

VALORES PARA O LEUCOGRAMA E TROMBOGRAMA DE JUVENIS DE DOURADO (*Salminus brasiliensis*) EM CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS DE CULTIVO*

BLOOD CELLS, LEUCOGRAM AND THROMBOGRAM OF JUVENILES DOURADO (*Salminus brasiliensis*) IN EXPERIMENTAL CONDITION OF CULTURE

Santiago Benites de Pádua¹; Márcia Mayumi Ishikawa²; Fabiana Satake³; Hamilton Hisano⁴ e Marcos Tavares-Dias⁵

ABSTRACT. Pádua, S.B.; Ishikawa, M.M.; Satake, S.B.; Hisano, H. & Tavares-Dias, M. [Leucogram and thrombogram values of juveniles dourado (*Salminus brasiliensis*) in experimental condition of culture]. Valores para o leucograma e trombograma de juvenis de dourado (*Salminus brasiliensis*) em condições experimentais de cultivo. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 31(4):282-287, 2009. Curso de Medicina Veterinária, Faculdade Anhanguera, Rua Manoel Santiago, 1.775, Vila São Luis, Dourados, 79.925.150, MS. Brasil. E-mail: santiago_psb@hotmail.com

The aim of this study was characterized the blood cells and quantified the blood thrombocytes and leukocytes of juveniles *Salminus brasiliensis* maintained in experimental conditions of culture, since fingerling culture. Thirty-five health specimens were used for total thrombocytes and leukocyte counts, and differential leukocytes counts. The blood cells were identified as: erythrocytes, neutrophils, heterophils, eosinophils, monocytes, lymphocytes, immature leukocytes and thrombocytes. The average values of leukocytes and thrombocytes were: thrombocytes $18,820.75 \pm 7,067.64 \mu\text{L}^{-1}$, total leukocytes $21,072,93 \pm 7,867,62 \mu\text{L}^{-1}$, monocytes $509.73 \pm 363.01 \mu\text{L}^{-1}$, lymphocytes $18,312.21 \pm 6,977.27 \mu\text{L}^{-1}$, heterophils $247.20 \pm 497.69 \mu\text{L}^{-1}$, eosinophils $450.89 \pm 423.89 \mu\text{L}^{-1}$, neutrophils $1,165.42 \pm 937.75 \mu\text{L}^{-1}$ and immature leukocytes $392.58 \pm 344.67 \mu\text{L}^{-1}$.

KEY WORDS. Fish hematology, blood cells, freshwater fish.

RESUMO. Este estudo teve por objetivo caracterizar as células sanguíneas e quantificar os trombócitos e leucócitos de juvenis de *Salminus brasiliensis* mantidos em condições experimentais de cultivo, desde a alevinagem. Foram utilizados trinta e cinco espécimes sadios para as contagens de trombócito e leucócitos totais e contagens diferenciais de leucó-

citos. As células identificadas foram eritrócitos, trombócitos, neutrófilos, heterófilos, eosinófilos, monócitos, linfócitos e leucócitos imaturos. Os valores médios do leucograma e trombograma foram: trombócitos totais $18.820,75 \pm 7.067,64 \mu\text{L}^{-1}$, leucócitos totais $21.072,93 \pm 7.867,62 \mu\text{L}^{-1}$, monócitos $509,73 \pm 363,01 \mu\text{L}^{-1}$, linfócitos $18.312,21 \pm 6.977,27 \mu\text{L}^{-1}$,

* Recebido em 15 de outubro de 2009

¹ Curso de Medicina Veterinária, Faculdade Anhanguera, Rua Manoel Santiago, 1.775, Vila São Luis, Dourados, MS 79925-150. E-mail: santiago_psb@hotmail.com

² Médica-veterinária, DSc. Embrapa Agropecuária Oeste, BR 163 km 253,6, Cx. Postal 661. Dourados, MS 79804-970. E-mail: marcia@cpao.embrapa.br

³ Médica-veterinária, DSc. Centro Universitário da Grande Dourados, Rua Balbina de Matos, 2121, Jardim Universitário, Dourados, MS 79824-900. E-mail: fabsatake@yahoo.com.br

⁴ Zootecnista, DSc. Embrapa Agropecuária Oeste, BR 163, km 253,6, Cx. Postal 661, Dourados, MS 79804-970. E-mail: hhisano@cpao.embrapa.br

⁵ Biólogo, DSc. Embrapa Amapá, Rodovia Juscelino Kubitschek, km 5, 2600 Caixa Postal 10, Macapá, AP 68903-419. E-mail: marcostavares@cpafap.embrapa.br

heterófilos $247,20 \pm 497,69 \mu\text{L}^{-1}$, eosinófilos $450,89 \pm 423,89 \mu\text{L}^{-1}$, neutrófilos $1.165,42 \pm 937,75 \mu\text{L}^{-1}$ e leucócitos imaturos $392,58 \pm 344,67 \mu\text{L}^{-1}$.

