

JOÃO MENEZES GUIMARÃES

**PERFIL HEMATOLÓGICO DE TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*)
CULTIVADAS EM PERNAMBUCO.**

RECIFE

2011

JOÃO MENEZES GUIMARÃES

**PERFIL HEMATOLÓGICO DE TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*)
CULTIVADAS EM PERNAMBUCO.**

Dissertação apresentada ao **Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária** da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência Veterinária**.

Orientadora: **Profa. Dra. Emiko Shinozaki Mendes**

Co-orientador: **Prof. Dr. George Chaves Jimenez**

RECIFE

2011

Ficha catalográfica

G96p Guimarães, João Menezes
 Perfil hematológico de tilápias (*Oreochromis niloticus*)
 cultivadas em Pernambuco / João Menezes Guimarães. –
 2011.
 45 f.: il.

 Orientadora: Emiko Shinozaki Mendes.
 Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) –
 Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento
 de Medicina Veterinária, Recife, 2011.
 Inclui referências e anexo.

 1. Peixe 2. Hematologia 3. *Oreochromis niloticus*
 I. Mendes, Emiko Shinozaki, orientadora II. Título

CDD 636.089615

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária

Parecer da comissão examinadora da defesa de dissertação de mestrado de
JOÃO MENEZES GUIMARÃES

PERFIL HEMATOLÓGICO DE TILÁPIAS (*Oreochromis niloticus*) CULTIVADAS EM PERNAMBUCO.

Área de concentração: **Sanidade de Animais Aquáticos**

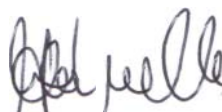
A comissão examinadora, composta pelos professores abaixo, sob a presidência do primeiro, considera o candidato **JOÃO MENEZES GUIMARÃES** com aprovado.

Recife 11 de fevereiro 2011.

Profª. Dra. Emiko Shinozaki Mendes,
Orientadora – Departamento de Medicina Veterinária - UFRPE

Prof. Dr. Fernando Leandro dos Santos
1º examinador – Departamento de Med. Veterinária - UFRPE

Prof. Dr. Paulo de Paula Mendes
2º examinador – Departamento de Med. Veterinária - UFRPE



Dra. Fernanda Silva de Meirelles
3º examinadora – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco – IFPE
- Campus Vitória

“Não há uma racionalidade no mundo, não há finalidade nele. Apenas existe um conjunto de interações. O mundo segue à deriva. À Terra não importa em nada que a vida se extinga, não seria o primeiro planeta a morrer. Insisto: a conservação não é pela Terra, não é pela biosfera, é por nós. A biodiversidade é importante para nosso bem-estar fisiológico, psíquico, estático. O grande dom dos seres humanos é que podemos criar tecnologia, mas, também, podemos detê-la, nos livrar das máquinas quando deixam de adequar-se ao que queremos; é uma questão de desejo.”

Humberto Maturana

A todos que contribuíram para a construção do meu saber social, cultural, filosófico, científico, ético, nas figuras de meus familiares, professores, amigos e amores, que me mostraram o mundo e deram ferramentas para que pudesse compreendê-lo, me deixando livre para escolher meus caminhos e minhas batalhas, a trilhar. Dedico-o aos mestres de minha vida, eternamente vivos em minha memória.

DEDICATÓRIA

AGRADECIMENTO

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) pela oportunidade de cursar o Programa de Pós-graduação em Ciência Veterinária, para aprimorar meus conhecimentos;

A todos os integrantes do Laboratório de Sanidade de Animais Aquáticos (LASAq) do Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE pelo auxílio, compreensão e gentileza durante todo o processo de elaboração do trabalho;

A todos que fazem o Laboratório de Farmacologia do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da UFRPE, pelo auxílio e gentileza durante todo o processo de elaboração do trabalho;

Agradeço também a Universidade Estadual da Bahia, Campus de Paulo Afonso e ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco – Campus Floresta pelo apoio e gentileza em ceder seus espaços para realização de parte deste trabalho;

Ao Banco do Nordeste do Brasil, pelo fomento ao projeto de pesquisa, possibilitando a realização deste trabalho;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pelo fornecimento da bolsa de estudo;

Agradeço em especial a professora Emiko Shinozaki Mendes e ao professor George Chaves Jimenez, pela orientação e construção conjunta desta dissertação, e agradeço ainda mais por serem as pessoas que são, e pela atenção e carinho que têm por mim.

Aos meus amigos – sintam-se todos lembrados, especialmente você – a meus familiares, a minha mãe Rosaly de Fátima e meu pai Gilson Guimarães, a meus irmãos Irã e Laís.

A Natalia Aguiar pela manutenção de meu equilíbrio, por vivenciar grande parte desta construção, por enxergar-me como alguém amável e me fazer feliz.

SUMÁRIO

| | Página |
|---------------------------|--------|
| Lista de tabelas | 07 |
| Lista de figuras | 08 |
| Lista de abreviaturas | 09 |
| Resumo | 10 |
| Abstract | 11 |
| 1. INTRODUÇÃO. | 12 |
| 2. PROPOSIÇÃO. | 14 |
| 2.1. Hipótese. | 14 |
| 2.2. Objetivos. | 15 |
| 3. REVISÃO DE LITERATURA. | 16 |
| 4. REFERÊNCIAS. | 24 |
| 5. ARTIGO. | 27 |
| 6. ANEXO. | 42 |

LISTA DE TABELAS

| | | Página |
|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| Tabela 1 | Variáveis hematológicas de tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>) cultivadas em Pernambuco n = 109 (Média ± intervalo de confiança). | 22 |
| Tabela 2 | Variáveis hematológicas de tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>) cultivadas em dois sistemas diferentes, tanque-rede em barragem e viveiro (Média ± intervalo de confiança; Valor de p em teste t; diferença em percentual). | 23 |
| Tabela 1 do artigo. | Variáveis hematológicas de tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>) cultivadas em dois sistemas diferentes, tanque-rede em barragem e viveiro (Média ± intervalo de confiança; Valor de p em teste t; diferença em percentual). | 41 |

LISTA DE FIGURAS

| | | Página |
|----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| Figura 1 | Sistema de cultivo em tanque-rede na barragem de Itaparica no Rio São Francisco. | 17 |
| Figura 2 | Extensões sanguíneas de Tilápia Nilótica coradas pelo método coloração rápida-MGGW; punção da veia caudal. | 19 |
| Figura 3 | Sangue em solução de Drabkin; espectrofotômetro; micro-centrífuga; sangue em solução de formol-citrato; câmara de Neubauer. | 20 |

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|------------|-----------------------------------------------|
| Hb | Concentração de hemoglobina |
| Hct | Hematócrito |
| RBC | Contagem total de eritrócitos |
| Trom. Tot | Trombócito total |
| WBC | Contagem total de leucócitos |
| Linf (uL) | Linfócito por microlitro de sangue |
| Mon (uL) | Monócito por microlitro de sangue |
| Neutr (uL) | Neutrófilo por microlitro de sangue |
| Bas (uL) | Basófilo por microlitro de sangue |
| Linf (%) | Contagem relativa de linfócito |
| Mon (%) | Contagem relativa de monócito |
| Bas (%) | Contagem relativa de basófilo; |
| Neutr (%) | Contagem relativa de neutrófilo |
| VCM | Volume corpuscular médio |
| HCM | Hemoglobina corpuscular média |
| CHCM | Concentração de hemoglobina corpuscular média |

RESUMO

As alterações ambientais no cultivo refletem diretamente na saúde animal, necessitando, por isso, avaliar sistematicamente o estado fisiológico. É importante ter um acompanhamento do estado animal durante todo o cultivo, possibilitando uma rápida intervenção quando for detectada qualquer anomalia. Os exames hematológicos é uma importante ferramenta para um diagnóstico ou sinalização precoce e por isso objetivou-se com este estudo investigar os valores hematológicos para a tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (Cichlidae), cultivadas em Pernambuco. Foram analisados 109 peixes, com peso e comprimento médios de 525g e 27,7cm. Foram determinados o hematócrito, contagem de eritrócitos, leucócitos totais, trombócitos totais, contagem diferencial de leucócitos expressa em valores relativos e absolutos, taxa de hemoglobina, volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e hemoglobina corpuscular média (HCM). Ao avaliar separadamente os peixes classificados em dois grupos, de acordo com a técnica de cultivo (viveiro e tanques-rede) observou-se grande heterogeneidade entre os dois grupos. O valor médio de eritrócitos de tilápias cultivadas em viveiro foi $2,14 \times 10^6/\mu\text{L}$ e em tanque-rede de $1,86 \times 10^6/\mu\text{L}$, sendo em torno de 15% maior, assim como as médias de hemoglobina e de hematócrito, que foram respectivamente, 16,87% e 26,14% maiores para os peixes de viveiro. Também foi verificado diferença nas médias de trombócitos totais, leucócitos totais e linfócitos/ μL , que foram 34,83%, 38,55%, 33,28% maiores no sangue das tilápias cultivadas em viveiro. Tais diferenças demonstram que perfis genéricos para hematologia de tilápias devem ser usados com cautela, devendo-se sempre que possível estabelecer valores específicos para a população que se quer aferir os parâmetros, para servirem como referência no acompanhamento da sanidade.

Palavras-chave: Peixe, hematologia, *Oreochromis niloticus*.

ABSTRACT

The environmental changes during fish culture reflect directly in the animal health, so the physiologic state should be evaluated systematically. It's important to assess the animal health during whole culture, making possible an intervention as fast as necessary when any anomaly be detected. The hematological exams are an important tools to diagnose early symptoms. The aim of this study was to investigate the hematological reference values for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Cichlidae), cultured in Pernambuco. Were analyzed 109 fishes with weight and length mean of 525g and 27.7cm. Were determined the hematocrit, red blood cells (RBC); white blood cells (WBC); total thrombocyte; differential count of leukocytes expressed in relative and absolute values; hemoglobin concentration; mean corpuscular volume (MCV); mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) and mean corpuscular hemoglobin (MCH). When evaluated separately the fishes from two different groups according to the culture technique (pond or cage), great heterogeneity was observed between the two groups. The mean value of RBC from tilapia cultured in ponds was $2.14 \times 10^6/\mu\text{L}$ and in cages was $1.86 \times 10^6/\mu\text{L}$, being around 15% greater. The mean value of hemoglobin and hematocrit were, respectively, 16.87% and 26.14% greater in the pond cultured fish. Was verified difference ($P < 0.05$) in the mean values of total thrombocyte, WBC and lymphocyte/ μL , that were respectively 34.83%, 38.55%, 33.28% greater in tilapia cultured in ponds. These differences demonstrate that generic parameters to tilapia hematology must be used with caution, try when possible to establish specific values to the target population, using as reference in sanity accompaniment.

Keywords: Fish, hematology, *Oreochromis niloticus*.

INTRODUÇÃO

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), foi introduzida no Brasil em 1971 (KUBITZA, 2004), tendo sido produzido 96.000 t de tilápias em 2008, segundo FAO (2010). O potencial econômico do cultivo de tilápia está ligado à alta produtividade de proteína, utilizando espaços reduzidos se comparada a outros tipos de culturas, como por exemplo, a pecuária. Além disso, a tilápia é uma espécie bastante rústica, de crescimento rápido e muito resistente às águas com condições desfavoráveis de oxigênio dissolvido, além de ter boa aceitação no mercado.

