

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDÔNIA
CAMPUS DE ROLIM DE MOURA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

GIBRANN FREDERIKO DE LIMA RAIMUNDO

**ESTUDO HEMATOLÓGICO DE TAMBAQUIS (*Colossoma macropomum*)
CAPTURADOS EM DOIS PESQUE-PAGUE DA REGIÃO DE ROLIM DE MOURA,
RO**

ROLIM DE MOURA, RO

2018

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDÔNIA
CAMPUS DE ROLIM DE MOURA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**ESTUDO HEMATOLÓGICO DE TAMBAQUIS (*Colossoma
macropomum*) CAPTURADOS EM DOIS PESQUE-PAGUE DA
REGIÃO DE ROLIM DE MOURA, RO**

Trabalho de Conclusão de
Curso (TCC) apresentado
como exigência em
graduação no curso de
bacharel em Medicina
Veterinária na Fundação
Universidade Federal de
Rondônia (UNIR)
Orientador: Dr. Wilson
Gómez Manrique

ROLIM DE MOURA, RO

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Fundação Universidade Federal de Rondônia
Gerada automaticamente mediante informações fornecidas pelo(a) autor(a)

R153e Raimundo, Gibrann Frederiko de Lima.

Estudo hematológico de Tambaquis (*Colossoma Macropomum*) capturados em dois pesque-pague da região de Rolim de Moura / Gibrann Frederiko de Lima Raimundo. -- Rolim de Moura, RO, 2018.

37 f. : il.

Orientador(a): Prof.^a Dra. Wilson Gómez Manrique

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) -
Fundação Universidade Federal de Rondônia

1.Peixe Nativo. 2.piscicultura. 3.profilaxia. 4.sangue. 5.saúde. I.
Manrique, Wilson Gómez. II. Título.

CDU 597.556.333.3

GIBRANN FREDERIKO DE LIMA RAIMUNDO

**ESTUDO HEMATOLÓGICO DE TAMBAQUIS (*Colossoma macropomum*)
CAPTURADOS EM DOIS PESQUE-PAGUE DA REGIÃO DE ROLIM DE MOURA,
RO**

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado ao curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Rondônia, como parte das exigências para a obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Rolim de Moura, 3 de dezembro de 2018

BANCA EXAMINADORA



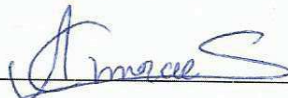
Prof. Dr. Wilson Gómez-Manrique

Orientador e presidente da banca examinadora
Universidade Federal de Rondônia



Profa. Dra. Mayra Araguaia Pereira Figueiredo

Membro da banca examinadora
Universidade Federal de Rondônia



Profa. Dra. Alessandra Cristina de Moraes

Membro da banca examinadora
Universidade Federal de Rondônia

DEDICATÓRIA

Dedico a Deus, minha família e amigos...

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por tudo que tem feito em minha vida, a minha família, Neide de Lima Raimundo minha mãe, meus filhos Matheus Gabriel F. de L. Raimundo, Anna Clara D. de Lima, e a minha noiva Joyce Kelly de F. Moreira.

Aos meus amigos que me incentivaram para que eu obtivesse êxito. Quero também aqui agradecer imensamente ao meu orientador Prof. Dr. Wilson Gómez Manrique, por ter acreditado no meu trabalho e por ter colaborado comigo, e a todos os professores que contribuíram para a minha conquista.

A todos, o meu muito Obrigado!

RESUMO

Este trabalho teve por objetivo estudar os parâmetros hematológicos de exemplares de tambaqui (*Colossoma macropomum*), de dois pesque-pague localizados no município de Rolim de Moura, dentre os meses de agosto a dezembro de 2018. Após serem capturados 25 animais em cada ponto, foi coletado 2 mL de sangue e analisado o número total de eritrócitos (RBC), hematócrito (Ht), taxa de hemoglobina (Hb), contagem diferencial de leucócitos, contagem de trombócitos e calculados os índices hematimétricos, Volume Corpuscular Médio (VCM), Hemoglobina Corpuscular Média (HCM) e Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM). Em todas as análises não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$). Os 25 exemplares capturados no ponto 1, apresentaram médias de: Ht= $28,13 \pm 1,53$ %; RBC= $2,27 \pm 0,42$ μL ; Hb= $7,81 \pm 0,72$ g/dL; VCM= $139,18 \pm 13,20$ fL; HCM = $32,47 \pm 3,28$ pg e CHCM = $21,85 \pm 3,85$ %. Já para o ponto 2 os valores foram: Ht= $29,72 \pm 1,09$ %; RBC= $2,30 \pm 0,51$ μL ; Hb= $7,93 \pm 0,63$ g/dL; VCM= $145,43 \pm 11,33$ fL; HCM = $31,89 \pm 5,44$ pg e CHCM = $24,68 \pm 3,93$ %. No estudo diferencial dos leucócitos, os linfócitos foram as células mais frequentes. Seguido pelos neutrófilos, monócitos, células granulocíticas especiais e finalmente os eosinófilos. De forma geral, os parâmetros hematológicos aqui analisados encontraram-se dentro da faixa ou próximos aos relatados na literatura sob condições experimentais o que indica que os peixes se encontram em homeostasia com o seu entorno.

Palavras-Chave: peixe nativo, piscicultura, profilaxia, sangue, saúde.

ABSTRACT

The aim of this study was to study the hematological parameters of “tambaqui” (*Colossoma macropomum*) specimens from two fishpond located in the municipality of Rolim de Moura. After collecting 25 animals at each point, 2 mL of blood were collected and the total number of erythrocytes (RBC), hematocrit (Ht), hemoglobin (Hb), differential leukocyte count, thrombocyte counts and hematological index was calculated, Mean Corpuscular Volume (MCV), Mean Corpuscular Hemoglobin (HCM), and Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (CHCM). In all analyzes there was no significant statistical difference ($p > 0.05$). The 25 specimens captured in point 1 and showed: Ht = $28.13 \pm 1.53\%$; RBC = $2.27 \pm 0.42 \mu\text{L}$; Hb = $7.81 \pm 0.72 \text{ g / dL}$; VCM = $139.18 \pm 13.20 \text{ fL}$; HCM = $32.47 \pm 3.28 \text{ pg}$ and CHCM = $21.85 \pm 3.85\%$. For point 2, the values were: Ht = $29.72 \pm 1.09\%$; RBC = $2.30 \pm 0.51 \mu\text{L}$; Hb = $7.93 \pm 0.63 \text{ g / dL}$; VCM = $145.43 \pm 11.33 \text{ fL}$; HCM = $31.89 \pm 5.44 \text{ pg}$ and CHCM = $24.68 \pm 3.93\%$. In the differential study of leukocytes, lymphocytes were the most frequent cells. Followed by neutrophils, monocytes, special granulocytic cells and finally eosinophils. In general, the hematological parameters analyzed here are within the range or close to those reported in the literature experimental conditions indicating that the fish are in homeostasis with their environment.

Key words: blood, health, native fish, pisciculture, prophylaxis.

