



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

PERFIL HEMATOLÓGICO DO *Sorubim lima* (SILURIFORMES,  
PIMELODIDAE) DE CATIVEIRO: INTERVALOS DE  
REFERÊNCIA, MORFOLOGIA E CITOQUÍMICA CELULAR

Dissertação submetida ao Programa  
de Pós-graduação em Aquicultura da  
Universidade Federal de Santa  
Catarina para obtenção do Grau de  
Mestre em Aquicultura.

Orientador: Maurício Laterça Martins

MICAEL BORILE BIANCHI

Florianópolis  
2013

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Bianchi, Micael Borile

PERFIL HEMATOLÓGICO DO Sorubim lima (SILURIFORMES,  
PIMELODIDAE) DE CATIVEIRO: INTERVALOS DE REFERÊNCIA,  
MORFOLOGIA E CITOQUÍMICA CELULAR / Micael Borile Bianchi ;  
orientador, Maurício Laterça Martins - Florianópolis, SC,  
2013.

53 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-  
Graduação em Aquicultura.

Inclui referências

1. Aquicultura. 2. peixe de água doce. 3. hematologia.  
4. citoquímica. 5. criação . I. Martins, Maurício Laterça .  
II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-  
Graduação em Aquicultura. III. Título.

**Perfil hematológico do *Sorubim lima* (Siluriformes, Pimelodidae) de  
cativoiro: intervalos de referência, morfologia e citoquímica celular**

Por

MICAEL BORILE BIANCHI

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de

**MESTRE EM AQUICULTURA**

e aprovada em sua forma final pelo Programa de  
Pós-Graduação em Aqüicultura.

---

Prof. Alex Pires de Oliveira Nuñez, Dr.  
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

---

Dr. Maurício Laterça Martins – *Orientador*

---

Dr. Evoy Zaniboni Filho

---

Dr. Flávio Ruas de Moraes

---

Dr. Vinícius Ronzani Cerqueira



## AGRADECIMENTOS

A Deus e aos meus pais, Adelar Justino Bianchi e Fátima Eluza Bianchi;

Ao professor Maurício Laterça Martins pela orientação, força e oportunidade de trabalhar no Laboratório de Sanidade de Organismos Aquáticos - AQUOS;

À Leila Hayashi, Alex Pires de Oliveira Nuñez e Aimê Rachel Magenta Magalhães pela possibilidade de ingressar no Programa de Pós-Graduação em Aquicultura;

À Gabriela Tomas Jerônimo pelo total embasamento do artigo, confiança e incentivo;

Ao Maurício Laterça Martins, Gabriela Tomas Jerônimo, Santiago Benites de Pádua, Fabiana Satake, Márcia Mayumi Ishikawa e Marcos Tavares-Dias pela execução do trabalho em conjunto;

À Aline Brum Figueredo pela supervisão e disposição;

Aos membros da banca examinadora, Evoy Zaniboni Filho, Flávio Ruas de Moraes e Vinícius Ronzani Cerqueira por aprimorar e enriquecer o presente trabalho;

Aos amigos do Núcleo de Estudos em Patologia Aquícola - NEPAQ pela integração e convivência;

Ao Carlito Aloísio Klunk pela atenção;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES por bolsa de Mestrado;

Obrigado.



## RESUMO

A hematologia consiste em uma análise rápida e prática para auxiliar o diagnóstico do desequilíbrio homeostático em peixes. Este estudo determinou os intervalos de referência sanguíneos em importante bagre nativo da América do Sul, *Sorubim lima*, criado na região do pantanal e descreve as características morfológicas e citoquímicas das células. Um total de 92 peixes de piscicultura foram examinados para determinação dos intervalos de referência 25 - 75%, concentração de proteínas plasmáticas totais, hemoglobina, número total de eritrócitos (ERT), hematócrito, volume corpuscular médio (VCM), concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM), trombócitos totais e leucócitos totais (LEU). PAS com amilase salivar, azul de bromofenol, sudan black B e azul de toluidina (metacromasia) foram as colorações citoquímicas empregadas para sinalizar glicogênio, proteínas, lipídeos e núcleos em trombócitos e leucócitos. Nas extensões sanguíneas, monócitos, linfócitos, neutrófilos, basófilos, eosinófilos, LG-PAS e trombócitos foram observados. Resultados semelhantes a outros siluriformes foram observados nas características morfológicas de neutrófilos e eusinófilos. ERT, hematócrito e VCM apresentaram índices com as menores variações, em relação a demais pimelodídeos. Diferentemente de outros peixes siluriformes, *S. lima* apresentou simultaneamente eosinófilos e basófilos circulantes.

Palavras-chave: peixe de água doce, hematologia, citoquímica, criação



## ABSTRACT

Haematology consists in a rapid and practical analysis to assist the diagnosis of fish homeostatic imbalance. This study determined the blood reference intervals in an important native South American catfish farmed in the Brazilian Pantanal wetland, *Sorubim lima*, and describes the morphological and cytochemical characteristics of cells. A total of 92 fish reared in a fish farm were examined for reference intervals 25 - 75% of total plasma protein, hemoglobin, red blood cell count (RBC), hematocrit, mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) and total thrombocyte and leukocyte count (WBC). PAS with salivary amylase, bromophenol blue, Sudan black B and toluidine blue (metacromasy) were the cytochemical stains employed to signal glycogen, proteins, lipids and nuclei in thrombocytes and leukocytes. In the blood smears, monocytes, lymphocytes, neutrophils, basophils, eosinophils, LG-PAS and thrombocytes were observed. Siluriforms similar results were observed in neutrophils and eosinophils morphology. Compared to other pimelodids, RBC, hematocrit and MCV showed the lowest index variation. Differently from other siluriforms fishes, *S. lima* showed the concomitant presence of circulating eosinophils and basophils.

Keywords: freshwater fish, siluriform, haematology, cytochemistry, hatchery



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### INTRODUÇÃO GERAL

Figura 1. Produção de pescado oriunda da aquicultura e da pesca (captura) segundo a FAO (2012)..... 17

### ARTIGO CIENTÍFICO

Figura 1. Crescimento do *Sorubim lima* (n = 92) demonstrado pelo fator de condição relativo (Kn = 1,004), relacionando peso e comprimento ..... 32

Figura 2. Células sanguíneas de *Sorubim lima*. Eritrócitos (a), neutrófilos (b-c), LG-PAS (d), eosinófilo (e), basófilo (f), monócito (g), linfócitos (h) e trombócito (i). Coloração MGGW. Barra = 5 µm.. 37

Figura 3. Colorações citoquímicas das células sanguíneas de *Sorubim lima*. Coloração PAS positiva em grânulos de neutrófilo (a), LG-PAS (b) e trombócitos (c). Reação sudanofílica em neutrófilos (d), eosinófilos (e) e basófilos (f). Coloração positiva com azul de bromofenol em grânulos de neutrófilo (g - seta pontilhada) com reação negativa em LG-PAS (g - seta contínua), positiva para eosinófilo (h) e basófilo (i) Barra = 5 µm ..... 38



## LISTA DE TABELAS

### ARTIGO CIENTÍFICO

Tabela 1. Intervalos de referência 25 - 75%, valores médios  $\pm$  desvio padrão (dp) seguido pela mediana entre parênteses e valores mínimo - máximo para a série vermelha do Sorubim lima (n = 92) do pantanal matogrossense, Brasil, criado em cativeiro..... 33

Tabela 2. Intervalos de referência 25 - 75%, valores médios  $\pm$  desvio padrão (dp) seguido pela mediana entre parênteses e valores mínimo - máximo para trombócitos e série branca do Sorubim lima (n = 92) do pantanal matogrossense, Brasil, criado em cativeiro..... 34

Tabela 3. Colorações citoquímicas das células sanguíneas do Sorubim lima (n = 10). Coloração azul de bromofenol (BB), coloração ácido periódico de Schiff (PAS), coloração sudan black B (SBB) e coloração de azul de toluidina (TB) ..... 35



## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL .....	17
A ordem Siluriformes e a família Pimelodidae.....	18
Sobre o <i>Sorubim lima</i> .....	19
A hematologia na piscicultura .....	20
JUSTIFICATIVA.....	23
OBJETIVO GERAL .....	23
OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	23
ARTIGO CIENTÍFICO.....	25
Resumo .....	27
<i>Abstract</i> .....	28
Introdução .....	29
Material e métodos.....	30
· Peixes e condições de criação.....	30
· Análises hematológicas .....	30
· Análises citoquímicas.....	31
· Análise estatística .....	31
Resultados.....	32
Discussão .....	39
Agradecimentos .....	41
Referências.....	41
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	47
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO.....	49

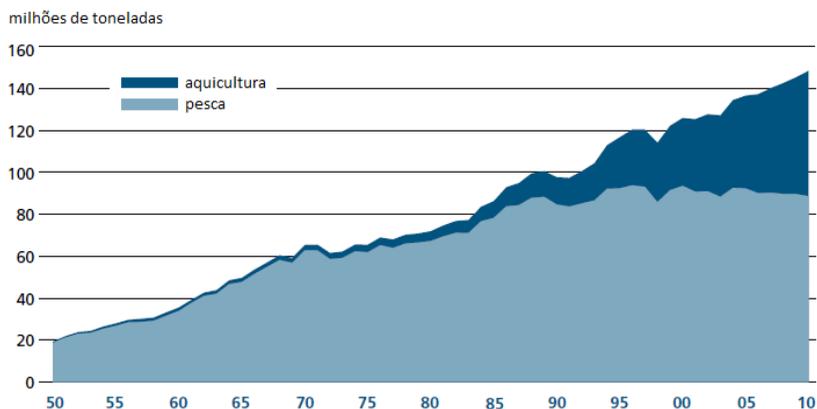


## INTRODUÇÃO GERAL

A produção aquícola global continuou a crescer no novo milênio, embora mais compassada quando comparada às décadas de 80 e 90. A aquicultura evoluiu também em termos de inovação tecnológica e adaptação para atender aos requisitos do exigente mercado consumidor e no ano de 2010 alcançou um recorde histórico produzindo um total de 60 milhões de toneladas de organismos aquáticos cultiváveis, excluindo plantas aquáticas e produtos não alimentares, conforme dados da “Food and Agriculture Organization - FAO” (2012). O setor se destaca entre as atividades de produção de alimentos de origem animal apresentando os mais rápidos índices de crescimento, com uma previsão de, na próxima década, ultrapassar a produção das carnes bovina, suína e avícola.