Existem problemas sanitários provocados pela intensificação da produção, como a má qualidade da água, que são agentes estressantes e capazes de provocar depressão dos mecanismos de defesa do organismo, aumentando a susceptibilidade dos peixes às diferentes enfermidades, e como consequência, provocando perdas na produção de tilápia.

O cultivo em tanques-rede em lagos e rios favorece a adoção de elevadas densidades de cultivo, mas por outro lado, deixa os peixes mais expostos às derivas ambientais. As criações de animais, a agricultura e as populações circunvizinhas ao local de cultivo dos peixes interferem diretamente na dinâmica desses rios e lagos, além do controle do fluxo do rio, com as construções de barragens de hidroelétricas. Um simples aumento da vazão nas comportas pode alterar rapidamente as propriedades da água e a poluição oriunda da circunvizinhança pode elevar a matéria orgânica. Esta última, favorece a multiplicação de microrganismos, que se proliferam rapidamente em ambientes aquáticos e persistem nos hospedeiros, sem provocar a doença, até que ocorra alguma alteração (estresse) capaz de causar danos ao sistema imune do peixe.

Nas circunstâncias de estresse, é importante uma rápida intervenção, tanto na suspensão do fator alterador (estressante), como no rápido diagnóstico das causas, seus efeitos e tratamento eficaz, para evitar perdas econômicas maiores.

As alterações ambientais do cultivo refletem diretamente na saúde animal, tornando necessária a avaliação sistemática do estado de saúde dos peixes, por meio da aferição de diversos parâmetros, bem como a necropsia e exames laboratoriais de alguns exemplares.

Avaliações hematológicas são usadas de forma eficiente na medicina de humana e veterinária. Dados hematológicos também estão sendo usados para determinar estado de saúde de peixe, servindo como ferramenta importante para um diagnóstico ou sinalização precoce de enfermidades.

Dentre os componentes do sangue, os leucócitos representam importante papel na imunidade não específica e os seus valores podem ser considerados como indicadores do estado de saúde dos peixes, juntamente com hematócrito, contagem de eritrócitos, trombócitos totais, taxa de hemoglobina, volume corpuscular médio (VCM); concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) hemoglobina corpuscular média (HCM).

Apesar da abundância de pesquisas a respeito dos parâmetros hematológicos em peixes, existe muita inconsistência com relação às nomenclaturas, diferenciação celular, maturação e função das células sanguíneas dos peixes. Os valores hematológicos para tilápia encontrados na literatura são muito variados, como consequência da ação de fatores ambientais e manejos distintos, no contexto das pesquisas.

Com base nesta realidade é importante que se crie valores de referência contextualizados com as práticas de manejo e condições ambientais de locais e fazer uma comparação com parâmetros hematológicos dos principais sistemas de cultivo utilizados no estado (tanques-rede x viveiro).

2. PROPOSIÇÃO

2.1 HIPÓTESE

O perfil hematológico dos peixes avaliados difere dos perfis descritos na literatura bem como entre os sistemas de cultivo, devido às diferentes variáveis ambientais e de manejo sofrida pelos mesmos.

2.2 OBJETIVOS

2.2.1 Objetivo geral

Estabelecer valores de referências hematológicas para a tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (Cichlidae), cultivadas em tanque-rede e viveiro, no estado de Pernambuco a serem utilizados na avaliação do estado sanitário de peixes.

2.2.2 Objetivos específicos

- Determinar o percentual de hematócrito;
- Determinar a contagem de eritrócitos sangüíneos;
- Determinar a contagem de leucócitos totais e trombócitos totais;
- Determinar a contagem diferencial de leucócitos expressa em valores relativos e absolutos;
- Determinar a taxa de hemoglobina;
- Determinar valores para: volume corpuscular médio (VCM); concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) hemoglobina corpuscular média (HCM);
- Comparar os resultados dos parâmetros hematimétricos dos peixes criados no sistema de tanque-rede e viveiro.

3. REVISÃO DA LITERATURA

Os peixes são um dos grupos com maior número de espécies viventes (RIBEIRO e PAVANELLI, 2001). A piscicultura é uma modalidade de aquicultura, relativo ao cultivo de peixes, que pode significar uma excelente atividade econômica rentável (GARUTTI, 2003).

A China é o maior produtor mundial de tilápia, tendo produzido 1.110.298 t de tilápia, em 2008, enquanto no Brasil foi produzido, no mesmo período, 96.000 t de tilápia, segundo dados da FAO (2010).

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), introduzida no Brasil em 1971, é uma espécie popular na maioria das regiões brasileiras (KUBITZA, 2004). Scorvo Filho (2010) relatou que o Brasil se insere como grande fornecedor de pescado para o mundo. Com potencial hídrico e ambiental e com possibilidades de não repetir os erros que outros já cometeram, comprometendo o ambiente onde se produziam seu pescado.

O Brasil tem potencial para ser o maior produtor de pescado cultivado no mundo. No Nordeste, nos mais de 100 reservatórios do Departamento Nacional de Obra Contra a Seca (DNOCS), a tilápia do Nilo é a espécie não nativa mais popular (OETTERER, 2002).

A tilapicultura é amplamente praticada em muitas regiões tropicais e subtropicais do mundo e constitui o terceiro grupo mais cultivado, diretamente depois de carpas e salmonídeos, com uma taxa de crescimento anual em torno de 11.5%. A maior parte do rápido aumento na produção da aquicultura nos últimos anos está relacionado com a implantação do sistemas intensivo (BITTENCOURT et al., 2003).

A popularidade da tilápia vem crescendo rapidamente no mundo, sendo reconhecido em muitas regiões, como uma excelente fonte de alimentação (RANZANI-PAIVA et al., 2004). Junto com a expansão das criações, ocorrem também os problemas sanitários, pois a intensificação dos meios produtivos, o transporte, a má qualidade da água, entre outros, atuam como agentes estressantes, resultando em depressão dos mecanismos de defesa do organismo e aumentando a susceptibilidade dos peixes às enfermidades, que conseqüentemente causa prejuízos na produção do pescado (SCHALCH et al., 2005).

O maior rendimento de peixes por área de cultivo, o controle de alimentação e a vigilância sanitária constante são características do sistema intensivo de criação. A alta densidade de animais e as atividades rotineiras que tais sistemas exigem, no entanto, ocasionam estresse e, conseqüentemente, risco ao desempenho dos peixes (LIMA et al., 2006). Segundo Okamura et al., (2007), os níveis de proteína nas dietas alteraram algumas variáveis hematológicas sem prejudicar o sistema de defesa do organismo. Os parâmetros

metabólicos demonstraram adaptações bioquímicas para manter os processos de obtenção de energia frente à variação do conteúdo de proteína para juvenis de *Rhamdia quelen*.

Dados hematiméticos são habitualmente usados em cuidado médico de humanos e mamíferos domésticos. Avaliações hematológicas também estão se tornando gradualmente uma prática rotineira por determinar estado de saúde em peixe (RANZANI-PAIVA et al., 2003; TAVARES-DIAS et al., 2003; TAVARES-DIAS e MORAES, 2004; CAZENAVE et al., 2005). O estudo hematimético é considerado uma importante ferramenta para o processo de diagnóstico de doenças. As técnicas usadas em mamíferos são amplamente aplicadas em peixes, com algumas modificações (ISHIKAWA et al., 2008)

A resposta primária ao estresse é marcada, principalmente, pela liberação de cortisol e adrenalina, que são frutos da ativação de dois grandes sistemas, o eixo hipotalâmico-pituitário-interrenal e o sistema simpático-cromafim (OKAMURA et al., 2007).

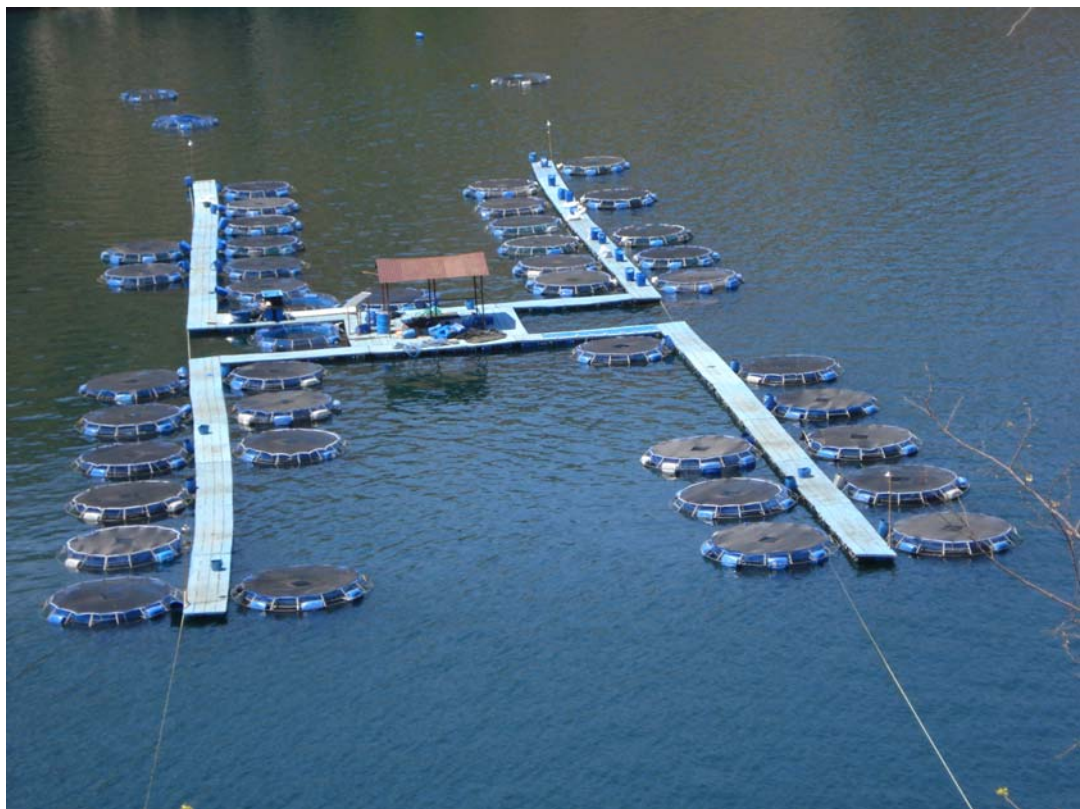


Figura 1: Sistema de cultivo em tanque-rede na barragem de Itaparica no Rio São Francisco.

Segundo Ranzani-Paiva et al. (2004), é necessário que estudos sobre hematologia de peixes sejam conduzidos para um melhor aprendizado a respeito das respostas fisiológicas a um agente patogênico, para tornar mais clara a importância da hematologia em relação a doenças. O estudo dos componentes do sangue e de suas funções é importante para o conhecimento das condições de equilíbrio normais e patológicas (AZEVEDO et al., 2006). Por exemplo, peixes submetidos a estresse, as alterações hemáticas, geralmente, são acompanhadas de hiperglicemia (TAVARES-DIAS e MORAES, 2004).

Ghiraldelli et al. (2006) relacionaram a eutrofização da água de viveiros que utilizavam a consorciação com suínos e a complementação de alimento por meio de vísceras de peixes e sobras de alimentos, com a elevação dos números totais, de trombócitos e de leucócitos, bem como do número de linfócitos circulantes em tilápias.