PALAVRAS-CHAVE. Hematologia de peixes, células sanguíneas, peixe de água doce.

INTRODUÇÃO

Nos peixes, os elementos figurados do sangue são compostos por eritrócitos, leucócitos e trombócitos cuja origem, desenvolvimento e função, principalmente dos leucócitos e trombócitos, não são ainda conhecidos por completo (Tavares-Dias & Moraes, 2004). Os leucócitos são as células responsáveis pela defesa humoral e celular do organismo (Tavares-Dias & Moraes, 2007), os quais utilizam a via sanguínea para realizar o monitoramento de possíveis infecções causadas por diferentes patógenos. Integram diferentes linhagens celulares nas quais podem ser diferenciados morfológicamente pela presença ou ausência de granulação, assim como pelas suas características morfológicas, tintoriais e citoquímicas (Satake et al., 2009).

Vários autores relataram a necessidade da caracterização dos trombócitos e leucócitos sanguíneos e a determinação dos valores basais para os diversos teleósteos em condições de higidez (Ranzani-Paiva, 1995; Tavares-Dias et al., 2000b; Tavares-Dias & Moraes, 2003; Tavares-Dias & Mataqueiro, 2004; Azevedo et al., 2006; Atencio-García et al., 2007). Para que as análises hematológicas de peixes sejam empregadas rotineiramente em averiguações de patologias que podem acometê-los, é imprescindível que se conheça os valores de referência de cada espécie em boas condições de saúde e nos diferentes ambientes. Assim, em dourado *S. brasiliensis* do Rio Mogi-Guaçu, Cachoeira das Emas (Pirassununga, SP), linfócitos, neutrófilos tipo I e tipo II, monócitos e eosinófilos foram caracterizados citoquimicamente (Veiga et al., 2000), morfológica e quantitativamente (Ranzani-Paiva et al., 2003). Todavia, o perfil trombocitário e leucocitário desta importante espécie para a piscicultura nacional, ainda não foram estudados em condições de cultivo.

O dourado *S. brasiliensis* é uma espécie pertencente à família Characidae, sendo um peixe neotropical, piscívoro, nativo de rios da América Latina, podendo alcançar mais de 20 kg (Souza et al., 2008). Caracteriza-se por ser uma espécie esportiva, além de possuir excelente qualidade organoléptica (Weingartner & Zaniboni-Filho, 2005) com grande potencial para a piscicultura nacional (Braga et al., 2007). Neste sentido, é de grande im-

portância e maior conhecimento científico de sua fisiologia, reprodução, larvicultura, sanidade, bem como suas exigências nutricionais para que sejam desenvolvidas tecnologias apropriadas na expansão de seu cultivo no Brasil.

Este estudo teve como objetivo caracterizar as células sanguíneas e quantificar os trombócitos e leucócitos de *S. brasiliensis* mantidos em condições experimentais de cultivo.

MATERIAL E MÉTODOS

Juvenis de dourado *Salminus brasiliensis* (12-15g), de uma mesma desova, foram adquiridos de piscicultura comercial e mantidos em tanques circulares de fibra de vidro (10 peixes m^3) com capacidade de 1000 L, abastecidos com fluxo contínuo de água originária de poço artesiano (10 L/min), no Laboratório de Piscicultura da *Embrapa Agropecuária Oeste*, Dourados, Mato Grosso do Sul, durante um período de 14 meses, quando atingiram peso médio de $146,54 \pm 16,08$ g.

Os peixes foram alimentados com ração comercial para carnívoros (45% PB, 14% extrato etéreo, 6% matéria fibrosa, 14% extrato mineral, 1% fósforo e 2,5% de cálcio) e granulometria de 4-6 mm, fornecida duas vezes ao dia. A temperatura da água e o teor de oxigênio foram aferidos diariamente, por meio de oxímetro digital YSI® 55. Semanalmente, era realizada a limpeza do tanque de manutenção, por meio de sifonagem para a retirada de eventuais resíduos orgânicos (fezes e sobras de ração).

