orbignyi*). As extensões sanguíneas foram coradas com solução de Giemsa 10 % e examinadas usando microscopia óptica para a determinação da prevalência e parasitemia. Os hemoparasitos foram majoritariamente intraeritrocitários, embora formas parasitárias também tenham sido encontradas livres no sangue circulante. A prevalência de hemoparasitos foi de 49,2 % e não foram observadas diferenças significativas entre as arraia e entre os locais de captura. Os animais apresentaram baixa parasitemia, com variação total de 0 a 1,9 % de eritrócitos infectados. As formas hemoparasitárias foram classificadas como trofozoítos, pré-gamontes, macrogamontes e microgamontes. Hipertrofia eritrocítica foi observada em eritrócitos infectados com pré-gamontes, macrogamontes e microgamontes em ambas as

espécies de arraiais. Este é o primeiro estudo sobre *Cyrlia* sp. em arraiais provenientes de ambientes de água branca da bacia hidrográfica amazônica. São necessários estudos futuros para a identificação dos estágios esporogônicos dos parasitos no hospedeiro definitivo e análises moleculares para diferenciação da espécie desses hemoparasitos.

Palavras-chave: arraiais de água doce, *Cyrlia* sp., eritrócitos, hemoparasitos.

1. INTRODUÇÃO

As hemogregarinas (Apicomplexa: Adeleorina) constituem um amplo grupo de protozoários sanguíneos de interesse médico veterinário, podendo afetar uma vasta gama de hospedeiros domésticos e silvestres (Davies, 1995). Estes organismos possuem um ciclo de vida heteróxico, podendo ocorrer em todas as classes de vertebrados (Davies e Johnston, 2000). Em ambiente aquático, os peixes, anfíbios e répteis são considerados hospedeiros intermediários enquanto os isópodes da família Gnathiidae e os hirudíneos das famílias Glossiphoniidae e Piscicolidae atuam como hospedeiros invertebrados definitivos (Lainson, 1981; Siddall e Desser, 1993; Davies e Smit, 2001). Estes protozoários são considerados parasitos intracelulares, podendo ser encontrados no interior de eritrócitos e, eventualmente, de leucócitos (Davies, 1995). A invasão parasitária desse grupo se deve à presença de um complexo apical que facilita a sua entrada na célula hospedeira (Siddall, 1995).

As infecções hemoparasitárias podem impactar a saúde animal ao ocasionar patologias variadas e, dependendo da carga parasitária, podem provocar a mortalidade dos hospedeiros, gerando grandes perdas econômicas em todo o mundo (Rojas-Pirela *et al.*, 2021). Mesmo em infecções crônicas e subletais, estes parasitos podem afetar os processos biológicos de seus hospedeiros, prejudicando os mecanismos reprodutivos, as relações ecológicas e a dinâmica populacional em ambiente natural (Picelli *et al.*, 2020). Apesar do potencial danoso, a maior parte dos estudos envolvendo os hemoparasitos concentram-se em aves e mamíferos, e mais recentemente, em anfíbios e répteis (Goes *et al.*, 2018; Úngari *et al.*, 2018; Picelli *et al.*, 2020; Úngari *et al.*, 2021; Úngari *et al.*, 2022; Ceylan *et al.*, 2023).

Para os peixes, são frequentemente relatadas hemogregarinas dos gêneros *Desseria* Siddall, 1995, *Cyrlia* Lainson, 1981 e *Haemogregarina* Danilewsky, 1885, sendo os dois primeiros gêneros descritos unicamente em peixes, enquanto espécies de *Haemogregarina* também podem ser encontradas em anfíbios e répteis (Davies *et al.*, 2004). No Brasil, foram relatadas a presença de *Desseria mugili* em *Mugil liza*, *Haemogregarina platessae* em *Paralichthys orbignyanus*, *Cyrlia lignieresi* em *Synbranchus marmoratus* e *Haemogregarina*

daviesensis em *Lepidosiren paradoxa* (Siddall, 1995; Davies *et al.*, 2008; Eiras *et al.*, 2012; Esteves-Silva *et al.*, 2019). Para os elasmobrânquios dulciaquícolas foram relatadas a presença de *Cyrtilia* sp. em *Potamotrygon wallacei* da bacia do Rio Negro, estado do Amazonas (Magro *et al.*, 2016; Oliveira *et al.*, 2017) e *Haemogregarina* sp. em *Potamotrygon orbignyi* e *Potamotrygon scobina* do Rio Piririm, estado do Amapá (Brito, 2012). Portanto, os relatos sobre hemoparasitos em espécies de arraias de água doce são reduzidos.

As arraias de água doce do gênero *Potamotrygon* (família Potamotrygonidae, subfamília Potamotrygoninae) representam um importante componente da ictiofauna amazônica (Lasso *et al.*, 2016). Algumas espécies deste gênero vêm sendo capturadas há décadas em ambiente natural e exportadas para diversos países da Europa e Ásia para fins de ornamentação e aquarofilia (IBAMA, 2008; Lasso *et al.*, 2016), enquanto os animais de maior porte são utilizados para fins de consumo alimentar na Amazônia (Duncan *et al.*, 2010). Embora a quantidade de estudos envolvendo estas arraias de água doce tenha aumentado nos últimos anos, as informações biológicas disponíveis ainda são fragmentadas e desproporcionais à relevância socioeconômica das espécies para a Amazônia.

Este estudo teve como objetivo caracterizar morfológica e morfometricamente hemoparasitos presentes no sangue de arraias *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbignyi* provenientes de ambiente natural, além de avaliar as alterações eritrocitárias induzidas por esses parasitos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de estudo

As coletas de *P. motoro* e *P. orbignyi* foram realizadas em ambientes de água branca da região do baixo Rio Solimões, estado do Amazonas, Brasil, nas proximidades dos municípios de Manaquiri, Manacapuru e Iranduba (coordenadas geográficas: 03°17'38,4"S e 60°34'40,8"W; 03°33'22,9"S e 60°28'28,8"W; 03°18'48,2"S e 60°11'03,8"W). As arraias foram capturadas durante o período de setembro de 2022 a fevereiro de 2023, no período noturno, com auxílio de rede de arrasto. Os locais de captura apresentaram as seguintes características físicas e químicas da água (Média \pm DP): pH: 6,3 \pm 0,2, O₂ dissolvido: 4,2 \pm 0,5 mg L⁻¹, temperatura: 30,6 \pm 1,1 °C, condutividade elétrica: 91,8 \pm 7,4 μ S cm⁻¹, alcalinidade: 54,2 \pm 7,9 mg L⁻¹, dureza total: 43,4 \pm 6,6 mg L⁻¹, nitrito: 0,02 \pm 0,01 mg L⁻¹ e amônia total: 0,10 \pm 0,04 mg L⁻¹.

2.2 Captura dos animais e coleta sanguínea

Foram capturadas 130 arraiais de ambos os sexos, sendo 81 espécimes juvenis de *P. motoro* ($22,4 \pm 3,8$ cm de largura de disco, $38,6 \pm 6,4$ cm de comprimento total e $607,4 \pm 302,8$ g de peso corporal) e 49 juvenis de *P. orbigny* ($23,1 \pm 3,1$ cm de largura de disco, $40,4 \pm 5,7$ cm de comprimento total e $643,3 \pm 244,5$ g de peso corporal). Após a captura, as arraiais foram anestesiadas com solução de benzocaína (1:20,000) para a obtenção das amostras sanguíneas por punção da artéria branquial com a utilização de seringas contendo EDTA 10% (Oliveira *et al.*, 2012). O sangue foi destinado à confecção, em campo, de extensões sanguíneas fixadas com metanol absoluto até o momento da coloração em laboratório. Os animais foram marcados e, após a recuperação da anestesia, devolvidos aos locais de captura.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Instituto Federal do Amazonas (processo nº. 2019/010.02.0905) e coleta das arraiais foi autorizada pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) (Autorização SISBIO/ICMBio: 41350-6).

2.3 Análises dos hemoparasitos

As extensões sanguíneas previamente fixadas com metanol absoluto foram coradas por 40 min com solução de Giemsa 10 % diluída em água tamponada (pH 7,2-7,4), seguindo a metodologia de Motta *et al.* (2013). As extensões sanguíneas foram examinadas usando microscopia óptica (Bioptika B60 com câmera acoplada) em baixa ampliação (x400) por 10 a 15 minutos. Em seguida, 100 campos microscópicos foram examinados usando aumento de 100x. Os hemoparasitos foram analisados quanto à localização (intra ou extracelular), formato do corpo, presença de cápsula e de pigmentos citoplasmáticos, formato e posição do núcleo e tipo de célula hospedeira. As descrições morfológicas foram baseadas nos estudos de Davies e Johnston (2000), Smit *et al.* (2002), Smit e Davies (2006), Davies *et al.* (2012) e Magro *et al.* (2016). As análises morfométricas de cada forma parasitária foram determinadas com auxílio do software de análise de imagens Mosaic 2.2.1 (Tucson Photonics Co., China), sendo medida a área (μm^2), comprimento (μm) e largura (μm) dos parasitos e do núcleo parasitário. A parasitemia (%) foi calculada observando o número de células parasitadas em 1000 células analisadas (Magro *et al.*, 2016). A taxa de prevalência (%) das arraiais parasitadas foi determinada de acordo com Bush *et al.* (1997). A identificação dos hemoparasitos foi realizada usando análises das características morfológicas e morfométricas dos protozoários baseada em

estudos prévios (Lainson, 1981; Davies e Johnston, 2000; Smit *et al.*, 2002; Smit e Davies, 2006; Telford, 2009; Davies *et al.*, 2012; Lainson, 2012; Magro *et al.*, 2016).

2.4 Análises morfológicas dos eritrócitos parasitados e não parasitados

Para a avaliação das alterações morfológicas dos eritrócitos, induzidas pela presença dos hemoparasitos, foram mensuradas a área (μm^2), comprimento (μm) e largura (μm) dos eritrócitos e de seus núcleos. Foram analisados 100 eritrócitos maduros não parasitados e 100 eritrócitos parasitados para cada forma parasitária ou, alternativamente, o número máximo de parasitos encontrados nas extensões sanguíneas. As lâminas coradas foram examinadas em microscópio óptico (Bioptika B60 com câmera acoplada) e as medidas foram obtidas através do software de análise de imagens Mosaic 2.2.1 (Tucson Photonics Co., China).

2.5 Análises estatísticas

Os resultados quantitativos foram submetidos aos testes de homocedasticidade de Levene e normalidade de Shapiro-Wilk. A parasitemia entre as duas espécies de arraias foi comparada usando o teste de Mann-Whitney (U). A prevalência dos hemoparasitos entre *P. motoro* e *P. orbignyi* e entre os três locais de captura das arraias foram comparadas pelo teste qui-quadrado de Pearson. As variáveis morfológicas dos parasitos e dos eritrócitos não parasitados e parasitados com as diferentes formas parasitárias foram comparadas pelo teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste a posteriori de Dunn. Todas as análises foram realizadas a 5 % de significância, com auxílio do software Statistica, versão 10.0 (StatSoft, Inc., EUA).

3. RESULTADOS

Foram encontrados 64 espécimes de arraias contendo parasitos sanguíneos em diferentes estágios de desenvolvimento. Os hemoparasitos foram majoritariamente intracelulares, embora formas parasitárias também tenham sido observadas livres no sangue circulante. Apenas os eritrócitos maduros foram infectados pelas diferentes formas parasitárias, todos com o núcleo deslocado lateralmente, não sendo observados parasitos intraleucocitários.

A prevalência total de hemoparasitos foi de 49,2 %, sendo 53,1 % em *P. motoro* e 42,8 % em *P. orbignyi*, com ausência de diferenças significativas entre as espécies e entre os três locais de captura das arraias ($p > 0,05$). As arraias de ambas as espécies apresentaram baixa

parasitemia, com variação total de 0 a 1,9 % de eritrócitos infectados, e valores de parasitemia médios de 0,22 % e 0,18 % para *P. motoro* e *P. orbignyi*, respectivamente. Não foi observada diferença na parasitemia entre as espécies de arraias ($p > 0,05$).

As formas parasitárias encontradas no sangue de *P. motoro* e *P. orbignyi* foram descritas morfológicamente e classificadas como trofozoítos, pré-gamontes (ou gamontes imaturos), macrogamontes (ou gamontes femininos) e microgamontes (ou gamontes masculinos) (Figura 1: A-F). Os hemoparasitos observados nas duas espécies de arraias não apresentaram diferenças morfológicas ou morfométricas que indicassem a presença de múltiplas espécies hemoparasitárias. Os parâmetros morfométricos para cada forma parasitária estão presentes na Tabela 1.

Os núcleos eritrocitários de *P. motoro* e *P. orbignyi* infectados pelas diferentes formas parasitárias não apresentaram alterações morfométricas e morfológicas tais como achatamento, alongamento, cariomegalia, picnose, cariorrexe ou cariólise. No entanto, os pré-gamontes, macrogamontes e microgamontes modificaram o comprimento, largura e área dos eritrócitos parasitados, causando hipertrofia eritrocítica (Tabela 2).

Os trofozoítos apresentaram corpo pequeno e formato delgado, com cauda afilada, podendo ser curva. O citoplasma foi levemente basofílico corado em azul claro, podendo apresentar vacúolos, e o núcleo parasitário foi corado em roxo com localização central ou deslocado para uma das extremidades. Foram encontrados em 13 espécimes de *P. motoro* e 6 de *P. orbignyi*, sendo visualizados fora e dentro dos eritrócitos (Figuras 1A e 1B, respectivamente). Esta forma parasitária não ocasionou alterações morfométricas nos eritrócitos infectados.