Zaniboni-Filho e Nuñez (2008) destacam a importância e a riqueza incomparável das espécies de peixes brasileiras, incluindo as aptas à piscicultura tanto para a produção de pescado e peixes ornamentais (PÁDUA et al., 2012) como para a pesca esportiva. A produção por captura permanece estável, enquanto que a produção através da criação intensiva continua em expansão, como pode ser observado na Figura 1. Peixes de água doce dominam a produção mundial na aquicultura (56,4%), seguidos por moluscos (23,6%), crustáceos (9,6%), peixes diádromos (6,0%) e peixes marinhos (3,1%), além de outras espécies cultiváveis (1,4%) (FAO, 2012).

Figura 1. Produção de pescado oriunda da aquicultura e da pesca (captura) segundo a FAO (2012).



## A ordem Siluriformes e a família Pimelodidae

A ordem dos Siluriformes contribui com 1.648 espécies apresentando 15 famílias (REIS et al., 2003). Conforme Volpedo e Fuchs (2010) os siluriformes usam a coluna de água em diferentes formas e distribuição o que permite diferenciar grupos ecológicos. Esta ordem desenvolveu estratégias de alimentação que possibilitam utilizar recursos alimentares de habitats distintos. Os siluriformes podem ser predados por aves e mamíferos ictiófagos de água, como a lontra *Lutra longicaudi* Olfers, 1818 e a ariranha *Pteronura brasiliensis* Gmelin, 1788, espécie em extinção (REIS et al., 2003).

A família Pimelodidae abrange importantes predadores dos rios sulamericanos que participam consideravelmente da pesca de captura no Brasil. Entretanto, pode-se observar o incremento destas espécies na aquicultura (CREPALDI et al., 2006). Como membro da família Pimelodidae, o gênero *Sorubim* compreende quatro espécies de bagres de águas profundas: *S. elongatus* Littmann, Burr, Schmidt e Isern, 2001, *S. cuspidus* Littmann, Burr e Nass, 2000, *S. trigonocephalus* Miranda Ribeiro, 1920 e o *S. lima* Bloch e Schneider, 1801 que se destaca por ser uma espécie amplamente distribuída, encontrado nas bacias dos rios Amazonas, Orinoco, Paraná e do Parnaíba. Ishikawa et al. (2012) salientam que, geralmente, em bagres pimelodídeos, as fêmeas crescem mais rápido em relação aos machos favorecendo a heterogeneidade dos lotes em criação.

Peixes pimelodídeos se caracterizam pela presença de barbilhões, bexiga natatória achatada, dentes geralmente em placas dentíferas, corpo nu ou com placas ósseas (ausência de escamas) e acúleos nas nadadeiras dorsal e peitoral (BRITSKI et al., 1999). Zaniboni-Filho et al. (2004) citam algumas espécies desta família, como mandi *Iheringichthys labrosus* Lütken, 1874, piracatinga *Luciopimelodus pati* Valenciennes, 1836, jundiá branco *Megalonema platanus* Günther, 1880, mandi *Parapimelodus valenciennis* Lütken, 1874, mandi pintado *Pimelodus absconditus* Azpelicueta, 1995, mandi *Pimelodus atrobrunneus* Vidal e Lucena, 1999, mandi amarelo *Pimelodus maculatus* Lacépède, 1803, pintado *Pseudoplatystoma corruscans* Spix e Agassiz, 1829, surubim *Steindachneridion scripta* Miranda Ribeiro, 1918 e jurupensém *Sorubim lima*.

## Sobre o *Sorubim lima*

Conhecido comumente por jurupensém, *S lima* é um bagre Sul Americano migratório de longa distância que não se reproduz em ambiente lântico e apresenta fecundação externa. Peixe carnívoro, alimenta-se principalmente de invertebrados e outros peixes (ROSSI, 2001) podendo atingir 4 kg de peso e 60 cm, sendo apreciado por sua carne com poucos espinhos. Atualmente, sua reprodução artificial é dominada (SHIBATTA et al., 2011) permitindo a criação de forma intensiva. Entretanto, recentes estudos relatam a presença de agentes etiológicos que comprometem sua produção (PÁDUA et al., 2013).

Espécie nativa do Brasil, Argentina, Bolívia, Colômbia, Equador, Paraguai, Peru, Uruguai e Venezuela (FROESE; PAULY, 2002). Este peixe migra rio acima para desovar durante a temporada de verão chuvoso e as larvas são arrastadas para os ambientes lânticos onde crescem. Assim como demais peixes da família Pimelodidae, o jurupensém contribui para a manutenção dos ecossistemas aquáticos pela predação de outros peixes. Apresenta longevidade estimada em 9,6 anos. (PENHA; MATEUS, 2007). Constitui importante espécie da ictiofauna do pantanal matogrossense, destacando-se também como recurso ornamental (PÁDUA et al., 2012).

O pantanal é descrito por Penha e Mateus (2007) como uma extensa planície de inundação formada pelo transbordamento sazonal do Rio Paraguai e seus afluentes. Está localizado no centro da América do Sul, entre os paralelos 16° e 22° S e os meridianos 55° e 58° O, localizados principalmente nos Estados de Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, no centro-oeste do Brasil. Uma parcela menor situa-se entre sudeste da Bolívia e do Paraguai nordestino. Durante os meses de chuva, uma extensa área de campos naturais, cerrados e florestas é inundada por uma combinação de chuvas locais e transbordamento dos rios. A amplitude média da flutuação dos níveis dos rios da planície de inundação varia de 2 a 5 metros.

Em ambiente natural e na fase larval, o jurupensém se alimenta de rotíferos (*Polyarthra* sp. Ehrenberg, 1834, *Trichocerca* sp. Lamarck, 1801 e *Keratella* sp. Bory de St. Vincent, 1822), copépodes (Cyclopoidea e Calanoidea) e cladóceros (*Bosminopsis deitersi* Richard, 1895, *Bosmina hagmanni* Stingelin, 1904 e *Moina micrura* Kurz, 1874) (ROSSI, 2001). Outras larvas de pimelodídeos, como as do surubim do Iguaçu *Steindachneridion melanordematum* Garavello, 2005 e do suruvi *Steindachneridion scriptum* Miranda-Ribeiro, 1918 são canibais em cativeiro, havendo necessidade do aperfeiçoamento das técnicas de

manejo a fim de minimizar ou eliminar tal comportamento (SHIBATTA et al., 2011).

A ocorrência de canibalismo é um fator limitante durante a fase inicial da produção de surubins. Como ainda não estão disponíveis linhagens puras com melhoramento genético, os lotes possuem grande heterogeneidade, que, somado ao hábito alimentar da espécie, determina a ocorrência de uma elevada taxa de canibalismo. Além disso, os peixes que praticam o canibalismo apresentam crescimento mais eficiente e, portanto, não se condicionam a receber alimentação extrusada. Perdas adicionais são observadas quando ocorrem tentativas frustradas de canibalismo, onde ambos os peixes envolvidos morrem por asfixia (ISHIKAWA et al., 2012).

### **A hematologia na piscicultura**

Estudos hematológicos são de interesse biológico, ecológico e veterinário, podendo auxiliar no diagnóstico de estresse e doenças em peixes. As alterações dos parâmetros sanguíneos indicam a ocorrência de hemoconcentração ou hemodiluição devido à disfunção osmorregulatória (TAVARES-DIAS; MORAES, 2004). As variáveis relativas à série vermelha são de grande valia na identificação de processos anemiantes, enquanto que o leucograma pode ser útil na compreensão dos processos infecciosos e outros estados de desequilíbrio homeostático. O confinamento, transporte, captura e o manejo inadequado são causadores de estresse e aumentam a susceptibilidade às infecções. Assim, peixes estressados podem apresentar aumento nos níveis circulantes de cortisol e alterações hematológicas que podem colocar em risco a saúde dos animais e causar perdas econômicas (MORAES; MARTINS, 2004).

O cortisol é um hormônio anti-inflamatório que inibe o desenvolvimento da reação inflamatória quanto às respostas vasculares e celular (Belo et al., 2005; 2012). As vitaminas C e E contribuem para uma eficiente resposta inflamatória por reduzir a liberação de cortisol, favorecendo a atividade de macrófagos. A vitamina E age como antioxidante lipossolúvel, protegendo membranas biológicas (BELO et al., 2005), enquanto que a vitamina C, além da atividade antioxidante, minimiza a toxicidade de contaminantes na água (BELO et al., 2012). A adição de *Saccharomyces cerevisiae* na ração também produz resultados positivos na prevenção de infecções, como observado por Salvador et al. (2012) onde não foi observada mortalidade em peixes desafiados com *Streptococcus agalactiae* quando suplementados com esta levedura e

vacinados. Já Claudiano et al. (2013) estudaram o efeito de fármacos anti-inflamatórios na permeabilidade vascular e na atividade do componente celular inflamatório em pacus *Piaractus mesopotamicus*. Os resultados sugerem que eicosanóides e citocinas pró-inflamatórias participam como mediadores químicos no controle na inflamação aguda.