Após anestesia com óleo de cravo, de acordo com as preconizações de Hisano et al. (2008), 35 peixes foram submetidos à venopunção caudal com auxílio de seringas (3 mL) e agulhas hipodérmicas (25 x 7 mm) banhadas com EDTA (10%). Imediatamente foram confeccionadas extensões sanguíneas em duplicatas, as quais foram coradas pancromicamente com May Grünwald-Giemsa-Wright (Tavares-Dias & Moraes, 2003) e utilizadas para contagem diferencial de leucócitos, em 200 células de interesse. Essas extensões foram também utilizadas para a contagem de trombócitos e leucócitos totais, seguindo as recomendações de Tavares-Dias & Moraes (2006), com algumas modificações descritas a seguir. Como os grandes granulócitos e os monócitos tendem a se encontrar nos bordos e no final das extensões sanguíneas, procurou-se realizar a contagem dos leucócitos em relação a 1.000 eritrócitos nas bordas e outros 1.000 eritrócitos a partir do centro dessas extensões, com o objetivo de obter maior homogeneidade

na contagem dos leucócitos. Para a diferenciação e nomenclatura das células sanguíneas foram seguidas as recomendações de Tavares-Dias & Moraes (2004), Affonso et al. (2007) e Clauss et al. (2008). A partir dos resultados adotou-se estatística descritiva, pela qual foi calculada a média aritmética, o desvio padrão e o coeficiente de variação das variáveis hematológicas estudadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As células identificadas no sangue periférico de *S. brasiliensis* foram eritrócitos, neutrófilos, heterófilos, eosinófilos, monócitos, linfócitos, leucócitos imaturos e trombócitos (Figura 1).

Os neutrófilos de *S. brasiliensis* são células circulares, com núcleo circular, em forma de bastão ou segmentado, excêntrico e com cromatina de coloração púrpuro-violeta predominantemente compactada nas células mais maduras, sendo mais frouxa em alguns neutrófilos jovens, que ocasionalmente foram identificados nas extensões. O citoplasma dessas células possui granulações neutrofílicas finas (Figura 1b). Este granulócito corresponde ao neutrófilo tipo I descrito por Veiga et al. (2000) e ao neutrófilo descrito por Ranzani-Paiva et al. (2003) para *S. brasiliensis* de vida livre. Similarmente, o Anostomidae *Leporinus macrocephalus* (Tavares-Dias et al., 2000a) e o Characidae *Brycon amazonicus* (Affonso et al., 2007) possuem neutrófilos com as mesmas peculiaridades morfológicas e tintoriais do *S. brasiliensis*, do presente estudo.

Os heterófilos de *S. brasiliensis*, são células circulares, com núcleo de formas variadas e excêntrico, mas pode ser ligeiramente deslocado para a periferia da célula, com a cromatina compacta e de coloração púrpuro-roxa. Possui granulações grosseiras de formato circular e de quantidade variável, com coloração acidófila-basofílica, mas predominantemente acidófila (Figura 1c). A nomenclatura deste granulócito em *S. brasiliensis* é controversa. Veiga et al. (2000) adotaram o termo neutrófilo tipo II para essa célula, enquanto Ranzani-Paiva et al. (2003) denominaram de célula granulocítica especial (CGE), Atencio-García et al. (2007) não identificaram heterófilos e ou CGE. em *Salminus affinis*, diferentemente do presente estudo, estes autores relataram a ocorrência de basófilos na circulação dessa espécie. Possivelmente, as divergências existentes na classificação dos leucócitos destes peixes podem ser atribuídas aos diferentes tipos de metodologias adotadas para a coloração das células sanguíneas (Tavares-Dias & Moraes, 2006).

No sangue de alguns peixes há neutrófilos, em outros há somente heterófilos e em alguns há tanto neutrófilos como heterófilos (Tavares-Dias & Barcellos, 2005; Tavares-Dias, 2006). Similarmente ao que ocorreu em *S. brasiliensis*, do presente estudo, neutrófilos juntamente com heterófilos foram documentados em peixes teleósteos, como *Hoplosternum littorale* (Tavares-Dias & Barcellos, 2005), *Brycon orbignyanus* (Tavares-Dias & Moraes, 2006) e *B. amazonicus* (Affonso et al., 2007), assim como em elasmobrânquio como o *Rhynchodon typus* (Clauss et al., 2008).