3.1 Obtenção de amostras de sangue e determinação dos parâmetros

Os animais devem ser anestesiados com benzocaína 100 mg/L (GREEN, 1979) e de acordo Shaperclaus (1992), a coleta de sangue deve ser efetuada através da punção da veia caudal, por meio de seringa estéril contendo solução de EDTA a 10%.

As amostras de sangue devem ser armazenadas sob gelo, até a centrifugação para determinação de hematócrito, que deve ocorrer entre 1 a 1,5h após a coleta (BYRNE et al. 1991). A técnica de micro-hematócrito relatada por Goldenfarb et al., (1971) para determinação do hematócrito foi usada por Tavares-Dias et al. (2002) e Ranzani-Paiva et al. (2004).

O EDTA pode causar hemólise parcial no sangue em tubos de Ht (hematócrito), impossibilitando a sua medição. Tanto o citrato de sódio quanto o EDTA aumentam a sensibilidade das células vermelhas do sangue para a hemólise. O EDTA também pode induzir anisocitose eritrocitária, mas sem efeito na contagem total ou diferencial de leucócitos (WALENCIK e WITESKA, 2007). Ishikawa et al., (2010) relataram que para uso em surubim híbrido (*Pseudoplatystoma reticulatum x P. corruscans*), a heparina 100UI foi o anticoagulante mais eficaz para realização do teste de fragilidade osmótica dos eritrócitos, no entanto, a viabilidade do sangue teve duração inferior a 10h. O EDTA a 3% é seguro e eficiente, prevenindo a coagulação por mais de 10h e ocasionando discreta alteração na permeabilidade e regulação osmótica da membrana dos eritrócitos.

Técnicas de contagem de células sanguíneas, utilizada em mamíferos, quando aplicadas em peixes, não possibilita a diferenciação entre células brancas e hemácias, o que impede a contagem (BERRA et al., 1993). Nos peixes contagem de eritrócitos sanguíneos ou RBC/ μ L(ou Red blood cells) pode ser realizada com diluição do sangue 1:200 em solução de

formol-citrato com azul de toluidina, em câmara de Neubauer, sob microscópio óptico com objetiva de 40 vezes (OLIVEIRA-JUNIOR et al., 2008).

Noga (1996) recomendou a manutenção das amostras de sangue a 25°C. Berra et al., (1993) utilizaram uma técnica para contagem global dos leucócitos de peixe adaptada da utilizada em hematologia de aves, quando o sangue foi diluído em solução de floxina e a amostra foi armazenada em geladeira (4-8°C) por 24 horas antes do exame.

Amostras devem ser enviadas para o laboratório tão rapidamente quanto possível e as extensões de sangue em lâmina devem ser confeccionadas e secas o mais rapidamente possível, para minimizar alterações morfológicas (HARVEY, 2001).

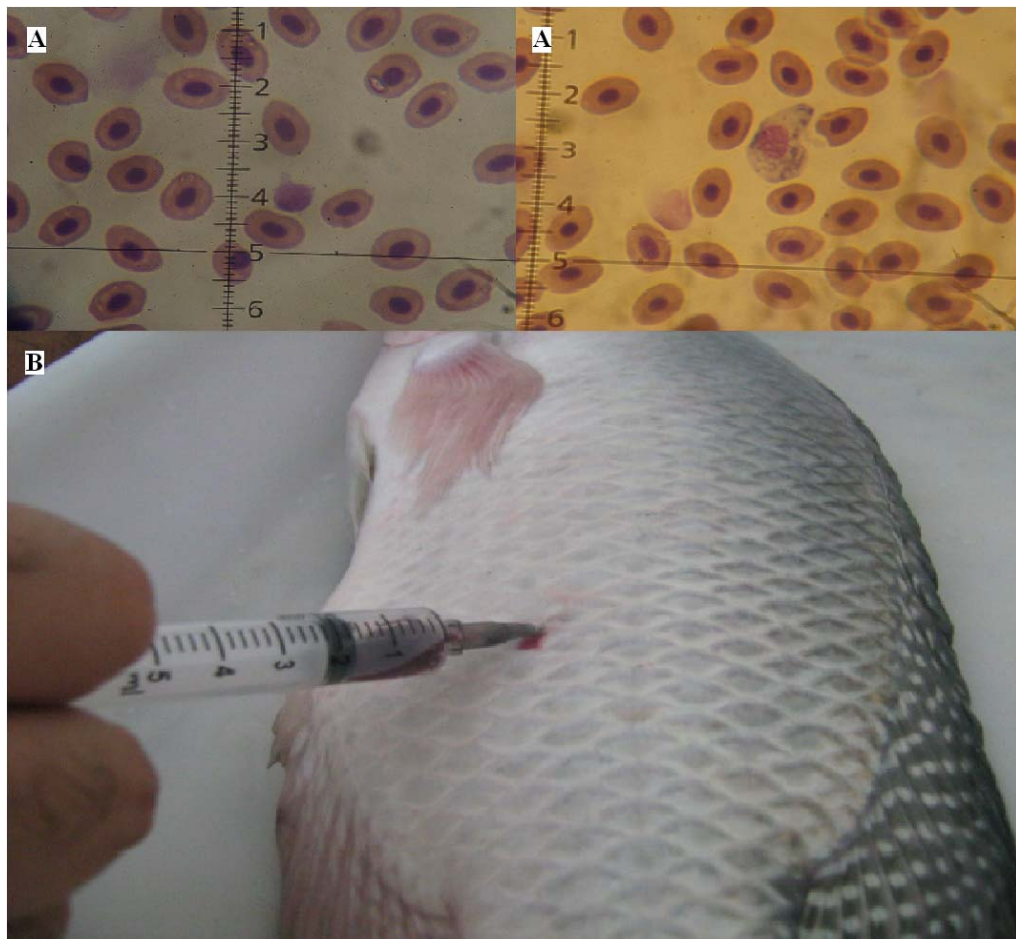


Figura 2: A) Extensões sanguíneas de Tilápia Nilótica coradas pelo método coloração rápida-MGGW; B) punção na veia caudal.

A concentração de hemoglobina pode ser determinada de acordo com as recomendações de Collier (1944), fazendo a diluição de 1:200 em solução de Drabkin (1,4 g de KH_2PO_4 , 2,0 g de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ e 0,5 g KCN em 1L de H_2O destilada) com leitura da absorbância em 540nm através de espectrofotometria.

Com os dados de hemoglobina, hematócrito e RBC é possível calcular a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), volume corpuscular médio (VCM) e hemoglobina corpuscular média (HCM), segundo Wintrobe (1934).



Figura 3: A) Sangue em solução de Drabkin; B) espectrofotômetro; C) micro-centrífuga; D) sangue em solução de formol-citrato; E) câmara de Neubauer.

Técnicas utilizadas em outras espécies animais tem sido adaptadas para peixes, como a usada por Berra et al., (1993), que apesar dos bons resultados na contagem global dos leucócitos de peixe, não funcionou para contagem de eritrócitos, devido a ocorrência de hemólise.

No emprego das diversas técnicas em hematologia de peixes, é importante que seja observada a efetividade das mesmas, visto que algumas apresentam vantagens e desvantagens. Como por exemplo, o uso do diluente de Dacie modificado utilizando-se azul cresil brilhante, que não se mostrou muito efetivo, uma vez que se obteve um alto coeficiente de variação, em virtude do fator de diluição resultante ter sido grande (BERRA et al. 1993).

Rehulka (2004) relatou não ter encontrado dificuldades, quando utilizou a solução de Hayem como diluente para a contagem de eritrócitos em truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). A solução de Hayem é um fluido isotônico usado para diluir as amostras de sangue na contagem de células vermelhas. Contém cloreto de mercúrio, sulfato de sódio e cloreto de sódio (BLOOD et al., 2007).

Os leucócitos são corpúsculos incolores e tem sua função relacionada à defesa celular e imunocelular do organismo (RANZANI-PAIVA e SILVA-SOUZA, 2004). Através contagem de leucócitos totais (WBC) pode-se diferenciar seis tipos de células: linfócitos pequenos, linfócitos grandes, neutrófilos, monócitos, eosinófilos e trombócitos (HRUBEC et al., 2000). Ghiraldelli et al. (2006) relataram que os números de trombócitos e leucócitos totais e o número de linfócitos e neutrófilos na contagem diferencial de leucócitos constituem-se em ferramentas importantes para o diagnóstico da saúde de peixes cultivados. Segundo Ishikawa et al., (2008), para a quantificação de leucócitos totais em peixe, a metodologia indireta de extensão sangüínea, apesar de ser mais trabalhosa, apresenta maior confiabilidade dos dados, quando comparados com a metodologia direta realizada em câmara de Neubauer.

Os trombócitos de peixes têm variadas formas, na maioria das vezes é elíptica, mas pode também ter a forma arredondada, oval ou fusiforme, apresenta citoplasma hialino, com núcleo grande que acompanha o formato da célula (RANZANI-PAIVA & SILVA-SOUZA, 2004).

Em situação prática, em seu trabalho Fujimoto et al., (2009) correlacionaram o aumento da porcentagem celular de basófilo, aumento do número de neutrófilos e eosinófilos com o parasitismo sofrido pelo Camurins (*Centropomus undecimalis*). Garcia e Moraes (2009) citaram que a infecção bacteriana provocada por *Aeromonas hydrophila* em *Piaractus mesopotamicus* é caracterizada por sinais clínico-patológicos relacionados à hemorragia, seguidos de anemia normocítica-hipocrômica, redução nos níveis de proteínas, globulinas

plasmáticas e eosinófilos, leucopenia, linfopenia, trombocitopenia, eosinofilia, neutrofilia e monocitose.

Foi constatado por Silva et al., (2009), que tilápias do Nilo vacinadas contra *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus durans*, por diferentes vias de aplicação, apresentaram maior porcentagem de hematócrito, número de eritrócitos e leucócitos em relação aos não vacinados, durante o período do experimento (21 dias).