Os intervalos de referência são definidos por limites inferiores e superiores (25 - 75 percentis) e abrangem a maior parte dos valores obtidos para cada variável hematológica dos indivíduos analisados (TAVARES-DIAS; MORAES, 2007). Por sua vez, a população de referência é definida pelo conjunto de indivíduos que atendem certos critérios, principalmente ausência de doença. As diferentes espécies de peixes apresentam variações no número, tamanho e volume dos eritrócitos, concentração de hemoglobina e percentual de hematócrito que podem estar relacionadas às diferentes características como hábito alimentar (CAMARGO et al., 2005), tamanho do peixe, nível de estresse (MARTINS et al., 2011 a), estágio de desenvolvimento gonadal, sexo, fotoperíodo, nível de oxigênio dissolvido, pH, temperatura (MARTINS et al., 2011 b) e infecções (SILVA et al., 2012).

Os métodos citoquímicos permitem a identificação de linhagens celulares e sugerem a função imunológica de cada componente leucocitário (TAVARES-DIAS, 2006). Existe grande número de colorações citoquímicas para sinalizar estas substâncias e a maioria delas se baseiam na produção de um precipitado corado. Assim, trombócitos e leucócitos podem ser analisados para identificação de glicogênio pelo método do PAS, proteínas pelo azul de bromofenol, lipídeos pela coloração sudan black B e núcleos pelo azul de toluidina (metacromasia). Entre as proteínas citoplasmáticas, as enzimas são as mais importantes, enquanto que as proteínas não enzimáticas são de menor importância, uma vez que não participam da fagocitose.

Em pimelodídeos neotropicais, parâmetros sanguíneos foram estudados em *P. maculatus* Lacépède, 1803 (JERÔNIMO et al., 2009), bagre do canal *Ictalurus punctatus* Rafinesque, 1818 (TAVARES-DIAS; MORAES, 2007), jundiá *Rhamdia quelen* Quoy e Gaimard, 1824 (BARCELLOS et al., 2003; BORGES et al., 2004; FUKUSHIMA et al., 2012), cachara *Pseudoplatystoma reticulatum* (RANZANI-PAIVA et al., 2005), pintado *P. corruscans* Spix e Agassiz, 1829 (BEELEN et al., 1998) e híbrido de *P. corruscans* x *P. reticulatum* (BEELEN et al., 2003; ISHIKAWA et al., 2010; PÁDUA; ISHIKAWA, 2011; SILVA et al., 2012). Todavia, não há estudos sobre a hematologia do *S. lima*, até o momento.



## JUSTIFICATIVA

As doenças infecciosas se tornaram fator limitante na produção aquícola. O desenvolvimento de estratégias de gestão da saúde para o controle dessas enfermidades e potenciais patógenos é uma prioridade. Os parâmetros sanguíneos são indicadores rápidos das alterações fisiológicas podendo complementar o diagnóstico do desequilíbrio homeostático em peixes. Assim, a análise do perfil hematológico pode ser utilizada como método auxiliar na detecção das variações produzidas por agentes estressantes, infecciosos e parasitários nestes organismos. O estabelecimento do perfil sanguíneo para o *Sorubim lima* e o conhecimento prévio da sua hematologia permitirá maior controle da criação, associado às técnicas adequadas de manejo.

## OBJETIVO GERAL

Contribuir para a piscicultura continental brasileira através do conhecimento do perfil hematológico do jurupensém *S. lima*.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar os intervalos de referência 25 - 75% dos parâmetros sanguíneos;
- Descrever as características morfológicas de leucócitos e trombócitos;
- Descrever a citoquímica de leucócitos e trombócitos.



**Perfil hematológico do *Sorubim lima* (Siluriformes, Pimelodidae) de cativeiro: intervalos de referência, morfologia e citoquímica celular**

Micael Borile Bianchi · Gabriela Tomas Jerônimo · Santiago Benites de Pádua · Fabiana Satake · Márcia Mayumi Ishikawa · Marcos Tavares-Dias · Maurício Laterça Martins

M.B. Bianchi · G.T. Jerônimo · M.L. Martins (✉)

Laboratório de Sanidade de Organismos Aquáticos - AQUOS, Departamento de Aquicultura, Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC, Rod. Admar Gonzaga, 1346, 88040-900, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

e-mail: mlaterca@cca.ufsc.br

S.B. Pádua

Centro de Aquicultura - CAUNESP, Universidade Estadual Paulista - UNESP, Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n<sup>o</sup>, bairro Rural, 14884-900, Jaboticabal, São Paulo, Brasil.

F. Satake

Departamento de Ciências Veterinárias, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba - UFPB, Campus II, 58397-000, Areia, Paraíba, Brasil.

M.M. Ishikawa

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, BR 163, km 253.6, Cx. Postal 661, 79804-970, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil.

M. Tavares-Dias

Laboratório de Aquicultura e Pesca, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Rod Juscelino Kubitschek, km 5, 68903-419, Universidade, Macapá, Amapá, Brasil.



## Resumo

A hematologia consiste em uma análise rápida e prática para auxiliar o diagnóstico do desequilíbrio homeostático em peixes. Este estudo determinou os intervalos de referência sanguíneos em importante bagre nativo da América do Sul, *Sorubim lima*, criado na região do pantanal e descreve as características morfológicas e citoquímicas das células. Um total de 92 peixes de piscicultura foram examinados para determinação dos intervalos de referência 25 - 75%, concentração de proteínas plasmáticas totais, hemoglobina, número total de eritrócitos (ERT), hematócrito, volume corpuscular médio (VCM), concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM), trombócitos totais e leucócitos totais (LEU). PAS com amilase salivar, azul de bromofenol, sudan black B e azul de toluidina (metacromasia) foram as colorações citoquímicas empregadas para sinalizar glicogênio, proteínas, lipídeos e núcleos em trombócitos e leucócitos. Nas extensões sanguíneas, monócitos, linfócitos, neutrófilos, basófilos, eosinófilos, LG-PAS e trombócitos foram observados. Resultados semelhantes a outros siluriformes foram observados nas características morfológicas de neutrófilos e eusinófilos. ERT, hematócrito e VCM apresentaram índices com as menores variações, em relação a demais pimelodídeos. Diferentemente de outros peixes siluriformes, *S. lima* apresentou simultaneamente eosinófilos e basófilos circulantes.

Palavras-chave: peixe de água doce, hematologia, citoquímica, criação

## Abstract

Haematology consists in a rapid and practical analysis to assist the diagnosis of fish homeostatic imbalance. This study determined the blood reference intervals in an important native South American catfish farmed in the Brazilian pantanal wetland, *Sorubim lima*, and describes the morphological and cytochemical characteristics of cells. A total of 92 fish reared in a fish farm were examined for reference intervals 25 - 75% of total plasmatic protein, hemoglobin, red blood cell count (RBC), hematocrit, mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) and total thrombocyte and leukocyte count (WBC). PAS with salivary amylase, bromophenol blue, sudan black B and toluidine blue (metacromasy) were the cytochemical stains employed to signal glycogen, proteins, lipids and nuclei in thrombocytes and leucocytes. In the blood smears, monocytes, lymphocytes, neutrophils, basophils, eosinophils, LG-PAS and thrombocytes were observed. Siluriforms similar results were observed in neutrophils and eosinophils morphology. Compared to other pimelodids, RBC, hematocrit and MCV showed index lowest variation. Differently from other siluriforms fishes, *S. lima* showed the concomitant presence of circulating eosinophils and basophils.

Keywords: freshwater fish, siluriform, haematology, cytochemistry, hatchery

## Introdução

*Sorubim lima*, conhecido comumente por jurupensém, é um bagre Sul Americano migratório de longa distância que não se reproduz em ambiente lântico e apresenta fecundação externa. Peixe carnívoro se alimenta principalmente de invertebrados e outros peixes (Rossi 2001) podendo atingir 4 kg de peso e 60 cm, sendo apreciado por sua carne com poucos espinhos (Shibatta et al. 2011). Este peixe constitui importante espécie da ictiofauna do pantanal matogrossense, destacando-se também como recurso ornamental (Pádua et al. 2012). Atualmente, sua reprodução artificial já é dominada (Shibatta et al. 2011) permitindo a criação de forma intensiva. Recentes estudos relatam a presença de agentes etiológicos que comprometem sua produção (Pádua et al. 2013).

Estudos hematológicos são de interesse biológico, ecológico e veterinário, podendo auxiliar no diagnóstico de estresse e doenças em peixes. As alterações dos parâmetros sanguíneos indicam a ocorrência de hemoconcentração ou hemodiluição devido à disfunção osmorregulatória (TAVARES-DIAS; MORAES, 2004). O confinamento, transporte, captura e o manejo inadequado são causadores de estresse e aumentam a susceptibilidade às infecções. Assim, peixes estressados podem apresentar aumento nos níveis circulantes de cortisol e alterações hematológicas que podem colocar em risco a saúde dos animais e causar perdas econômicas (MORAES; MARTINS, 2004).