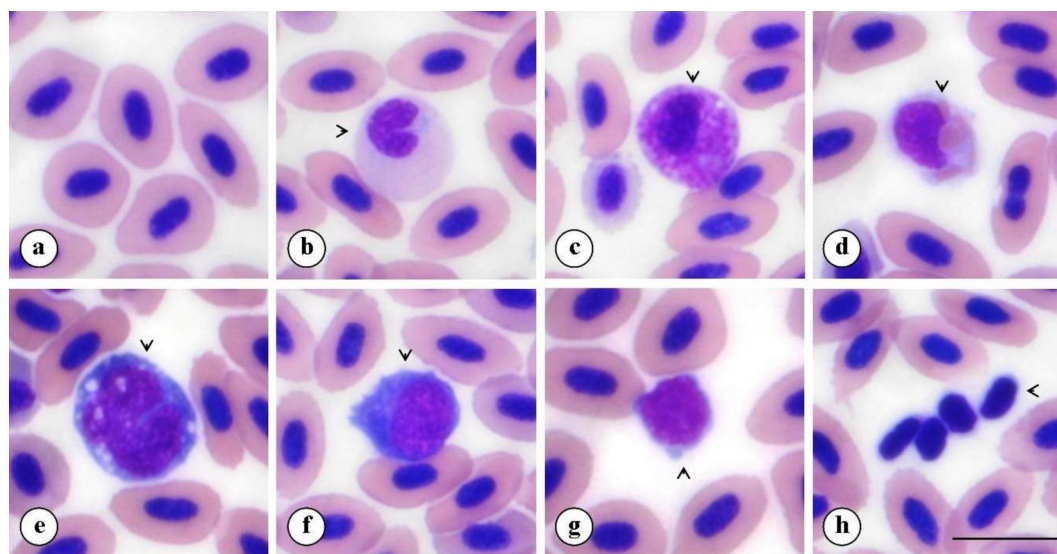


Figura 1. Células sanguíneas de *Salminus brasiliensis*. Eritrócitos (a), neutrófilo (b), heterófilo (c), eosinófilo (d), monócito (e), leucócito imaturo (f), linfócito (g) e trombócitos (h). Coloração May Grünwald-Giemsa-Wright. Barra = 10 μ m.

Os eosinófilos de *S. brasiliensis* apresentaram-se predominantemente pequenos quando comparados aos demais granulócitos e monócitos. A cromatina nuclear possui coloração púrpuro-violeta, sendo compacta, localizando-se na periferia da célula e acumulando a granulação no pólo oposto. Estas células possuem ampla variação no formato, sendo geralmente circulares a ovóides, podendo apresentar pequenos pseudópodes. O citoplasma possui grânulos de coloração eosinofílica com considerável variação da quantidade e formato, em sua maior parte em forma de bastões e ocasionalmente arredondados (Figura 1d). Veiga et al. (2000) e Ranzani-Paiva et al. (2003), também relatam a ocorrência de eosinófilos em dourados do ambiente natural, com características similares aos do presente estudos, assim como Atencio-García et al. (2007) em dourado *S. affinis*. Veiga et al. (2000) relataram que este granulócito possui forte reação citoquímica para proteínas, indicado por coloração com azul de bromofenol.

Entre os leucócitos, os monócitos são as maiores células identificadas no sangue circulante de *S. brasiliensis* possuem ampla variação do formato do núcleo, podendo ser arredondados, reniformes ou em forma de ferradura, localizados na periferia da célula com cromatina púrpura de frouxa a compactada de acordo com a ontogênese da célula. Este agranulócito possui o citoplasma basofílico com variada quantidade de vacúolos e ocasionalmente apresentam pseudópodes (Figura 1e). Células semelhantes a essa foram descritas em *S. brasiliensis* (Veiga et al., 2000; Ranzani-Paiva et al., 2003), *S. affinis* (Atencio-García et al., 2007) e em vários outros teleósteos (Anderson et al., 1996; Tavares-Dias et al., 2000a; Tavares-Dias et al., 2000b; Tavares-Dias & Moraes, 2004; Tavares-Dias & Moraes, 2006) e em elasmobrânquios (Valenzuela et al., 2003; Clauss et al., 2008).

Os linfócitos de *S. brasiliensis* são os menores leucócitos. Possuem alta relação núcleo: citoplasma, com núcleo central e cromatina de coloração púrpuro-violeta, de frouxa a compacta; o citoplasma é basofílico, desprovido de granulação, podendo apresentar pequenas projeções (Figura 1g). São células de tamanhos variados, sendo que os grandes linfócitos apresentam a cromatina nuclear mais frouxa em relação aos pequenos linfócitos, possivelmente por se tratar de células mais jovens ou de diferentes populações linfocitárias.