Tabela 1 – Variáveis hematológicas de tilápia (*Oreochromis niloticus*) cultivadas em Pernambuco n = 109 (Média ± intervalo de confiança).

| Variáveis hematológicas n=109 | | |
|--------------------------------------|--------------|--------------------|
| | Média | Inter.Conf. |
| Peso(g) | 525 | ± 77,439 |
| Comprimento(cm) | 27,7 | ± 2,021 |
| Hb(g/dL) | 7,08 | ± 0,235 |
| Hct(%) | 30,23 | ± 1,278 |
| RBC(x106uL) | 1,96 | ± 0,075 |
| Trom Tot(uL) | 38909,77 | ± 1930,329 |
| WBC(uL) | 31610,27 | ± 1615,176 |
| Linf (uL) | 27257,203 | ± 1379,733 |
| Mon (uL) | 1606,91 | ± 166,112 |
| Neutr (uL) | 2605,8 | ± 230,976 |
| Bas (uL) | 140,35 | ± 31,285 |
| VCM | 157,92 | ± 8,349 |
| HCM | 37,51 | ± 2,056 |
| CHCM | 24,32 | ± 1,178 |
| Linf (%) | 86,35 | ± 0,787 |
| Mon (%) | 5,01 | ± 0,382 |
| Neutr (%) | 8,18 | ± 0,502 |
| Bas (%) | 0,51 | ± 0,105 |

Tabela 2 – Variáveis hematológicas de tilápia (*Oreochromis niloticus*) cultivadas em dois sistemas diferentes, tanque-rede em barragem e viveiro (Média \pm intervalo de confiança; Valor de p em teste t; diferença em percentual).

| | Tanque-rede | | Viveiro | | P | Diferença % |
|------------------------|-------------|----------------|----------|----------------|-----------|-------------|
| | Média | Inter. Conf. | Média | Inter.Conf. | | |
| Hb(g/dL) | 6,67 | \pm 0,281 | 7,79 | \pm 0,318 | < 0,00001 | 16,88 |
| Hct(%) | 27,58 | \pm 1,522 | 34,79 | \pm 1,453 | < 0,00001 | 26,14 |
| RBC($\times 10^6$ uL) | 1,86 | \pm 0,101 | 2,14 | \pm 0,08 | 0,00031 | 14,97 |
| Trom Tot(uL) | 34674,57 | \pm 1885,003 | 46215,5 | \pm 3016,712 | < 0,00001 | 33,28 |
| WBC(uL) | 27692,39 | \pm 1521,257 | 38368,63 | \pm 2365,757 | < 0,00001 | 38,55 |
| Linf (uL) | 24168,5 | \pm 1386,875 | 32585,21 | \pm 2037,029 | < 0,00001 | 34,82 |
| Mon (uL) | 1255,55 | \pm 130,52 | 2213,02 | \pm 315,667 | < 0,00001 | 76,26 |
| Neutr (uL) | 2134,74 | \pm 189,212 | 3418,37 | \pm 438,008 | < 0,00001 | 60,13 |
| Bas (uL) | 133,6 | \pm 36,94 | 152,02 | \pm 57,099 | 0,5796* | 13,79 |
| VCM | 155,21 | \pm 13,163 | 162,59 | \pm 1,237 | 0,2764* | 4,76 |
| HCM | 37,97 | \pm 3,149 | 36,71 | \pm 1,403 | 0,47483* | -3,32 |
| CHCM | 25,29 | \pm 1,739 | 22,62 | \pm 0,966 | 0,0098 | -10,55 |
| Linf (%) | 87,16 | \pm 0,924 | 84,93 | \pm 1,343 | 0,0068 | -2,56 |
| Mon (%) | 4,56 | \pm 0,409 | 5,77 | \pm 0,712 | 0,0024 | 26,5 |
| Neutr (%) | 7,8 | \pm 0,595 | 8,85 | \pm 0,876 | 0,0454 | 13,61 |
| Bas (%) | 0,48 | \pm 0,13 | 0,83 | \pm 0,178 | 0,6483* | 74,24 |

Variáveis parametrizadas com intervalo de confiança considerando-se um nível discritivo equivalente à $p=0,05$. * Valor de $p \geq 0,05$, não existe diferença estatística.

4. REFERÊNCIAS

- 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**, São Paulo, 32(1): p. 41-49, 2006. disponível em ftp://ftp.sp.gov.br/ftppesca/32_1_41-49.pdf acessado em 08/01/2011.
- BERRA, J.A.P., FIOCCO, R.A., RAMOS, R.O.; RAMOS, S.M. Técnica para contagem global de glóbulos brancos em peixes. **Bol. Téc. CEPTA, Pirassununga**. v. 6, n. 2, p. 63-66, 1993 www.icmbio.gov.br/cepta/download.php?id_download=100 acessado em 10/04/2010.
- BITTENCOURT, N. L. R., MOLINARI, L. M., SCOARIS, D. O., PEDROSO, R. B., NAKAMURA, C. V., UEDA-NAKAMURA, T., B. A. ABREU FILHO e DIAS FILHO, B. P. Haematological and biochemical values for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* cultured in semi-intensive system. **Acta Scientiarum. Biological Sciences** Maringá, v. 25, no. 2, p. 385-389, 2003
- BLOOD, D.C. STUDDERT, V.P. GAY C.C. **Saunders comprehensive veterinary dictionary**, Elsevier:New York, 3 ed.2007. 2172 p.
- BYRNE, P. FERGUSON, H.W. LUMSDEN, J. S. OSTLAND, V.E. Blood chemistry of bacterial gill disease in brook trout *Salvelinus fontinalis*. **Diseases of aquatic organisms**. v. 10, p.1-6, 1991
- CAZENAVE, J., WUNDERLIN, D.A., HUED, A.C. & BISTONI, M.A. 2005. Haematological parameters in a neotropical fish, *Corydoras paleatus* (Jenys, 1842) (Pisces, Callichthyidae), captured from pristine and polluted water. **Hidrobiologia** 537: 25-33.
- COLLIER, H. B. (1944), The standardization of blood haemoglobin determinations. **Canadian Medical Association Journal**, Vancouver, v. 50, p.550-552, 1944
- FAO, Aquaculture production (Quantities and values) 1950-2008 (Release date: March 2010) disponível em <http://www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstat/en> .
- FUJIMOTO, R. Y.; SANTANA, C. A.; CARVALHO, W. L. C.; D. G. DINIZ.; BARROS, Z. M. N.; VARELLA, J. E. A.; GUIMARÃES, M. D. F. Hematologia e parasitas metazoários de camurim (*Centropomus undecimalis*, BLOCH, 1792) na região Bragantina, Bragança-Pará. **B. Inst. Pesca**, São Paulo, 35(3): 441 - 450, 2009
- GARCIA, F. e MORAES, F. R. Hematologia e sinais clínicos de *Piaractus mesopotamicus* infectados experimentalmente com *Aeromonas hydrophila*. **Acta Scientiarum. Biological Sciences** Maringá, v. 31, n. 1, p. 17-21, 2009
- GARUTTI, V. **Piscicultura ecológica**. São Paulo. Ed. UNESP, 2003. 332p.
- GHIRALDELLI, L.; MARTINS, M. L.; YAMASHITA, M. M. e JERÔNIMO, G. T. Hematologia de *Oreochromis niloticus* (Cichlidae) e *Cyprinus carpio* (Cyprinidae) mantidos em diferentes condições de manejo e alimentação no Estado de Santa Catarina, Brasil. **Acta Sci. Biol. Sci.** Maringá, v. 28, n. 4, p. 319-325, 2006.
- GOLDENFARB, P. B.; BOWYER, F. P.; HALL, T.; BROSIUS, E. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. **American Journal of clinic Pathology**, New York, v. 56, p. 35-39, 1971.
- GREEN, C. J., **Animal anesthesia**. London:Laboratory animal LTD, The British Council. pp. 111-129, 1979.

HARVEY, J.W. **Atlas of veterinary hematology. Blood and bone marrow of domestic animals**. Philadelphia, W.B. Saunders, 228 p. 2001.

HRUBEC, T.C.; CARDINALE, J. L.; SMITH, S. A. Hematology and Plasma Chemistry Reference Intervals for Cultured Tilapia (*Oreochromis Hybrid*). **Vet Clin Pathol** vol.29 n.1 p 7-12. 2000.

ISHIKAWA, N.M; RANZANI-PAIVA, M.J.T.; LOMBARDI, J.V. Metodologia para quantificação de leucócitos totais em peixe, *Oreochromis niloticus*. **Archives of Veterinary Science** , v.13, n.1, p. 54-63, 2008

ISHIKAWA, N.M; PÁDUA, S. B.; SATAKE, F.; HISANO, H.; JERÔNIMO, G. T.; MARTINS, M. L. Heparina e Na₂EDTA como anticoagulantes para surubim híbrido (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *P. corruscans*): eficácia e alterações hematológicas. **Cienc. Rural** vol.40 n.7 2010.

KUBITZA, F. **Principais parasitoses e doenças dos peixes cultivados**. Jundiaí: 118p, 2004.

LIMA L. C., RIBEIRO L. P., LEITE R. C., MELO D. C. Estresse em peixes. **Rev Bras Reprod Anim**, Belo Horizonte, v.30, n.3/4, p.113-117, jul./dez. 2006.

NOGA, E.J. **Fish disease, diagnosis and treatment**. St. Louis: Mosby, 1996.

OETTERER, M. **Industrialização do pescado cultivado**. Guaíba: Agropecuária, 2002. 200p.

OLIVEIRA-JUNIOR, A. A; TAVARES-DIAS, M.; MARCON, J.L. Biochemical and hematological reference ranges for Amazon freshwater turtle, *Podocnemis expansa* (Reptilia: Pelomedusidae), with morphologic assessment of blood cells. **Research in Veterinary Science**, 86: 146–151 2008.

OKAMURA, D.; ARAÚJO, F. G.; LOGATO, P. V. R.; MURGAS, L. D. S.; FREITAS, R. T. F.; ARAÚJO, R. V. Efeito da vitamina C sobre o hematócrito e glicemia de alevinos de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) em transporte simulado **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.59, n.4, p.883-888, 2007

RANZANI-PAIVA, M.J.T, ISHIKAWA C. M., EIRAS A. C. e SILVEIRA V. R. Effects of an experimental challenge with *Mycobacteriu mmarinum* on the blood parameters of nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1757). **Brazilian Archives of Biology and Technology**. vol.47, n. 6 : pp. 945-953, 2004.

RANZANI-PAIVA, M.J.T., RODRIGUES, E.L.. VEIGA, M.L., EIRAS, A.C. e CAMPOS, B.E.S. Differential leukocytes counts in “dourado”*Salminus maxillous*” Valenciennes, 1840, from the Mogi-Guaçu River, Pirassiuunga, SP. **Brazilian Journal of Biology** 63:517-525. 2003.

RANZANI-PAIVA, M.T.J. & SILVA-SOUZA, A.T. Hematologia de Peixes Brasileiros. In: **Sanidade de Organismos Aquáticos** / organizadores Maria José Tavares Ranzani-Paiva, Ricardo Massato Takemoto, Maria de Los Angeles Perez Lizama. – São Paulo: Editora Varela, 2004.

REHULKA, V. ADAMEC. Red Blood Cell Indices for Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) Reared in Cage and Raceway Culture. **Acta Vet. Brno**, v.73, p.105–114, 2004.

RIBEIRO, R. P. e PAVANELLI, C. S. Classificação sistemática de peixes. In: ZIMMERMANN, S. (Org). **Fundamentos da moderna aqüicultura**. Canoas: Ed. ULBRA, p. 11-16, 2001.

SCORVO-FILHO, J. D.; FRASCA-SCORVO, C. M. D.; ALVES, J. M. C. e SOUZA, F. R.; A. A. A tilapicultura e seus insumos, relações econômicas. **R. Bras. Zootec.** [online]. 2010, vol.39, suppl. [cited 2011-01-07], pp. 112-118 . Available from: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982010001300013&lng=en&nrm=iso>. ISSN 1806-9290. doi: 10.1590/S1516-35982010001300013.

SHALCH, S.H.C.; BELO, M.A.A.; SOARES, V.E.; MORAES, J.R.E.; MORAES, F.R. Eficácia do diflubenzuron no controle de *Dolops carvalhoi* (Crustácea: Branchiura) em jovens pacus *Piaractus mesopotamicus* (Osteichthyes: Characidae) naturalmente infectados. **Acta Scientiarum Animal Science**, v. 27, n. 2, p. 297-302, 2005.