Os intervalos de referência são definidos por limites inferiores e superiores (25 - 75 percentis) e abrangem a maior parte dos valores obtidos para cada variável hematológica dos indivíduos analisados (TAVARES-DIAS; MORAES, 2007). Por sua vez, a população de referência é definida pelo conjunto de indivíduos que atendem certos critérios, principalmente ausência de doença. As diferentes espécies de peixes apresentam variações no número, tamanho e volume dos eritrócitos, concentração de hemoglobina e percentual de hematócrito que podem estar relacionadas às diferentes características como hábito alimentar (CAMARGO et al., 2005), tamanho do peixe, nível de estresse (MARTINS et al., 2011 a), estágio de desenvolvimento gonadal, sexo, fotoperíodo, nível de oxigênio dissolvido, pH, temperatura (MARTINS et al., 2011 b) e infecções (SILVA et al., 2012 a). Os métodos citoquímicos, além de permitir a identificação de linhagens celulares, sugerem a função imunológica de cada componente leucocitário (Tavares-Dias 2006 a).

Em pimelodídeos neotropicais, parâmetros sanguíneos foram estudados em mandi *Pimelodus maculatus* (Jerônimo et al. 2009), bagre do canal *Ictalurus punctatus* (Tavares-Dias e Moraes 2007 a), jundiá *Rhamdia quelen* (Barcellos et al. 2003; Borges et al. 2004; Fukushima et al. 2012), cachara *Pseudoplatystoma fasciatum* (Ranzani-Paiva et al. 2005), pintado *Pseudoplatystoma corruscans* (Beelen et al. 1998) e híbrido de *P. corruscans* x *P. fasciatum* (Beelen et al. 2003; Ishikawa et al. 2010; Pádua e Ishikawa 2011; Silva et al. 2012). Todavia, não há estudos sobre a hematologia do *S. lima*. Este trabalho investigou as características sanguíneas de *S. lima* oriundo da criação intensiva e descreveu os intervalos de referência e aspectos da morfologia e propriedades citoquímicas de leucócitos e trombócitos.

## Material e Métodos

### Peixes e condições de criação

Um total de 92 juvenis foram obtidos de piscicultura comercial do município de Terenos (20° 25' 57,7" S; 55° 17' 08,9" O), Mato Grosso do Sul, Brasil. Os animais foram mantidos no Laboratório de Piscicultura da Embrapa, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil, durante 8 meses em sistema intensivo. Os peixes foram acondicionados em tanques de fibra de vidro com capacidade de 1.000 L, com fluxo contínuo de água e ração comercial para peixes carnívoros (45% de proteína bruta) foi ofertada três vezes ao dia.

Os tanques foram limpos diariamente e os parâmetros de qualidade de água monitorados: oxigênio dissolvido  $5,2 \pm 0,7$  mg/L ( $\pm$  desvio padrão), temperatura  $25,0 \pm 2,7$  °C, pH  $7,4 \pm 0,1$  mensurados com multiparâmetro Hanna e amônia total  $0,33 \pm 0,10$  mg/L analisada pelo método colorimétrico. Ao final do período laboratorial, os peixes apresentaram  $22,53 \pm 1,65$  cm de comprimento total médio,  $54,06 \pm 15,10$  g de peso médio e não exibiram desenvolvimento gonadal, o que justifica a não padronização do sexo para as análises hematológicas e citoquímicas.

### Análises hematológicas

Após a anestesia com óleo de cravo  $75 \text{ mg.L}^{-1}$  (Silva et al. 2012 b), o sangue dos peixes foi coletado do vaso caudal utilizando seringas descartáveis de 3 mL contendo EDTA 3% para o percentual de hematócrito pelo método do microhematócrito (Goldenfarb et al. 1971), concentração de hemoglobina pelo método da cianometahemoglobina (Collier 1944) e o número total de eritrócitos (ERT) em câmara de

Neubauer. A partir destes dados, os índices hematimétricos de Wintrobe (1934) foram calculados: volume corpuscular médio (VCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). A concentração de proteína total plasmática foi determinada com um refratômetro portátil. As contagens totais de leucócitos (LEU) e trombócitos foram calculadas pelo método indireto a partir das extensões sanguíneas coradas com May Grünwald-Giemsa-Wright (MGGW) (Tavares-Dias e Moraes 2006).

#### Análises citoquímicas

Dez peixes foram utilizados para o estudo citoquímico. Após a coleta de sangue, as extensões sanguíneas foram submetidas a reações citoquímicas para demonstrar o glicogênio pelo Ácido Periódico de Schiff (PAS) (McManus 1946) utilizando o controle de especificidade pela amilase salivar (Lison 1960), proteínas totais pelo azul de bromofenol (Mazia et al. 1953), núcleos (metacromasia) pelo azul de toluidina (Tavares-Dias 2006 b) e lipídios por sudan black B 0,3% (Lison 1960). Os resultados obtidos foram expressos em função da intensidade das reações citoquímicas: reação negativa (-), reação fracamente positiva (+), reação positiva (++) e fortemente positiva (+++).

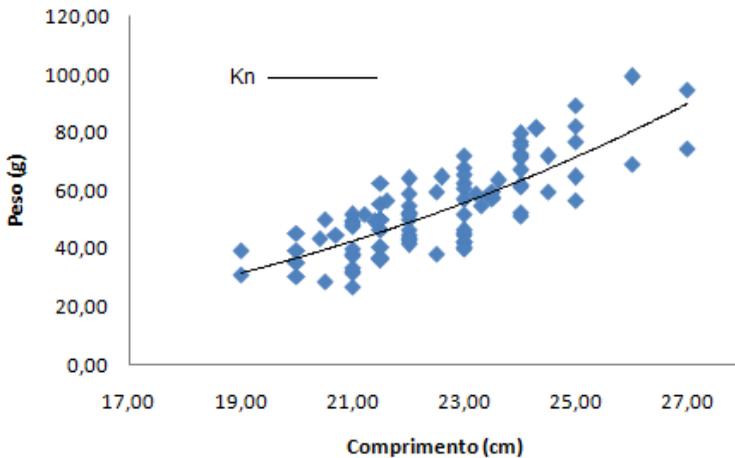
#### Análise estatística

Os dados do hemograma foram submetidos ao teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e como a maioria teve uma distribuição não-Gaussiana, foram determinados os intervalos de referência usando o 25 - 75 percentis. O fator de condição relativo (Kn) (Le Cren 1951) foi calculado através da relação entre o peso (g) e o comprimento total (cm) dos 92 peixes.

## Resultados

O fator de condição relativo (Kn) correspondeu a  $1,004 \pm 0,046$  (média  $\pm$  desvio padrão) e a correlação ( $R^2$ ) entre o peso e o comprimento foi igual à 0,597. A Figura 1 apresenta o crescimento do *Sorubim lima* em cativeiro, onde  $y = 0,005x^{2,956}$  ( $y$  = peso,  $x$  = comprimento).

Figura 1. Crescimento do *Sorubim lima* ( $n = 92$ ) demonstrado pelo fator de condição relativo (Kn = 1,004), relacionando peso e comprimento.



Os valores de hemoglobina, hematócrito, VCM, CHCM, trombócitos, monócitos, basófilos, neutrófilos, eosinófilos e LG-PAS apresentaram distribuição não normal, enquanto que a distribuição dos valores normais foram observadas em ERT, proteínas plasmáticas totais, LEU e linfócitos. Para cada parâmetro sanguíneo foram determinados os intervalos de referência 25 - 75%, valores médios  $\pm$  desvio padrão (dp) seguido pela mediana entre parênteses e valores mínimo - máximo, considerando os índices inferiores ( $Kn < 1,004$ ) e superiores ( $Kn > 1,004$ ) (peixes com os melhores índices zootécnicos) ao fator de condição relativo encontrado (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1. Intervalos de referência 25 - 75%, valores médios  $\pm$  desvio padrão (dp) seguido pela mediana entre parênteses e valores mínimo - máximo para a série vermelha do *Sorubim lima* (n = 92) do pantanal matogrossense, Brasil, criado em cativeiro.

Parâmetros	Intervalos de referência		Média $\pm$ dp (mediana)		Mínimo - máximo	
	Kn < 1,004	Kn > 1,004	Kn < 1,004	Kn > 1,004	Kn < 1,004	Kn > 1,004
Proteínas totais (g dL <sup>-1</sup> )	4,20 - 5,00	4,20 - 5,00	4,71 $\pm$ 0,54 (4,60)	4,64 $\pm$ 0,53 (4,80)	3,80 - 6,00	3,00 - 5,60
Hematócrito (%)	27,00 - 31,00	26,75 - 30,00	28,50 $\pm$ 4,06 (30,00)	28,33 $\pm$ 3,24 (29,00)	13,00 - 34,00	17,00 - 33,00
ERT (x 10 <sup>6</sup> $\mu$ L <sup>-1</sup> )	2,13 - 2,64	2,14 - 2,50	2,37 $\pm$ 0,36 (2,38)	2,31 $\pm$ 0,39 (2,25)	1,69 - 3,17	1,45 - 3,54
Hemoglobina (g dL <sup>-1</sup> )	4,90 - 9,32	4,96 - 7,21	7,02 $\pm$ 2,79 (5,78)	6,33 $\pm$ 1,97 (5,94)	3,50 - 13,82	2,14 - 12,14
VCM (fL)	112,76 - 135,29	116,86 - 134,53	122,28 $\pm$ 22,61 (116,68)	125,51 $\pm$ 19,77 (126,18)	45,30 - 171,60	76,92 - 178,57
CHCM (g dL <sup>-1</sup> )	18,54 - 31,14	17,37 - 25,46	24,54 $\pm$ 8,49 (20,58)	22,45 $\pm$ 7,46 (20,76)	12,88 - 44,58	11,61 - 48,56

ERT: número total de eritrócitos, VCM: volume corpuscular médio, CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média.