LISTA DE SIGLAS

CEUA: Comissão de Ética no Uso de Animais

CGE: Célula granulocítica especial

CHCM: Concentração da hemoglobina corpuscular média

EDTA: Ácido etilenodiamino tetra-acético

HCM: Hemoglobina corpuscular média

Ht: Hematócrito

MGGW: May-Grunwald-Giemsa-Wrigh

MPA: Ministério da Pesca e Aquicultura

PB: Proteína bruta

RBC: Contagem total de eritrócitos

RO: Rondônia

SIE: Serviço de Inspeção Estadual

SIF: Serviço de Inspeção Federal

SNA: Sociedade Nacional de Aquicultura

Ton: Tonelada

US: Dólar americano

VCM: Volume corpuscular médio;

WBC: Contagem total de leucócitos

xg: Força g

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Imagem de satélite indicando a localização da primeira propriedade (Ponto 1) onde foram capturados 25 exemplares de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) utilizados no estudo hematológico.	17
Figura 2: Imagem de satélite indicando a localização da segunda propriedade (Ponto 2) onde foram capturados 25 exemplares de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) utilizados no estudo hematológico.	18
Figura 3 Fotomicrográfica de extensão sanguínea de tambaquis (<i>Colossoma macropomum</i>) capturados em dois pesque-pague do Município de Rolim de Moura, RO. A seta grande indica a CGE, a seta pequena indica um linfócito. Coloração MGGW. Barra 2,5 μm	25
Figura 4 Fotomicrografia de extensão sanguínea de tambaquis (<i>Colossoma macropomum</i>) capturados em dois pesque-pague do Município de Rolim de Moura, RO. A seta grande indica neutrófilo, a seta pequena indica trombócitos. Coloração MGGW. Barra 2,5 μm	26
Figura 5 Fotomicrografia de extensão sanguínea de tambaquis (<i>Colossoma macropomum</i>) capturados em dois pesque-pague do Município de Rolim de Moura, RO. A seta indica linfócito. Coloração MGGW. Barra 2,5 μm	27
Figura 6 Fotomicrografia de extensão sanguínea de tambaquis (<i>Colossoma macropomum</i>) capturados em dois pesque-pague do Município de Rolim de Moura, RO. A seta indica monócito. Coloração MGGW. Barra 2,5 μm	28
Figura 7 Fotomicrografia de extensão sanguínea de tambaquis (<i>Colossoma macropomum</i>) capturados em dois pesque-pague do Município de Rolim de Moura, RO. A seta indica monócito. Coloração MGGW. Barra 2,5 μm	29
Figura 8 Fotomicrografia de extensão sanguínea de tambaquis (<i>Colossoma macropomum</i>) capturados em dois pesque-pague do Município de Rolim de Moura, RO. A seta indica trombócito. Coloração MGGW. Barra 2,5 μm	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Valores médios \pm desvio padrão dos parâmetros hematológicos de tambaquis (<i>Colossoma macropomum</i>) capturados em dois pesque-pague do Município de Rolim de Moura, RO1.....	24
Tabela 2 Valores médios \pm desvio padrão dos parâmetros celulares do sangue de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) capturados em dois pesque-pague do Município de Rolim de Moura, RO1.....	31

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS	12
2.1 Geral	12
2.2 Específicos	12
3. REVISÃO DE LITERATURA	13
3.1 Produção de Pescado no Brasil	13
3.2 Estudo da hematologia como ferramenta diagnóstica de doença	14
3.3 Tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>)	15
4. MATERIAIS E METODOS	17
4.1 Local de coleta, delineamento experimental e comitê de ética	17
4.2 Coleta de amostras de sangue	18
4.3 Extensão sanguínea	18
4.4 Estimativa da concentração de hemoglobina	19
4.5 Valor do hematócrito (Ht)	19
4.6 Contagem total de eritrócitos (RBC)	19
4.7 Contagem total de leucócitos (WBC) e trombócitos	20
4.8 Contagem diferencial de leucócitos	20
4.9 Índice hematimétricos	20
4.9.1 Volume corpuscular médio (VCM)	20
4.9.2 Hemoglobina corpuscular média (HCM)	21
4.9.3 Concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM)	21
5. ANÁLISE ESTATÍSTICA	22
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
7. CONCLUSÃO	33
8. REFERÊNCIAS	34

1. INTRODUÇÃO

A aquicultura é o cultivo, normalmente em um espaço confinado e controlado, de organismos aquáticos, tais como peixes, crustáceos, moluscos, algas, reptéis e qualquer outra forma de vida aquática de interesse econômico produtivo.

O Brasil possui algumas variáveis favoráveis para o desenvolvimento desta atividade, dentre estas variáveis devemos ressaltar algumas, tais como a boa disponibilidade de recursos hídricos, clima favorável, curto período de estiagem, o que possibilita a manutenção desta atividade, outro fator importante é a disponibilidade de matérias primas para a fabricação de dietas, bem como também as espécies nativas que se mostram com alto potencial para a produção em cativeiro e comercialização, possibilitando assim uma boa lucratividade para os produtores,

Quando é comparada a atividade piscícola com as outras atividades pecuárias, pode-se observar que esta contribui de forma consistente e constante na produção mundial de alimentos. A piscicultura consiste na produção de peixes em ambiente controlado, por ter a característica de se produzir o tempo todo, faz com que se mostre uma atividade promissora e de ótimos resultados, gerando renda e contribuindo para a produção de proteína animal de qualidade.

A produção de peixes em cativeiro tem como finalidade o cultivo de grande quantidade de peixes em ambientes reduzidos, o que favorece para instauração e disseminação de doenças pelo desequilíbrio, ocasionado por fatores ambientais ou de ordem patogênica por bactérias, vírus, fungos e parasitos, o que representa uma das principais causas das perdas econômicas na produção de peixes.

A hematologia é a ciência que estuda o sangue e suas alterações, aí a importância em realizar estudos hematológicos em peixes, seja padronizar técnicas ou metodologia que direcionem para a prevenção e diagnóstico de doenças, sempre pensando no uso de ferramentas práticas e acessíveis. Pelo fato dos peixes apresentarem sinais clínicos inespecíficos, a avaliação das características sanguíneas é a maneira mais eficaz de determinar o estado fisiopatológico do hospedeiro. Com tudo, o estudo hematológico em peixes está sendo indicado como a melhor ferramenta para avaliar o estado de saúde dos peixes, uma vez que pode fornecer informações relevantes para possíveis diagnóstico.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral:

- Determinar os parâmetros hematológicos de tambaqui (*Colossoma macropomum*) capturados em dois pesque-pague da região de Rolim de Moura, RO.

2.2 Específicos:

- Determinar os valores sanguíneos da série vermelha de tambaqui (*Colossoma macropomum*) capturados em dois pesque-pague da região de Rolim de Moura, RO;
- Determinar os valores sanguíneos da série branca de tambaqui (*Colossoma macropomum*) capturados em dois pesque-pague da região de Rolim de Moura, RO;
- Determinar os índices hematimétricos de tambaqui (*Colossoma macropomum*) capturados em dois pesque-pague da região de Rolim de Moura, RO.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Produção de pescado no Brasil

Segundo FAO (2016), descreve que a pesca e aquicultura continuam a ser fontes importantes de alimentos, renda e subsistência para milhões de pessoas em todo o mundo. Um marco para a piscicultura se deu em 2014, quando o abastecimento mundial de peixe per capita atingiu o recorde de 20 kg/habitante/ano, decorrente do eficaz crescimento da aquicultura, este fato demonstra que a população está consumindo mais pescado cultivado quando comparado ao de captura. Essas tendências ilustram uma etapa de mudança histórica na produção de alimentos, o que leva a projetar um crescimento da aquicultura de 33% até 2021 (EPI, 2014).

No Brasil, a participação do pescado sobre o total de proteína animal oferecida é menor do que o observado no âmbito mundial. O consumo per capita brasileiro de proteína animal mostrou o pescado em última posição, entre as quatro principais (bovino, suíno, frango e pescado), com média de 10,31 kg/habitante/ano. Isso é resultado de vários fatores, entre eles o desenvolvimento insuficiente do cultivo de peixes, dada a predominância histórica da pesca extrativista em relação à aquicultura (MPA, 2015). Nesse contexto, é de suma importância que aquicultura brasileira seja desenvolvida a fim de acompanhar a tendência mundial.