Os pré-gamontes apresentaram formato celular alongado, com uma extremidade anterior larga e uma extremidade posterior mais estreita, sendo esta última arredondada (Figura 1C) ou em formato de cauda curva (Figura 1D). Os pré-gamontes sem cauda foram mais delgados e apresentaram as extremidades ligeiramente encurvadas. O citoplasma basofílico apresentou coloração azul escura e o núcleo coloração roxa, sendo posicionado centralmente ou anteriormente (menos frequente). Esta foi a forma parasitária mais abundante, sendo encontrada no interior dos eritrócitos de 100% dos espécimes de *P. motoro* e *P. orbignyi* infectados. Os pré-gamontes causaram alterações morfométricas significativas ($p < 0,05$) nos eritrócitos parasitados.

Os macrogamontes apresentaram formato ovalado, sendo maiores e mais espessos em comparação às demais formas parasitárias. O citoplasma foi vacuolizado e basofílico, com coloração azul escuro. O núcleo foi corado em roxo e posicionado no centro do parasito (Figura

1E). Não ficou evidente a presença de vacúolo parasitóforo ou de cauda curva. Esta forma parasitária foi observada apenas no interior dos eritrócitos, causando alterações morfométricas celulares ($p < 0,05$). Os macrogamontes foram encontrados em 90,7 % de *P. motoro* e 81,0 % de *P. orbigny* infectadas.

Os microgamontes também foram visualizados apenas no interior dos eritrócitos e apresentaram formato ovalado, sendo mais delgados em comparação aos macrogamontes. O citoplasma foi basofílico, corado em azul claro e com a presença de vacúolos citoplasmáticos. O núcleo apresentou coloração roxa, com disposição central e cromatina densa (Figura 1F). Deslocaram o núcleo eritrocitário para a periferia e ocasionaram alterações morfométricas significativas ($p < 0,05$) nas dimensões dos eritrócitos infectados. Foram encontrados em 46,5 % de *P. motoro* e 38,1 % de *P. orbigny* parasitadas.

As características morfológicas e morfométricas das formas parasitárias observadas no sangue *P. motoro* e *P. orbigny*, indicaram que os hemoparasitos são do gênero *Cyrcilia* sp. (Apicomplexa: Adeleorina: Haemogregarinidae).

Tabela 1. Parâmetros morfométricos das formas parasitárias de *Cyrcilia* sp. do sangue circulante de *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbigny*. Valores expressam Média \pm DP.

Parâmetros morfométricos	Formas parasitárias			
	Trofozoíto (n= 28)	Pré-gamonte (n= 100)	Macrogamonte (n= 74)	Microgamonte (n= 41)
AP (μm^2)	49,9 \pm 1,7 ^a	57,1 \pm 8,6 ^b	65,2 \pm 5,3 ^c	61,4 \pm 4,6 ^{bc}
CP (μm)	11,9 \pm 1,3 ^a	14,8 \pm 3,1 ^b	15,2 \pm 2,8 ^b	14,4 \pm 2,0 ^b
LP (μm)	2,2 \pm 0,4 ^a	4,5 \pm 0,7 ^b	5,8 \pm 0,9 ^c	4,7 \pm 0,9 ^{bc}
ANP (μm^2)	10,3 \pm 1,6 ^a	16,1 \pm 2,0 ^b	20,7 \pm 2,1 ^c	19,2 \pm 2,3 ^{bc}
CNP (μm)	4,1 \pm 0,9 ^a	4,8 \pm 0,9 ^{ab}	5,6 \pm 1,3 ^b	5,1 \pm 1,8 ^{ab}
LNP (μm)	2,0 \pm 0,3 ^a	4,0 \pm 0,7 ^b	5,3 \pm 1,0 ^b	4,5 \pm 1,1 ^{bc}

Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as formas parasitárias para cada parâmetro morfométrico pelo teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste a posteriori de Dunn.

DP: desvio padrão; n: número amostral; AP: área do parasito; CP: comprimento do parasito; LP: largura do parasito; ANP: área do núcleo parasitário; CNP: comprimento do núcleo parasitário; LNP: largura do núcleo parasitário.

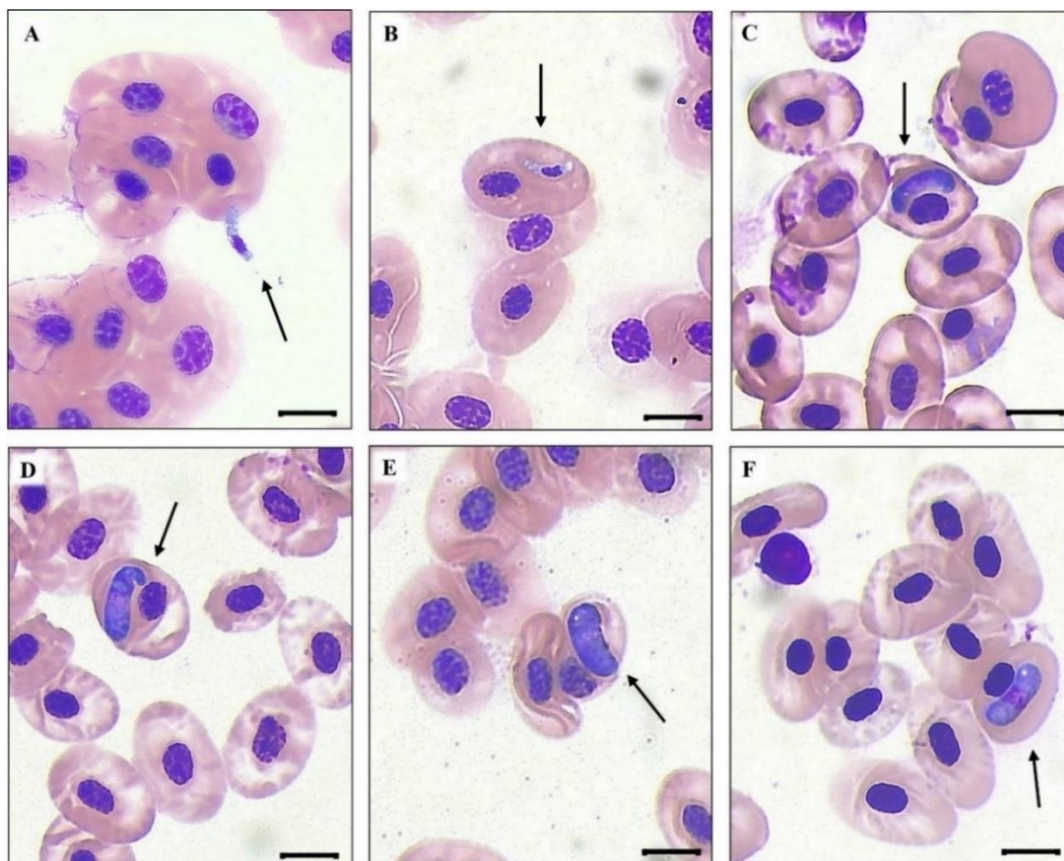


Figura 1. Formas parasitárias de *Cyrilia* sp. encontradas no sangue de *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbignyi*: **A.** Trofozoíto extracelular penetrando no eritrócito; **B.** Trofozoíto intraeritrocitário; **C.** Pré-gamonte; **D.** Pré-gamonte com cauda curva; **E.** Macrogamonte; **F.** Microgamonte. Barra de escala = 10 μ m.

Tabela 2. Morfometria (Média \pm DP) de eritrócitos de *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbignyi* não parasitados e parasitados com diferentes formas de *Cyrilia* sp.

Espécies	Status de infecção/ Formas parasitárias	Eritrócitos			Núcleo		
		AE (μ m ²)	CE (μ m)	LE (μ m)	ANE (μ m ²)	CNE (μ m)	LNE (μ m)
<i>P. motoro</i>	Não infectado	217,6 \pm 20,5 ^a	19,7 \pm 1,4 ^a	13,9 \pm 1,0 ^a	28,7 \pm 2,7 ^a	7,1 \pm 0,5 ^a	4,9 \pm 0,6 ^a
	Trofozoíto	220,7 \pm 24,1 ^a	20,1 \pm 1,8 ^a	14,0 \pm 1,3 ^a	28,2 \pm 2,1 ^a	6,9 \pm 0,6 ^a	4,5 \pm 0,7 ^a
	Pré-gamonte	261,9 \pm 27,8 ^b	23,5 \pm 1,6 ^b	15,8 \pm 1,5 ^b	27,9 \pm 3,1 ^a	7,2 \pm 0,9 ^a	5,0 \pm 0,7 ^a
	Macrogamonte	263,3 \pm 31,2 ^b	22,1 \pm 1,8 ^b	16,7 \pm 1,4 ^b	27,5 \pm 3,1 ^a	7,4 \pm 0,7 ^a	4,3 \pm 0,8 ^a
	Microgamonte	252,2 \pm 19,4 ^b	22,7 \pm 1,7 ^b	15,2 \pm 1,4 ^b	26,9 \pm 3,8 ^a	7,5 \pm 0,8 ^a	4,4 \pm 0,4 ^a
<i>P. orbignyi</i>	Não infectado	239,2 \pm 34,3 ^a	20,1 \pm 1,2 ^a	15,1 \pm 1,4 ^a	28,5 \pm 2,7 ^a	7,1 \pm 0,5 ^a	4,8 \pm 0,5 ^a
	Trofozoíto	251,7 \pm 42,3 ^a	20,6 \pm 1,5 ^a	15,7 \pm 1,1 ^a	27,0 \pm 2,4 ^a	6,8 \pm 0,7 ^a	4,9 \pm 0,9 ^a
	Pré-gamonte	291,2 \pm 48,1 ^b	24,4 \pm 2,3 ^b	19,1 \pm 2,5 ^b	26,7 \pm 4,1 ^a	7,4 \pm 0,4 ^a	4,6 \pm 0,5 ^a
	Macrogamonte	289,8 \pm 31,5 ^b	24,1 \pm 1,4 ^b	18,8 \pm 1,5 ^b	28,1 \pm 2,9 ^a	7,5 \pm 0,9 ^a	4,4 \pm 0,7 ^a
	Microgamonte	288,5 \pm 44,2 ^b	23,2 \pm 1,3 ^b	17,2 \pm 1,8 ^b	27,3 \pm 3,2 ^a	7,1 \pm 0,5 ^a	4,4 \pm 0,8 ^a

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os eritrócitos não parasitados e parasitados com diferentes formas parasitárias pelo teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de Dunn. DP: desvio padrão; AE: área do eritrócito; CE: comprimento do eritrócito; LE: largura do eritrócito; ANE: área do núcleo do eritrócito; CNE: comprimento do núcleo do eritrócito; LNE: largura do núcleo do eritrócito.

4. DISCUSSÃO

A hemoparasitologia é uma área de estudo em franca expansão por ser de interesse econômico, seja para espécies comerciais ou ornamentais. No entanto, ainda são poucos os estudos avaliando a diversidade parasitária, os índices parasitológicos e os impactos dos hemoparasitos em hospedeiros cartilagosos (Sachaeffner e Smit, 2019). Muitos relatos presentes na literatura sobre hemoparasitoses em elasmobrânquios são resultados de descobertas acidentais dos estágios sanguíneos dos parasitos durante as análises hematológicas rotineiras, gerando informações fragmentadas e até mesmo inconsistentes.

Entre os hemoparasitos de elasmobrânquios encontram-se *Haemogregarina delagei* em tubarão *Squalus acanthias* (Laird e Bullock, 1969), bem como nas arraias *Raja brachyura*, *Raja microocellata* e *Raja* sp., com prevalências de 38, 2 e 17 %, respectivamente (Aragort *et al.*, 2005). Estas mesmas arraias apresentaram infecções concomitantes de *H. delagei* e *Trypanosoma giganteum*, com maior prevalência (12 %) observada em *R. brachyura* (Aragort *et al.*, 2005). A espécie *Haemogregarina hemiscyllii* foi encontrada em baixa prevalência (6,7 %) no tubarão *Hemiscyllium ocellatum* (McKiernan *et al.*, 2005). Também foram relatadas infecções causadas pelo gênero *Desseria* sp., sendo encontradas as espécies *Desseria dasyatis* em *Dasyatis americana* (Siddall, 1995), *Desseria torpedinis* em *Torpedo* sp. (Siddall, 1995) e *Desseria harriottae* na quimera *Harriotta raleighana* (Davies *et al.*, 2012). Entre os protozoários flagelados, há relatos de infecções causadas por *Trypanosoma humboldti* no tubarão *Schroederichthys chilensis* (Valenzuela *et al.*, 2003), *T. giganteum* em *R. brachyura*, *R. microocellata* e *Raja* sp. (Aragort *et al.*, 2005), *Trypanosoma haploblephari* nos tubarões *Haploblepharus pictus* e *Haploblepharus edwardsii* (Yeld e Smit, 2006) e *Trypanosoma harriottae* em *H. raleighana* (Davies *et al.*, 2012).

Para as arraias dulciaquícolas sul-americanas foram relatadas a presença de *Cyrlia* sp. em 100 % de *P. wallacei* (Magro *et al.*, 2016) e *Haemogregarina* sp. em 34 % de *P. orbignyi* e *P. scobina* (Brito, 2012). A avaliação da prevalência de *Cyrlia* sp. em *P. wallacei* nas diferentes fases do ciclo hidrológico do médio Rio Negro, revelou uma variação de 13 % de animais infectados no período de enchente e 47 % durante o período de seca (Oliveira *et al.*, 2017), provavelmente devido ao maior adensamento das arraias durante os meses com baixos níveis de água nos rios amazônicos. Esta maior proximidade entre as arraias durante a seca facilita a transmissão hemoparasitária e justifica as elevadas taxas de prevalência observadas nas espécies de água doce, em comparação aos elasmobrânquios marinhos.