Tabela 2. Intervalos de referência 25 - 75%, valores médios  $\pm$  desvio padrão (dp) seguido pela mediana entre parênteses e valores mínimo - máximo para trombócitos e série branca do *Sorubim lima* (n = 92) do pantanal matogrossense, Brasil, criado em cativeiro.

Parâmetros	Intervalos de referência		Média $\pm$ dp (mediana)		Mínimo - máximo	
	Kn < 1,004	Kn > 1,004	Kn < 1,004	Kn > 1,004	Kn < 1,004	Kn > 1,004
Trombócitos (x 10 <sup>3</sup> $\mu$ L <sup>-1</sup> )	9,02 - 19,15	11,29 - 19,95	14,18 $\pm$ 7,22 (12,09)	18,18 $\pm$ 13,76 (15,20)	3,48 - 31,46	47,5 - 90,04
LEU (x 10 <sup>3</sup> $\mu$ L <sup>-1</sup> )	36,24 - 56,77	30,21 - 52,47	47,74 $\pm$ 15,80 (45,51)	43,31 $\pm$ 19,16 (41,42)	24,60 - 101,46	17,25 - 95,20
Monócitos (x 10 <sup>3</sup> $\mu$ L <sup>-1</sup> )	0,00 - 1,49	0,00 - 0,96	0,93 $\pm$ 1,05 (0,67)	0,66 $\pm$ 0,74 (0,50)	0,00 - 5,02	0,00 - 3,11
Linfócitos (x 10 <sup>3</sup> $\mu$ L <sup>-1</sup> )	29,62 - 45,70	24,05 - 42,12	38,64 $\pm$ 11,96 (38,92)	36,22 $\pm$ 15,75 (34,13)	16,72 - 68,93	14,36 - 82,82
Basófilos (x 10 <sup>3</sup> $\mu$ L <sup>-1</sup> )	0,00 - 1,13	0,17 - 1,01	0,85 $\pm$ 1,06 (0,56)	0,69 $\pm$ 0,69 (0,53)	0,00 - 5,92	0,00 - 3,11
Eosinófilos (x 10 <sup>3</sup> $\mu$ L <sup>-1</sup> )	0,00 - 70,00	0,00 - 0,31	0,81 $\pm$ 4,91 (0,00)	0,35 $\pm$ 0,95 (0,00)	0,00 - 35,51	0,00 - 5,71
Neutrófilos (x 10 <sup>3</sup> $\mu$ L <sup>-1</sup> )	1,52 - 6,39	1,02 - 5,23	5,13 $\pm$ 5,20 (3,08)	3,68 $\pm$ 3,85 (2,46)	0,64 - 23,62	0,00 - 18,65
LG-PAS (x 10 <sup>3</sup> $\mu$ L <sup>-1</sup> )	0,46 - 1,86	0,47 - 2,13	1,37 $\pm$ 1,79 (0,80)	1,69 $\pm$ 1,51 (1,33)	0,00 - 11,16	0,00 - 6,53

LEU: número total de leucócitos, LG-PAS: leucócito granular PAS positivo.

A citoquímica mostrou trombócitos corados pelo PAS, basófilos corados por azul de bromofenol, sudan black B e azul de toluidina, eosinófilos corados por azul de bromofenol e sudan black B, neutrófilos corados pelo azul de bromofenol, PAS e sudan black B e LG-PAS corados somente por PAS. Monócitos e linfócitos (células mononucleares agranulares) não foram corados (Tabela 3).

Tabela 3. Colorações citoquímicas das células sanguíneas do *Sorubim lima* (n = 10). Coloração azul de bromofenol (BB), coloração ácido periódico de Schiff (PAS), coloração sudan black B (SBB) e coloração de azul de toluidina (TB).

Células	BB	PAS	SBB	TB
Trombócitos	-	++	-	-
Monócitos	-	-	-	-
Linfócitos	-	-	-	-
Basófilos	++	-	++	+++
Eosinófilos	++	-	+++	-
Neutrófilos	++	++	++	-
LG-PAS	-	+++	-	-

Negativo (-), fracamente positivo (+), positivo (++), fortemente positivo (+++).

As extensões sanguíneas coradas pelo MGGW mostraram a presença de eritrócitos, trombócitos, monócitos, linfócitos, neutrófilos, leucócito granular-PAS positivo (LG-PAS), eosinófilos e basófilos (Figura 2).

Os neutrófilos (Figura 2 b-c) são células circulares com citoplasma de coloração neutrofílica que ocasionalmente exibem pequenos vacúolos; o núcleo apresenta várias formas, por vezes são verificadas poucas segmentações, localizando-se geralmente na periferia da célula. Este granulócito apresentou reação positiva difusa para PAS (Figura 3 a), sudanofilia (Figura 3 d) e reação positiva para o azul de bromofenol (Figura 3 g). O leucócito granular PAS-positivo (Figura 2 d) possui forma circular, núcleo excêntrico e granulação citoplasmática neutra, sem afinidade pelo corante ácido ou básico, mas apresentou reação intensamente positiva ao PAS (Figura 3 b), persistindo após o tratamento com amilase salivar revelando a presença de glicoproteínas neutras.

Eosinófilos (Figura 2 e) apresentam citoplasma e granulação circular de coloração eosinofílica, com intensa sudanofilia (Figura 3 e) e reação positiva para azul de bromofenol (Figura 3 h). Basófilos (Figura 2f) foram os menores leucócitos granulares, exibindo fina granulação e ocasionalmente pequenos vacúolos citoplasmáticos. Seus grânulos apresentaram sudanofilia (Figura 3 f), reação positiva para azul de bromofenol (Figura 3 i) e reação positiva para o azul de toluidina, com metacromasia.

Monócitos (Figura 2 g) são células pleomórficas exibindo projeções citoplasmáticas e poucos vacúolos. Os linfócitos (Figura 2 h) são os menores leucócitos agranulares apresentando alta relação núcleo/citoplasma e podem exibir pequenas projeções citoplasmáticas. Monócitos e linfócitos não mostraram reação positiva para nenhum dos métodos citoquímicos utilizados. Os trombócitos são células predominantemente elípticas e ocasionalmente circulares (Figura 2 i), com fina granulação acidofílica em seu citoplasma, assim como pequenos vacúolos mostrando reação positiva para PAS (Figura 3 c); grânulos de glicogênio localizados predominantemente nos pólos ou no centro da célula, com reação difusa em algumas células foram observados.

Figura 2. Células sanguíneas de *Sorubim lima*. Eritrócitos (a), neutrófilos (b-c), LG-PAS (d), eosinófilo (e), basófilo (f), monócito (g), linfócitos (h) e trombócito (i). Coloração MGGW. Barra = 5  $\mu$ m.

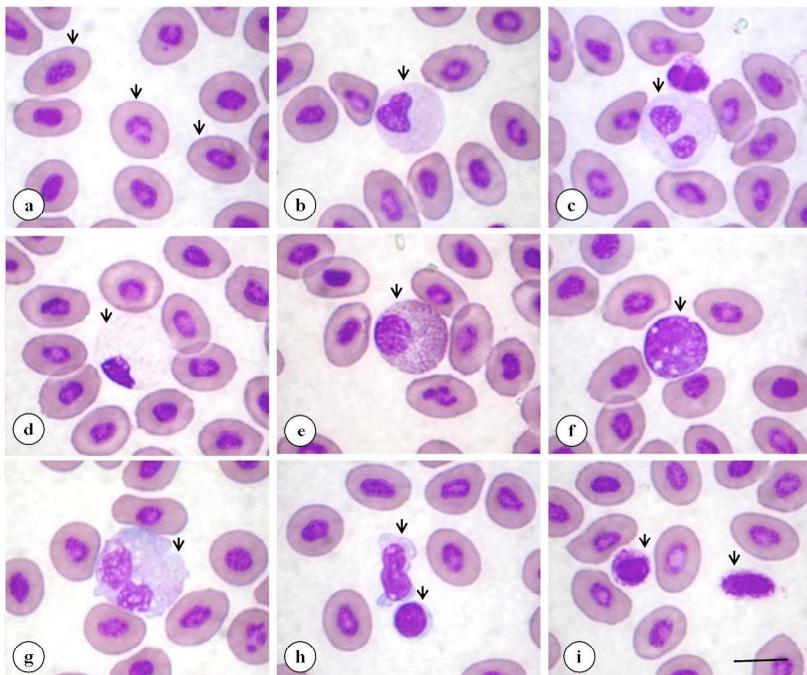
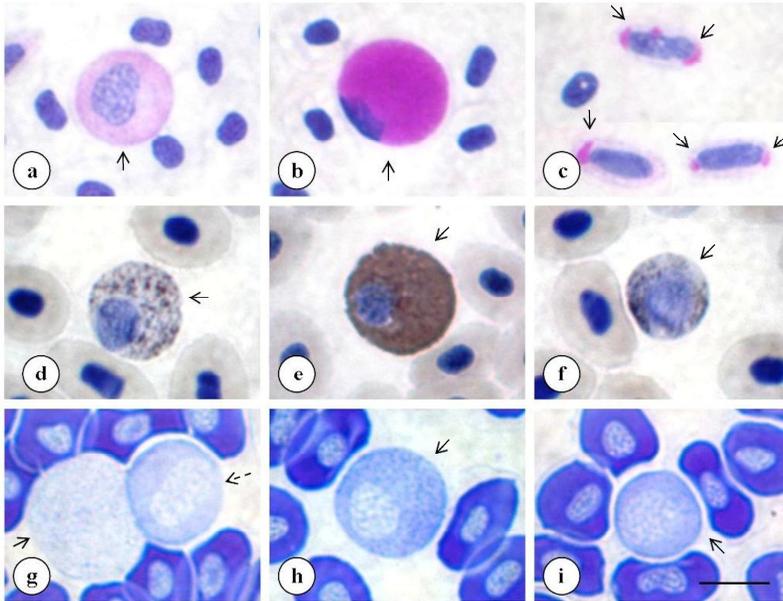


Figura 3. Colorações citoquímicas das células sanguíneas de *Sorubim lima*. Coloração PAS positiva em grânulos de neutrófilo (a), LG-PAS (b) e trombócitos (c). Reação sudanoflica em neutrófilos (d), eosinófilos (e) e basófilos (f). Coloração positiva com azul de bromofenol em grânulos de neutrófilo (g - seta pontilhada) com reação negativa em LG-PAS (g - seta contínua), positiva para eosinófilo (h) e basófilo (i). Barra = 5  $\mu$ m.