SHAPERCLAUS, W. **Fish diseases**. Rotterdam:Balkema, 1992. v. 1. 594p.

SILVA, B.C.; MARTINS, M.L.; JATOBÁ, A.; BUGLIONE-NETO, C.C.; VIEIRA, F.N.; PEREIRA, G.V.; JERÔNIMO, G.T.; SEIFFERT, W.Q. e MOURIÑO, J.L.P. Hematological and immunological responses of Nile tilapia after polyvalent vaccine administration by different routes. **Pesq. Vet. Bras.** 29(11):874-880, novembro 2009

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F.R. **Hematologia de peixes teleósteos**. Ribeirão Preto: Villimpress Complexo Gráfico, 2004. 144p.

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

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F. R.; MARTINS, M. L.; SANTANA, A. E. Haematological changes in *Oreochromis niloticus* (Osteichthyes: Cichlidae) with gill ichthyophthiriasis and saprolegniosis. **Boletim do Instituto da Pesca**, São Paulo, 28(1): 1 - 9, 2002

TAVARES-DIAS, M.; SCHALCH, S.E.C. & MORAES, F.R. 2003. Hematological characteristics of Brazilian teleosts. VII. Parameters of seven species collected in Guariba, São Paulo State, Brazil. **Boletim do Instituto de Pesca** 29: 109-115.

WALENCIK, J.; WITESKA, M. The effects of anticoagulants on hematological indices and blood cell morphology of common carp (*Cyprinus carpio* L.). **Comparative Biochemistry and Physiology**: Part C: toxicology and pharmacology, Elmsford, v.146, n.3, p.331-335, 2007.

WINTROBE, M. M. Variations on the size and haemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. **Fol. Haemat.**, Leipzig, v. 51, p. 32-49, 1934.

5. ARTIGO

“Comparação entre perfil hematológico de tilápias (*Oreochromis niloticus*) cultivadas em viveiro e tanques-rede ” será enviado para publicação a Revista Ciência Rural.

1 **Comparação entre perfil hematológico de tilápias do Nilo cultivadas em viveiro e**
2 **tanques-rede.**

3 **Hematological parameters differences of Nile tilapia cultured in pond and cage.**

4
5 **João Menezes Guimarães^{1*}, George Chaves Jimenez², Emiko Shinozaki Mendes¹.**

6 **RESUMO**

7 Os métodos de cultivo de tilápias expõem as mesmas a diferentes condições
8 ambientais, interferindo nos parâmetros fisiológicos do animal. Objetivando avaliar
9 diferenças no perfil hematológico, foram analisados peixes de dois diferentes sistemas de
10 cultivo, tanques-rede e viveiro. Foram analisados 109 peixes, com peso e comprimento
11 médios de 525g e 27,7cm, determinando-se: hematócrito, contagem de eritrócitos, leucócitos
12 totais; trombócitos totais; contagem diferencial de leucócitos expressa em valores relativos e
13 absolutos; taxa de hemoglobina; volume corpuscular médio (VCM), concentração de
14 hemoglobina corpuscular média (CHCM) e hemoglobina corpuscular média (HCM). Houve
15 diferença estatisticamente significativa ($P < 0,05$) no valor médio de eritrócitos de tilápias
16 cultivadas em viveiro ($2,14 \times 10^6/\mu\text{L}$) e das cultivadas em tanque-rede ($1,86 \times 10^6/\mu\text{L}$), sendo
17 em torno de 15% maior, assim como as médias de hemoglobina e de hematócrito, que foram
18 respectivamente, 16,87% e 26,14% maiores para as cultivadas em viveiro. Foi verificada
19 diferença nas médias de trombócitos, totais leucócitos totais; contagem absoluta de linfócito,
20 monócito e neutrófilo; contagem relativa de linfócito, monócito, neutrófilo; CHCM. Tais
21 diferenças demonstram que perfis genéricos devem ser usados com cautela, devendo-se
22 quando possível estabelecer valores específicos para a população que se quer aferir os
23 parâmetros, para servirem como referência no acompanhamento da sanidade.

24 **Palavras-chave:** Peixe, *Oreochromis niloticus*, hematologia.

25

1. Lab. de Sanidade de Animais Aquáticos DMV – UFRPE. 2. Lab. de Farmacologia do DMFA – UFRPE. *. Autor para correspondência – Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária; Universidade Federal Rural de Pernambuco; DMV; Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos - CEP: 52171-900 - Recife/PE; jmedvet@gmail.com.

1 **ABSTRACT**

2 The methods of tilapia culture expose them to different environmental conditions,
3 interfering in the animal physiologic state. The aim of this study was to evaluate differences
4 in hematological profile in fishes from two different culture techniques (pond and cage). Were
5 analyzed 109 fishes with weight and length mean of 525g and 27.7cm. Were determined the
6 hematocrit, red blood cells (RBC), white blood cells (WBC), total thrombocytes, differential
7 count of leukocytes expressed in relative and absolute values, hemoglobin concentration;
8 mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) and
9 mean corpuscular hemoglobin (MCH). There was significant differences ($P<0.05$) of mean
10 value of RBC between tilapia cultured in ponds ($2.14 \times 10^6/\mu\text{L}$) that was 15% greater than
11 tilapia cultured in cages ($1.86 \times 10^6/\mu\text{L}$), the mean value of hemoglobin and hematocrit were
12 respectively 16,87% and 26,14% greater for fishes from ponds. Difference was verified in the
13 mean value for total thrombocyte, WBC, differential count of leukocytes expressed in relative
14 and absolute values, MCHC. These differences demonstrate that generic parameters to tilapia
15 hematology must be used with caution, try when possible to establish specific values to the
16 target population, using as reference in sanity accompaniment.

17 Key words: Fish, hematology, *Oreochromis niloticus*.

18

19 **INTRODUÇÃO**

20 Em 2008 foram produzidos no Brasil 96.000 t de tilápia, segundo dados da FAO
21 (2010). SCORVO FILHO et al. (2010) relatou que o Brasil se insere como grande fornecedor
22 de pescado para o mundo e verifica-se um rápido aumento na produção da aquicultura nos
23 últimos anos, que está relacionado com a implantação do sistema intensivo (BITTENCOURT
24 et al., 2003)

25 Junto com a expansão desta atividade, ocorrem também os problemas sanitários, pois
26 com a intensificação dos meios produtivos, o transporte, a má qualidade da água, entre outros,

1 atuam como agentes estressantes, resultando em depressão dos mecanismos de defesa
2 orgânica e aumentando a susceptibilidade dos peixes às enfermidades, que conseqüentemente
3 causa prejuízos na produção do pescado (SCHALCH et al., 2005).

4 O maior rendimento de peixes por área, o controle de alimentação e a vigilância
5 sanitária constante são características do sistema intensivo de criação. No entanto, a alta
6 densidade de animais e a imposição das atividades rotineiras exigidos na piscicultura
7 intensiva, ocasionam estresse e, conseqüentemente, risco ao desempenho dos peixes (LIMA et
8 al., 2006).

9 Dados hematológicos são habitualmente usados em cuidado médico de humanos e
10 mamíferos domésticos. Avaliações hematológicas também estão se tornando gradualmente
11 uma prática rotineira por determinar estado de saúde em peixe, podendo ser uma importante
12 ferramenta para o processo de diagnóstico de doenças (RANZAINI-PAIVA et al., 2003;
13 TAVARES-DIAS et al., 2003; CAZENAVE et al., 2005). Técnicas utilizadas em outras
14 espécies animais tem sido adaptadas para peixes, como a usada por BERRA et al. (1993), que
15 é uma técnica usada em mamíferos e amplamente aplicada em peixes, porém com algumas
16 modificações (ISHIKAWA et al., 2008) No emprego das diversas técnicas em hematologia de
17 peixes, é importante que seja observada a efetividade, visto que algumas apresentam
18 vantagens e desvantagens (BERRA et al., 1993).

19 Segundo RANZANI-PAIVA et al. (2004), é necessário que estudos sobre hematologia
20 de peixes sejam conduzidos para um melhor aprendizado a respeito da resposta fisiológica a
21 um agente patogênico, para tornar mais clara a importância da hematologia em relação à
22 doenças.

23 Na contagem de leucócitos totais (WBC) pode-se diferenciar seis tipos de células:
24 linfócitos pequenos, linfócitos grandes, neutrófilos, monócitos, eosinófilos e trombócitos
25 (HRUBEC et al., 2000). GHIRALDELLI et al. (2006) relataram que os números de

1 trombócitos e leucócitos totais e o número de linfócitos e neutrófilos na contagem diferencial
2 de leucócitos constituem-se em ferramentas importantes para a avaliação da saúde de peixes
3 cultivados. Segundo ISHIKAWA et al. (2008), para a quantificação de leucócitos totais em
4 peixe, a metodologia indireta de extensão sangüínea, apesar de ser mais trabalhosa, apresenta
5 maior confiabilidade dos dados, quando comparados com a metodologia direta realizada em
6 câmara de Neubauer.

7 GARCIA & MORAES (2009) citaram que a infecção bacteriana provocada por
8 *Aeromonas hydrophila* em *Piaractus mesopotamicus* é caracterizada por sinais clínico-
9 patológicos relacionados à hemorragia, seguidos de anemia normocítica-hipocrômica, redução
10 nos níveis de proteínas, globulinas plasmáticas e eosinófilos, leucopenia, linfopenia,
11 trombocitopenia, eosinofilia, neutrofilia e monocitose.

12 Foi constatado por SILVA et al. (2009), que tilápias do Nilo vacinadas contra
13 *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus durans*, por diferentes vias
14 de aplicação, apresentaram maior porcentagem de hematócrito, número de eritrócitos e
15 leucócitos em relação aos não vacinados, durante o período do experimento (21 dias).

16 Os métodos de cultivo de tilápias expõem as mesmas a diferentes condições
17 ambientais, tais como pH, oxigênio, matéria orgânica, interferindo nos parâmetros
18 fisiológicos do animal. Objetivando avaliar tais diferenças foram analisados peixes de dois
19 diferentes sistemas de cultivo, tanques-rede em barragem e viveiro.

20

21 MATERIAL E MÉTODOS

22 Foram coletadas amostras de sangue de 109 tilápias, das quais 69 foram oriundas de
23 tanques-rede e 40 de viveiro, com peso e comprimento médios de 525g e 27,7cm. Os animais
24 foram anestesiados com benzocaína (100 mg/L), como recomendado por GREEN (1979),
25 antes da coleta de sangue, que foi efetuada através da punção da veia caudal, por meio de

1 seringa estéril, contendo solução de EDTA a 10%, de acordo com o citado por
2 SHAPERCLAUS (1992).

3 Procedeu-se à dosagem do hematócrito (Ht) pela técnica do micro-hematócrito
4 (GOLDENFARB et al., 1971) e a concentração de hemoglobina determinada de acordo com
5 COLLIER (1944). O número de eritrócitos sangüíneos ou RBC/ μ L(ou Red blood cells) foi
6 determinada com diluição em solução de formol-citrato modificada por OLIVEIRA-JUNIOR
7 et al.(2009), em câmara de Neubauer. Foram confeccionadas duas lâminas de extensões
8 sanguíneas por espécime e coradas pelo método coloração rápida- MGGW (TAVARES-DIAS
9 & MORAES, 2003). Os números de leucócitos e de trombócitos totais foram obtidos por
10 estimação, usando as extensões sanguíneas previamente coradas (TAVARES-DIAS &
11 MORAES, 2006); a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), volume
12 corpuscular médio (VCM) e hemoglobina corpuscular média (HCM), segundo método citado
13 por WINTROBE (1934).