A identificação dos hemoparasitos encontrados no presente estudo foi baseada na avaliação dos caracteres morfológicos e morfométricos dos diferentes estágios de desenvolvimento parasitário observados no sangue circulante de ambas as espécies de arraias, em comparação com os dados presentes na literatura para este táxon. A diferenciação entre *Haemogregarina* sp. e *Cyrlia* sp. pode ser determinada por meio da quantificação dos esporozoítos no hospedeiro invertebrado, sendo oito para o primeiro grupo e mais de 18 para o segundo (Siddall 1995), no entanto, como não foram encontrados ectoparasitas hematófagos (isópodes ou hirudíneos) nas arraias capturadas, o hospedeiro definitivo permanece desconhecido.

Os protozoários do gênero *Haemogregarina* e *Cyrlia* são conhecidos por produzirem merontes intraeritrocitários, em contrapartida, em *Desseria* sp. os estágios de merozoíto são encontrados apenas no hospedeiro invertebrado definitivo e em órgãos do hospedeiro intermediário (Siddall, 1995). A ausência de merontes no sangue das arraias aqui investigadas poderia sugerir, possivelmente, que os parasitos encontrados pertencem ao gênero *Desseria*, no entanto, foram identificados nas extensões sanguíneas gamontes maduros de dois tipos (macro e microgamontes), com características morfológicas semelhantes às descritas para *Cyrlia lignieresii*, infectando o teleósteo *Synbranchus marmoratus* (Lainson, 1981), e em *Cyrlia* sp., parasitando a arraia *P. wallacei* (Magro *et al.*, 2016). A associação da ausência de merogonia intraeritrocitária com o gênero *Desseria* deve ser interpretada com parcimônia, visto que o peixe pulmonado *L. paradoxa* também não apresentou merontes no sangue circulante, levantando a hipótese de infecção por *Desseria* sp., porém a caracterização molecular resultou na descrição de *Haemogregarina daviesensis* com bootstrap de 99% com *Haemogregarina* sp. isolada do quelônio *Macrochelys temminckii* (Esteves-Silva *et al.*, 2019).

As características morfométricas dos gamontes maduros (macrogamontes e microgamontes) do presente estudo foram similares aos macro (15,9 x 5,7 μm) e microgamontes (13,7 x 5,0 μm) de *Cyrlia* sp. (Magro *et al.*, 2016), porém superiores aos macro (11,0 x 5,0 μm) e microgamontes (8,8 x 4,7 μm) de *C. lignieresii* (Lainson, 1981), assim como aos gamontes maduros de *D. mugili* (10,4 x 3,1 μm), *D. harriottae* (8,7 x 3,2 μm), *H. delagei* (11 x 2 μm) e *H. platessae* (9,4 x 3,1 μm) (Eiras *et al.*, 1995; Siddall, 1995; Aragort *et al.*, 2005; Davies *et al.*, 2008). Os gametócitos de *Haemogregarina bertonii* (15 x 3 μm) e de *H. daviesensis* (16 x 6 μm) também apresentaram dimensões similares aos encontrados no presente estudo (Schouten, 1941; Esteves-Silva *et al.*, 2019).

Os pré-gamontes de *P. motoro* e *P. orbigny* apresentaram características morfológicas e morfométricas similares às descritas em *C. lignieresii* e *Cyrlia* sp., incluindo a presença de

cauda curva, citoplasma basofílico e vacuolização, no entanto, não foram visualizados grânulos azurófilos nos gamontes imaturos das arraias de água doce (Lainson, 1981; Magro *et al.*, 2016). Os trofozoítos foram as menores formas parasitárias observadas no sangue das arraias *P. motoro* e *P. orbigny*, corroborando as descrições de Magro *et al.* (2016). No presente estudo, os parasitos foram encontrados livres no sangue circulante ou no interior dos eritrócitos, no entanto, esta forma parasitária também pode infectar monócitos e linfócitos, bem como células esplênicas e hepáticas de algumas espécies de peixes (Davies, 1995).

As células sanguíneas hemoparasitadas frequentemente sofrem alterações morfológicas e morfométricas (Al-Quraishy *et al.*, 2021), sendo que a hipertrofia eritrocítica pode ser um resultado direto do volume adicional da forma parasitária no interior do eritrócito ou ainda uma resposta eritrocitária adaptativa à presença do parasito (Abdel-Haleem *et al.*, 2018; Abdel-Baki *et al.*, 2020). No presente estudo, todas as formas parasitárias modificaram a morfologia dos eritrócitos, com o deslocamento do núcleo. Além disso, os gamontes imaturos e maduros provocaram hipertrofia eritrocítica, de modo semelhante ao relatado para lagarto *Ptyodactylus hasselquistii* infectado por *Karyolysus* sp. (Hussein, 2006), para anfíbio *Rana catesbeiana* infectado por *Hepatozoon catesbiana* (Desser *et al.*, 1995) e para serpentes *Boa constrictor amarali*, *Crotalus durissus terrificus*, *Philodryas patagoniensis* e *Hydrodynastes gigas* infectadas por *Hepatozoon* spp. (Moço *et al.*, 2002). Em contrapartida, os eritrócitos de *P. wallacei*, *P. motoro* e *P. aiereba* parasitados por *Cyrlia* sp., não apresentaram indícios de aumento celular (Magro, 2013).

A maioria dos gametócitos dos hemogregarídeos não invade o núcleo celular, mas desloca-o para a lateral ou para o polo da célula hospedeira, podendo causar um achatamento e/ou alongamento nuclear, conforme observado em várias espécies de serpentes brasileiras infectadas por *Hepatozoon* spp. (Moço *et al.*, 2002) e no lagarto *Varanus albigularis albigularis* infectado por *Karyolysus paradoxa* (Cook *et al.*, 2016). Em contrapartida, o parasito *Cyrlia* sp. modificou a disposição do núcleo dentro da célula, mas não ocasionou alterações morfológicas nucleares em *P. motoro* e *P. orbigny* do presente estudo, assim como em *P. wallacei*, *P. motoro* e *P. aiereba* infectadas por esse mesmo hemoparasito (Magro, 2013). Algumas espécies de *Hepatozoon* sp. e *Karyolysus* sp. podem agir de modo diferenciado no interior dos eritrócitos, apresentando um efeito cariолítico na célula hospedeira, ocasionando a fragmentação destrutiva do núcleo e distribuição da cromatina pelo citoplasma (Cook *et al.*, 2016).

As semelhanças morfológicas e morfométricas dos hemoparasitos deste estudo indicam que os parasitos sanguíneos encontrados em *P. motoro* e *P. orbigny* pertencem ao gênero *Cyrlia*. Embora a parasitemia observada tenha sido baixa, os hematozoários afetaram a

morfologia e morfometria dos eritrócitos infectados. Estas alterações sugerem que, em situações com elevada carga parasitêmica, a capacidade carreadora de oxigênio e, conseqüentemente, o metabolismo energético das arraias pode ser afetado.

Estudos futuros de caracterização de biologia molecular são necessários para a identificação da espécie de *Cyrlia* encontrada no presente estudo.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) pelo financiamento da pesquisa por meio do Programa Biodiversa (Edital 007/21, processo 01.02.016301.03250/2021-78) e do Programa Estratégico de Desenvolvimento do Setor Primário Amazonense (Edital 008/2021, processo 01.02.016301.03216/2021-01). MQCS agradece ao Instituto Federal do Amazonas (IFAM) pela liberação para cursar o doutorado. Em adição, ATO agradece à concessão da bolsa de produtividade em pesquisa e à bolsa de pós-doutorado sênior do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (processos 315713/2020-8 e 102455/2022-8).

REFERÊNCIAS

- Abdel-Baki, A.S., Mansour, L., Al-Malki, E.S., Al-Quraishy, S., Abdel-Halim, H.M., 2020. Morphometric and molecular characterization of *Hepatozoon bashtari* n. sp. in painted saw-scaled viper, *Echis coloratus* (Ophidia, Viperidae). *Parasitol. Res.* 119, 3793-3801. <https://doi.org/10.1007/s00436-020-06886-y>
- Abdel-Haleem, H.M., Mansour, L., Holal, M., Qasem, M.A., Al-Quraishy, S., Abdel-Baki, A.S., 2018. Molecular characterisation of *Hepatozoon aegypti* Bashtar, Boulou & Mehlhorn, 1984 parasitising the blood of *Spalerosophis diadema* (Serpentes: Colubridae). *Parasitol. Res.* 117, 3119-3125. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-6006-4>
- Al-Quraishy, S., Abdel-Ghaffar, F., Dkhil, M.A., Abdel-Gaber, R., 2021. Haemogregarines and Criteria for Identification. *Animals.* 11, 170. <https://doi.org/10.3390/ani11010170>
- Aragort, W., Alvarez, M., Leiro, J., Sanmartín, M., 2005. Blood protozoans in elasmobranchs of the family Rajidae from Galicia (NW Spain). *Dis. Aquat. Organ.* 65, 63-68. <http://dx.doi.org/10.3354/dao065063>
- Brito, F.M.M., 2012. Variáveis hematológicas, hormonais, bioquímicas séricas e fauna parasitária em quatro espécies de raias do gênero *Potamotrygon garman*, 1877 (Myliobatiformes, Potamotrygonidae) de vida livre. 63 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, São Paulo.

Bush, A.O., Lafferty, K.D., Lotz, J.M., Shostak, A.W., 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al.* revisited. *J. Parasitol.* 83 (4), 575-583.

Ceylan, O., Úngari, L.P., Sönmez, G., Gül, Ç., Ceylan, C., Tosunoğlu, M., Baycan, B., O'Dwyer, L.H, Sevinc, F., 2023. Discovery of a new Hepatozoon species namely *Hepatozoon viperi* sp. nov. in nose-horned vipers in Türkiye. *Sci. Rep.* 13, 9677. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-023-36814-w>

Cook, C.A., Netherlands, E.C., Smit, N.J., 2016. Redescription, molecular characterisation and taxonomic re-evaluation of a unique African monitor lizard haemogregarine *Karyolysus paradoxa* (Dias, 1954) n. comb. (Karyolysidae). *Parasit Vectors.* 9, 347. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1600-8>

Davies, A.J., 1995. The biology of fish Haemogregarines. *J. Adv. Parasitol.* 36, 118-202. [https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(08\)60491-1](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(08)60491-1)

Davies, A., Amado, L.L., Cook, R., Bianchini, A., Eiras, J.C., 2008. Potential environmental and host gender influences on prevalence of *Haemogregarina platessae* (Adeleorina: Haemogregarinidae) and suspected *Haemohormidium terraenovae* (incertae sedis) in Brazilian flounder from the Patos Lagoon Estuary, Southern Brazil. *Folia Parasitol.* 55, 161-170. <https://doi.org/10.14411/fp.2008.023>

Davies, A.J., Hosein, S., Merrett, N.R., 2012. Haemotozoans from deep water fishes trawled off the Cape Verde Islands and over the Porcupine Seabight, with a revision of species within the genus *Desseria* (Adeleiorina: Haemogregarinidae). *Folia Parasitol.* 59, 1-11. <https://doi.org/10.14411/fp.2012.001>

Davies, A.J., Johnston, M.R.L., 2000. The biology of some intraerythrocytic parasites of fishes, amphibian and reptiles. *Adv. Parasitol.* 45, 2-89.

Davies, A.J., Smit, N.J., 2001. The life cycle of *Haemogregarina bigemina* (Adeleina: Haemogregarinidae) in South African hosts. *Folia Parasitol.* 48, 169-177. <https://doi.org/10.14411/fp.2001.029>

Davies, A.J., Smit, N.J., Hayes, P.M., Seddon, A.M., Wertheim, D., 2004. *Haemogregarina bigemina* (Protozoa: Apicomplexa: Adeleorina) – past, present and future. *Folia Parasitol.* 51, 99-108. <https://doi.org/10.14411/fp.2004.015>

Desser, S.S., Hong, H., Martin, D.S., 1995. The life history, ultrastructure and experimental transmission of *Hepatozoon catesbiana* n. comb., an apicomplexan parasite of the bullfrog, *Rana catesbeiana* and the mosquito, *Culex territans* in Algonquin Park, Ontario. *J. Parasitol.*, 81, 212-222. <https://doi.org/10.2307/3283922>

Duncan, W.P., Costa, O.T.F., Sakuragui, M.M., Fernandes, M.N., 2010. Functional morphology of the gill in Amazonian freshwater stingrays (Chondrichthyes: Potamotrygonidae): implication for adaptation to freshwater. *Physiol. Biochem. Zool.* 83, 19-32. <https://doi.org/10.1086/605458>

Eiras, J.C., Ranzani-Paiva, M.J.T., Davies, A.J., 1995. Observations on *Haemogregarina mugili* (Apicomplexa) and *Trypanosoma froesi* (Sarcomastigophora) from the blood of *Mugil platanus* Günther, 1880 (Pisces: Mugilidae) in Brazil. Res. Ver. Parasitol. 55, 173-176.