## Discussão

Este estudo quantificou as células das séries vermelha e branca, bem como determinou a concentração de proteínas totais sanguíneas do *S. Lima* por meios morfológicos e citoquímicos, além de fornecer os intervalos de referência dos valores das células circulantes. Em contraste com o encontrado neste estudo, apenas neutrófilos e eosinófilos foram registrados em surubim híbrido *Pseudoplatystoma corruscans* X *P. reticulatum* (Beelen et al. 2003), neutrófilos e basófilos no bagre do canal (Tavares-Dias e Moraes 2007 b) e neutrófilos, eosinófilos e heterófilos em atipa *Hoplosternum littorale* (Callichthyidae) (Tavares-Dias e Barcellos 2005). Por outro lado, as características morfológicas dos neutrófilos e eosinófilos foram semelhantes aos estudos anteriores.

Sudanofilia observada nos grânulos de eosinófilos, basófilos e neutrófilos de *S. lima* foi também relatada em dourado *Salminus brasiliensis* (Veiga et al. 2000), surubim híbrido (Beelen et al. 2003), tilápia azul *Oreochromis aureus* (Silveira-Coffigny et al. 2005), tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* (Ueda et al. 2001), atum *Thunnus maccoyii* (Rough et al. 2005) e pirarucu *Arapaima gigas* (Araújo et al. 2009), indicando presença de lipídeos. Estes componentes lipídicos atuam como reservas de energia das células onde são degradados por enzimas lisossomais (Araújo et al. 2009).

Neutrófilos, eosinófilos e basófilos de *S. lima* mostraram coloração positiva para azul de bromofenol, à semelhança dos eosinófilos de dourado (Veiga et al. 2000) e tilápia do Nilo (Ueda et al. 2001), bem como monócitos, neutrófilos e eosinófilos de pirarucu (Araújo et al. 2009). Este método citoquímico marca proteínas em leucócitos granulares, moléculas orgânicas envolvidas na morte de microorganismos (Araújo et al. 2009).

Características morfológicas e citoquímicas dos granulócitos LG-PAS em *S. lima* foram semelhantes às descritas para a carpa comum *Cyprinus carpio* (Tavares-Dias e Moraes 2004) e carpa cabeça grande *Aristichthys nobilis* (Tavares-Dias 2006 b). Esses granulócitos apresentaram reação fortemente positiva para PAS após a digestão pela amilase salivar indicando a presença de glicoproteínas (Tavares-Dias 2006 b) corroborando a nomenclatura LG-PAS dada por Barber e Westermann (1975) e indicando o método de PAS como marcador para tal célula.

O glicogênio, fonte de energia para as células fagocíticas, acumula-se com a maturação das células (Veiga et al. 2000; Ueda et al. 2001). Os trombócitos e neutrófilos de *S. Lima* mostraram reação positiva ao PAS, semelhante ao descrito para outras espécies de peixes de água doce (Veiga et al. 2000; Ueda et al. 2001; Tavares-Dias 2006 b; Tavares-Dias e Moraes 2006) e marinha (Rough et al. 2005). Por outro lado, também foi descrita reação PAS-positiva para monócitos de tilápia azul (Silveira-Coffigny et al. 2005), monócitos e linfócitos de tilápia do Nilo (Ueda et al. 2001), eosinófilos de atum (Rough et al. 2005), monócitos e eosinófilos de pirarucu (Araújo et al. 2009), heterófilos de piracanjuba *Brycon orbignyanus* (Tavares-Dias e Moraes 2006) e heterófilos, basófilos, trombócitos e linfócitos de “murray cod” *Maccullochella peelii peelii* (Shigdar et al. 2009).

O perfil hematológico em peixes está diretamente relacionado ao gênero, desenvolvimento gonadal, o estado nutricional, a sazonalidade, o ambiente e suplementação dietética (Tavares-Dias e Moraes 2004; Babalola et al. 2009). Dentre as proteínas citoplasmáticas, as enzimas são as mais importantes por participarem da fagocitose (Tavares-Dias 2006 a; Tavares-Dias et al. 2007 b). Valores de proteínas totais de *S. lima* foram semelhantes ao encontrado em bagre do canal (Tavares-Dias e Moraes 2007 a) e "Günther's catfish" *Horabagrus brachysoma* (Prasad e Charles 2010) e foi menor do que a observada em pintado (Beelen et al. 1998). A concentração de proteínas plasmáticas pode variar de acordo com a condição imune e deve ser considerada a diferença interespecífica em peixes.

Variações no ERT de peixes podem indicar respostas aos níveis de oxigênio dissolvido na água de tanques, viveiros e ambiente natural. Por conseguinte, as concentrações de hemoglobina, VCM e CHCM são úteis para identificar e classificar o tipo de anemia que ocorre nos peixes. Por exemplo, a redução do CHCM pode indicar um quadro anêmico, enquanto que o aumento pode estar relacionado com hemólises na amostra sanguínea (Labarrère et al. 2012).

Valores do eritrograma para *S. lima* foram relativamente próximos aos descritos para os pimelodídeos jundiá *R. quelen* (Barcellos et al. 2003; Borges et al. 2004), bagre do canal (Tavares-Dias e Moraes 2007 a), cachara (Ranzani-Paiva et al. 2005) e *Synodontes membranacea* (Owolabi 2011). Em contraste, o VCM de *S. lima* foi maior do que o encontrado em *R. quelen* (Borges et al. 2004) e *S. membranacea* (Owolabi 2011). Maior tamanho de eritrócitos indica maior área de membrana para efetuar trocas gasosas otimizando a respiração (Carvalho et al. 2009). Assim, peixes com eritrócitos de

maior tamanho podem apresentar menor quantidade de eritrócitos para carrear hemoglobina (Tavares-Dias e Moraes, 2004) com troca gasosa eficiente (Carvalho et al. 2009).

O sangue circulante do *S. lima* é composto por grande variedade de tipos celulares como monócitos, linfócitos (predominantes), basófilos, eosinófilos, neutrófilos e as células LG-PAS, além de trombócitos, os quais apresentam funções de defesa e coagulação do sangue (Tavares-Dias et al. 2007 a). Este estudo mostrou intervalos de referência maiores em trombócitos, monócitos, basófilos e neutrófilos, e intervalos 25 - 75% menores nos linfócitos quando comparados aos de *I. punctatus* (Tavares-Dias e Moraes 2007 b). Entre os granulócitos, os neutrófilos foram as células mais abundantes e apresentaram coloração positiva para proteínas, glicogênio e lipídeos.

Diferenças nos intervalos de referência entre os peixes estão relacionadas às variações interespecífica e ambiental. As variáveis relativas à série vermelha são de grande valia na identificação de processos anemiantes, enquanto que o leucograma pode ser útil na compreensão dos processos infecciosos e outros estados de desequilíbrio homeostático. O perfil hematológico do *S. lima* em condições adequadas de criação, como aqui estudado, é útil para o diagnóstico na piscicultura e permite comparação entre peixes da mesma espécie, família e/ou ordem.

### **Agradecimentos**

Os autores agradecem ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) por bolsa de Produtividade em Pesquisa a M.L. Martins e M. Tavares-Dias, à FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) por bolsa de Mestrado a S.B. Pádua e à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) por bolsas de Doutorado e Mestrado a G.T. Jerônimo e M.B. Bianchi, respectivamente.

### **Referências**

Araújo, C.S.O., Tavares-Dias, M., Gomes, A.L.S., Andrade, S.M.S., Lemos, J.R.G., Oliveira, A.T., Cruz, W.R. 2009. Infecções parasitárias e parâmetros sanguíneos em *Arapaima gigas* Schinz, 1822 (Arapaimidae) cultivados no estado do Amazonas, Brasil. In: Tavares-Dias, M. (Org.). Manejo e sanidade de peixes em cultivo. Macapá: Embrapa Amapá. 1: 389-424.