Segundo dados do IBGE (2015), a aquicultura brasileira continua crescendo e atingiu um valor de produção de R\$ 4,39 bilhões em 2015, com aproximadamente 70% oriunda da criação de peixes. Nesse mesmo ano, a produção total da piscicultura brasileira foi de 483,24 mil toneladas, com aumento de 1,5% em relação ao ano anterior. Assim, dentre todas as atividades zootécnicas, a aquicultura apresenta o maior potencial de produção de proteína animal, além do alto valor nutritivo do pescado e da sua importância para a saúde humana (MPA, 2015).

Na região Norte o estado de Rondônia se destaca na produção de tambaqui, com crescimento constante nesta atividade (área de produção de 600 ha, aproximadamente 800 piscicultores, nos municípios de Porto Velho, Ariquemes, Ouro Preto D'Oeste e Rolim de Moura), com produção média de 2.400 ton/ano e produtividade média de 4t/ha/ano. Em relação à produção de alevinos a oferta gira em torno de 6 milhões de alevinos/ano (SUFRAMA, 2003).

O estado de Rondônia atualmente possui cinco frigoríficos, um na capital, Porto Velho, com SIF (Serviço de Inspeção Federal), que atualmente não está em funcionamento, outro em Ariquemes também com SIF com capacidade inicial para processar três toneladas diárias de tambaqui e está em remodelação, terceiro em Pimenta Bueno em funcionamento com SIE (Serviço de Inspeção Estadual), o quarto no município de Vilhena com SIF, e o último no município de Rolim de Moura, com as instalações concluídas, mas que não está em atividade (FILHO, 2018).

O crescimento da piscicultura com a produção do tambaqui no Estado de Rondônia é devido aos aspectos físicos como disponibilidade de recursos hídricos, temperatura, etc., o tambaqui, que possui bom desempenho zootécnico e tecnologia de produção conhecida; dentro de um fator comercial a expansão do mercado do pescado, pelo aumento do consumo *per capita*, há o incentivo do governo por meio de políticas públicas, auxiliando os agricultores familiares, como meio de atividade alternativa para uso do solo e fonte de renda (EMATER-RO, 2018).

3.2 Estudo da hematologia como ferramenta diagnóstica de doença

Um dos fatores importantes a ser considerado nas criações são as doenças. Na piscicultura as doenças parasitárias são consideradas um entrave na piscicultura mundial, pois estão relacionadas a grandes prejuízos econômicos na produção de peixes, sendo de maior relevância na região tropical, pelas características climáticas pertinentes à região que propiciam a rápida e constante propagação dos parasitos (THATCHER et al., 1994).

Uma das formas de verificar o estado de hígidez dos animais é o estudo hematológico. Os peixes por serem animais produzidos em altas densidades e por dependerem de fatores externos para seus processos fisiológicos, são frequentemente “prejudicados”. Assim, os parâmetros sanguíneos dos peixes auxiliam na avaliação da relação animal/ambiental. Esta análise facilita a detecção de alterações patológicas nos organismos e as alterações que fogem dos valores “fisiológicos” do sangue observadas (OLIVEIRA-RIBEIRO et al., 2000).

Por exemplo, segundo Sheridan e Mommsen (1991) a hematopoiese sofre influência de diversos fatores biológicos e ambientais o que induz alterações osmorreguladoras causando estresse que leva a liberação de cortisol no sangue que induz modificações fisiometabólicas, observadas pelo aumento do número de

eritrócitos e queda no VCM (Volume Corpuscular Médio) por exemplo (VOSYLIENÉ, 1999). Outros parâmetros a serem estudado são os índices hematimétricos, Houston (1990), o VCM, está relacionado com a dinâmica cardíaca e com o fluxo sanguíneo já a CHCM relacionasse com a função respiratória.

As células que conformam os leucócitos de peixes, podem variar de acordo ao tipo de resposta generalizada do sistema imune, acionado pelo estresse fisiológico e consequente, estado de saúde afetado; o que faz que este aumento possa ser observado no início do estresse na maioria das espécies de peixes, o que é considerado como uma tentativa de recuperar a homeostase (VOSYLIENÉ, 1999). Assim, alterações na contagem relativa de células da série branca podem indicar a ocorrência de processos infecciosos; por exemplo, os eosinófilos e basófilos se encontram distribuídos pelo diferente tecido conjuntivo, especialmente no trato gastrointestinal e brânquias, e embora a função destas não estejam totalmente esclarecida nos peixes, sabe-se que intervêm nos processos de inflamação crônica e na defesa celular mediante a degranulação, o que a torna também eficiente nas infestações parasitárias (BLAXHALL; DAISLEY, 1973).

De forma geral, o estresse seja induzido por diferentes fatores como bactérias, fungos, parasitos, temperatura, oxigênio etc., interfere na atividade da produção de células sanguínea, assim como na composição bioquímica do plasma sanguíneo que reflete de modo fiel a situação metabólica dos tecidos, o que torna possível a avaliação da alteração no funcionamento dos órgãos. Segundo Barton e Iwama (1991) as variáveis relativas ao à série vermelha auxiliam na identificação de processos anêmicos, assim como as células da série branca auxilia no diagnóstico de processos infecciosos e outros estados de desequilíbrio homeostático, como visto também em mamíferos.

3.3 Tambaqui (*Colossoma macropomum*)

O tambaqui é a espécie de peixe nativa mais criada na Amazônia brasileira. Dos 27 estados brasileiros que cultivam peixes, o tambaqui está presente em 24, com aumento constante o que o torna como potencial fonte de proteína na produção nacional. Este peixe, pertence à ordem dos Characiformes, família Serrasalmidae, e

pelas suas condições de adaptação o torna uma espécie com potencial para ser ainda mais cultivado (OLIVEIRA et al., 2015).

Esta, por ser uma espécie nativa da bacia amazônica é encontrada comumente em lagos e rios da região Norte. Na América do Sul, é o segundo peixe de escamas de maior tamanho (TAVARES-DIAS, 2013), também conhecido como pacu vermelho e morfológicamente possui corpo arredondado, boca pequena e muito forte com dentes molariformes.

A coloração do corpo geralmente é parda na parte superior e preta na inferior mas pode variar (OLIVEIRA, 2014). Da fase larval à fase adulta são planctófagos, porém na fase adulta se alimentam mais de frutos, moluscos e sementes. Em cativeiro tem boa adaptabilidade à ração, apresentam rápido crescimento, podendo alcançar 700g a 900g no primeiro ano de cultivo. Por possuir características individuais de hábito, conversão alimentar e adaptação ao cativeiro o torna excelente opção de cultivo (OLIVEIRA et al., 2015).

Para esta espécie o monocultivo não é indicado, já que eles não remexerem o fundo dos tanques deixando a água transparente e assim propiciando que ocorra o aparecimento de plantas aquáticas e algas, que irão competir por oxigênio com os peixes reduzindo assim a produtividade do viveiro. Outra qualidade do tambaqui é que suporta bem as variações na qualidade da água o que dá a fama de ser um peixe rústico e por isso o torna a primeira escolha dos piscicultores (GODOI, 2011).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Local de coleta e delineamento experimental

O estudo se realizou em duas propriedades localizadas na zona rural do município de Rolim de Moura - RO, no mês de outubro de 2018, período este, onde são observadas elevadas temperaturas, devido a transição do período de estiagem para o período chuvoso. As propriedades foram identificadas como Ponto 1 localizada nas coordenadas S 11°49.440' W 061°35.791' (Figura 1) e Ponto 2 localizada S 11°46.301' W 061°40.321' (Figura 2). Em cada ponto foram coletados 25 espécimes de tambaqui (*Colossoma macropomum*) e destes o sangue.