14 Os dados foram expressos em termos de média e desvio padrão, sendo os resultados
15 submetidos à análise de variância, onde foi realizado o teste F mediante ao emprego das
16 planilhas estatísticas do programa Microsoft Office Excel 2003 e as médias comparadas pelo
17 teste t, com significância a 5% ($P < 0,05$).

18

19 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

20 Houve diferença estatisticamente significativa entre os peixes dos dois cultivos
21 (tanque-rede e viveiro), para os valores médios dos seguintes parâmetros hematológicos:
22 concentração de hemoglobina, hematócrito, contagem de eritrócitos (RBC), contagem total de
23 trombócito, contagem total de leucócitos (WBC), contagem de linfócito, monócito, neutrófilo
24 por μ L; percentual de linfócito, monócito, neutrófilo; concentração de hemoglobina
25 corpuscular média (CHCM). Entretanto, não foi verificada diferença estatística na contagem

1 de basófilos por μL ; percentual de basófilos; volume corpuscular médio (VCM) e na
2 hemoglobina corpuscular média (HCM) (Tabela 1).

3 A média de RBC de tilápias cultivadas em viveiro foi $2,14 \times 10^6/\mu\text{L}$ e nas dos tanques-
4 rede foi $1,86 \times 10^6/\mu\text{L}$, sendo entorno de 15% maior nos peixes do cultivo em viveiro, assim
5 como as médias de hemoglobina e de hematócrito, que foram respectivamente, 16,87% e
6 26,14% maiores para as cultivadas em viveiro. É possível supor que tal diferença esteja
7 relacionada com a dinâmica ambiental de cada sistema, como por exemplo, a não renovação
8 de água nos viveiros, propiciando baixos valores de oxigênio dissolvido, o que cronicamente
9 justificaria uma resposta metabólica, de aumento do número de eritrócitos, que proporcionaria
10 uma melhora no transporte de gás carbônico e oxigênio.

11 TAVARES-DIAS (2003), relatou que é normal, o número de eritrócitos estar mais
12 elevado em situações de menor concentração de oxigênio dissolvido, DUCCINI-SANTOS et
13 al. (2004), relacionou o estresse ambiental com a elevação da concentração de hemoglobina
14 devido a uma estratégia de adaptação ao estresse, onde um aumento de glóbulos vermelhos
15 estaria favorecendo no transporte de oxigênio.

16 Os valores médios de trombócitos totais, leucócitos totais e linfócitos por μL de
17 sangue tilápias, foram 34,83%, 38,55%, 33,28% maiores no sangue das tilápias cultivadas em
18 viveiro, corroborando com os resultado obtidos por GHIRALDELLI et al. (2006), que
19 relacionaram a eutrofização da água de viveiros com a elevação dos números totais de
20 trombócitos e de leucócitos, bem como com o número de linfócitos circulantes em tilápias.
21 Peixes em sistemas de alta densidade, com baixa qualidade da água são constantemente
22 desafiados por altas cargas bacterianas, fator que pode influenciar nos valores de WBC
23 (HRUBEC et al., 2000).

24 Trombócitos e linfócitos foram as células de defesa observadas com maior frequência
25 nas extensões sanguíneas, TAVARES-DIAS & MORAES (2003) também verificaram estas

1 células em maior frequência ao analisarem o sangue de *Tilapia rendalli* cultivadas em pesque-
2 pague, essa maior frequência deve ser considerada normal.

3 Observou-se uma diminuição na contagem relativa de linfócitos e um aumento da
4 contagem, de neutrófilos e monócitos, porém houve um aumento na contagem total de
5 leucócitos (WBC) quando comparados os dois sistemas. FERNANDES-JUNIOR et al. (2010)
6 observaram semelhante aumento da porcentagem de neutrófilos em relação a linfócitos de
7 tilápia nilótica, porém com queda no número de leucócitos. Relacionaram estas variações com
8 condições de estresse por temperatura. Segundo SIGNOR et al. (2010), aumento da
9 porcentagem de neutrófilos traduz o esforço do organismo em vencer possíveis condições
10 patogênicas instaladas, em função da queda de resistência do organismo. MARTINS et al.
11 (2008) relataram a redução do número de monócitos em tilápia nilótica, após a injeção de $1,0$
12 $\times 10^6$ UFC / mL de *Enterococcus*.

13

14 **CONCLUSÕES**

15 Ao comparar o perfil hematológico de tilápias (*Oreochromis niloticus*) cultivadas em
16 sistemas heterogêneos, tanques-rede e viveiro, conclui-se que os dois grupos de animais têm
17 contagens de parâmetros hematológicos bem distintos e por isso, perfis genéricos para
18 hematologia de tilápias devem ser usados com cautela, devendo-se, sempre que possível
19 estabelecer valores específicos para a população que se quer aferir os parâmetros, para
20 servirem como referência no acompanhamento da sanidade no cultivo.

21

22 **AGRADECIMENTOS**

23 Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível
24 Superior (CAPES) pela concessão de bolsa e ao Banco do Nordeste do Brasil (BNB) pelo
25 fomento da pesquisa.

1 COMITÊ DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA

2 Este estudo foi realizado sob aprovação da Comissão de Ética no uso de Animais da
3 UFRPE, sob licença nº: 025/2009, tendo sido respeitados todos os preceitos éticos de proteção
4 aos animais.

5

6 REFERÊNCIAS

- 7 BERRA, J.A.P., FIOCCO, R.A., RAMOS, R.O. & RAMOS, S.M. Técnica para contagem
8 global de glóbulos brancos em peixes. **Boletim Técnico do Centro de Pesquisa e**
9 **Treinamento em Aqüicultura – CEPTA**, Pirassununga. v. 6, n. 2, p. 63-66, 1993.
10 Disponível em: <www.icmbio.gov.br/cepta/download.php?id_download=100> Acesso em: 10
11 abr. 2010.
- 12 BITTENCOURT, N. L. R., MOLINARI, L. M., SCOARIS, D. O., PEDROSO, R. B.,
13 NAKAMURA, C. V., UEDA-NAKAMURA, T., B. A. ABREU FILHO e DIAS FILHO, B.
14 P. Haematological and biochemical values for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* cultured in
15 semi-intensive system. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 25, n. 2, p. 385-389, 2003.
16 Disponível em:
17 <<http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciBiolSci/article/viewFile/2028/1503>> Acesso
18 em: 25 jan. 2011.
- 19 CAZENAVE, J., WUNDERLIN, D.A., HUED, A.C. & BISTONI, M.A.. Haematological
20 parameters in a neotropical fish, *Corydoras paleatus* (Jenys, 1842) (Pisces, Callichthyidae),
21 captured from pristine and polluted water. **Hidrobiologia** v. 537 p. 25-33, 2005. Disponível
22 em: <<http://www.springerlink.com/content/g8p0hp1532u65073/fulltext.pdf>> Acesso em: 20
23 fev. 2011. ISSN 0018-8158. doi: 10.1007/s10750-004-1638-z

- 1 COLLIER, H. B., The standardization of blood haemoglobin determinations. **Canadian**
2 **Medical Association Journal**, Vancouver, v. 50, p.550-552, 1944. Disponível em:
3 <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1581573/pdf/canmedaj00573-0133.pdf>>
4 Acesso em: 20 mar. 2011. PMID: 20323122 [PubMed] PMCID: PMC1581573
- 5 DUCCINI-SANTOS, C.P.; SANTOS-PERESTRELO, C.; AQUINO -SILVA, M.R.;
6 GIRARDI,L.; FIORINI, M.P. Estudo hematológico de Tilápia Nilótica (*Oreochromis*
7 *niloticus*) criadas em tanques-rede. In: VIII Encontro Latino Americano de Iniciação
8 Científica e IV Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do
9 Paraíba. São José dos Campos, SP. 2004, p. 168-170. Disponível em:
10 <http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2004/trabalhos/inic/pdf/IC2-24.pdf> Acesso em: 15
11 mar. 2011.
- 12 FAO, Aquaculture production (Quantities and values) 1950-2008 (Release date: March 2010)
13 Disponível em: <<http://www.fao.org/fishery/statistics/software/fishstat/en>> . Acesso em: 28
14 jan. 2011.
- 15 FERNANDES JUNIOR, A. C. et al. Resposta hemática de tilápias-do-nilo alimentadas com
16 dietas suplementadas com colina e submetidas a estímulo por baixa temperatura. R. Bras.
17 Zootec. [online]. v.39, n.8, p.1619-1625, 2010. Disponível em:
18 <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982010000800001&lng=en&nrm=iso)
19 [35982010000800001&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982010000800001&lng=en&nrm=iso)> ISSN-1516-3598. Acessado em: 08 de jan. 2011.
20 doi: 10.1590/S1516-35982010000800001.
- 21 GARCIA, F. & MORAES, F. R. Hematologia e sinais clínicos de *Piaractus mesopotamicus*
22 infectados experimentalmente com *Aeromonas hydrophila*. **Acta Scientiarum. Biological**
23 **Sciences.** v. 31, n. 1, p. 17-21, 2009. Disponível em:

- 1 <<http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciBiolSci/article/view/308/308>> Acesso em: 15
2 fev. 2011. DOI: 10.4025/actascibiolsci.v31i1.308.
- 3 GHIRALDELLI, L.; MARTINS, M. L.; YAMASHITA, M. M. e JERÔNIMO, G. T.
4 Hematologia de *Oreochromis niloticus* (Cichlidae) e *Cyprinus carpio* (Cyprinidae) mantidos
5 em diferentes condições de manejo e alimentação no Estado de Santa Catarina, Brasil. **Acta**
6 **Scientiarum Biological Sciences**. v. 28, n. 4, p. 319-325, 2006. Disponível em:
7 <<http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciBiolSci/article/viewArticle/162>> Acesso em:
8 15 fev. 2011. doi: 10.4025/actascibiolsci.162
- 9 GOLDENFARB, P. B.; BOWYER, F. P.; HALL, T.; BROSIOUS, E. Reproducibility in the
10 hematology laboratory: the microhematocrit determination. **American Journal of clinic**
11 **Pathology**, v. 56, p. 35-39, 1971. Disponível em:
12 <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5556212>>. Acesso em: 25 fev. 2011. PMID: 5556212
- 13 GREEN, C. J., **Animal anesthesia**. London:Laboratory animal LTD, The British Council.
14 300p. 111-129, 1979.
- 15 HRUBEC, T.C.; CARDINALE, J. L.; SMITH, S. A. Hematology and Plasma Chemistry
16 Reference Intervals for Cultured Tilapia (*Oreochromis Hybrid*). **Veterinary Clinical**
17 **Pathology** v.29 n.1 p 7-12. 2000. Disponível em:
18 <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1939-165X.2000.tb00389.x/pdf>> Acesso em:
19 25 fev. 2011. doi: 10.1111/j.1939-165X.2000.tb00389.x
- 20 ISHIKAWA, N.M; RANZANI-PAIVA, M.J.T.; LOMBARDI, J.V. Metodologia para
21 quantificação de leucócitos totais em peixe, *Oreochromis niloticus*. **Archives of Veterinary**
22 **Science**, v.13, n.1, p. 54-63, 2008. Disponível em:
23 <ojs.c3sl.ufpr.br/ojs2/index.php/veterinary/article/download/11560/8050> Acesso em: 25 fev.
24 2011. ISSN 1517-784X