Eiras, J.C., Takemoto, R.M., Pavanelli, G.C., Luque, J.L., 2012. Checklist of protozoan parasites of fishes from Brazil. Zootaxa. 3221, 1-25. <http://dx.doi.org/10.11646/zootaxa.3221.1.1>

Esteves-Silva, P.H., Silva, M.R.L., O'Dwyer, L.H., Tavares-Dias, M., Viana, L.A., 2019. *Haemogregarina daviesensis* sp. nov. (Apicomplexa: Haemogregarinidae) from South American lungfish *Lepidosiren paradoxa* (Sarcopterygii: Lepidosirenidae) in the eastern Amazon region. Parasitol. Res. 118, 2773-2779. <https://doi.org/10.1007/s00436-019-06430-7>

Goes, V.C., Brito, E.S., Valadão, R.M., Gutierrez, C.O., Picelli, A.M., Viana, L.A., 2018. Haemogregarine (Apicomplexa: Adeleorina) infection in Vanderhaege's toad-headed turtle, *Mesoclemmys vanderhaegei* (Chelidae), from a Brazilian Neotropical savanna region. Folia Parasitol. 65, 2018.012. <https://doi.org/10.14411/fp.2018.012>

Hussein, A.N.A., 2006. Light and transmission electron microscopic studies of a haemogregarine in naturally infected fan-footed gecko (*Ptyodactylus hasselquistii*). Parasitol. Res. 98, 468-471. <https://doi.org/10.1007/s00436-005-0084-9>

IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis., 2008. Instrução Normativa N°. 204/2008.

Lainson, R., 1981. On *Cirilia gomesi* (Neiva e Pinto, 1926) gen. nov. (Haemogregarinidae) and *Trypanosoma bourouli* Neiva e Pinto, in the fish *Synbranchus marmoratus*: Simultaneous transmission by the leech *Haementeria lutzi*. In: Canning, E.U. Parasitological Topics Special publication. Society of Protozoologists, p.150-158.

Lainson, R., 2012. Atlas de parasitas protozoários da fauna da Amazônia Brasileira: Haemosporida de répteis. Ananindeua: Instituto Evandro Chagas, 78p.

Laird, M., Bullock, W.L., 1969. Marine fish hematozoa from New Brunswick and New England. J. Fish. Res. 26, 1075-1102.

Lasso, C.A., Rosa, R., Morales-Betancourt, M.A., Garrone-Neto, D., Carvalho, M., 2016. Rayas de agua dulce (Potamotrygonidae) de Suramérica. Parte II: Colombia, Brasil, Perú, Bolivia, Paraguay, Uruguay y Argentina. Bogotá: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, 435p.

Magro, N.M., 2013. Prevalência de hemogregarina em arraias de água doce (Potamotrygonidae) da região Norte, com descrição de uma nova espécie do gênero *Cyrlia*. 69 f. Dissertação (Mestrado em Biologia de Parasitas e Microorganismos) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

Magro, N.M., Oliveira, A.T., O'Dwyer, L.H., 2016. First report and description of a *Cyrlia* sp. (Apicomplexa: Haemogregarinidae) from a freshwater cururu stingray *Potamotrygon cf. hystrix* (Elasmobranchii: Potamotrygonidae), from the Amazon Region, Brazil. J. Fish Dis. 39, 907-911. <https://doi.org/10.1111/jfd.12425>

McKiernan, J.P., Grutter, A.S., Davies, A.J., 2005. Reproductive and feeding ecology of parasitic gnathiid isopods of epaulette sharks (*Hemiscyllium ocellatum*) with consideration of their role in the transmission of a haemogregarine. *Int. J. Parasitol.* 35, 19-27. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2004.10.016>

Moço, T.C., O'Dwyer, L.H., Vilela, F.C., Barrella, T.H., Silva, R.J. 2002. Morphologic and morphometric analysis of *Hepatozoon* spp. (Apicomplexa, Hepatozoidae) of snakes. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 97(8), 1169-1176. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762002000800019>

Motta, R.O.C., Marques, M.V.R., Ferreira Junior, F.C., Andery, D.A., Horta, R.S., Peixoto, R.B., Lacorte, G.A., Moreira, P.A., Leme, F.O.P., Melo, M.M., Martins, N.R.S., Braga, E.M., 2013. Does haemosporidian infection affect hematological and biochemical profiles of the endangered Black-fronted piping-guan (*Aburria jacutinga*)? *PeerJ* 1:e45. <https://doi.org/10.7717/peerj.45>

Nóbrega, Y.C., Machado, Y., Curbani, F., Nossa, D.N., Acosta, I.C., Ferreira, R.B., Santos, M.R.D., Menezes, P.Q., Silva, T.T., Srbek-Araujo, A.C., 2022. Prevalence of haemogregarines and their effects on erythrocytic parameters in wild and captive *Caiman latirostris* (Crocodylia: Alligatoridae) in southeastern Brazil. *Herpetol.* 15, 657-662.

Oliveira, A.T., Araújo, M.L.G., Pantoja-Lima, J., Aride, P.H.R., Tavares-Dias, M., Brinn, R.P., Marcon, J.L., 2017. *Cyrilia* sp. (Apicomplexa: Haemogregarinidae) in the Amazonian freshwater stingray *Potamotrygon wallacei* (cururu stingray) in different hydrological phases of the Rio Negro. *Braz. J. Biol.* 77, 413-416. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.00416>

Oliveira, A.T., Lemos, J.R., Santos, M.Q.C., Araújo, M.L.G., Tavares-Dias, M., Marcon, J.L., 2012. Procedimentos de manuseio e coleta sanguínea em arraias de água doce. Macapá: Embrapa Amapá, 22p.

Picelli, A.M., Ramires, A.C., Masseli, G.S., Pessoa, F.A.C., Viana, L.A., Kaefer, I.L., 2020. Under the light: high prevalence of haemoparasites in lizards (Reptilia: Squamata) from Central Amazonia revealed by microscopy. *An. Acad. Bras. Ciênc.* 92 (2), e20200428. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202020200428>

Rojas-Pirela, M., Medina, L., Rojas, M. V., Liempi, A. I., Castillo, C., Pérez-Pérez, E., Guerrero-Muñoz, J., Araneda, S., Kemmerling, U., 2021. Congenital Transmission of Apicomplexan Parasites: A Review. *Front. Microbiol.* 12, 751648. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.751648>

Schaeffner, B.C., Smit, N.J., 2019. Parasites of cartilaginous fishes (Chondrichthyes) in South Africa - a neglected field of marine science. *Folia Parasitol.* 66, 2019.002. <https://doi.org/10.14411/fp.2019.002>

Schouten, G.B., 1941. *Haemogregarina bertonii* n. sp. hematozoário de *Lepidosiren paradoxa* Fitingier. *Rev. Soc. Cien. Paraguay* 5, 113-115.

Siddall, M.E., 1995. Phylogeny of adeleid blood parasites with a partial systematic revision of the haemogregarina complex. *J. Eukaryot. Microbiol.* 42, 116-125. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.1995.tb01551.x>

Siddall, M.E., Desser, S.S., 1993. Ultrastructure of merogonic development of *Haemogregarina* (sensu lato) *myxocephali* (Apicomplexa: Adeleina) in the marine leech *Malmiana scorpii* and localization of infective stages in the salivary cells. Eur. J. Protistol. 29, 191-201. [https://doi.org/10.1016/S0932-4739\(11\)80273-7](https://doi.org/10.1016/S0932-4739(11)80273-7)

Smit, N.J., Davies A.J., 2006. *Desseria zeii* sp. nov. (Adeleorina: Haemogregarinidae) infecting *Zeus capensis* from deep waters off the south and west coasts of South Africa. J. Mar. Biol. Assoc. U. K. 86, 1477-1480. <http://dx.doi.org/10.1017/S002531540601455X>

Smit, N.J., Eiras, J., Ranzani-Paiva, M.J.T., Davies, A.J., 2002. A *Desseria* sp. from flathead mullet in South Africa. J. Mar. Biol. Assoc. U. K. 82, 675-676. <http://dx.doi.org/10.1017/S0025315402006057>

Telford, S.R., 2009. Hemoparasites of the Reptilia: Color Atlas and Text. Boca Raton, FL: CRC Press, 394p.

Úngari, L.P., Netherlands, E.C., Santos, A.L.Q., Alcantara, E.P., Castro, E.E., Silva, R.J., O'Dwyer, L.H., 2021. New insights on the diversity of Brazilian anuran blood parasites: Description of three new species of *Hepatozoon* (Apicomplexa: Hepatozoidae) from *Leptodactylidae* anurans. IJP-PAW. 14, 190-201. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2021.02.009>

Úngari, L.P., Netherlands, E.C., Santos, A.L.Q., Alcantara, E.P., Castro, E.E., Silva, R.J., O'Dwyer, L.H., 2022. Diversity of Haemogregarine Parasites Infecting Brazilian Anurans, with a Description of New Species of *Dactylosoma* (Apicomplexa: Adeleorina: Dactylosomatidae). Acta Parasitol. 67, 1740-1755. <http://dx.doi.org/10.1007/s11686-022-00624-3>

Úngari, L.P., Santos, A.L.Q., O'Dwyer, L.H., Silva, M.R.L., Melo Fava, N.N., Paiva, G.C.M., Cury, M.C., 2018. *Haemogregarina podocnemis* sp. nov.: description of a new species of *Haemogregarina* Danilewsky 1885 (Adeleina: Haemogregarinidae) in free-living and captive yellow-spotted river turtles *Podocnemis unifilis* (Testudines: Podocnemididae) from Brazil. J. Parasitol. Res. 117, 1535-1548. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-5817-7>

Valenzuela, A., Oyarzún, C., Silva, V., 2003. Células sanguíneas de *Schroederichthys chilensis* (Guichenot 1848) (Elasmobranchii, Scyliorhinidae): La serie blanca. Gayana. 67, 130-137.

Wosniak, E.J., McLaughlin, G.L., Telford, S.R., 1994. Description of the vertebrate stages of a hemogregarine species naturally infecting Mojave Desert Sidewinders (*Crotalus cerastes cerastes*). J. Zoo. Wildl. Med. 25 (1), 103-110.

Yeld, E., Smit, N.J., 2006. A new species of *Trypanosoma* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) infecting catsharks from South Africa. J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 86, 829-833. <http://dx.doi.org/10.1017/S0025315406013750>

CAPÍTULO IV

A INFECÇÃO POR HEMOPARASITOS AFETA O PERFIL HEMATOLÓGICO E BIOQUÍMICO PLASMÁTICO DE *Potamotrygon motoro* E *Potamotrygon orbignyi* DE VIDA LIVRE?

Marcio Quara de Carvalho Santos^{1,2}, Flávia Dayane Felix Farias¹, Paulo Henrique Rocha Aride³, Adriano Teixeira de Oliveira^{1,3}

¹Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros (PPG-CARP), Universidade Federal do Amazonas (UFAM), AM, Brasil. Avenida Rodrigo Otávio, 6200 – Coroado, CEP: 69080-900. Manaus, Amazonas.

²Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas (IFAM), Campus Coari, AM, Brasil. Estrada Coari Itapéua, s/n – Itamarati, CEP: 69460-000. Coari, Amazonas.

³Laboratório de Morfofisiologia Animal, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas (IFAM), Campus Manaus Centro, AM, Brasil. Avenida Sete de Setembro, 1975 – Centro, CEP: 69020-120. Manaus, Amazonas.

RESUMO: As doenças hemoparasitárias são consideradas um fator crítico na conservação de animais da vida selvagem, podendo ocasionar declínios populacionais e até a extinção de espécies. Recentemente, foi registrada a ocorrência de hemoparasitos no sangue de arraias de água doce da região Amazônica, no entanto, o impacto destes parasitos nos parâmetros sanguíneos das arraias ainda é desconhecido. O objetivo deste estudo foi avaliar a ocorrência de hemoparasitos e seu impacto nos parâmetros hematológicos e bioquímicos plasmáticos em *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbignyi* da região do baixo rio Solimões, Amazonas, Brasil. Foram capturados 130 arraias juvenis, de ambos os sexos, sendo 81 espécimes de *P. motoro* e 49 de *P. orbignyi*. Foram encontrados gametócitos de *Cyrilia* sp. infectando eritrócitos maduros, com parasitemia variando de 0 a 1,9 % de células infectadas. A prevalência total de infecção foi de 49,2 %, não sendo observada diferença significativa na prevalência e parasitemia entre as espécies, bem como entre machos e fêmeas de ambas as espécies estudadas. O hemoparasitismo não ocasionou alterações significativas nos parâmetros sanguíneos dos animais. Em contrapartida, a parasitemia apresentou significativa correlação negativa com o hematócrito, hemoglobina, número de eritrócitos e proteínas plasmáticas em *P. motoro*, e com hematócrito e hemoglobina em *P. orbignyi*. De modo geral, a baixa parasitemia não gerou

alterações nas respostas fisiológicas de *P. motoro* e *P. orbigny*, no entanto, as correlações negativas observadas ressaltam o potencial dano que os hemoparasitos podem ocasionar na demanda energética das arraias em situações com elevada carga parasitária. Este é o primeiro relato sobre o impacto de infecções hemoparasitárias em parâmetros fisiológicos de arraias de água doce e esses dados podem contribuir para o acompanhamento da saúde dessas populações selvagens.

Palavras-chave: Amazônia, conservação, hematologia, hemoparasitos, arraia de água doce.

1. INTRODUÇÃO

As doenças parasitárias podem afetar de forma significativa a biodiversidade, ocasionando declínios temporários ou permanentes na abundância e distribuição dos hospedeiros em ambiente natural (Motta *et al.*, 2013), pois os parasitos estão ecologicamente envolvidos em importantes mecanismos regulatórios de populações de vida selvagem (Picelli *et al.*, 2020). O sinergismo entre as infecções e outros fatores, como a perda de habitat, mudanças climáticas, sobre-exploração, introdução de espécies invasoras e poluição ambiental, tem contribuído para extinções de vários táxons em nível local e global (Daszak *et al.*, 2000; Castro e Bolker, 2005; Smith *et al.*, 2009).