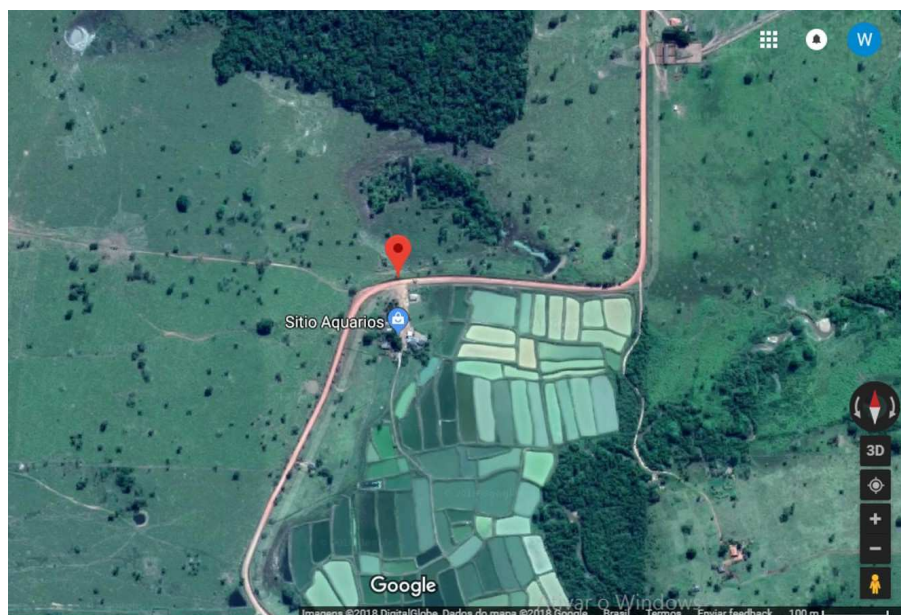
O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Unir sob protocolo número 041/2018.

Figura 1 Imagem de satélite indicando a localização da primeira propriedade (Ponto 1) onde foram capturados 25 exemplares de tambaqui (*Colossoma macropomum*) utilizados no estudo hematológico.



Fonte: Google – DigitalGlobes 2018.

Figura 2: Imagem de satélite indicando a localização da segunda propriedade (Ponto 2) onde foram capturados 25 exemplares de tambaqui (*Colossoma macropomum*) utilizados no estudo hematológico.



Fonte: Google – DigitalGlobes 2018.

4.2 Coleta de amostras de sangue

A coleta dos peixes foi realizada com rede (arrastão). Após a coleta, os peixes foram pesados (982 ± 57 g) e medidos (comprimento padrão $23 \pm 1,2$ cm), posteriormente foram anestesiados com benzocaína (1:10000 v/v), com prévia diluição da benzocaína em etanol absoluto (0,1 g/mL) (WEDEMEYER, 1970). Uma vez anestesiados, procedeu-se à coleta de 2 mL de sangue, por punção do vaso caudal utilizando-se agulha 21Gx1 acopladas a seringas plásticas descartáveis de 3,0 mL. Posteriormente o sangue foi transferido para tubos com anticoagulante ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e acondicionados em caixa isotérmica com gelo reutilizável para transporte e análise no laboratório.

4.3 Extensão sanguínea

Para a contagem de leucócitos totais, trombócitos totais e diferencial, foi padronizado o volume de 5 μ L de sangue previamente homogeneizado e realizada extensão em lâmina histológica. O protocolo utilizado para coloração foi conforme Tavares-Dias e Moraes (2003). Brevemente, após as extensões estarem secas, as

mesmas foram coradas com a solução de May-Grunwald-Giemsa-Wright (MGGW) durante um minuto, prévia padronização, posteriormente foi coberta toda a extensão com solução tampão pH 7.0 até preencher toda a lâmina sem transbordar o corante, deixou-se durante um minuto homogeneizando a solução com uma pipeta de vidro (assoprando), em seguida, lavaram-se as extensões em água corrente, deixaram-se secar e posteriormente feita a leitura em microscópio de luz em imersão.

4.4 Estimativa da concentração de hemoglobina

Para avaliar a quantidade de hemoglobina, foi utilizado o método da cianometa-hemoglobina (COLLIER, 1944), onde 10 µL de sangue foram diluídos em 2 mL do reagente Drabkin; após 30 minutos (completa conversão da hemoglobina em cianometa-hemoglobina), a amostra foi centrifugada a 3000 xg por 5 minutos para sedimentação do núcleo dos eritrócitos, o sobrenadante foi lido em espectrofotômetro (absorbância), no comprimento de onda 540 nm.

4.5 Valor do hematócrito (Ht)

Amostras sanguíneas homogeneizadas foram coletadas em capilares para microhematócrito e uma das extremidades do capilar foi selada. Os capilares foram centrifugados por 5 minutos em centrífuga adaptada para microhematócrito a 3162xg, e a avaliação foi realizada com a tabela de microhematócrito expressa em porcentagem (%).

4.6 Contagem total de eritrócitos (RBC)

Para a contagem de eritrócitos seguiu-se a metodologia descrita por Natt e Herrick (1952), onde alíquotas de 10 µL de sangue foram diluídas em 2 mL da solução de Natt e Herrick em tubo tipo Eppendorf. Após homogeneização da solução, a contagem foi realizada em câmara hemocitométrica de Neubauer onde foram contados todos os eritrócitos contidos em 5 áreas de 0,04 mm² e aplicada a fórmula:

$$RBC (\mu L) = \frac{\text{Num eritrócitos} \times 5 \times 10 \times 200}{1.000.000}$$

O resultado é expresso em Números eritrócitos 10⁶/µL de sangue.

4.7 Contagem total de leucócitos (WBC) e trombócitos

Seguiu-se a metodologia de Tavares-Dias e Moraes (2006). Após realizar a contagem total de eritrócitos (RBC) na câmara de Neubauer foi realizada a contagem de leucócitos/trombócitos na extensão sanguínea em relação a 2000 eritrócitos, e aplicada a fórmula:

$$\text{Leu ou Tromb } (\mu\text{L}) = \frac{\text{Leu ou tromb na extensão sanguínea} \times \text{RBC}}{2.000 \text{ eritrócitos na extensão}}$$

4.8 Contagem diferencial de leucócitos

Uma vez realizada a leitura da extensão sanguínea de cada peixe e obtido o percentual (contagem relativa) de cada um deles, em pelo menos 200 leucócitos contados foram transformados em números absolutos como descrito a seguir:

Após a contagem das células que não eritrócitos em câmara de Neubauer e o diferencial nas extensões sanguíneas coradas, pegou-se o valor da contagem das células que não eritrócitos e multiplicou-se esse valor pelo percentual de cada tipo de leucócito encontrado na extensão seguido de divisão por 100, o cálculo foi então em μL de sangue.

Exemplo:

$$\text{Linfócitos } (\mu\text{L}) = \frac{\text{WBC} \times \% \text{ do diferencial}}{100}$$

4.9 Índice hematimétricos

São os índices que servem para avaliar as características das hemácias. Para avaliar este índice seguiu-se a metodologia descrita por Wintrobe (1934).

4.9.1 Volume corpuscular médio (VCM)

Foi calculado dividindo-se o valor do hematócrito pelo número de eritrócitos e multiplicando-se por 10. Este valor representa o tamanho médio dos eritrócitos.

$$\text{VCM } (fL) = \frac{\text{Ht}}{\text{RBC}} \times 10$$

4.9.2 Hemoglobina corpuscular média (HCM)

Foi dividindo-se o valor da hemoglobina pelo número de eritrócitos e multiplicando-se por 10.

$$HCM (pg) = \frac{Hb}{RBC} \times 10$$

4.9.3 Concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM): A concentração de hemoglobina corpuscular média é calculada pela razão entre a hemoglobina e hematócrito.

$$CHCM (\%) = \frac{Hb}{Ht} \times 100$$

5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram plotados no Microsoft® Excel e processados no software BioEstat 5.3. Foi aplicado o teste de Shapiro-Wilk para normalidade dos dados ($p > 0,05$). Os dados que apresentaram distribuição normal foram submetidos ao teste T para amostras independentes. O nível de significância adotado foi $p < 0,05$.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As duas pisciculturas do presente estudo caracterizavam-se por serem monocultivos de tambaqui e pirarucu (*Arapaima gigas*), sendo este último, não utilizado para recreação. Antes da coleta do material, foi perguntado se tinham problemas relacionados com mortalidade de animais, o proprietário respondeu que não. Pela não disposição de sonda multiparamétrica, não foram mensurados os parâmetros físico-químicos da água.