De forma semelhante, os peixes marinhos *Sarpa salpa*, *Dicentrarchus labrax*, *Diplodus sargus*, *Dentex dentex*, *Sparus aurata* e *Pagrus pagrus* (Pavlidis et al., 2007), assim como o peixe de água doce *Brycon* sp.

(Ranzani-Paiva, 1996) apresentam grandes e pequenos linfócitos. Já em *Lates calcarifer* (Anderson et al., 1996) foi observado apenas pequenos linfócitos, mas com as mesmas projeções citoplasmáticas descritas para *S. brasiliensis*. Linfócitos com as mesmas propriedades morfológicas e tintoriais aqui encontradas foram relatados para *S. brasiliensis* de ambiente natural (Veiga et al., 2000; Ranzani-Paiva et al., 2003), em *S. affinis* (Atencio-García et al., 2007), bem como em várias outras espécies de peixes teleósteos (Ranzani-Paiva, 1995; Tavares-Dias et al., 2000a; Tavares-Dias et al., 2000b; Tavares-Dias & Moraes, 2004; Tavares-Dias & Moraes, 2006) e elasmobrânquio (Valenzuela et al., 2003; Clauss et al., 2008).

Na diferenciação entre os grandes linfócitos e os leucócitos imaturos (LI) de *S. brasiliensis*, levou-se em consideração o tamanho da célula, a quantidade de citoplasma, o aspecto da cromatina nuclear e as propriedades tintoriais do citoplasma. A partir desses critérios, observou-se que os LI apresentam tamanho intermediário aos grandes linfócitos e aos monócitos, possuem cromatina nuclear frouxa, maior quantidade de citoplasma que os linfócitos, intensa basofilia citoplasmática e ausência de vacuolização citoplasmática (Figura 1f). A morfologia dos LI é amplamente variável e sua identificação no sangue periférico pode ser dificultada pela presença de eritrócitos jovens e ou eritroblastos basofílicos, dada sua íntima semelhança. Ocasionalmente foi observada a presença de poucos grânulos de formato e tamanho variado e de coloração púrpura em alguns LI. Ranzani-Paiva (1995), cita que a classificação dos leucócitos em peixes não é uniforme devido ao grande número de leucócitos imaturos na circulação periférica.

Os trombócitos de *S. brasiliensis* são células predominantemente elípticas e ocasionalmente ovais, sendo que o núcleo de coloração roxo-púrpura e central, acompanhando o formato da célula. Possui citoplasma escasso de coloração hialina, sendo ocasionalmente identificada fina granulação acidófila (Figura 1h). Similarmente, células com tais características foram relatadas em *S. brasiliensis* de ambiente natural (Veiga et al., 2000; Ranzani-Paiva et al., 2003), em *S. affinis* (Atencio-García et al., 2007) e também em várias outras espécies de peixes teleósteos (Ranzani-Paiva, 1995; Ranzani-Paiva, 1996; Tavares-Dias et al., 2000a; Tavares-Dias et al., 2000b; Tavares-Dias & Moraes, 2004; Tavares-Dias & Moraes, 2006; Clauss et al., 2008). Em *S. brasiliensis*, os grânulos citoplasmáticos de trombócitos possuem glicogênio (Veiga et al., 2000), substância importante no proces-

so de fagocitose nos peixes (Tavares-Dias 2006; Tavares-Dias & Moraes, 2007).

Os valores médios, assim como o mínimo e máximo e coeficiente de variação das contagens de trombócitos e leucócitos de *S. brasiliensis* em condições experimentais de cultivo estão relacionados na Tabela 1. Observa-se que os valores da contagem de trombócitos foram inferiores aos de *S. affinis* (Atencio-García et al., 2007), *P. mesopotamicus* (Mataqueiro & Tavares-Dias, 2004) e *B. orbignyanus* (Tavares-Dias & Moraes, 2006). Possivelmente, estas diferenças são espécie-específicas, uma vez que o método de contagem usado para *S. brasiliensis* foi também o mesmo

Tabela 1. Valores médios $\pm$ desvio padrão (DP), variação e coeficiente de variação (CV) dos parâmetros trombométricos e leucométricos de juvenis de *Salminus brasiliensis* em condições experimentais de cultivo.