Apesar dos parasitos serem frequentemente estudados (Chagas *et al.*, 2015; Tavares-Dias, 2015; Jerônimo *et al.*, 2017; Rocha *et al.*, 2018; Jerônimo *et al.*, 2022), existe um grupo relativamente pouco analisado em peixes amazônicos, os hemoparasitos. Estes protozoários são caracterizados por utilizarem o sangue do hospedeiro para crescimento e reprodução, sendo encontrados livres no sangue circulante ou no interior das células sanguíneas (Valkiunas, 2005). Durante longo período, a maioria dos parasitos sanguíneos foram considerados inofensivos por serem normalmente encontrados em animais clinicamente saudáveis (Motta *et al.*, 2013). Embora as infecções hemoparasitárias possam ser silenciosas e ficarem evidentes apenas mediante uma resposta clínica do hospedeiro à infecção (Valkiunas, 2005), estes parasitos podem impactar negativamente seus hospedeiros, especialmente durante situações de estresse ou de alta demanda energética, afetando o comportamento reprodutivo, o sucesso competitivo, a eficiência biológica e as condições corporais (Sabagh *et al.*, 2015; Ola-Fadunsin *et al.*, 2021; González *et al.*, 2021; Apache *et al.*, 2023). Atualmente, o hemoparasitismo é considerado um desafio para a saúde, produção e reprodução de algumas espécies animais, causando a destruição dos eritrócitos, resultando em anemia, diminuindo o peso corporal dos indivíduos,

reduzindo a fecundidade e, dependendo da carga parasitária, pode levar à morte dos hospedeiros (González *et al.*, 2021; Ola-Fadunsin *et al.*, 2021).

As investigações sobre hemoparasitoses concentram-se principalmente na descrição da diversidade parasitária. Porém, os efeitos sanguíneos destas infecções ainda são desconhecidos para várias espécies, como os elasmobrânquios de água doce. Apenas recentemente foram publicadas as primeiras informações científicas acerca da presença de hemoparasitos no sangue circulante das arraias do gênero *Potamotrygon*, com a descrição de uma provável nova espécie de *Cyrtilia* sp. (Apicomplexa: Haemogregarinidae) em *Potamotrygon wallacei* (Magro *et al.*, 2016) e com a avaliação da flutuação da prevalência dos hemoparasitos em *P. wallacei* ao longo do pulso de inundação do médio Rio Negro, Amazonas (Oliveira *et al.*, 2017).

As arraias do gênero *Potamotrygon* (família Potamotrygonidae, subfamília Potamotrygoninae) são exclusivas de ambientes de água doce, ocorrendo naturalmente nas águas continentais da América do Sul (Carvalho *et al.*, 2016). No entanto, existem registros de populações estabelecidas fora da sua área de distribuição nativa, como em sistemas fluviais de Singapura (Ng *et al.*, 2010) e Indonésia (Jerikho *et al.*, 2023). Embora pouco estudadas, quando comparados aos teleósteos e aos elasmobrânquios marinhos, estas arraias representam um importante componente da fauna neotropical dulciaquícola e possuem elevada importância socioeconômica, sendo utilizadas tanto para fins ornamentais (IBAMA, 2008) quanto para fins de consumo alimentar na Amazônia (Oliveira *et al.*, 2023; Andrade *et al.*, 2024). Apesar de sua importância, muitas espécies de *Potamotrygon* sp. ainda permanecem desprotegidas pela Convenção sobre o Comércio Internacional de Espécies da Fauna e Flora Selvagens Ameaçadas de Extinção (CITES) devido à insuficiência de dados biológicos, populacionais e comerciais (Jerikho *et al.*, 2023).

Com intuito de agregar conhecimentos sobre a biologia de espécies do gênero *Potamotrygon* sp. e identificar possíveis fatores de risco para populações selvagens, este estudo teve como objetivo avaliar a ocorrência de hemoparasitos e o impacto da hemoparasitose em parâmetros hematológicos e bioquímicos plasmáticos de *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbignyi* da bacia Amazônica, no Brasil.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Captura dos animais e coleta sanguínea

As coletas de campo ocorreram em ambientes de água branca na região do baixo rio Solimões, Amazonas, Brasil, nos arredores dos municípios de Manaquiri, Manacapuru e

Irاندوبا (coordenadas geográficas: 03°17'38,4"S e 60°34'40,8"W; 03°33'22,9"S e 60°28'28,8"W; 03°18'48,2"S e 60°11'03,8"W). As arraias foram capturadas durante o período de setembro/2022 a fevereiro/2023, no período noturno, com auxílio de rede de arrasto. Os locais de captura apresentaram as seguintes características físicas e químicas da água (Média \pm DP): pH: $6,3 \pm 0,2$, O₂ dissolvido: $4,2 \pm 0,5$ mg L⁻¹, temperatura: $30,6 \pm 1,1$ °C, condutividade elétrica: $91,8 \pm 7,4$ μ S cm⁻¹, alcalinidade: $54,2 \pm 7,9$ mg L⁻¹, dureza total: $43,4 \pm 6,6$ mg L⁻¹, nitrito: $0,02 \pm 0,01$ mg L⁻¹ e amônia total: $0,10 \pm 0,04$ mg L⁻¹.

Foram capturadas 130 arraias de ambos os sexos, sendo 81 espécimes juvenis de *Potamotrygon motoro* ($22,4 \pm 3,8$ cm de largura de disco, $38,6 \pm 6,4$ cm de comprimento total e $607,4 \pm 302,8$ g de peso corporal) e 49 juvenis de *Potamotrygon orbignyi* ($23,1 \pm 3,1$ cm de largura de disco, $40,4 \pm 5,7$ cm de comprimento total e $643,3 \pm 244,5$ g de peso corporal). Imediatamente após a captura, as arraias foram anestesiadas com solução de benzocaína (1:20,000) para a obtenção das amostras sanguíneas por punção da artéria branquial com a utilização de seringas com EDTA 10 % (Oliveira *et al.*, 2012). O eritrograma e os esfregaços sanguíneos foram realizados em campo, enquanto o plasma foi obtido por centrifugação a $2.680 \times g$ por 10 minutos (SciSpin Mini Microfuge, UE) e armazenado em freezer -80 °C até o momento da determinação dos constituintes bioquímicos. A determinação sexual foi realizada por meio da observação macroscópica do cláspere. Os animais foram marcados e, após a recuperação da anestesia, devolvidos aos locais de captura.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Instituto Federal do Amazonas (processo n°. 2019/010.02.0905) e coleta das arraias foi autorizada pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) (Autorização SISBIO/ICMBio: 41350-6).

2.2. Análises hematológicas

O hematócrito foi determinado pelo método de microhematócrito, a concentração de hemoglobina pelo método da cianometahemoglobina e a contagem de eritrócitos (RBC) foi feita em câmara de Neubauer, após a diluição do sangue em solução de formol-citrato. O volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) foram calculadas de acordo com Ranzani-Paiva *et al.* (2013). As contagens totais de leucócitos e trombócitos, bem como a contagem diferencial de leucócitos, foram realizadas em extensões sanguíneas coradas com May Grunwald-Giemsa-Wright (Tavares-Dias e Moraes, 2006).

A bioquímica plasmática foi determinada com auxílio de kits comerciais específicos para cada constituinte (Labtest Diagnóstica S.A., Brasil e In Vitro Diagnóstica Ltda, Brasil). A

concentração de proteínas totais foi determinada pelo método de biureto modificado. A albumina pelo método de verde de bromocresol. A globulina foi calculada a partir da subtração dos valores de proteínas plasmáticas totais e albumina, para posterior determinação da relação albumina/globulina (A:G). A glicose plasmática foi determinada pelo método da glicose oxidase. Os triglicerídeos, colesterol total e ácido úrico pelo método enzimático-colorimétrico. A ureia pela metodologia da urease modificada. Os níveis plasmáticos de cloreto, fósforo e magnésio foram determinados pelos métodos de tiocianato de mercúrio, fosfomolibdato UV e azul de xilidila, respectivamente. Todas essas análises foram lidas em espectrofotômetro com diferentes comprimentos de onda (Shimadzu Corp., UV-1280, Japão). As concentrações de sódio e potássio foram determinadas em fotômetro de chama (Digimed DM 61, Brasil). As enzimas Aspartato Aminotransferase (AST), Alanina Aminotransferase (ALT) e Creatina Quinase Total (CK) foram determinadas pelo método cinético UV e a Fosfatase Alcalina (ALP) pelo método p-Nitrofenilfosfato, com auxílio de kits comerciais específicos (Labtest Diagnóstica S.A., Brasil) e análises em leitor de microplaca (Molecular Devices SpectraMax Plus 384, EUA).

2.3 Análises dos hemoparasitos

As extensões sanguíneas foram secas ao ar livre, fixadas em metanol absoluto e coradas por 40 min com solução de Giemsa 10 % diluída em água tamponada (pH 7,2-7,4) (adaptado de Motta *et al.*, 2013). As extensões foram examinadas por meio de microscopia óptica (Bioptika B60 com câmera acoplada) em baixa ampliação (x400) por 10 a 15 min. Em seguida, 100 campos microscópicos foram examinados em aumento de 1000x, com a utilização de óleo de imersão. A taxa de prevalência (%) das arraias parasitadas foi determinada de acordo com Bush *et al.* (1997). A parasitemia (%) foi calculada observando o número de células parasitadas em 1000 células analisadas e depois multiplicando por 100 (Magro *et al.*, 2016). A identificação dos hemoparasitos foi realizada por meio da análise das características morfológicas dos protozoários baseada em estudos prévios (Telford, 2009; Lainson, 2012; Magro *et al.*, 2016).

2.4. Análises estatísticas

A média e o desvio padrão de cada parâmetro hematológico e bioquímico plasmático foram calculados de acordo com a espécie e com o *status* de infecção (negativo e positivo). Os dados foram inicialmente analisados pelo teste de normalidade de Shapiro-Wilk e, em seguida, submetidos ao teste U de Mann-Whitney para a comparação das médias de animais infectados e não-infectados e para a comparação da parasitemia entre machos e fêmeas. O teste qui-

quadrado de Pearson foi utilizado para comparar a prevalência dos hemoparasitos entre *P. motoro* e *P. orbignyi* e entre machos e fêmeas de cada espécie isoladamente. O coeficiente de correlação de Spearman (rs) foi utilizado para determinar as correlações entre a parasitemia e os parâmetros sanguíneos. Todas as análises foram realizadas a 5% de significância, com auxílio do software Statistica, versão 10.0 (StatSoft, Inc., EUA).

3. RESULTADOS

Todas as arraias capturadas apresentaram boas condições de higidez durante o seu exame físico, não sendo observadas lesões no corpo tais como deformidades, lacerações e mutilação, ou sinais clínicos que evidenciassem algum tipo de doença. Os índices parasitários estão apresentados na Tabela 1. Das 130 arraias analisadas, 64 espécimes apresentaram gametócitos de *Cyrtia* sp. em diferentes estágios de desenvolvimento. Os parasitos foram encontrados majoritariamente no interior de eritrócitos maduros, deslocando lateralmente o núcleo (Figura 1, A e B), embora parasitos extracelulares também tenham sido observados.

A prevalência geral de infecção foi de 49,2 % (53,1 % para *P. motoro* e 42,8 % para *P. orbignyi*), não sendo observada diferenças significativas entre as espécies ($p=0,258$) e entre machos e fêmeas de *P. motoro* ($p=0,917$) e de *P. orbignyi* ($p=0,804$). Quanto à intensidade da infecção, foi encontrada baixa parasitemia para ambas as espécies de arraias, com variação total de 0 a 1,9 % de eritrócitos infectados, e valores parasitêmicos médios de 0,22 % e 0,18 % para *P. motoro* e *P. orbignyi*, respectivamente. Não foi observado efeito do sexo na parasitemia total ($p=0,539$) e para *P. motoro* ($p=0,438$) e *P. orbignyi* ($p=0,991$), individualmente.

Tabela 1. Índices parasitológicos de *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbignyi* infectadas com gametócitos de *Cyrtia* sp.

Índices parasitológicos	<i>Potamotrygon motoro</i>	<i>Potamotrygon orbignyi</i>	Espécies combinadas	
Animais analisados (n)	81 (♂ 40 / ♀ 41)	49 (♂ 22 / ♀ 27)	130 (♂ 62 / ♀ 68)	
Animais parasitados (n)	43 (♂ 21 / ♀ 22)	21 (♂ 09 / ♀ 12)	64 (♂ 30 / ♀ 34)	
Prevalência (%)	53,1 (♂ 52,5 / ♀ 53,6)	42,8 (♂ 40,9 / ♀ 44,5)	49,2 (♂ 48,4 / ♀ 50,0)	
Parasitemia (%)	Média	0,22 (♂ 0,26 / ♀ 0,18)	0,18 (♂ 0,15 / ♀ 0,20)	0,20 (♂ 0,22 / ♀ 0,19)
	Min-Max	0–1,9 (♂ 0–1,9 / ♀ 0–1,2)	0–1,2 (♂ 0–0,6 / ♀ 0–1,2)	0–1,9 (♂ 0–1,9 / ♀ 0–1,2)
Local de infecção	Interior dos eritrócitos (majoritariamente). Livres no sangue circulante (raramente).			

♂: machos; ♀: fêmeas; n: número amostral; Mín: mínimo; Max: máximo.