A alimentação dos peixes em ambas as propriedades era de duas vezes ao dia com ração ao 28% de proteína bruta, sem aeração complementar nem monitoramento da qualidade de água. A densidade dos peixes era desconhecida.

Com relação aos parâmetros hematológicos (Tabela 1) observou-se que os exemplares analisados nos pontos 1 e 2 o hematócrito foi $28,13 \pm 1,53\%$ e $29,72 \pm 1,09\%$, respectivamente não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$). A hemoglobina apresentou um valor menor no primeiro ponto ($7,81 \pm 0,72$ g/dL) com relação ao segundo ($7,93 \pm 0,63$ g/dL), no entanto não houve diferença significativa ($p > 0,05$). Para o RBC a tendência foi semelhante com maior número de células no ponto 1 ($2,27 \pm 0,42 \times 10^6/\mu\text{L}$), comparado ao ponto 2 ($2,30 \pm 0,51 \times 10^6/\mu\text{L}$), não apresentando diferença estatística significativa ($p > 0,05$).

Para os índices hematimétricos (Tabela 1) também não foi observada diferença estatística ($p > 0,05$) e os valores foram semelhantes nos pontos 1 e 2 para os valores de VCM, HCM e CHCM ($139,18 \pm 13,20$ fL e $145,43 \pm 11,33$ fL; $32,47 \pm 3,28$ pg e $31,89 \pm 5,44$ pg; $21,85 \pm 3,85$ % e $24,68 \pm 3,93$ %, respectivamente).

Tabela 1 Valores médios±desvio padrão dos parâmetros hematológicos de tambaquis (*Colossoma macropomum*) capturados em dois pesque-pague do Município de Rolim de Moura, RO1.

Parâmetro hematológico	Ponto 1	Ponto 2
Hematócrito (%)	28,13±1,53 ^a	29,72±1,09 ^a
Hemoglobina (g/dL)	7,81±0,72 ^a	7,93±0,63 ^a
RBC ² (μL)	2,27±0,42 ^a	2,30±0,51 ^a
VCM (fL)	139,18±13,20 ^a	145,43±11,33 ^a
HCM (pg)	32,47±3,28 ^a	31,89±5,44 ^a
CHCM (%)	21,85±3,85 ^a	24,68±3,93 ^a

(¹)Médias seguidas de letras iguais, nas linhas, não diferem entre si, pelo teste T a 5% de probabilidade. N=25. (²). Corresponde ao valor de x10⁶.

Na análise diferencial dos leucócitos, de forma geral a tendência foi semelhante entre os tipos celulares, sem apresentar diferença estatística significativa em cada análise celular, incluindo os trombócitos que não fazem parte do diferencial, mas em peixes costuma se realizar a análise junto (Tabela 2). Aproveitou-se esta análise para procura de possíveis hemoparasitos, não sendo observado algum, e devido à complexidade deste trabalho optamos em elaborar um novo trabalho em um outro momento, única e exclusivamente para a identificação de possíveis parasitas.

Algumas espécies de peixes apresentam células sanguíneas diferenciadas, como as células granulocíticas especiais também conhecidas como leucócito granulas PAS positivo, no presente estudo este grupo de células foi o quarto dos cinco estudados, sendo menor em quantidade quando comparado com o eosinófilo. Em ambos os grupos estudados, Ponto 1 (0,8±0,5) e Ponto 2 (0,8±0,7) não apresentaram diferença estatística ($p>0,05$). No tambaqui e pacu (*Piaractus mesopotamicus*) estas células são morfológicamente arredondadas, com abundante citoplasma e em seu conteúdo apresenta granulações claras em alta quantidade, o núcleo geralmente é pequeno e apresenta-se mais na periferia em formato de arredondado ou alongado (Figura 3).

Figura 3 Fotomicrográfica de extensão sanguínea de tambaquis (Colossoma macropomum) capturados em dois pesque-pague do Município de Rolim de Moura, RO. A seta grande indica a CGE, a seta pequena indica um linfócito. Coloração MGGW. Barra 2,5 μ m.



Fonte: Arquivo do autor.

Outro grupo celular observado foram os neutrófilos. Estas células foram o segundo grupo de células mais presente na extensão sendo encontrado no Ponto 1, $8,0 \pm 3,8$ e no Ponto 2 $8,0 \pm 3,1$ sem apresentar diferença estatística significativa ($p > 0,05$). Morfologicamente são caracterizadas por serem predominantemente arredondadas, com citoplasma abundante de característica acidófila. O núcleo na maioria das vezes é localizado excentricamente com a característica morfológica de poder ser uma estrutura esférica, lobulada ou bilobulada, com cromatina compacta (Figura 4).

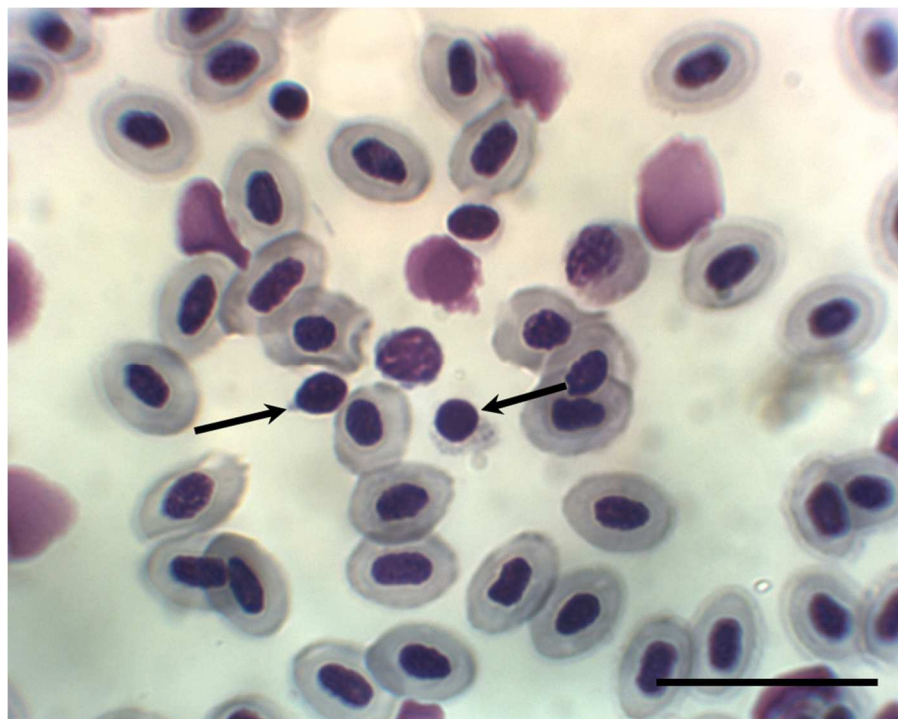
Figura 4 Fotomicrografia de extensão sanguínea de tambaquis (*Colossoma macropomum*) capturados em dois pesque-pague do Município de Rolim de Moura, RO. A seta grande indica neutrófilo, a seta pequena indica trombócitos. Coloração MGGW. Barra 2,5 μm .



Fonte: Arquivo do autor.

O grupo de células que apresentou maior quantidade no diferencial sanguíneo foram os linfócitos, no ponto 1 e ponto 2 os valores ($25,1 \pm 5,4$ e $26,1 \pm 5,4$ respectivamente) não apresentaram diferença estatística ($p > 0,05$). Morfologicamente, estas células apresentam-se arredondadas em sua maioria, de tamanho variado. No pouco citoplasma não se observa granulações e sua coloração é semelhante à basofílica. O núcleo tem formato arredondado e às vezes de forma reniforme, muito grande quando comparado com o citoplasma, a cromatina se observa muito densa (Figura 5).