Parâmetros	Valores médios $\pm$ DP	Variação	CV (%)
Trombócitos (μL^{-1})	18.820,75 $\pm$ 7.067,64	5.662,50-38.745,00	37,55
Leucócitos totais (μL^{-1})	21.072,93 $\pm$ 7.867,62	3.352,50-45.920,00	37,34
Monócitos (%)	2,34 $\pm$ 1,28	0-6	54,48
Monócitos (μL^{-1})	509,73 $\pm$ 363,01	0-1358,44	71,21
Linfócitos (%)	86,39 $\pm$ 5,22	72-95	6,06
Linfócitos (μL^{-1})	18.312,21 $\pm$ 6.977,27	2.413,80-40.868,80	38,11
Heterófilos (%)	1,27 $\pm$ 2,45	0-11,5	192,74
Heterófilos (μL^{-1})	247,20 $\pm$ 497,69	0-2212,65	201,33
Eosinófilos (%)	2,04 $\pm$ 1,53	0-5,5	74,70
Eosinófilos (μL^{-1})	450,89 $\pm$ 423,89	0-1560,00	93,95
Neutrófilos (%)	5,84 $\pm$ 4,17	0-18	70,35
Neutrófilos (μL^{-1})	1.165,42 $\pm$ 937,75	164,81-4.559,40	80,46
Leucócito Imaturo (μL^{-1})	2,11 $\pm$ 1,75	0-6,5	82,74
Leucócito Imaturo (μL^{-1})	392,58 $\pm$ 344,67	0-1639,54	87,79

usado para estes dois últimos caracídeos, porém para *S. affinis* o método foi distinto.

Os valores de leucócitos totais de *S. brasiliensis* foram superiores aos descritos por Tavares-Dias & Mataqueiro (2004) para *P. mesopotamicus* e inferiores aos descritos por Tavares-Dias & Moraes (2006) para *B. orbignyanus*. Da mesma forma, os valores absolutos de linfócitos do dourado foram maiores que os de *P. mesopotamicus* (Tavares-Dias & Mataqueiro, 2004) e *B. orbignyanus* (Tavares-Dias & Moraes, 2006).

O percentual de neutrófilo (33,3 %) de dourados oriundos do ambiente natural (Ranzani-Paiva et al., 2003) foi maior que o do presente estudo, consequentemente os valores de linfócitos (53,1%) foram menores. Similarmente, Atencio-García et al. (2007), também relataram valores de neutrófilos (28,4%) superiores e de linfócitos (68,8%) inferiores para em *S. affinis* de vida livre, quando comparados aos do presente estudo. Essas diferenças podem ser atribuídas às condições estressantes de captura, transporte e cativeiro pelo quais os peixes de vida livre são inevitavelmente expostos. Vários autores têm relatado

o aumento do percentual de neutrófilos e diminuição do percentual de linfócitos em peixes submetidos as mais variadas condições estressantes (Carneiro et al., 2002; Martins et al., 2002; Martins et al., 2004; Falcon et al., 2008). Porém, outros fatores tais como diferença de ambiente e variação interespecífica também devem ser considerados (Tavares-Dias & Moraes 2004; Tavares-Dias & Mataqueiro, 2004).

Os valores do percentual de heterófilos, leucócitos imaturos, eosinófilos e monócitos do dourado de ambiente natural (Ranzani-Paiva et al., 2003) são próximos aos encontrados no presente estudo com a mesma espécie, em condições experimentais de cultivo. Da mesma forma, o percentual de monócitos de *S. brasiliensis* foi similar aos de *Mugil platanus* (Ranzani-Paiva, 1995), tambacu (Tavares-Dias et al., 2000b) e *S. affinis* (Atencio-García et al., 2007). Por outro lado, o percentual de linfócitos, os valores absolutos de eosinófilos, neutrófilos e leucócitos imaturos foram inferiores aos de *P. mesopotamicus* oriundos do cultivo intensivo (Tavares-Dias & Mataqueiro, 2004), e também quando comparados os valores absolutos de neutrófilos e heterófilos de *S. brasiliensis* foram menores que os de *B. orbignyanus* (Tavares-Dias & Moraes, 2006) e *B. amazonicus* Affonso et al., 2007), contudo estes dois autores quantificaram juntos neutrófilos/heterófilos, por considerá-los granulócitos com mesma similaridade de função.