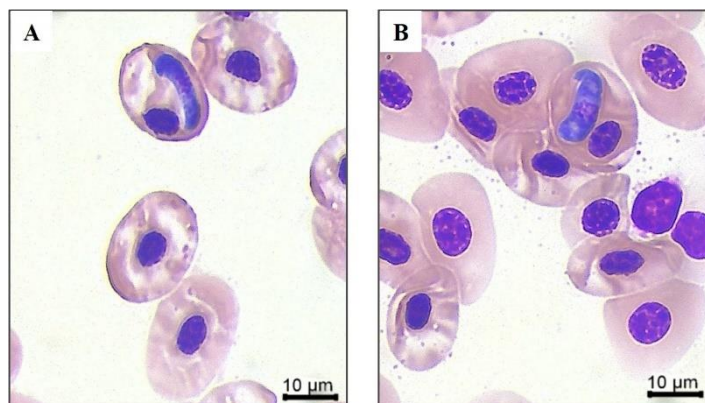


Figura 1. Eritrócitos maduros de *Potamotrygon motoro* (A) e *Potamotrygon orbignyi* (B) infectados com gametócitos de *Cyrilia* sp.

A ausência de efeito do sexo na prevalência, parasitemia e sobre os parâmetros hematológicos de *P. motoro* e *P. orbignyi* (determinado em estudos prévios), possibilitou o agrupamento de machos e fêmeas para cada espécie. Não foram observadas diferenças significativas nos parâmetros sanguíneos de *P. motoro* e *P. orbignyi* não infectados e infectados com gametócitos de *Cyrilia* sp. (Tabela 2). No entanto, *P. motoro* apresentou significativas correlações negativas entre a parasitemia e os níveis de hematócrito ($rs = -0,356$; $p = 0,002$), hemoglobina ($rs = -0,281$; $p = 0,019$), RBC ($rs = -0,280$; $p = 0,019$) e proteínas plasmáticas totais ($rs = -0,285$; $p = 0,017$). Em *P. orbignyi* houve significativas correlações negativas apenas entre a parasitemia e os valores de hematócrito ($rs = -0,326$; $p = 0,027$) e de hemoglobina ($rs = -0,293$; $p = 0,048$).

4. DISCUSSÃO

Os hemoparasitos incluem, entre outros, os filarídeos, que vivem nos tecidos de seus hospedeiros e liberam microfílarias na circulação. Os protozoários flagelados, que circulam no sangue periférico, e os esporozoários intracelulares, que completam parte do seu ciclo de vida dentro de células sanguíneas (Valkiunas, 2005). Em peixes, são frequentemente relatadas espécies de hemoparasitos do Filo Euglenozoa (Família Trypanosomatidae) e do Filo Apicomplexa (Família Haemogregarinidae) (Siddall, 1995). Os esporozoários da família Haemogregarinidae são compostos pelos gêneros *Haemogregarina*, *Cyrilia* e *Desseria*, sendo os dois últimos descritos unicamente em peixes, enquanto espécies de *Haemogregarina* também podem ser encontradas em anfíbios e répteis (Davies *et al.*, 2004).

Tabela 2. Hematologia comparativa (Média \pm DP) entre juvenis de *Potamotrygon motoro* e *Potamotrygon orbignyi* não infectados e infectados com gametócitos de *Cyrlia* sp.

Parâmetros sanguíneos	<i>Potamotrygon motoro</i>			<i>Potamotrygon orbignyi</i>		
	Não infectado (n= 38)	Infectado (n= 43)	<i>p</i>	Não infectado (n= 28)	Infectado (n= 21)	<i>p</i>
Hematócrito (%)	20,97 \pm 5,14	19,83 \pm 3,44	0,24	20,54 \pm 2,69	20,00 \pm 1,62	0,43
Hemoglobina (g dL ⁻¹)	4,02 \pm 1,25	3,72 \pm 0,66	0,17	4,01 \pm 0,58	3,89 \pm 0,58	0,45
RBC (x10 ⁶ μ L ⁻¹)	0,37 \pm 0,09	0,34 \pm 0,07	0,10	0,35 \pm 0,05	0,36 \pm 0,05	0,65
VCM (fL)	571,48 \pm 84,30	576,61 \pm 92,20	0,80	598,75 \pm 59,41	579,50 \pm 56,02	0,25
CHCM (g dL ⁻¹)	19,07 \pm 3,17	18,91 \pm 2,46	0,80	19,13 \pm 2,26	19,01 \pm 1,74	0,84
Trombócitos (μ L)	1357,2 \pm 685,1	1377,8 \pm 608,1	0,89	1549,2 \pm 559,5	1548,4 \pm 469,0	0,99
Leucócitos (μ L)	3874,1 \pm 1195,3	3704,2 \pm 1187,8	0,53	4265,8 \pm 1227,7	4085,8 \pm 1140,1	0,60
Linfócitos (μ L)	1992,7 \pm 820,5	1893,8 \pm 708,8	0,57	2143,9 \pm 510,4	2204,4 \pm 851,3	0,75
Linfócitos (%)	50,96 \pm 11,11	51,36 \pm 8,90	0,86	52,32 \pm 12,58	53,10 \pm 10,92	0,82
Monócitos (μ L)	1035,8 \pm 369,7	974,9 \pm 414,6	0,50	996,3 \pm 472,9	934,3 \pm 391,5	0,62
Monócitos (%)	27,11 \pm 7,11	26,11 \pm 6,99	0,52	22,66 \pm 6,33	23,02 \pm 6,70	0,84
Heterófilos (μ L)	776,1 \pm 368,9	768,7 \pm 334,6	0,92	1066,6 \pm 600,6	874,7 \pm 317,5	0,19
Heterófilos (%)	20,09 \pm 7,75	20,61 \pm 6,23	0,74	23,52 \pm 9,51	22,12 \pm 8,30	0,59
Eosinófilos (μ L)	24,8 \pm 23,1	21,2 \pm 25,2	0,52	18,9 \pm 26,8	19,4 \pm 19,9	0,94
Eosinófilos (%)	0,65 \pm 0,56	0,60 \pm 0,71	0,72	0,48 \pm 0,66	0,45 \pm 0,42	0,85
Basófilos (μ L)	44,6 \pm 39,7	48,8 \pm 39,9	0,65	39,9 \pm 31,0	52,9 \pm 25,1	0,12
Basófilos (%)	1,16 \pm 0,97	1,42 \pm 1,17	0,31	1,02 \pm 0,84	1,31 \pm 0,62	0,18
Glicose (mmol L ⁻¹)	2,83 \pm 0,72	2,74 \pm 0,68	0,59	2,49 \pm 0,53	2,48 \pm 0,65	0,61
Proteínas totais (g L ⁻¹)	11,88 \pm 2,51	11,65 \pm 2,01	0,65	11,33 \pm 2,09	11,42 \pm 1,86	0,86
Albumina (g L ⁻¹)	2,46 \pm 0,91	2,22 \pm 0,74	0,19	2,46 \pm 0,77	2,41 \pm 0,83	0,79
Globulina (g L ⁻¹)	9,42 \pm 2,05	9,44 \pm 1,66	0,96	8,86 \pm 1,60	9,02 \pm 1,44	0,72
Relação A:G	0,26 \pm 0,10	0,24 \pm 0,08	0,26	0,28 \pm 0,08	0,27 \pm 0,10	0,62
Triglicerídeos (mmol L ⁻¹)	0,60 \pm 0,13	0,55 \pm 0,11	0,07	0,46 \pm 0,08	0,43 \pm 0,06	0,08
Colesterol total (mmol L ⁻¹)	1,28 \pm 0,19	1,28 \pm 0,23	0,95	1,10 \pm 0,21	1,15 \pm 0,19	0,35
Ácido úrico (μ mol L ⁻¹)	84,88 \pm 42,98	88,57 \pm 44,88	0,71	103,33 \pm 40,05	94,11 \pm 31,25	0,38
Ureia (mmol L ⁻¹)	4,52 \pm 1,26	4,64 \pm 1,32	0,72	4,28 \pm 1,08	4,82 \pm 1,44	0,14
Cloreto (mmol L ⁻¹)	118,37 \pm 15,13	122,92 \pm 14,33	0,17	121,83 \pm 12,98	123,93 \pm 14,07	0,59
Sódio (mmol L ⁻¹)	241,51 \pm 30,02	239,74 \pm 26,71	0,78	230,14 \pm 27,19	235,34 \pm 28,69	0,52
Potássio (mmol L ⁻¹)	7,51 \pm 1,04	7,94 \pm 1,24	0,09	7,67 \pm 1,13	7,55 \pm 1,10	0,71
Magnésio (mmol L ⁻¹)	1,93 \pm 0,34	1,88 \pm 0,46	0,50	1,90 \pm 0,46	1,76 \pm 0,32	0,18
Fósforo (mmol L ⁻¹)	2,58 \pm 0,30	2,55 \pm 0,36	0,76	2,62 \pm 0,28	2,61 \pm 0,27	0,93
AST (U L ⁻¹)	38,34 \pm 11,02	39,39 \pm 11,62	0,69	39,42 \pm 10,45	43,38 \pm 13,60	0,25
ALT (U L ⁻¹)	3,81 \pm 0,83	3,94 \pm 0,98	0,51	3,75 \pm 0,94	4,05 \pm 1,00	0,28
ALP (U L ⁻¹)	29,33 \pm 9,87	31,45 \pm 10,88	0,38	34,22 \pm 14,58	31,37 \pm 12,85	0,48
CK (U L ⁻¹)	675,9 \pm 346,3	677,6 \pm 329,4	0,98	723,6 \pm 366,9	651,5 \pm 427,0	0,52

RBC, número de eritrócitos; VCM, volume corpuscular médio; CHCM, concentração de hemoglobina corpuscular média; Relação A:G, relação albumina:globulina; AST, aspartato aminotransferase; ALT, alanina aminotransferase; ALP, fosfatase alcalina; CK, creatina quinase total.

A identificação dos hemoparasitos no presente estudo foi baseada nos caracteres morfológicos e morfométricos dos estágios sanguíneos observados nas arraias, e nas suas similaridades com *Cyrlia lignieresi* em eritrócitos de *Synbranchus marmoratus* (Lainson,

1981) e com *Cyrlia* sp. observada em eritrócitos de *P. aiereba*, *P. wallacei* e *P. motoro* (Magro, 2013; Magro *et al.*, 2016; Oliveira *et al.*, 2017). No entanto, como um mesmo hemoparasito pode apresentar características morfológicas distintas (Sloboda *et al.*, 2007), são necessárias análises moleculares dos parasitos juntamente com o *C. lignieresii* e *Cyrlia* sp. encontrados por Magro *et al.* (2016), para a diferenciação ao nível de espécie.

Em elasmobrânquios marinhos foi relatada a presença de *Haemogregarina delagei* no sangue das arraias *Raja brachyura*, *Raja microocellata* e em duas espécies não identificadas de *Raja* sp. (Aragort *et al.*, 2005), *Desseria dasyatis* em *Dasyatis americana* (Siddall, 1995), *Desseria torpedinis* em espécies não identificadas da arraia *Torpedo* sp. (Siddall, 1995) e *Desseria harriottae* na quimera *Harriotta raleighana* (Davies *et al.*, 2012). Entre os protozoários flagelados, há relatos de infecções por *Trypanosoma humboldti* no tubarão *Schroederichthys chilensis* (Valenzuela *et al.*, 2003), *Trypanosoma giganteum* em *R. brachyura* e *R. microocellata* (Aragort *et al.*, 2005), *Trypanosoma haploblephari* nos tubarões *Haploblepharus pictus* e *Haploblepharus edwardsii* (Yeld e Smit, 2006) e *Trypanosoma harriottae* em *H. raleighana* (Davies *et al.*, 2012).

Não há relatos na literatura sobre *Trypanosoma* sp. em arraias de água doce, no entanto, a presença de gametócitos da família Haemogregarinidae no sangue circulante de *P. motoro* e *P. orbignyi* corroboram os relatos na literatura para diferentes espécies da subfamília Potamostrygoninae. Os gametócitos também foram observados no interior de eritrócitos das arraias *Paratrygon aiereba*, *Potamostrygon wallacei* e *P. motoro* oriundas da bacia do Rio Negro, com taxas de prevalência de 73,3, 69,7 e 63,1 %, respectivamente (Magro, 2013; Magro *et al.*, 2016). Por outro lado, extensões sanguíneas de *Potamostrygon scorбина* e *P. orbignyi* coletadas no Rio Piririm (Amapá, Brasil) revelaram a presença de *Haemogregarina* sp. em 33,9 % das arraias (Brito, 2012). A avaliação da influência do pulso de inundação sobre a incidência dos hemoparasitos em *P. wallacei* da bacia Rio Negro demonstrou que a redução dos níveis da água do rio resulta em maior susceptibilidade à infecção por *Cyrlia* sp., com prevalência variando de 13 % no período de cheia a 47 % durante a seca (Oliveira *et al.*, 2017).

Durante os meses de vazante e seca, os protozoários sanguíneos se aproveitam de flutuações da temperatura, redução dos níveis de oxigenação da água, aumento da competição territorial e do adensamento das arraias para se reproduzir e proliferar no sangue dos hospedeiros (Oliveira *et al.*, 2017). As mudanças ontogenéticas na dieta do hospedeiro também podem afetar a prevalência hemoparasitária, visto que a possibilidade de ingestão de hospedeiros paratênicos, tais como peixes infectados, aumenta com a idade e podem contribuir para maiores cargas parasitárias em animais adultos (Nóbrega *et al.*, 2022). Considerando que

no presente estudo as arraiais foram capturadas durante o período de seca dos rios, as taxas de prevalência dos hemoparasitos aqui observadas representam valores críticos em decorrência das condições ambientais. Porém, foram capturados apenas indivíduos de desenvolvimento juvenil, sendo necessários mais estudos avaliando o potencial patogênico dos hemoparasitos em animais de maior porte.