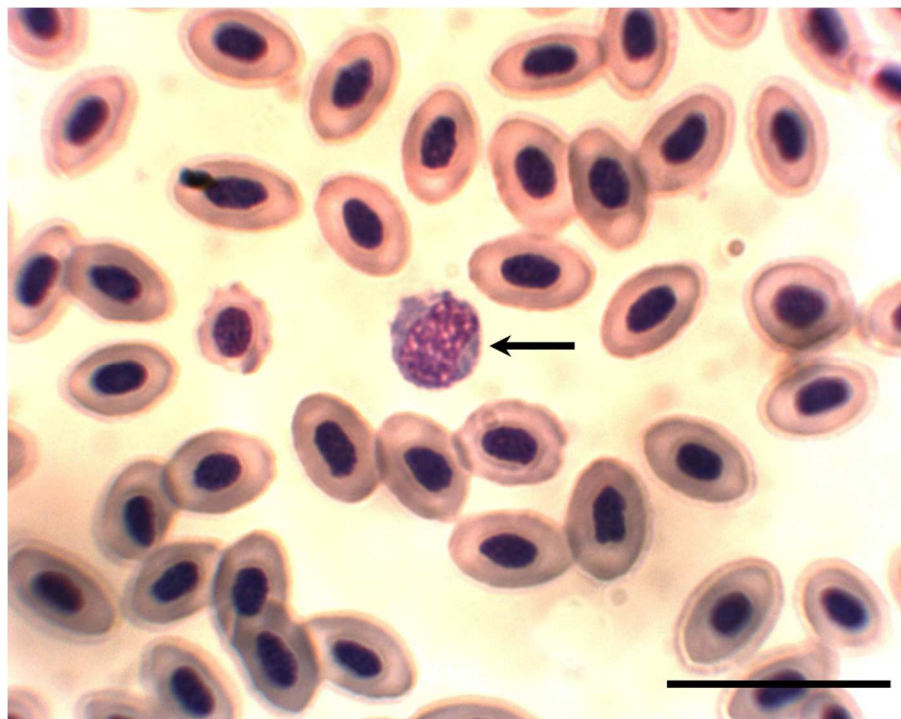
Figura 5 Fotomicrografia de extensão sanguínea de tambaquis (*Colossoma macropomum*) capturados em dois pesque-pague do Município de Rolim de Moura, RO. A seta indica linfócito. Coloração MGGW. Barra 2,5 μ m.



Fonte: Arquivo do autor.

O grupo de células formado pelos monócitos foi o terceiro mais presente nas extensões sanguíneas, com uma leve diferença na quantidade sendo menor no Pontos 1 quando comparado com o Ponto 2 ($1,8 \pm 0,9$ e $2,1 \pm 0,6$, respectivamente) mas sem apresentar diferença estatística significativa ($p > 0,05$). Estas células são maiores com relação às outras, geralmente possuem um formato esférico, no entanto, podem apresentar outras formas, o que as fazem polimórficas, principalmente quando estão ativadas. O citoplasma tem coloração que assemelha ao basofílico intenso, e pode-se observar prolongações citoplasmáticas com conteúdo vacuolizado, principalmente quando ativados. O núcleo pode se observar periférico e polimórfico (Figura 6).

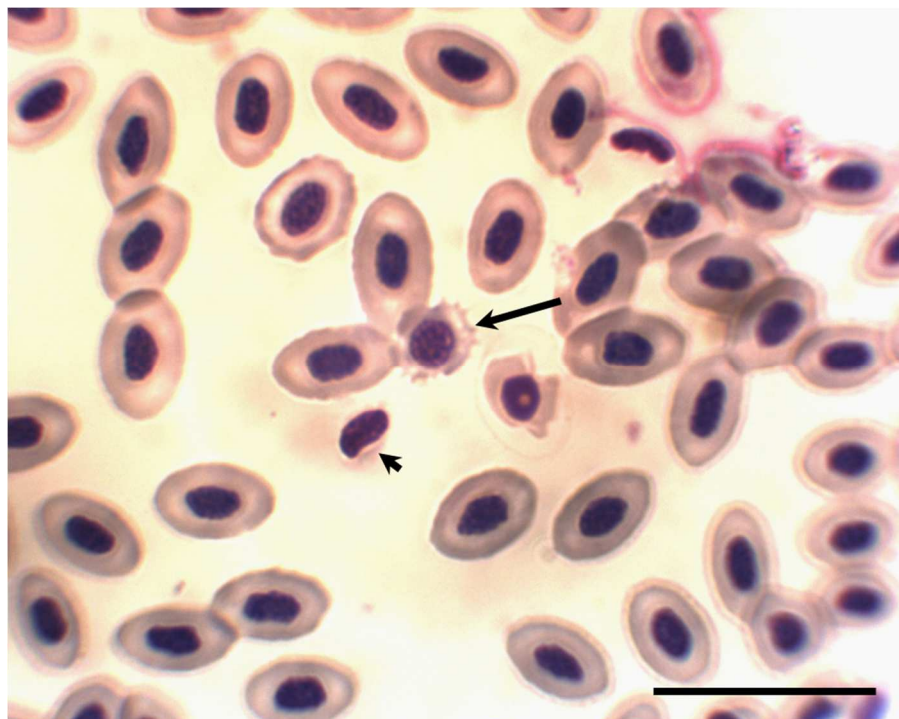
Figura 6 Fotomicrografia de extensão sanguínea de tambaquis (*Colossoma macropomum*) capturados em dois pesque-pague do Município de Rolim de Moura, RO. A seta indica monócito. Coloração MGGW. Barra 2,5 μ m.



Fonte: Arquivo do autor.

O último grupo de leucócitos estudados no diferencial foram os eosinófilos, e foram as células que estavam em menor quantidade, Ponto 1 ($0,07 \pm 0,2$) e Ponto 2 ($0,06 \pm 0,1$), estes não apresentaram diferença estatística significativa ($p > 0,05$). Os eosinófilos são morfologicamente esféricos e variam de tamanho, o citoplasma é predominantemente abundante e preenchido por grânulos acidófilos. A cromatina apresenta-se de cor violeta, geralmente o núcleo se observa em posição central (Figura 7).

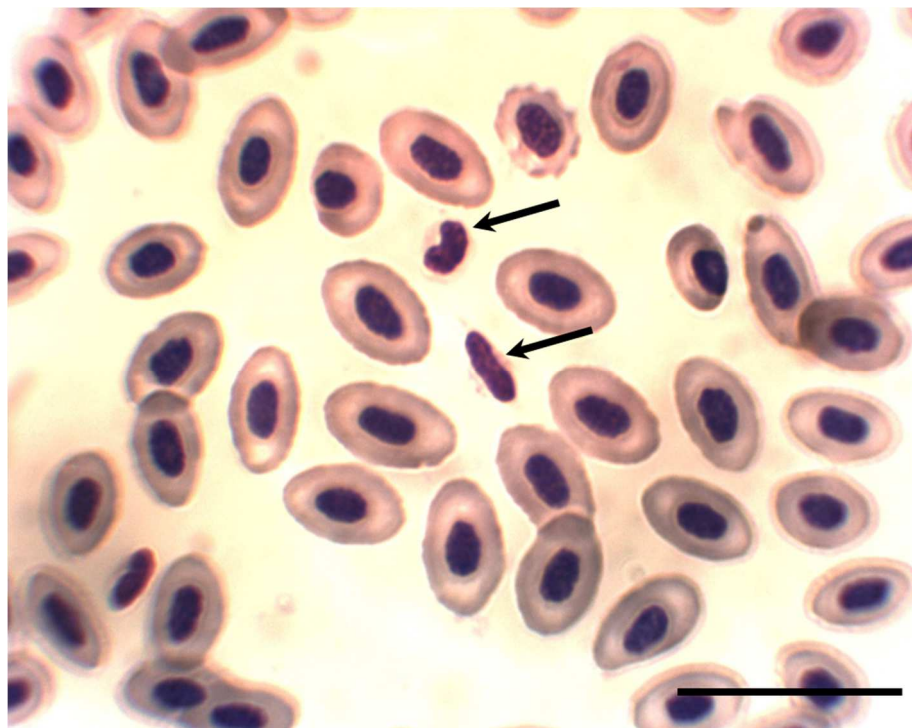
Figura 7 Fotomicrografia de extensão sanguínea de tambaquis (*Colossoma macropomum*) capturados em dois pesque-pague do Município de Rolim de Moura, RO. A seta indica monócito. Coloração MGGW. Barra 2,5 μ m.