- Babalola, T.O.O., Adebayo, M.A., Apata, D.F., Omotosho, J.S. 2009. Effect of dietary alternative lipid sources on haematological parameters and serum constituents of *Heterobranchus longifilis* fingerlings. *Tropical Animal Health and Production*, 41: 371-377.
- Barber, D.L., Westermann, J.E.M. 1975. Morphological and histochemical studies on a PAS-positive granular leucocyte in blood and connective tissues of *Catostomus commersoni* Lacépède (Teleostei: Pisces). *American Journal of Anatomy*, 142: 205-220.
- Barcellos, L.J.G., Kreutz, L.C., Rodrigues, L.B., Fioreze, I., Quevedo, R.M., Cericato, L., Conrad, J., Soso, A.B., Fagundes, M., Lacerda, L.A., Terra, S. 2003. Haematological and biochemical characteristics of male jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy e Gaimard, Pimelodidae): changes after acute stress. *Aquaculture Research*, 34: 1465-1469.
- Beelen, R., Heijden, T., Booms, R., Verdegem, M., Pavanelli, G.C. 1998. Blood values of young brazilian catfish *Pseudoplatystoma corruscans* (Agassiz, 1829). *Acta Scientiarum*, 20(2): 147-150.
- Beelen, R., Boyd, B., Garavello, J.C. Pavanelli, G.C., Ainsworth, A.J. 2003. A cytochemical, light and electron microscopic study of the peripheral blood leucocytes of hybrid surubim catfish, *Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma fasciatum*. *Comparative Clinical Pathology*, 12: 61-68.
- Borges, A., Scotti, L.V., Siqueira, D.R., Jurinitz, D.F., Wassermann, G.F. 2004. Hematologic and serum biochemical values for jundiá *Rhamdia quelen*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 30: 21-25.
- Carvalho, E.G., Seibert, C.S., Coelho, M.S., Marques, E.E. 2009. Parâmetros hematológicos de espécies nativas do rio Tocantins, *Auchenipterus nuchalis*, *Psectrogaster amazônica*, *Squaliforma emarginata* (Teleostei, Ostariophys). *Acta Scientiarum Biological Sciences*, 31(2): 173-177.
- Collier, H.B. 1944. The standardization of blood haemoglobin determinations. *Canadian Medical Association Journal*, 50: 550-552.
- Fukushima, H., Bailone, R.L., Weiss, L.A., Martins, M.L., Zaniboni-Filho, E. 2012. Triploidy in the hematology of jundiá juveniles (Siluriformes: Heptapteridae). *Brazilian Journal of Biology*, 72(1): 147-151.
- Goldenfarb, P.B., Bowyer, F.P., Hall, E., Brosius, E. 1971. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determinations. *American Journal of Clinical Pathology*, 56(1): 35-39.
- Ishikawa, M.M., Pádua, S.B., Satake, F., Hisano, H., Jerônimo, G.T., Martins, M.L. 2010. Heparin and Na<sub>2</sub>EDTA as anticoagulants for

- hybrid surubim catfish *Pseudoplatystoma reticulatum* x *P. corruscans*: efficacy and hematological changes. *Ciência Rural*, 40(7): 1557-1561.
- Jerônimo, G.T., Martins, M.L., Backmann, F., Greinert-Goulart, J.A., Schmitt-Júnior, A.A., Ghiraldelli, L. 2009. Hematological parameters of *Pimelodus maculatus* (Osteichthyes: Pimelodidae) from polluted and non-polluted sites in the Itajaí-Açú river, Santa Catarina state, Brazil. *Acta Scientiarum Biological Sciences*, 31(2): 179-183.
- Labarrère, C.R., Faria, P.M.C., Teixeira, E.A., Melo, M.M. 2012. Erythrogram of hybrids surubins (*Pseudoplatystoma corruscans* X *P. reticulatum*) kept at different stocking densities. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 64(2): 510-514.
- Le Cren, E.D. 1951. The length-weight relationship and seasonal cycle in gonadal weight and condition in the perch *Perca fluviatilis*. *Journal of Animal Ecology*, 20: 201-19.
- Lison, L. 1960. Lipides et lipoprotéines. In: Lison, L. *Histochemie et cytochimie animales. Principes et methods*. Paris, Gauthier Villars, 2: 449-530.
- Martins, M.L., Shoemaker, C.A., Xu, D., Klesius, P.H. 2011 a. Effect of parasitism on vaccine efficacy against *Streptococcus iniae* in Nile tilapia. *Aquaculture* 314: 18-23.
- Martins, M.L., Xu, D., Shoemaker, C.A., Klesius, P.H. 2011 b. Temperature effects on immune response and hematological parameters of channel catfish *Ictalurus punctatus* vaccinated with live theronts of *Ichthyophthirius multifiliis*. *Fish and Shellfish Immunology* 31: 774-780.
- Mazia, D., Brewer, P.A., Alfert, M. 1953. The cytochemical staining and measurement of protein with mercuric bromophenol blue. *The Biological Bulletin*, 104: 57-67.
- McManus, J.F.A. 1946. Histological demonstration of mucin after periodic acid. *Nature*, 158: 202.
- Moraes, F.R., Martins, M.L. 2004. Predisposing conditions and principal diseases of intensive fish farming teleosts. In Cyrino, J.E.P., Urbinatti, E.C., Fracalossi, D.M., Castagnolli, N. (Eds.). *Especial topics in intensive freshwater fish culture in the Tropics*. São Paulo/SP, Brazil, TecArt, 343-383.
- Owolabi, O.D. 2011. Haematological and serum biochemical profile of the upside-down catfish *Synodontis membranacea* Geoffroy Saint Hilaire from Jebba Lake, Nigeria, *Comparative Clinical Pathology* 20: 163-172.

- Pádua, S. B., Ishikawa, M.M. 2011. Metacromasia para identificação de basófilos sanguíneos em surubim híbrido: contribuição metodológica. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 33: 147-150.
- Pádua, S.B., Ishikawa, M.M., Kasai, R.Y.D., Jerônimo, G.T., Carrijo-Mauad, J.R. 2012. Parasitic infestations in hybrid surubim catfish fry (*Pseudoplatystoma reticulatum* x *P. corruscans*). *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 34(3): 235-240.
- Pádua, S.B., Ishikawa, M.M., Ventura, A.S., Jerônimo, G.T., Martins, M.L., Tavares, L.E.R. 2013. Brazilian catfish parasitized by *Epistylis* sp. (Ciliophora, Epistylidae), with description of parasite intensity score. *Parasitology Research*, 112: 443-446.
- Prasad, G., Charles, S. 2010. Haematology and leucocyte enzyme cytochemistry of a threatened yellow catfish *Horabagrus brachysoma* (Gunther 1864). *Fish Physiology and Biochemistry*, 36: 435-443.
- Ranzani-Paiva, M.J.T., Romagosa, E., Ishikawa, C.M. 2005. Hematological parameters of “cachara”, *Pseudoplatystoma fasciatum* Linnaeus, 1766 (Osteichthyes, Pimelodidae), reared in captivity. *Boletim do Instituto de Pesca*, 31(1): 47-53.
- Rossi, L.M. 2001. Ontogenetic diet shifts in a neotropical catfish, *Sorubim lima* (Schneider) from the river paraná system. Instituto Nacional de Limnologia (IN ALI-CONICET), Santo Tomé/S<sup>ta</sup> Fé, Argentina. Blackwell Science Ltd.
- Rough, K.M., Nowak, B.F., Reuter, R.E. 2005. Haematology and leucocyte morphology of wild caught, *Thunnus maccoyii*. *Journal of Fish Biology*, 66: 1649-1659.
- Silva, B.C., Mourino, J.L.P., Vieira, F.N., Jatoba, A., Seiffert, W.Q., Martins, M.L. 2012 a. Haemorrhagic septicaemia in the hybrid surubim (*Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma fasciatum*) caused by *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture Research*, 43(6): 908-916.
- Silva, L.L., Parodi, T.V., Reckziegel, P., Garcia, V.O., Bürger, M.E., Baldisserotto, B., Malmann, C.A., Pereira, A.M.S., Heinzmann, B.M. 2012 b. Essential oil of *Ocimum gratissimum* L.: Anesthetic effects, mechanism of action and tolerance in silver catfish, *Rhamdia quelen*. *Aquaculture*, 350-353: 91-97.
- Silveira-Coffigny, R., Cruz-Quintana, Y., Martínez-Pérez, M., Ascencio-Valle, F. 2005. Cytochemical and morphologic aspects of the peripheral blood cells of *Oreochromis aureus* S., Cichlidae. *Revista Electrónica de Veterinária*, 6(10): 1-8.