A intensidade dos danos causados pelos parasitos varia de acordo com a espécie parasitária, quantidade de parasitos, tipo de tecido parasitado e o estado de saúde do hospedeiro (Tavares-Dias, 2015). Os hemoparasitos são considerados bem adaptados e geralmente mantem uma relação não danosa com seus hospedeiros (Davies, 1995), no entanto, fatores como estado fisiológico e nutricional dos peixes e alterações nas propriedades físicas e químicas da água podem interferir no delicado equilíbrio existente entre parasito, hospedeiro e ambiente, favorecendo a multiplicação dos hemoparasitos e interferindo nos índices parasitários (Kadlec *et al.*, 2003). A parasitemia observada no presente estudo foi considerada baixa (<2 %), assim como observado em *P. wallacei* infectada com *Cyrlia* sp. (Magro *et al.*, 2016) e *R. brachyura*, *R. microocellata* e *Raja* sp. infectadas com *H. delagei* (Aragort *et al.*, 2005). As baixas taxas parasitêmicas relatadas para diferentes grupos taxonômicos sugerem que a patogenicidade destes parasitos é subclínica e de baixa intensidade, não sendo possível observar alterações nos parâmetros sanguíneos (Knotkova *et al.*, 2012; Motta *et al.*, 2013; Goes *et al.*, 2018; Gonzalez *et al.*, 2021; Apache *et al.*, 2023).

Dependendo do nível de infecção parasitária podem ocorrer mecanismos fisiológicos de ajuste e compensação, ocasionando alterações hematológicas e bioquímico plasmáticas (Motta *et al.*, 2013). Nos hospedeiros vertebrados, os eritrócitos maduros são as principais células parasitadas (Davies, 1995) e, no seu interior, os hemoparasitos podem atingir um tamanho suficiente para deslocar e desintegrar o núcleo, provocando hipertrofia eritrocítica e desmoglobinização celular (Wozniak *et al.*, 1994). Infecções com elevada parasitemia podem ocasionar um quadro de anemia hemolítica, enfraquecimento da resposta imunológica ou um desequilíbrio no metabolismo energético dos hospedeiros, tornando-os mais suscetíveis aos predadores e à patógenos oportunistas (Schmid-Hempel, 2009). As arraiais do presente estudo apresentaram eritrócitos infectados com o núcleo deslocado lateralmente, no entanto, não foram observadas células com núcleo desintegrado. Também não foram observados indícios de anemia e alterações leucocitárias em decorrência da infecção por *Cyrlia* sp., provavelmente devido à baixa parasitemia observada, corroborando com os relatos para *R. brachyura*, *R. microocellata* e *Raja* sp. infectadas com *H. delagei*, *T. giganteum* ou com ambos parasitos (Aragort *et al.*, 2005).

Estudos avaliando o efeito da hemoparasitose em parâmetros sanguíneos de elasmobrânquios são escassos, no entanto, para répteis, anfíbios e aves as informações são mais constantes. Infecções causadas por *Hepatozoon* spp. não afetaram os parâmetros hematológicos dos crocodilianos *Crocodylus niloticus* e *Caiman latirostris* (Leslie *et al.*, 2011; Nóbrega *et al.*, 2022), assim como das serpentes *Ophiophagus hannah* e *Homalopsis buccata* (Salakij *et al.*, 2002a,b). Também não foram observadas respostas sanguíneas adaptativas na ave *Aburria jacutinga* infectada por *Plasmodium* sp. e *Haemoproteus* sp. (Motta *et al.*, 2013). Em contrapartida, a hemoparasitose em anfíbios desencadeou eritropoiese, resultando em um aumento no número de eritroblastos no sangue periférico (Gonzalez *et al.*, 2021). Os quelônios *Kinixys belliana* e *Kinixys homeana* infectados com hemogregarinas não identificadas apresentaram indícios de destruição celular, com redução nos valores de hematócrito, hemoglobina e CHCM, além de mobilização do sistema imune, como aumento dos leucócitos totais, linfócitos e eosinófilos (Adetunji e Adeyemo, 2020). A espécie *Podocnemis vogli* infectada por *Haemogregarina* sp. e *Haemocystidium* sp. apresentou aumento nos eritrócitos e redução no VCM, provavelmente uma resposta do sistema hematopoiético em função da hemólise causada pelos parasitos (Apache *et al.*, 2023).

Embora o presente estudo não tenha observado alterações na bioquímica plasmática das arraiais infectadas, os parasitos podem desencadear estresse e, com isso, mobilizar o metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídios, alterando a concentração dos substratos energéticos no plasma de arraiais marinhas (Cain *et al.*, 2004), além de afetar o balanço hidromineral, promovendo um desequilíbrio osmorregulatório em teleósteos (Oba *et al.*, 2009). Mudanças nas concentrações plasmáticas das enzimas AST, ALT, ALP e CK também fornecem indícios de ruptura celular e potencial necrose decorrentes de infecções parasitárias graves em aves (Valkiunas, 2005). Alterações bioquímicas foram observadas em quelônios *P. vogli* infectados por *Haemogregarina* sp. e *Haemocystidium* sp. com elevação nos níveis plasmáticos de glicose, colesterol e AST (Apache *et al.*, 2023) e em *K. belliana* e *K. homeana* infectadas com espécies de hemogregarinas com aumento de AST e ALT, além de hipoproteinemia (Adetunji e Adeyemo, 2020). Tais alterações são indícios de mobilização energética mediante processos infecciosos, enquanto a elevação das enzimas intracelulares está provavelmente relacionada à hemólise e eritrofagocitose causadas pelo parasito (Kaneko *et al.*, 2008).

As correlações negativas significativas encontradas neste estudo, em associação com os dados disponíveis na literatura para diferentes espécies, evidenciam que a magnitude das alterações sanguíneas e os efeitos clínicos induzidos pelos hemoparasitos estão diretamente relacionados à intensidade da parasitemia (Davies, 1995). Mesmo em casos em que os sinais

clínicos e as alterações sanguíneas decorrentes de hemoparasitoses sejam leves ou ausentes, os efeitos negativos do parasitismo podem ser amplificados quando associados a outros agentes etiológicos (Davidar e Morton, 2006), especialmente quando as coinfeções envolvem bactérias ou vírus patogênicos (Hananeh *et al.*, 2022).

De modo geral, não houve evidências de alterações hematológicas e bioquímicas plasmáticas em *P. motoro* e *P. orbigny* de vida livre devido à infecção por *Cyrtilia* sp. No entanto, foram observados indícios de danos potenciais dos hemoparasitos na capacidade carreadora de oxigênio nessas arraiais em situações com elevada carga parasitária. Assim, o presente estudo traz o primeiro relato sobre o impacto de infecções hemoparasitárias em parâmetros sanguíneos de duas espécies de arraiais de água doce e os dados gerados podem contribuir para o acompanhamento da saúde dessas populações naturais.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM) pelo financiamento da pesquisa por meio do Programa Biodiversa (processo 01.02.016301.03250/2021-78) e do Programa Estratégico de Desenvolvimento do Setor Primário Amazonense (processo 01.02.016301.03216/2021-01). MQCS agradece ao Instituto Federal do Amazonas (IFAM) pela liberação para cursar o doutorado. Em adição, ATO agradece à concessão da bolsa de produtividade em pesquisa e à bolsa de pós-doutorado sênior do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (processos 315713/2020-8 e 102455/2022-8).

REFERÊNCIAS

- Adetunji, V.E., Adeyemo, O.K., 2020. Haematologic and biochemical parameters of Haemogregarine-infected and non-infected African hinge-Back tortoises in Ibadan, Nigeria. *Sahel. J. Vet. Sci.* 17 (4), 1-7. <https://doi.org/10.54058/saheljvs.v17i4.149>
- Andrade, J.C., Oliveira, A.T., Amazonas, M.G.F.M., Galvan, D., Tessaro, L., Conte-Junior, C.A., 2024. Fingerprinting based on spectral reflectance and chemometrics – An analytical approach aimed at combating the illegal trade of stingray meat in the Amazon. *Food Chem.* 436: 137637. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137637>
- Apache, J., Rodríguez-Almonacid, C.C., Moreno-Torres, C.A., Gamboa-Suárez, B.A., Matta, N.E., 2023. Hemoparasite occurrence and hematological/serum chemistry variations in *Podocnemis vogli* turtles: A comparative analysis between wild-residing infected specimens and captive non-infected counterparts. *Vet. Parasitol. Reg. Stud. Rep.* 45: 100928. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2023.100928>

- Aragort, W., Alvarez, M., Leiro, J., Sanmartín, M., 2005. Blood protozoans in elasmobranchs of the family Rajidae from Galicia (NW Spain). *Dis. Aquat. Organ.* 65, 63-68. <http://dx.doi.org/10.3354/dao065063>
- Brito, F.M.M., 2012. Variáveis hematológicas, hormonais, bioquímicas séricas e fauna parasitária em quatro espécies de raias do gênero *Potamotrygon garman*, 1877 (Myliobatiformes, Potamotrygonidae) de vida livre. 63 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, São Paulo.
- Bush, A.O., Lafferty, K.D., Lotz, J.M., Shostak, A.W., 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al.* revisited. *J. Parasitol.* 83 (4), 575-583.
- Cain, D.K., Harms, C.A., Segars, A., 2004. Plasma biochemistry reference values of wild caught southern stingrays (*Dasyatis americana*). *J. Zoo. Wildl. Med.* 35, 471-476. <https://doi.org/10.1638/03-107>
- Carvalho, M.R., Loboda, T.S., Silva, J.P.C.B., 2016. A new subfamily, Styracurinae, and new genus, *Styracura*, for *Himantura schmardae* (Werner, 1904) and *Himantura pacifica* (Beebe and Tee-Van, 1941) (Chondrichthyes: myliobatiformes). *Zootaxa*, 4175: 201-221. <http://dx.doi.org/10.11646/zootaxa.4175.3.1>
- Castro, F., Bolker, B., 2005. Mechanisms of disease-induced extinction. *Ecol. Lett.* 8, 117-126. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2004.00693.x>
- Chagas, E.C.; Maciel, P.O.; Aquino-Pereira, S.L., 2015. Infecções por acantocéfalos: Um problema para produção de peixes. In: Tavares-Dias M.; Mariano, W.S. *Aquicultura no Brasil: novas perspectivas*. São Carlos: Pedro & João Editores. p. 305-328.
- Daszak, P., Cunningham, A.A., Hyatt, A.D., 2000. Emerging infectious diseases of wildlife - threats to biodiversity and human health. *Science*. 287, 443-449. <https://doi.org/10.1126/science.287.5452.443>
- Davidar, P., Morton, E.S., 2006. Are multiple infections more severe for Purple Martins (*Progne subis*) than single infections? *Auk*. 123, 141-147. <https://doi.org/10.1093/auk/123.1.141>
- Davies, A.J., 1995. The biology of fish Haemogregarines. *J. Adv. Parasitol.* 36, 118-202. [https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(08\)60491-1](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(08)60491-1)
- Davies, A.J., Hosein, S., Merrett, N.R., 2012. Haemotozoans from deep water fishes trawled off the Cape Verde Islands and over the Porcupine Seabight, with a revision of species within the genus *Desseria* (Adeleiorina: Haemogregarinidae). *Folia Parasitol.* 59, 1-11. <https://doi.org/10.14411/fp.2012.001>
- Davies, A.J., Smit, N.J., Hayes, P.M., Seddon, A.M., Wertheim, D., 2004. *Haemogregarina bigemina* (Protozoa: Apicomplexa: Adeleiorina) – past, present and future. *Folia Parasitol.* 51, 99-108. <https://doi.org/10.14411/fp.2004.015>
- Goes, V.C., Brito, E.S., Valadão, R.M., Gutierrez, C.O., Picelli, A.M., Viana, L.A., 2018. Haemogregarine (Apicomplexa: Adeleiorina) infection in Vanderhaege's toad-headed turtle, *Mesoclemmys vanderhaegei* (Chelidae), from a Brazilian Neotropical savanna region. *Folia Parasitol.* 65, 2018.012. <https://doi.org/10.14411/fp.2018.012>

Gonzalez, L.P., Vargas-Leon, C.M., Fuentes-Rodríguez, G.A., Calderon-Espinosa, M.L., Matta, N.E., 2021. Do blood parasites increase immature erythrocytes and mitosis in amphibians? *Rev. Biol. Trop.* 69 (2), 615-624. <https://doi.org/10.15517/rbt.v69i2.45459>

Hananeh, W.M., Radhi, A., Mukbel, R.M., Ismail, Z.B., 2022. Effects of parasites coinfection with other pathogens on animal host: A literature review. *Vet. World.* 15 (10), 2414-2424. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2022.2414-2424>

IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis., 2008. Instrução Normativa N°. 204/2008.

Jerikho, R., Akmal, S.G., Hasan, V., Yonvitner, Novák, J., Magalhães, A.L.B., Maceda-Veiga, A., Tlustý, M.F., Rhyne, A.L., Slavík, O., Patoka, J., 2023. Foreign stingers: South American freshwater river stingrays *Potamotrygon* spp. established in Indonesia. *Sci. Rep.* 13, 7255. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-34356-9>

Jerônimo, G.T., Pádua, S.B., Belo, M.A.A., Chagas, E.C., Taboga, S.R., Maciel, P.O., Martins, M.L., 2017. *Neoechinorhynchus buttnerae* (Acanthocephala) infection in farmed *Colossoma macropomum*: a pathological approach. *Aquaculture.* 469: 124-127. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.11.027>

Jerônimo, G.T., Cruz, M.G., Bertaglia, E.A., Furtado, W.E., Martins, M.L., 2022. Fish parasites can reflect environmental quality in fish farms. *Rev. Aquac.* 14, 1558-1571. <https://doi.org/10.1111/raq.12662>

Kadlec, D.; Simková, A.; Jarkovský, J.; Gelnar, M., 2003. Parasite communities of freshwater fish under flood conditions. *Parasitol. Res.* 89 (2), 272-283. <https://doi.org/10.1007/s00436-002-0740-2>

Kaneko, J.J., Harvey, J.W., Bruss, M.L., 2008. Appendix IX: Blood analyte reference values in small and some laboratory animals. In: Kaneko, J.J., Harvey, J.W., Bruss, M.L. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6th ed. San Diego, CA: Academic Press, p.889-895.