Fonte: Arquivo do autor.

O grupo de trombócitos, embora não faça parte dos leucócitos, a maioria das vezes se coloca junto, pois por serem células completas se faz uma análise em conjunto. Estatisticamente não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) sendo os valores $38,6 \pm 21,2$ para o Ponto 1 e $39,1 \pm 13,9$ para o Ponto 2. Morfologicamente são elípticos, com núcleo também elíptico ou riniforme e a relação citoplasma núcleo é pequena (Figura 8).

Figura 8 Fotomicrografia de extensão sanguínea de tambaquis (*Colossoma macropomum*) capturados em dois pesque-pague do Município de Rolim de Moura, RO. A seta indica trombócito. Coloração MGGW. Barra 2,5 μ m.



Fonte: Arquivo do autor.

Tabela 2 Valores médios±desvio padrão dos parâmetros celulares do sangue de tambaqui (*Colossoma macropomum*) capturados em dois pesque-pague do Município de Rolim de Moura, RO1.

Parâmetro hematológico	Ponto 1	Ponto 2
CGE ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0,8±0,5 ^a	0,8±0,7 ^a
Leucócito ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	33,3±6,1 ^a	34,1±4,9 ^a
Linfócito ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	25,1±5,4 ^a	26,1±5,4 ^a
Monócito ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	1,8±0,9 ^a	2,1±0,6 ^a
Eosinófilo ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0,07±0,2 ^a	0,06±0,1 ^a
Neutrófilo ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	8,0±3,8 ^a	8,0±3,1 ^a
Trombócito ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	38,6±21,2 ^a	39,1±13,9 ^a

(¹)Médias seguidas de letras iguais, nas linhas, não diferem entre si, pelo teste T a 5% de probabilidade. N=25.

A hematologia estuda todo o referente ao sangue desde as alterações e distúrbios morfológicos até os protocolos que visam melhorar o diagnóstico. De uma forma geral, o sangue é um tecido conectivo de propriedades especiais, cuja matriz extracelular é líquida chamada de plasma, que é composta por 90% de água, 7% de proteínas incluindo as globulinas e albumina, além de diversos metabólitos (hormônios, enzimas, eletrólitos, etc.) (RANZANI-PAIVA, 2007). Segundo Tavares–Dias e Moraes (2004) as células que compõem o sangue são eritrócitos, leucócitos e trombócitos e por causa de falta de estudos a sua origem, desenvolvimento e função dos leucócitos ainda não é bem elucidada em peixes o que gera ainda controvérsias entre os estudos.

Os resultados aqui observados, demonstram que os exemplares analisados mantiveram os valores entre os parâmetros fisiológicos normais quando comparado com outros estudos, pois em peixes não existe um parâmetro estabelecido, para determinado resultado hematológico. No estudo de Chagas et al. (2013) onde

estudaram o desempenho produtivo e respostas fisiopatológicas de tambaquis alimentados com ração suplementada com β -glucano foi observado que os parâmetros hematológicos de tambaquis do grupo controle, apresentaram valores semelhantes aos do presente estudo, o que indica que os peixes analisados no presente estudo se encontravam em condições ótimas de saúde.

A complexidade do estudo hematológico em peixes, é a ampla variação dos valores e a falta de referências, pois por se tratarem de animais pecilotermos, dependem de fatores ambientais como temperatura, pH, oxigênio dissolvido, alimento, etc. (SIGNOR et al., 2010) o que faz com exista variação entre valores até em peixes de tanques próximos. De forma geral, os valores aqui obtidos, são semelhantes com trabalhos realizados em condições controladas. Junior et al. (2014) obtiveram valores próximos aos aqui encontrados quando estudaram as características hematológicas de juvenis de tambaqui. Já Ranzani-Paiva et al. (1998/1999) analisaram o sangue de tambaquis das estações de pisciculturas do Instituto de Pesca no Estado de São Paulo sendo semelhantes aos observados neste estudo. Embora existam dados divergentes utilizando a mesma espécie estudada, devem se considerar diversos fatores intrínsecos e extrínsecos, por isso os estudos desenvolvidos em peixes devem se ter um controle positivo e outro negativo também conhecido como basal. O estudo de Tavares-Dias; Sandrim; Sandrim (1998), apresentaram valores maiores aos aqui observados com exceção do número RBC. As diferenças sutis que são observadas nos valores podem ser interpretadas como variações naturais e específicas, como também descrito por Ranzani-Paiva et al. (1998/1999).

Quanto à contagem diferencial dos leucócitos, resultados semelhantes foram obtidos no tambaqui por Tavares-Dias; Sandrim; Campos-Filho (1999) e Ranzani-Paiva et al. (1998;1999) e experimentalmente no grupo controle por Chagas et al. (2003), Pádua et al. (2013).

Sabe-se que os peixes apresentam mecanismos compensatórios, isso faz com que espécies se adaptem mais do que outras em determinado ambiente, isso inclui a idade e até o estado reprodutivo e nutricional como também descrito por Fernandes, Barrionuevo; Rantin (1995). Claro que a adaptação também está relacionada com a possível presença de parasitos, o que em altas infestações o número de eosinófilos seria maior, assim, cada grupo celular é mais expressada em momentos quando o espécime não está em equilíbrio.

7. CONCLUSÃO

Os exemplares de *C. macropomum* analisados no presente trabalho, apresentaram o quadro hemático semelhante com os encontrados na literatura, o que sugere que as condições de manejo são favoráveis para sua criação e boas condições de higiene.

8. REFERÊNCIAS

ALVES, C. L.; CARVALHO, F. L. N.; GUERRA, C. G.; ARAÚJO, W. M. C. Comercialização de pescado no Distrito Federal: avaliação das condições. **Higiene Alimentar**. vol. 16, n. 102/103, p. 41-49, 2002.

AUSTIN, B.; AUSTIN, D. **Bacterial Fish Pathogens: Diseases of Farmed and Wild Fish**. Chichester: Praxis Publishing Ltd, 2007.

AZEVEDO, T.M.P.; MARTINS, M.L.; BOZZO, F.R.; MORAES, F.R. Hematological and gill responses in parasitized tilapia from Valley of Tijucas River, SC, Brazil. **Scientia Agricola**, vol. 63, n. 2, p. 115-120, 2006.

BARTON, B., IWAMA, G. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. **Annual Review of Fish Diseases**. Vol. 1, p. 3 –26. 1991.

BLAXHALL, P.C.; DAISLEY, K.W. Routine hematological methods for use with fish blood. **Journal of Fish Biology**. Vol. 5, p. 771-781, 1973.

CHAGAS, E.C.; PILARSKI, F.; SAKABE, R.; MORAES, F.R. Desempenho produtivo e respostas fisiopatológicas de tambaquis alimentados com ração suplementada com β -glucano. **Pesquisa agropecuária brasileira**. vol. 48, n 8, p.899-905, 2013.