CONCLUSÃO

O presente estudo descreve as propriedades morfológicas e classificação das células sanguíneas, além da quantificação das variedades celulares responsáveis pela defesa orgânica de *S. brasiliensis*. Com isso, estes resultados podem ser utilizados como prévio padrão para comparação dessa espécie quando em outras condições de cultivo, assim como sob desafios experimentais. No entanto, estudos adicionais devem ser conduzidos com esta espécie cultivada em pisciculturas comerciais, estabelecendo os valores de referência apropriados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Affonso, E.G.; Silva, C.E.; Tavares-Dias, M.; Menezes, G.C.; Carvalho, C.S.M.; Nunes, E.S.S.; Itaassú, D.R.; Roubach, R. Ono, E.A.; Fim, J.D.I. & Marcon, J.L. Effect of high levels of dietary vitamin C on the blood responses of matrinxã (*Brycon amazonicus*). *Comp. Biochem. Physiol.*, Part A, 47: 383–388, 2007.
- Anderson, I.G.; Schaummuller, L.F. & Kramer, H.L. A preliminary study on the hematology of freshwater-reared Seabass/ Barramundi, *Lates calcarifer*. *Asian Fish. Sci.*, 9: 101-107, 1996.

- Atencio-García, V.; López, A. G.; Mendoza, D. M. & Carrasco, S. P. Hematology and blood chemistry of juveniles rubio (*Salminus affinis* Pisces: Characidae) captured in the river Sinú. *Acta Biol. Colomb.*, 12: 27-40, 2007.
- Azevedo, T.M.P.; Martins, M.L.; Yamashita, M.M. & Francisco, C.J. Hematologia de *Oreochromis niloticus*: comparação entre peixes mantidos em piscicultura consorciada com suínos e em pesque-pague no vale do rio Tijucas, Santa Catarina, Brasil. *Bol. Inst. Pesca*, 32: 41-49, 2006.
- Braga, L.G.T.; Borghesi, R.; Dairiki, J.K. & Cyrino, J.E.P. Trânsito gastrointestinal de dieta seca em *Salminus brasiliensis*. *Pesq. Agrop. Bras.*, 42: 131-134, 2007.
- Carneiro, P.C.F.; Urbinati, E.C & Martins, M.L. Transport with different benzocaine concentrations and its consequences on hematological parameters and gill parasite population of matrinxã *Brycon cephalus* (Günther, 1869) (Osteichthyes, Characidae). *Acta Sci.: Biol. Sci.*, 24: 555-560, 2002.
- Clauss, T.M.; Dove, A.D.M. & Arnold, J.E. Hematologic disorders of fish. *Vet. Clin. Exotic Ani. Pract.*, 11: 445-462, 2008.
- Falcon, D.R.; Barros, M.M.; Pezzato, L.E.; Narváez, W.V. & Guimarães, I.G. Leucograma da tilápia do Nilo arraçoada com dietas suplementadas com níveis de vitamina C e lipídeo e submetidas a estresse por baixa temperatura. *Ci. Ani. Bras.*, 543-551, 2008.
- Hisano, H.; Ishikawa, M.M; Ferreira, R.A.; Bulgarelli, A.L.A.; Costa, T.R. & Pádua, S.B. Tempo de indução e de recuperação de dourados *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1816) submetidos a diferentes concentrações de óleo de cravo *Eugenia* sp.. *Acta Sci.: Biol. Sci.*, 30: 303-307, 2008.
- Mai, M.G. & Zaniboni-Filho, E. Efeito da idade de estocagem em tanques externos no desempenho da larvicultura do dourado *Salminus brasiliensis* (Osteichthyes, Characidae). *Acta Sci. Ani. Sci.*, 27: 287-296, 2005.
- Martins, M.L.; Moraes, F.R.; Fujimoto, R.Y; Nomura, D.T. & Fenerick JR, J. Respostas do híbrido tambacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 macho x *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818 fêmea) a estímulos simples ou consecutivo de captura. *Bol. Inst. Pesca*, 28: 195-204, 2002.
- Martins, M.L. ; Pilarsky, F.; Onaka, E.M.; Nomura, D.T.; Fenerick JR, J.; Ribeiro, K.; Miyazaki, D.M.Y.; Castro, M.P. & Malheiros, E.B. Hematologia e resposta inflamatória aguda em *Oreochromis niloticus* (Osteichthyes: Cichlidae) submetida aos estímulos único e consecutivo de captura. *Bol. Inst. Pesca*, 30: 71-80, 2004.