Knotkova, Z., Mazanek, S., Hovorka, M., Sloboda, M., Knotek, Z., 2012. Haematology and plasma chemistry of Bornean River turtles suffering from shell necrosis and haemogregarine parasites. *Vet. Med.* 50 (9), 421-426. <https://doi.org/10.17221/5643-vetmed>

Lainson, R., 2012. Atlas de parasitas protozoários da fauna da Amazônia Brasileira: Haemosporida de répteis. Ananindeua: Instituto Evandro Chagas, 78p.

Lainson, R., 1981. On *Cirilia gomesi* (Neiva e Pinto, 1926) gen. nov. (Haemogregarinidae) and *Trypanossoma bourouli* Neiva e Pinto, in the fish *Synbranchus marmoratus*: Simultaneous transmission by the leech *Haementeria lutzii*. In: Canning, E.U. *Parasitological Topics Special publication*. Society of Protozoologists, p.150-158.

Leslie, A.J., Lovely, C.J., Pittman, J.M., 2011. A preliminary disease survey in the wild Nile crocodile (*Crocodylus niloticus*) population in the Okavango Delta, Botswana. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 82 (3), 155-159. <https://doi.org/10.4102/jsava.v82i3.54>

Magro, N.M., 2013. Prevalência de hemogregarina em arraias de água doce (Potamotrygonidae) da região Norte, com descrição de uma nova espécie do gênero *Cyrcilia*. 69 f. Dissertação (Mestrado em Biologia de Parasitas e Microorganismos) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

- Magro, N.M., Oliveira, A.T., O'Dwyer, L.H., 2016. First report and description of a *Cyrtilia* sp. (Apicomplexa: Haemogregarinidae) from a freshwater cururu stingray *Potamotrygon cf. histrix* (Elasmobranchii: Potamotrygonidae), from the Amazon Region, Brazil. J. Fish Dis. 39, 907-911. <https://doi.org/10.1111/jfd.12425>
- Motta, R.O.C., Marques, M.V.R., Ferreira Junior, F.C., Andery, D.A., Horta, R.S., Peixoto, R.B., Lacorte, G.A., Moreira, P.A., Leme, F.O.P., Melo, M.M., Martins, N.R.S., Braga, E.M., 2013. Does haemosporidian infection affect hematological and biochemical profiles of the endangered Black-fronted piping-guan (*Aburria jacutinga*)? PeerJ 1:e45. <https://doi.org/10.7717/peerj.45>
- Ng, H.H., Tan, H.H., Yeo, D.C., Ng, P.K., 2010. Stingers in a strange land: South American freshwater stingrays (Potamotrygonidae) in Singapore. Biol. Invasions. 12, 2385-2388.
- Nóbrega, Y.C., Machado, Y., Curbani, F., Nossa, D.N., Acosta, I.C., Ferreira, R.B., Santos, M.R.D., Menezes, P.Q., Silva, T.T., Srbek-Araujo, A.C., 2022. Prevalence of haemogregarines and their effects on erythrocytic parameters in wild and captive *Caiman latirostris* (Crocodylia: Alligatoridae) in southeastern Brazil. Herpetol. 15, 657-662.
- Oba, E.T., Mariano, W.S., Santos, L.R.B., 2009. Estresse em peixes cultivados: agravantes e atenuantes para o manejo rentável. In: Tavares-Dias, M. Manejo e Sanidade de peixes em cultivo. Embrapa Amapá, p. 226-247.
- Ola-Fadunsin, S.D., Ademola, I.O., Adejinmi, J.O., Okediran, B.S., 2021. Haemoparasites and the haematobiochemical profiles associated with *Anaplasma marginale* infections of cattle in Ilorin, Nigeria. Veterinaria. 70, 335-349. <http://dx.doi.org/10.51607/22331360.2021.70.3.335>
- Oliveira, A.T., Araújo, M.L.G., Pantoja-Lima, J., Aride, P.H.R., Tavares-Dias, M., Brinn, R.P., Marcon, J.L., 2017. *Cyrtilia* sp. (Apicomplexa: Haemogregarinidae) in the Amazonian freshwater stingray *Potamotrygon wallacei* (cururu stingray) in different hydrological phases of the Rio Negro. Braz. J. Biol. 77, 413-416. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.00416>
- Oliveira, A.T., Lemos, J.R., Santos, M.Q.C., Araújo, M.L.G., Tavares-Dias, M., Marcon, J.L., 2012. Procedimentos de manuseio e coleta sanguínea em arraias de água doce. Macapá: Embrapa Amapá, 22p.
- Oliveira, A.T., Rodrigues, P.A., Ramos Filho, A.M., Gomes, M.F.S., Liebl, A.R.S., Pinho, J.V., Aride, P.H.R., Conte-Junior, C.A., 2023. Levels of Total Mercury and Health Risk Assessment of Consuming Freshwater Stingrays (Chondrichthyes: Potamotrygoninae) of the Brazilian Amazon. Int. J. Environ. Res. Public Health. 20, 6990. <https://doi.org/10.3390/ijerph20216990>
- Picelli, A.M., Ramires, A.C., Masseli, G.S., Pessoa, F.A.C., Viana, L.A., Kaefer, I.L., 2020. Under the light: high prevalence of haemoparasites in lizards (Reptilia: Squamata) from Central Amazonia revealed by microscopy. An. Acad. Bras. Ciênc. 92 (2), e20200428. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202020200428>
- Ranzani-Paiva, M.J.T., Pádua, S.B., Tavares-Dias, M., Egami, M.I., 2013. Métodos para análise hematológica em peixes. Maringá: Ed. UEM, 140p.
- Rocha, M.J.S., Jerônimo, G.T., Costa, O.T.F., Malta, J.C.O., Martins, M.L., Maciel, P.O., Chagas, E.C., 2018. Changes in hematological and biochemical parameters of tambaqui (*Colossoma macropomum*) parasitized by metazoan species. Rev. Bras. Parasitol. Vet. 27 (4), 488-494. <https://doi.org/10.1590/S1984-296120180073>

Sabagh, L.T., Borges Junior, V.N.T., Winck, G.R., Viana, L.A., Rocha, C.F.D., 2015. Low prevalence of hemoparasites in a lizard assemblage from a coastal environment of southeastern Brazil. *Herpetol.* 8. 413-416.

Salakij, C., Salakij, J., Apibal, S., Narkkong, N.A., Chanhom, L.N.R., 2002a. Hematology, morphology, cytochemical staining, and ultrastructural characteristics of blood cells in king cobras (*Ophiophagus hannah*). *Vet. Clin. Pathol.* 31 (3), 116-126. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165x.2002.tb00290.x>

Salakij, C., Salakij, J., Suthunmapinunta, P., Chanhom, L., 2002b. Hematology, morphology and ultrastructure of blood cells and blood parasites from Puff-faced watersnakes (*Homalopsis buccata*). *Kasetsart J. Soc. Sci.* 36 (1), 35-43.

Schmid-Hempel, P., 2009. Immune defence, parasite evasion strategies and their relevance for 'macroscopic phenomena' such as virulence. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B: Biol. Sci.* 364 (1513), 85-98. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0157>

Siddall, M.E., 1995. Phylogeny of adeleid blood parasites with a partial systematic revision of the haemogregarina complex. *J. Eukaryot. Microbiol.* 42, 116-125. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.1995.tb01551.x>

Sloboda, M., Kamler, M., Bulantova, J., Vot'ypka, J., Modr'y, D., 2007. A new species of *Hepatozoon* (Apicomplexa: Adeleorina) from *Python regius* (Serpentes: Pythonidae) and its experimental transmission by a mosquito vector. *J. Parasitol.* 93, 1189-1198. <https://doi.org/10.1645/ge-1200r.1>

Smith, K.F., Acevedo-Whitehouse, K., Pedersen, A.B., 2009. The role of infectious diseases in biological conservation. *Anim. Conserv.* 12, 1-12. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-1795.2008.00228.x>

Tavares-Dias, M., 2015. Parâmetros sanguíneos de referência para espécies de peixes cultivados. In: Tavares-Dias, M.; Mariano, W.S. *Aquicultura no Brasil: novas perspectivas*. São Carlos: Editora Pedro & João. p. 11-30.

Tavares-Dias, M., Moraes, F.R., 2006. Hematological parameters for the *Brycon orbignyanus*, 1850 (Osteichthyes: Characidae) intensively bred. *Hidrobiológica.* 16, 273-276.

Telford, S.R., 2009. *Hemoparasites of the Reptilia: Color Atlas and Text*. Boca Raton, FL: CRC Press, 394p.

Valenzuela, A., Oyarzún, C., Silva, V., 2003. Células sanguíneas de *Schroederichthys chilensis* (Guichenot 1848) (Elasmobranchii, Scyliorhinidae): La serie blanca. *Gayana.* 67, 130-137.

Valkiunas, G., 2005. *Avian malaria parasites and other haemosporidea*. Boca Raton: CRC Press, 946p.

Wozniak, E.J., Mclaughlin, G.L., Telford, S.R., 1994. Description of the vertebrate stages of a hemogregarine species naturally infecting Mojave Desert Sidewinders (*Crotalus cerastes cerastes*). *J. Zoo. Wildl. Med.* 25 (1), 103-110.

Yeld, E., Smit, N.J., 2006. A new species of *Trypanosoma* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) infecting catsharks from South Africa. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 86, 829-833. <http://dx.doi.org/10.1017/S0025315406013750>

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos são pioneiros para as duas espécies de arraias dulciaquícolas em ambientes de água branca e, de modo geral, contribuíram para o conhecimento sobre a biologia destas espécies amazônicas, além de servirem de base para a avaliação do estado de saúde das arraias em ambiente natural, possibilitando a detecção de distúrbios hematológicos, bem como a identificação dos ajustes fisiológicos adaptativos decorrentes de alterações ambientais ou de infecções, tais como as causadas por hemoparasitos.

O sexo não exerceu influência no eritrograma, leucograma e bioquímica plasmática de *P. motoro* e *P. orbigny*, em contrapartida, esses animais neonatos e juvenis apresentaram características hematológicas distintas. Os baixos valores do eritrograma corroboraram o modo de vida sedentário das arraias de água doce em comparação aos elasmobrânquios marinhos e aos teleósteos. A bioquímica plasmática determinada, em comparação aos dados da literatura, demonstrou influência de fatores externos, tais como o tipo de alimentação e as propriedades físicas e químicas da água. Portanto, os dados sanguíneos de uma espécie não podem ser extrapolados para todas as espécies, ressaltando a necessidade de mais estudos com diferentes espécies de potamotrigoníneos em sistemas fluviais diversificados. Em função do elevado número amostral, foram estabelecidos intervalos hematológicos de referência para *P. motoro* e *P. orbigny* em ambientes de água branca.

Foram identificados eritrócitos, trombócitos, linfócitos, monócitos, heterófilos, eosinófilos e basófilos com características morfológicas semelhantes às observadas em outras espécies de arraias de água doce, em contrapartida, as características morfométricas celulares não apresentaram um padrão conservador para o táxon. A falta de padronização na identificação e na nomenclatura das células sanguíneas dos elasmobrânquios demonstrou ser um dos principais entraves para a compreensão das particularidades hematológicas e imunológicas destes peixes cartilagosos.

As arraias apresentaram trofozoítos, pré-gamontes, macrogamontes e microgamontes de *Cyrlia* sp., seja no interior dos eritrócitos ou livres no sangue circulante. Embora a prevalência de infecção tenha sido elevada, a parasitemia observada foi baixa, no entanto, os hemoparasitos foram capazes de afetar a morfologia e morfometria celular, causando hipertrofia eritrocítica. Não foi observado efeito da espécie e do sexo na prevalência e parasitemia hemoparasitária. Foi também registrada a ausência de alterações sanguíneas nas arraias infectadas, provavelmente devido à baixa carga parasitária. Contudo, as análises de correlação entre a

parasitemia e os parâmetros sanguíneos em ambas as espécies de arraias ressaltaram o dano potencial que os hemoparasitos podem ocasionar em situações com elevada parasitemia.

Recomendamos a realização de estudos futuros objetivando a determinação de valores hematológicos de referência para indivíduos subadultos e adultos das arraias *P. motoro* e *P. orbigny* em ambientes de água branca, incluindo ainda a ampliação da área de estudo para as regiões do alto e médio Rio Solimões, bem como a análise de outras espécies de arraias em distintos rios da bacia hidrográfica amazônica, visando a obtenção de mais informações sobre as particularidades fisiológicas das arraias. Considerando ainda a grande lacuna referente à diversidade e classificação taxonômica dos hemoparasitos presentes nos potamotrigoníneos, recomendamos também a realização de estudos de caracterização molecular destes parasitos sanguíneos, resultando provavelmente na descrição de novas espécies do filo Apicomplexa. Em suma, esperamos que este trabalho impulsione o desenvolvimento de novos estudos hemoparasitológicos, uma área ainda muito negligenciada.