CHAGAS, E.C.; VAL, A. L. Efeito da vitamina C no ganho de peso e em parâmetros hematológicos de tambaqui. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. vol.38, p. 397-402, 2003.

COLLIER, H.B. The standardizations of blood haemoglobin determinations. **Canadian Medical Association Journal**. vol.50, n 6, p.550-552, 1944.

EMATER-RO, **Entidade Autárquica de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Rondônia**. Piscicultura. Disponível: www.emater.ro.gov.br/ematerro/piscicultura/ Acesso em: 6 out. 2018.

EPI (EARTH POLICY INSTITUTE). **Fisheries and Aquaculture Fact Sheet**. March, 2014.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2016**. Contributing to food security and nutrition for all. Rome. 200 pp. 2016.

FERNANDES, M.N.; BARRIONUEVO, W.R.; RANTIN, F.T. Effects of thermal on respiratory responses to hypoxia of a South American prochilodontid fish, *Prochilodus scrofa*. *Journal of Fish Biology*. vol. 46, p.123-133, 1995.

FIGUEIREDO, H. C. P.; LEAL, F. A. G. Tecnologias aplicadas em sanidade de peixes. **Revista Brasileira de Zootecnia**. vol.37, suplemento especial p.8-14, 2008.

FILHO, J. C. 2018. **Tambaqui: O Rei de Rondônia**. Disponível em: www.panoramadaaquicultura.com.br/paginas/Revistas/104/TAMBAQUI104.asp. Acesso: 6 out. 2018.

GODOI, M.M.I.M. Taxonomia e ecologia da fauna parasitária de *Colossoma macropomum* (Cuvier 1818) (Characidae) criados em tanques no município de Rolim de Moura, RO. 2011. 93 f. **Tese** (Doutorado em ciencias- Parasitologia). Universidade Federal de Rondônia - UNIR, Rolim de Moura 2011.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção da pecuária municipal**. Rio de Janeiro: IBGE, vol. 43, p.1-49, 2015.

JUNIOR, G.P.; FILHO, M.P.; BRASIL, E.M.; BARBOSA, P.S. Características hematológicas de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum* cuvier, 1818) alimentados com rações contendo farinha de folha de leucena (*Leucaena leucocephala*). **Acta Biomedica Brasiliensia**. vol. 5. n 2, 2014.

KOZINSKA, A. Dominant pathogenic species of mesophilic aeromonads isolated from diseased and healthy fish cultured in Poland. **Journal of Fish Diseases**. vol. 30, p. 293-301, 2007.

MARCOS TAVARES-DIAS, ELZIANE F. SILVA SANDRIM, EUGÊNIO DE CAMPOS-FILHO. Características hematológicas do tambaqui *Colossoma macropomum* Cuvier (Osteichthyes, Characidae) em sistema de monocultivo intensivo. II. Leucócitos. **Revista brasileira de Zoologia**. vol. 16, n 1, p. 175 - 184, 1999.

MPA - MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA. **Plano safra – Pesca e Aquicultura**. Brasília, p. 12-117, 2015.

OLIVEIRA, S.R.K.S. Estudo da endofauna parasitária do Tambaqui, *Colossoma macropomum*, em pisciculturas do vale do jamari-Rondonia. 2014. 48 f. **Dissertação** (Mestre em Produção Animal). Universidade Camilo Castelo Branco. Descalvado-SP. 2014.

OLIVEIRA, S.R.K.S; BEZERRA, M.V.P; BELO, M.A.A. Estudo da endofauna parasitária do Tambaqui, *Colossoma macropomum*, em pisciculturas do vale do Jamari, Estado de Rondônia. **Enciclopédia Biosfera**. vol. 11, n 21; p. 1026, 2015.

OLIVEIRA-RIBEIRO, C. A., PELLETIER, E., PFEIFFER, W. C. e ROULEAU. Comparative uptake, bioaccumulation, and gill damages of inorganic mercury in tropical and Nordic freshwater fish. **Environmental Research**. vol. 83, p. 286-292, 2000.

ØRMEN, O. **The regulation of the aerolysin production from *Aeromonas***. PhD thesis – Department of Pharmacology, Microbiology and Food Hygiene, The Norwegian School of Veterinary Science, Norway, 2000.

PÁDUA, S.B.; NETO, J.D.; SAKABE, R.; CLAUDIANO, G.S.; CHAGAS, E.C.; PILARSKI, F. Variáveis hematológicas em tambaquis anestesiados com óleo de cravo e benzocaína. **Pesquisa agropecuária brasileira**. vol. 48, n 8, p.1171-1174, 2013.

RANZANI-PAIVA, M.J.T. Hematologia como ferramenta para avaliação da saúde de peixes. In: 2º Simpósio de Nutrição e Saúde de Peixes, 2007. **Anais... 2º simpósio de Nutrição e Saúde de Peixes**. Botucatu, São Paulo. Universidade Estadual Paulista, 74p. 2007.

RANZANI-PAIVA, M.J.T.; SALLES, F.A.; EIRAS, J.C.; EIRAS AC, ISHIKAWA, CM.; ALEXANDRINO, A.C. Análise hematológica de curimatá (*Prochilodus scrofa*), pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e tambaqui (*Colossoma macropomum*) das estações de piscicultura do Instituto de Pesca, Estado de São Paulo. **Boletim do Instituto de Pesca**. vol. 25, p.77-83, 1998/1999.

SHERIDAN, M. A., MOMMSEN, T. P. Effects of nutritional state on in vivo lipid and carbohydrate metabolism of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. **General and Comparative Endocrinology**. vol. 81, p. 473-483, 1991.

SIGNOR, A.; PEZZATO, L.E.; FALCON, D.R.; GUIMARÃES, I.G.; BARROS, M.M. Parâmetros hematológicos da tilápia-do-Nilo: efeito da dieta suplementada com levedura e zinco e do estímulo pelo frio. **Ciência Animal Brasileira**, vol.11, p.509-519, 2010.

SUFRAMA. Superintendência da Zona Franca de Manaus. **Potencialidades regionais: estudo de viabilidade econômica: piscicultura**, Sumário Executivo, p. 1-19, 2003.

TAVARES-DIAS, M. Tambaqui, segundo maior peixe de escama, é parasitado em piscicultura de tanque-rede da Amazônia oriental. **Acta Amazonica**. Vol. 43 n. 1, 2013.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F. R. **Hematologia de peixes teleósteos**. Ed. Eletrônica e Arte Final. Ribeirão Preto-SP. 144 páginas, 2004.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F. R. Hematological parameters for the *Brycon orbignyanus* Valenciennes, 1850 (Osteichthyes: Characidae) intensively bred. **Hidrobiológico**. Vol. 16, p. 271-274, 2006.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F.R. Características hematológicas da *Tilapia rendalli* Boulenger, 1896 (Osteichthyes: Cichlidae) capturada em "pesque-pague" de Franca, São Paulo, Brasil. **Bioscience Journal**. vol. 19, p. 103-110, 2003.

TAVARES-DIAS, M.; SANDRIM, E.F.S.; SANDRIM, A. Características hematológicas do tambaqui (*Colossoma macropomum*) Cuvier, 1818 (Osteichthyes: Characidae) em sistema de monocultivo intensivo. I. Série eritrocitária. **Revista Brasileira de Biologia**. vol. 58, n 2, p.197-202, 1998.

THATCHER, V.E.; BRITES-NETO, J. Diagnóstico, prevenção e tratamento das enfermidades de peixes neotropicais de água doce. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**. vol.16, n.3, p. 111-128, 1994.

VOSYLIENÉ, M.Z., The effects of heavy metals on haematological indices of fish (Survey). **Acta Zoologica Lituanica**. vol. 9, p.76-82, 1999.

WEDEMEYER, G. Stress of anesthesia with M.S-222 and benzocaine in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Journal of the Fisheries Research Board of Canada**. vol. 27, p. 909-914, 1970.