- Pavlidis, M.; Futter, W.C.; Katharios, P. & Divanach, P. Blood cell profile of six Mediterranean mariculture fish species. *J. Appl. Ichthyol.*, 23: 70-73, 2007.
- Ranzani-Paiva, M.J.T. Células do sangue periférico e contagem diferencial de leucócitos de tainha *Mugil platanus* Gunther, 1880 (Osteichthyes, Mugilidae) da região estuarino-lagunar de Cananéia – SP. (Lat. 25°00'S – Long. 47°55'W). *Bol. Inst. Pesca*, 22: 23-40, 1995.
- Ranzani-Paiva, M.J.T. Células sanguíneas e contagem diferencial de leucócitos em Pirapitinga-do-Sul, *Brycon* sp., sob condições experimentais de criação intensiva. *Rev. Ceres*, 43: 685- 696, 1996.
- Ranzani-Paiva, M. J. T.; Rodrigues, E. L.; Veiga, M. L.; Eiras, A. C. & Campos, B. E. S. Differential leukocyte counts in “dourado”, *Salminus maxillosus* Valenciennes, 1840, from the Mogi-guaçu river, Pirassununga, SP. *Braz. J. Biol.*, 63: 517-525, 2003.
- Satake, F.; Pádua, S.B. & Ishikawa, M.M. Distúrbios morfológicos em células sanguíneas de peixes em cultivo: uma ferramenta prognóstica. In.: Tavares-Dias, M. *Manejo e sanidade de peixes em cultivo*. 1º ed. Macapá: Embrapa Amapá, 2009, p. 330-345.
- Souza, I.L.; Santos-Silva, L.K.; Venere, P.C. & Moreira-Filho, O. Molecular cytogenetics of *Salminus* fish (Characiformes) based on 5S and 18S rRNA genes hybridization, fluorochrome staining and C-banding. *Micron*, 39: 1036-1041, 2008.
- Tavares-Dias, M.; Martins, M.L. & Moraes, F.R. Características hematológicas de teleósteos brasileiros. V. Variáveis do piaçu *Leporinus macrocephalus* Garavell e Britski, 1988 (Anostomidae). *Naturalia*, 25: 39-52, 2000a.
- Tavares-Dias, M.; Schalch, S.H.C.; Martins, M.L.; Onaka, E.M. & Moraes, F.R. Haematological characteristics of brazilian teleosts. III. Parameters of the hybrid tambacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg x *Colossoma macropomum* Cuvier) (Osteichthyes, Characidae). *Rev. Bras. Zool.*, 17: 899-906, 2000b.
- Tavares-Dias, M. & Moraes, F.R. Características Hematológicas de *Tilapia rendalli* Boulenger, 1896 (Osteichthyes: Cichlidae) capturada em “pesque-pague” de Franca, São Paulo, Brasil. *Biosci. J.*, 19: 107-114, 2003.
- Tavares-Dias, M. & Mataqueiro, M.I. Características hematológicas, bioquímicas e biométricas de *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae) oriundos de cultivo intensivo. *Acta Sci. Biol. Sci.*, 26: 157-162, 2004.
- Tavares-Dias, M. & Moraes, F.R. *Hematologia de peixes teleósteos*. Ribeirão Preto: M. Tavares-Dias, 2004.
- 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.*, 22: 215-220, 2005.
- Tavares-Dias, M. A morphological and cytochemical study of erythrocytes, thrombocytes and leukocytes in four freshwater teleosts. *J. Fish Biol.*, 68: 1822-1833, 2006.
- Tavares-Dias, M. & Moraes, F. R. Hematological parameters for the *Brycon orbignyanus* Valenciennes, 1850 (Osteichthyes, Characidae) intensively bred. *Hidrobiológica*, 16: 271-274, 2006.
- Tavares-dias, M. & Moraes, F.R. Leukocyte and thrombocyte reference values for channel catfish (*Ictalurus punctatus* Raf.), with an assessment of morphological, cytochemical, and ultrastructural features. *Vet. Clin. Pathol.*, 36: 49-54, 2007.
- Valenzuela, A.; Oyarzún, C. & Silva, V. Blood cells of the *Schroederichthys chilensis* (Guichenot 1848): the leukocytes (Elasmobranchii, Scyliorhinidae). *Gayana*, 67: 130-136, 2003.
- Veiga, M.L.; Egami, M.I.; Ranzani-Paiva, M.J.T. & Rodrigues, E.L. Aspectos morfológicos y citoquímicos de las células sanguíneas de *Salminus maxillosus* Valenciennes, 1840 (Characiformes, Characidae). *Rev. Chil. Anat.*, 18: 245-250, 2000.
- Weingartner, M. & Zaniboni-Filho, E. Dourado. In. Baldisserotto, B. & Gomes, L.C. *Espécies nativas para a piscicultura no Brasil*. 1ª Ed. Santa Maria: UFSM, 2005. p. 257-286.