- 1 LIMA L. C., RIBEIRO L. P., LEITE R. C., MELO D. C. Estresse em peixes. **Rev. Brás.**
2 **Reprod. Anim.**, v.30, n.3/4, p.113-117, jul./dez. 2006. Disponível em:
3 <[http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/download/RB069%20Lima%20\(Estresse%20em%20Peixes\)%20pag%20113-117.pdf](http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/download/RB069%20Lima%20(Estresse%20em%20Peixes)%20pag%20113-117.pdf)> Acesso em: 25 fev. 2011. ISSN: 1809-3000
- 4
5 MARTINS, ML. et al . Haematological changes in Nile tilapia experimentally infected with
6 Enterococcus sp. **Brazilian Journal of Biology**, v. 68, n. 3, 2008. Disponível em:
7 <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-69842008000300025&lng=en&nrm=iso)
8 [69842008000300025&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-69842008000300025&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 11 jan. 2011. doi:10.1590/S1519-
9 69842008000300025.
- 10 OLIVEIRA-JUNIOR, A. A; TAVARES-DIAS, M.; MARCON, J.L. Biochemical and
11 hematological reference ranges for Amazon freshwater turtle, *Podocnemis expansa* (Reptilia:
12 Pelomedusidae), with morphologic assessment of blood cells. **Research in Veterinary**
13 **Science**, v. 86, p. 146-151, 2009. Disponível em:
14 <[http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6WWR-4SY6YGB-](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6WWR-4SY6YGB-1&_user=686475&_coverDate=02%2F28%2F2009&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=gateway&_origin=gateway&_sort=d&_docanchor=&_view=c&_searchStrId=1705626306&_rerunOrigin=google&_acct=C000037678&_version=1&_urlVersion=0&_userid=686475&md5=8983275c84b264be89142d6ef07eeb04&searchtype=a)
15 [1&_user=686475&_coverDate=02%2F28%2F2009&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=gateway&](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6WWR-4SY6YGB-1&_user=686475&_coverDate=02%2F28%2F2009&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=gateway&_origin=gateway&_sort=d&_docanchor=&_view=c&_searchStrId=1705626306&_rerunOrigin=google&_acct=C000037678&_version=1&_urlVersion=0&_userid=686475&md5=8983275c84b264be89142d6ef07eeb04&searchtype=a)
16 [_origin=gateway&_sort=d&_docanchor=&_view=c&_searchStrId=1705626306&_rerunOrigin](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6WWR-4SY6YGB-1&_user=686475&_coverDate=02%2F28%2F2009&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=gateway&_origin=gateway&_sort=d&_docanchor=&_view=c&_searchStrId=1705626306&_rerunOrigin=google&_acct=C000037678&_version=1&_urlVersion=0&_userid=686475&md5=8983275c84b264be89142d6ef07eeb04&searchtype=a)
17 [=google&_acct=C000037678&_version=1&_urlVersion=0&_userid=686475&md5=8983275](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6WWR-4SY6YGB-1&_user=686475&_coverDate=02%2F28%2F2009&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=gateway&_origin=gateway&_sort=d&_docanchor=&_view=c&_searchStrId=1705626306&_rerunOrigin=google&_acct=C000037678&_version=1&_urlVersion=0&_userid=686475&md5=8983275c84b264be89142d6ef07eeb04&searchtype=a)
18 [c84b264be89142d6ef07eeb04&searchtype=a](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6WWR-4SY6YGB-1&_user=686475&_coverDate=02%2F28%2F2009&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=gateway&_origin=gateway&_sort=d&_docanchor=&_view=c&_searchStrId=1705626306&_rerunOrigin=google&_acct=C000037678&_version=1&_urlVersion=0&_userid=686475&md5=8983275c84b264be89142d6ef07eeb04&searchtype=a)> Acesso em: 15 mar. 2011. doi:
19 10.1016/j.rvsc.2008.05.015
- 20 RANZANI-PAIVA, M.J.T, ISHIKAWA C. M., EIRAS A. C. e SILVEIRA V. R. Effects of
21 an experimental challenge with *Mycobacteriu mmarinum* on the blood parameters of nile
22 tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1757). **Brazilian Archives of Biology and**
23 **Technology**. v.47, n. 6, p. 945-953, 2004. Disponível em:
24 <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-89132004000600014>
25 Acesso em: 15 mar. 2011. doi: 10.1590/S1516-89132004000600014.

- 1 RANZANI-PAIVA, M.J.T., RODRIGUES, E.L., VEIGA, M.L., EIRAS, A.C. e CAMPOS,
2 B.E.S. Differential leukocytes counts in “dourado”*Salminus maxillous*” Valenciennes, 1840,
3 from the Mogi-Guaçu River, Pirassiuñunga, SP. **Brazilian Journal of Biology** v.63 n. 3, p.
4 517-525. 2003. Disponível em: <<http://redalyc.uaemex.mx/pdf/578/57816308.pdf>> Acesso
5 em: 15 mar. 2011. doi: 10.1590/S1519-69842003000300018.
- 6 SCORVO-FILHO, J. D.; FRASCA-SCORVO, C. M. D.; ALVES, J. M. C. e SOUZA, F. R;
7 A. A tilapicultura e seus insumos, relações econômicas. **R. Bras. Zootec.** [online]., v.39, p.
8 112-118, 2010. Disponível em:
9 <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982010001300013&lng=en&nrm=iso)
10 [35982010001300013&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982010001300013&lng=en&nrm=iso)>. Acessado em: 07 jan. 2011. ISSN 1806-9290. doi:
11 10.1590/S1516-35982010001300013.
- 12 SHALCH, S.H.C.; BELO, M.A.A.; SOARES, V.E.; MORAES, J.R.E.; MORAES, F.R.
13 Eficácia do diflubenzuron no controle de *Dolops carvalhoi* (Crustácea: Branchiura) em jovens
14 pacus *Piaractus mesopotamicus* (Osteichthyes: Characidae) naturalmente infectados. **Acta**
15 **Scientiarum Animal Science**, v. 27, n. 2, p. 297-302, 2005. Disponível em:
16 <<http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAnimSci/article/viewFile/1235/669>> Acesso
17 em: 14 mar. 2011. ISSN 1807-8672 (on-line)
- 18 SHAPERCLAUS, W. **Fish diseases**. Rotterdam:Balkema, 1992. v. 1. 594p.
- 19 SIGNOR, A.; PEZZATO, L.E.; FALCON, D.R.; GUIMARÃES, I.G. e BARROS, M.M.
20 Parâmetros hematológicos da Tilápia-do-Nilo: efeito da dieta suplementada com levedura e
21 zinco e do estímulo pelo frio. **Ciência Animal. Brasileira**, v. 11, n. 3, p. 509-519, jul./set.
22 2010. Disponível em: <<http://www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/viewFile/6016/7916>>
23 Acessado em: 10 jan. 2011. DOI:10.5216/cab.v11i3.6016

- 1 SILVA, B.C.; MARTINS, M.L.; JATOBÁ, A.; BUGLIONE-NETO, C.C.; VIEIRA, F.N.;
2 PEREIRA, G.V.; JERÔNIMO, G.T.; SEIFFERT, W.Q. e MOURIÑO, J.L.P. Hematological
3 and immunological responses of Nile tilapia after polyvalent vaccine administration by
4 different routes. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 29(11):874-880, novembro 2009.
5 Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-
6 736X2009001100002&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2009001100002&lng=en&nrm=iso&tlng=en)> Acesso em: 21 mar. 2011. doi:
7 10.1590/S0100-736X2009001100002
- 8 TAVARES-DIAS, Marcos. **Variáveis hematológicas de teleósteos brasileiros de**
9 **importância zootécnica**. 2003. Tese de doutorado - Programa de Pós-Graduação em
10 Aqüicultura da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP Jaboticabal.
- 11 TAVARES-DIAS, M. & MORAES, F.R. Características hematológicas da *Tilapia rendalli*
12 Boulenger, 1896 (Osteichthyes: Cichlidae) capturada em "pesque-pague" de Franca, São
13 Paulo, Brasil. **Bioscience Journal**, v. 19, n.1 107-114, 2003. Disponível em:
14 <<http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/viewFile/6443/4177>> Acesso em:
15 21 mar. 2011. ISSN 1981-3163
- 16 TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F.R. Hematological parameters for the Brycon
17 orbignyanus Valenciennes, 1850 (Osteichthyes: Characidae) intensively bred.
18 **Hidrobiologica**, 16: 271-274, 2006. Disponível em:
19 <<http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=57816308>> Acesso em: 21
20 mar. 2011. ISSN 0188-8897.
- 21 WINTROBE, M. M. Variations on the size and haemoglobin content of erythrocytes in the
22 blood of various vertebrates. **Folia. Haematologica.**, Leipzig, v. 51, p. 32-49, 1934.
23
24

1 Tabela 1 – Variáveis hematológicas de tilápia (*Oreochromis niloticus*) cultivadas em dois
 2 sistemas diferentes, tanque-rede em barragem e viveiro (Média ± Intervalo de
 3 confiança((DP/ \sqrt{n})x1,963); Valor de p em teste t; diferença em percentual).

| | <i>Tanque-rede</i> | | <i>Viveiro</i> | | P | Diferença % |
|--------------------------|--------------------|---------------------|----------------|--------------------|-----------|--------------------|
| | Média | Inter. Conf. | Média | Inter.Conf. | | |
| Hb(g/dL) | 6,67 | ± 0,281 | 7,79 | ±0,318 | < 0,00001 | 16,88 |
| Hct(%) | 27,58 | ±1,522 | 34,79 | ±1,453 | < 0,00001 | 26,14 |
| RBC(x10 ⁶ uL) | 1,86 | ±0,101 | 2,14 | ±0,08 | 0,00031 | 14,97 |
| Trom Tot(uL) | 34674,57 | ±1885,003 | 46215,5 | ±3016,712 | < 0,00001 | 33,28 |
| WBC(uL) | 27692,39 | ±1521,257 | 38368,63 | ±2365,757 | < 0,00001 | 38,55 |
| Linf (uL) | 24168,5 | ±1386,875 | 32585,21 | ±2037,029 | < 0,00001 | 34,82 |
| Mon (uL) | 1255,55 | ±130,52 | 2213,02 | ±315,667 | < 0,00001 | 76,26 |
| Neutr (uL) | 2134,74 | ±189,212 | 3418,37 | ±438,008 | < 0,00001 | 60,13 |
| Bas (uL) | 133,6 | ±36,94 | 152,02 | ±57,099 | 0,5796* | 13,79 |
| VCM | 155,21 | ±13,163 | 162,59 | ±1,237 | 0,2764* | 4,76 |
| HCM | 37,97 | ±3,149 | 36,71 | ±1,403 | 0,47483* | -3,32 |
| CHCM | 25,29 | ±1,739 | 22,62 | ±0,966 | 0,0098 | -10,55 |
| Linf (%) | 87,16 | ±0,924 | 84,93 | ±1,343 | 0,0068 | -2,56 |
| Mon (%) | 4,56 | ±0,409 | 5,77 | ±0,712 | 0,0024 | 26,5 |
| Neutr (%) | 7,8 | ±0,595 | 8,85 | ±0,876 | 0,0454 | 13,61 |
| Bas (%) | 0,48 | ±0,13 | 0,83 | ±0,178 | 0,6483* | 74,24 |

4
 5 Variáveis parametrizadas com intervalo de confiança considerando-se um nível discritivo
 6 equivalente à p=0,05. * Valor de p \geq 0,05, não existe diferença estatística.

7
 8
 9
 10
 11
 12
 13
 14
 15
 16
 17

1 6. ANEXO

2

3 Normas extraídas diretamente do site da revista Ciência Rural, url:
4 <http://www.ufsm.br/ccr/revista/normas.htm>.

5

6 Normas para publicação

7

8 **1. CIÊNCIA RURAL** - Revista Científica do Centro de Ciências Rurais da Universidade
9 Federal de Santa Maria publica artigos científicos, revisões bibliográficas e notas referentes à
10 área de Ciências Agrárias, que deverão ser destinados com exclusividade.

11 **2. Os artigos científicos, revisões e notas** devem ser encaminhados via [eletrônica](#) e editados
12 em idioma Português ou Inglês. Todas as linhas deverão ser numeradas e paginadas no lado
13 inferior direito. O trabalho deverá ser digitado em tamanho A4 210 x 297mm com, no
14 máximo, 25 linhas por página em espaço duplo, com margens superior, inferior, esquerda e
15 direita em 2,5cm, fonte Times New Roman e tamanho 12. **O máximo de páginas será 15**
16 **para artigo científico, 20 para revisão bibliográfica e 8 para nota, incluindo tabelas,**
17 **gráficos e figuras.** Figuras, gráficos e tabelas devem ser disponibilizados ao final do texto e
18 individualmente por página, sendo que **não poderão ultrapassar as margens e nem estar**
19 **com apresentação paisagem.**

20 **3. O artigo científico deverá conter os seguintes tópicos:** Título (Português e Inglês);
21 Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução com Revisão de Literatura;
22 Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusão e Referências; Agradecimento(s) e
23 Apresentação; Fontes de Aquisição; Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem
24 aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais**
25 **obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética**
26 **institucional já na submissão** (Modelo [.doc](#), [.pdf](#)).

27 **4. A revisão bibliográfica deverá conter os seguintes tópicos:** Título (Português e Inglês);
28 Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução; Desenvolvimento; Conclusão; e
29 Referências. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal;
30 Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo**
31 **seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de**
32 **um comitê de ética institucional já na submissão** (Modelo [.doc](#), [.pdf](#)).

33 **5. A nota deverá conter os seguintes tópicos:** Título (Português e Inglês); Resumo;
34 Palavras-chave; Abstract; Key words; Texto (sem subdivisão, porém com introdução;
35 metodologia; resultados e discussão e conclusão; podendo conter tabelas ou figuras);
36 Referências. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal;
37 Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo**
38 **seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de**
39 **um comitê de ética institucional já na submissão.** (Modelo [.doc](#), [.pdf](#)).

1 6. Não serão fornecidas separatas. Os artigos encontram-se disponíveis no formato pdf no
2 endereço eletrônico da revista www.scielo.br/cr.

3 7. Descrever o título em português e inglês (caso o artigo seja em português) - inglês e
4 português (caso o artigo seja em inglês). Somente a primeira letra do título do artigo deve ser
5 maiúscula exceto no caso de nomes próprios. Evitar abreviaturas e nomes científicos no título.
6 O nome científico só deve ser empregado quando estritamente necessário. Esses devem
7 aparecer nas palavras-chave, resumo e demais seções quando necessários.

8 8. As citações dos autores, no texto, deverão ser feitas com letras maiúsculas seguidas do ano
9 de publicação, conforme exemplos: Esses resultados estão de acordo com os reportados por
10 MILLER & KIPLINGER (1966) e LEE et al. (1996), como uma má formação congênita
11 (MOULTON, 1978).

12 9. As Referências deverão ser efetuadas no estilo ABNT (NBR 6023/2000) conforme normas
13 próprias da revista.

14 9.1. Citação de livro:
15 JENNINGS, P.B. **The practice of large animal surgery**. Philadelphia : Saunders, 1985. 2v.

16 TOKARNIA, C.H. et al. (Mais de dois autores) **Plantas tóxicas da Amazônia a bovinos e**
17 **outros herbívoros**. Manaus : INPA, 1979. 95p.

18 9.2. Capítulo de livro com autoria:
19 GORBAMAN, A. A comparative pathology of thyroid. In: HAZARD, J.B.; SMITH,
20 D.E. **The thyroid**. Baltimore : Williams & Wilkins, 1964. Cap.2, p.32-48.

21 9.3. Capítulo de livro sem autoria:
22 COCHRAN, W.C. The estimation of sample size. In: _____. **Sampling techniques**. 3.ed.
23 New York : John Willey, 1977. Cap.4, p.72-90.
24 TURNER, A.S.; McILWRAITH, C.W. Fluidoterapia. In: _____. **Técnicas cirúrgicas em**
25 **animais de grande porte**. São Paulo : Roca, 1985. p.29-40.

26 9.4. Artigo completo:
27 O autor deverá acrescentar a url para o artigo referenciado e o número de identificação DOI
28 (Digital Object Identifiers), conforme exemplos abaixo:

29 MEWIS, I.; ULRICH, CH. Action of amorphous diatomaceous earth against different stages
30 of the stored product pests *Tribolium confusum*(Coleoptera: Tenebrionidae), *Tenebrio*
31 *molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae)
32 and *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Stored Product Research**,
33 Amsterdam (Cidade opcional), v.37, p.153-164, 2001. Disponível em:
34 <[http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X\(00\)00016-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X(00)00016-3)>. Acesso em: 20 nov. 2008. doi:
35 10.1016/S0022-474X(00)00016-3.

36 PINTO JUNIOR, A.R. et al (Mais de 2 autores). Resposta de *Sitophilus*
37 *oryzae* (L.), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) e *Oryzaephilus surinamensis* (L.) a
38 diferentes concentrações de terra de diatomácea em trigo armazenado a granel. **Ciência**
39 **Rural** , Santa Maria (Cidade opcional), v. 38, n. 8, p.2103-2108, nov. 2008 . Disponível em:
40 <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-

1 [84782008000800002&lng=pt&nrm=iso](http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782008000800002&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em: 25 nov. 2008. doi: 10.1590/S0103-
2 84782008000800002.

3 **9.5.** Resumos:

4 RIZZARDI, M.A.; MILGIORANÇA, M.E. Avaliação de cultivares do ensaio nacional de
5 girassol, Passo Fundo, RS, 1991/92. In: JORNADA DE PESQUISA DA UFSM, 1., 1992,
6 Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria : Pró-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa, 1992. V.1.
7 420p. p.236.

8 **9.6.** Tese, dissertação:
9 COSTA, J.M.B. **Estudo comparativo de algumas características digestivas entre bovinos**
10 **(Charolês) e bubalinos (Jafarabad)**. 1986. 132f. Monografia/Dissertação/Tese
11 (Especialização/ Mestrado/Doutorado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia,
12 Universidade Federal de Santa Maria.

13 **9.7.** Boletim:

14 ROGIK, F.A. **Indústria da lactose**. São Paulo : Departamento de Produção Animal, 1942.
15 20p. (Boletim Técnico, 20).

16 **9.8.** Informação verbal:
17 Identificada no próprio texto logo após a informação, através da expressão entre parênteses.
18 Exemplo: ... são achados descritos por Vieira (1991 - Informe verbal). Ao final do texto, antes
19 das Referências Bibliográficas, citar o endereço completo do autor (incluir E-mail), e/ou local,
20 evento, data e tipo de apresentação na qual foi emitida a informação.

21 **9.9.** Documentos eletrônicos:
22 MATERA, J.M. **Afecções cirúrgicas da coluna vertebral: análise sobre as possibilidades**
23 **do tratamento cirúrgico**. São Paulo : Departamento de Cirurgia, FMVZ-USP, 1997. 1 CD.

24 GRIFON, D.M. Arthroscopic diagnosis of elbow displasia. In: WORLD SMALL ANIMAL
25 VETERINARY CONGRESS, 31., 2006, Prague, Czech Republic. **Proceedings...** Prague:
26 WSAVA, 2006. p.630-636. Acessado em 12 fev. 2007. Online. Disponível em:
27 <http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2006/lecture22/Griffon1.pdf?LA=1>

28 UFRGS. **Transgênicos**. Zero Hora Digital, Porto Alegre, 23 mar. 2000. Especiais. Acessado
29 em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: <http://www.zh.com.br/especial/index.htm>

30 ONGPHIPHADHANAKUL, B. Prevention of postmenopausal bone loss by low and
31 conventional doses of calcitriol or conjugated equine estrogen. **Maturitas**, (Ireland), v.34, n.2,
32 p.179-184, Feb 15, 2000. Obtido via base de dados MEDLINE. 1994-2000. Acessado em 23
33 mar. 2000. Online. Disponível em: [http://www. Medscape.com/server-](http://www.Medscape.com/server-java/MedlineSearchForm)
34 [java/MedlineSearchForm](http://www.Medscape.com/server-java/MedlineSearchForm)

35 MARCHIONATTI, A.; PIPPI, N.L. Análise comparativa entre duas técnicas de recuperação
36 de úlcera de córnea não infectada em nível de estroma médio. In: SEMINARIO
37 LATINOAMERICANO DE CIRURGIA VETERINÁRIA, 3., 1997, Corrientes,
38 Argentina. **Anais...** Corrientes : Facultad de Ciencias Veterinarias - UNNE, 1997. Disquete. 1
39 disquete de 31/2. Para uso em PC.

- 1 **10.** Desenhos, gráficos e fotografias serão denominados figuras e terão o número de ordem
2 em algarismos arábicos. A revista não usa a denominação quadro. As figuras devem ser
3 disponibilizadas individualmente por página. Os desenhos figuras e gráficos (com largura de
4 no máximo 16cm) devem ser feitos em editor gráfico sempre em qualidade máxima com pelo
5 menos 300 dpi em extensão .tiff. As tabelas devem conter a palavra tabela, seguida do número
6 de ordem em algarismo arábico e não devem exceder uma lauda.
- 7 **11.** Os conceitos e afirmações contidos nos artigos serão de inteira responsabilidade do(s)
8 autor(es).
- 9 **12.** Será obrigatório o cadastro de todos autores nos metadados de submissão. O artigo não
10 tramitará enquanto o referido item não for atendido. Excepcionalmente, mediante consulta
11 prévia para a Comissão Editorial outro expediente poderá ser utilizado.
- 12 **13.** Lista de verificação (Checklist [.doc](#), [.pdf](#)).
- 13 **14.** Os artigos serão publicados em ordem de aprovação.
- 14 **15.** Os artigos não aprovados serão arquivados havendo, no entanto, o encaminhamento de
15 uma justificativa pelo indeferimento.
- 16 **16.** Em caso de dúvida, consultar artigos de fascículos já publicados antes de dirigir-se à
17 Comissão Editorial.