- Shibatta, O.A., Novelli, J.L., Dias, J.H.P., Britto, S.G.C., Filho, M.C. 2011. Reprodução em cativeiro do Jurupecê, *Sorubim lima* (Siluriformes, Pimelodidae), por meio de indução hormonal. *Semina: Ciências Agrárias*, 32(1): 363-372.
- Shigdar S., Harford, A., Ward, A.C. 2009. Cytochemical characterization of the leucocytes and thrombocytes from Murray cod (*Maccullochella peelii peelii*, Mitchell). *Fish and Shellfish Immunology*, 26: 731-736.
- Tavares-Dias, M. 2006 a. A morphological and cytochemical study of erythrocytes, thrombocytes and leukocytes in four freshwater teleosts. *Journal of Fish Biology*, 68: 1822-1833.
- Tavares-Dias, M. 2006 b. Cytochemical method for staining fish basophils. *Journal of Fish Biology*, 69: 312-317.
- Tavares-Dias, M., Moraes, F.R. 2004. Hematologia de peixes teleósteos. Ribeirão Preto/SP, Vilimpres, 144p. : il., 22cm.
- Tavares-Dias, M., Barcellos, J.F.M. 2005. Peripheral blood cells of the armored catfish, *Hoplosternum littorale* Hancock, 1828: a morphological and cytochemical study. *Brazilian Journal of Morphological Sciences*, 22(4): 215-220.
- Tavares-Dias, M., Moraes, F.R. 2006. Morphological, cytochemical, and ultrastructural study of thrombocytes and leukocytes in Neotropical fish, *Brycon orbignyanus* Valenciennes, 1850 (Characidae, Bryconinae). *Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology*, 38: 209-215.
- Tavares-Dias, M., Moraes, F.R. 2007 a. Leukocyte and thrombocyte reference values for channel catfish, *Ictalurus punctatus* Raf, with an assessment of morphologic, cytochemical, and ultrastructural features. *Veterinary Clinical Patology*, 36(1): 49-54.
- Tavares-Dias, M., Moraes, F.R. 2007 b. Haematological and biochemical reference intervals for farmed channel catfish. *Journal of Fish Biology*, 71: 383-388.
- Tavares-Dias, M., Ono, E.A., Pilarski, F., Moraes, F.R. 2007 a. Can thrombocytes participate in the removal of cellular debris in the blood circulation of teleost fish? A cytochemical study and ultrastructural analysis. *Journal of Applied Ichthyology*, 23: 709-712.
- Tavares-Dias, M., Moraes, F.R., Onaka, E.M., Rezende, P.C.B. 2007 b. Changes in blood parameters of hybrid tambacu fish parasitized by *Dolops carvalhoi* (Crustacea, Branchiura), a fish louse. *Veterinarski Arhiv*, 77(4): 355-363.
- Ueda, I.K., Egami, M.I., Sasso, W.S., Matushima, E.R. 2001. Cytochemical aspects of the peripheral blood cells of *Oreochromis*

*niloticus*, tilápia, Linnaeus, 1758 (Cichlidae, Teleostei) - Part II. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, 38: 273-277.

Veiga, M.L., Egami, M.I., Ranzani-Paiza, M.J.P., Rodrigues, E.L. 2000. Aspectos morfológicos y citoquímicos de las células sanguíneas de *Salminus maxillosus* Valenciennes, 1840 (Characiformes, Characidae). Revista Chilena de Anatomía, 18(2): 245-250.

Wintrobe, M.M. 1934. Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. Folia Haematologica, 51: 32-49.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estabelecimento do quadro hematológico do *Sorubim lima* contribui para auxiliar o diagnóstico do desequilíbrio homeostático em peixes criados. Este recurso está fundamentado na determinação dos intervalos de referência da população saudável, além da descrição das características morfológicas e citoquímicas das células. Diferenças entre os valores dos parâmetros do sangue estão relacionadas às variações interespecífica e ambiental. As variáveis relativas à série vermelha são de grande valia na identificação de processos anemiantes, enquanto que o leucograma pode ser útil na compreensão dos processos infecciosos.

Este trabalho apresenta a primeira investigação hematológica em jurupensém e pode auxiliar na comparação de outros perfis sanguíneos de peixes. Resultados semelhantes a outros siluriformes foram observados nas características morfológicas de neutrófilos e eusínófilos. ERT, hematócrito e VCM apresentaram índices com as menores variações, em relação a demais pimelodídeos. Diferentemente de outros peixes siluriformes, *S. lima* apresentou simultaneamente eosinófilos e basófilos circulantes. O perfil sanguíneo deste bagre serve como método complementar na detecção das variações produzidas por agentes estressantes, infecciosos e parasitários em piscicultura continental.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO

BARCELLOS, L.J.G.; KREUTZ, L.C.; RODRIGUES, L.B.; FIOREZE, I.; QUEVEDO, R.M.; CERICATO, L.; CONRAD, J.; SOSO, A.B.; FAGUNDES, M.; LACERDA, L.A.; TERRA, S. Haematological and biochemical characteristics of male jundiá *Rhamdia quelen* Quoy e Gaimard, Pimelodidae: changes after acute stress. **Aquaculture Research**, v.34, p.1465-1469, 2003.

BEELEN, R.; HEIJDEN, T.; BOOMS, R.; VERDEGEM, M.; PAVANELLI, G.C. Blood values of young brazilian catfish *Pseudoplatystoma corruscans* (Agassiz, 1829). **Acta Scientiarum**, v.20, n.2, p.147-150, 1998.

BEELEN, R.; BOYD, B.; GARAVELLO, J.C.; PAVANELLI, G.C.; AINSWORTH, A.J. A cytochemical, light and electron microscopic study of the peripheral blood leucocytes of hybrid surubim catfish, *Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma fasciatum*. **Comparative Clinical Pathology**, v.12, p.61-68, 2003.

BELO, M.A.A., SCHALCH, S.H.C., MORAES, F.R., SOARES, V.E., OTOBONI, A.M.M.B., MORAES, J.E.R. Effect of dietary supplementation with vitamin E and stocking density on macrophage recruitment and giant cell formation in the teleost fish, *Piaractus mesopotamicus*. **Journal of Comparative Pathology**, v.133, p.146-154, 2005.

BELO, M.A.A., MORAES, J.R.E., SOARES, V.E., MARTINS, M.L., BRUM, C.D., MORAES, F.R. Vitamin C and endogenous cortisol in foreign-body inflammatory response in pacus. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.47, n.7, p.1015-1021, 2012.

BORGES, A.; SCOTTI, L.V.; SIQUEIRA, D.R.; JURINITZ, D.F.; WASSERMANN, G.F. Hematologic and serum biochemical values for jundiá *Rhamdia quelen*. **Fish Physiology and Biochemistry**, v.30, p.21-25, 2004.

BRITSKI, H.A.; SILIMON, K.Z. de S.; LOPES, B.S. **Peixes do pantanal: manual de identificação**. Embrapa-SPI: Brasília, Embrapa-CPAP: Corumbá, 184p. : il., 1999.

CAMARGO, S.O.; POUHEY, J.L.; MARTINS, C. Parâmetros eritrocitários do jundiá *Rhamdia quelen* submetido à dieta com diferentes níveis de proteína. **Ciência Rural**, v.35, n.6, p.1406-1411, 2005.

CLAUDIANO, G.S., PETRILLO, T.R., MANRIQUE, W.G., CASTRO, M.P., LOUREIRO, B.A., MARCUSO, P.F., BELO, M.A.A., MORAES, J.R.E., MORAES, F.R. Acute aerocystitis in *Piaractus mesopotamicus*: participation of eicosanoids and pro-inflammatory cytokines. **Fish & Shellfish Immunology**, v.34, p.1057-1062, 2013.

CREPALDI, D.V.; FARIA, P.M.C.; TEIXEIRA, E.A.; RIBEIRO, L.P.; COSTA, A.A.P.; MELO, D.C.; CINTRA, A.P.R.; PRADO, S.A.; COSTA, F.A.A.; DRUMOND, M.L.; LOPES, V.E.; MORAES, V.E. O surubim na aquicultura do Brasil. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.30, p.150-158, 2006.

FAO, Food and Agriculture Organization. **The State of World Fisheries and Aquaculture**. Fisheries and Aquaculture Department, Rome, 2012.

FROESE, R.; PAULY, D. **World wide web electronic publication** <fishbase.org> 15 mar., 2002.

FUKUSHIMA, H., BAILONE, R.L., WEISS, L.A., MARTINS, M.L., ZANIBONI-FILHO, E. Triploidy in the hematology of jundia juveniles (Siluriformes: Heptapteridae). **Brazilian Journal of Biology**, v.72, n.1, p.147-151, 2012.

ISHIKAWA, M.M.; PÁDUA, S.B.; SATAKE, F.; HISANO, H.; JERÔNIMO, G.T.; MARTINS, M.L. Heparin and Na<sub>2</sub>EDTA as anticoagulants for hybrid surubim catfish *Pseudoplatystoma reticulatum* x *P. corruscans*: efficacy and hematological changes. **Ciência Rural**, v.40, n.7, p.1557-1561, 2010.

ISHIKAWA, M.M.; PÁDUA S.B.; VENTURA, A.S.; JERÔNIMO, G.T.; RUSSO, M.R.; CARRIJO-MAUAD, J.R.; MARTINS, M.L. Biologia e Estratégias na Sanidade de Alevinos de Bagres Carnívoros. **Embrapa Agropecuária Oeste**, documentos 115, 2012.

JERÔNIMO, G.T.; MARTINS, M.L.; BACKMANN, F.; GREINERT-GOULART, J.A.; SCHMITT-JÚNIOR, A.A.; GHIRALDELLI, L. Hematological parameters of *Pimelodus maculatus* (Osteichthyes: Pimelodidae) from polluted and non-polluted sites in the Itajaí-Açu river, Santa Catarina state, Brazil. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v.31, n.2, p.179-183, 2009.

MARTINS, M.L.; GHIRALDELLI, L. *Trichodina magna* Van As and Basson, 1989 (Ciliophora: Peritrichia) from cultured Nile tilapia in the State of Santa Catarina, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v.68, p.169-172, 2008.

MARTINS, M.L.; SHOEMAKER, C.A.; XU, D.; KLESIUS, P.H. Effect of parasitism on vaccine efficacy against *Streptococcus iniae* in Nile tilapia. **Aquaculture**, v.314, p.18-23, 2011 a.

MARTINS, M.L.; XU, D.; SHOEMAKER, C.A.; KLESIUS, P.H. Temperature effects on immune response and hematological parameters of channel catfish *Ictalurus punctatus* vaccinated with live theronts of *Ichthyophthirius multifiliis*. **Fish & Shellfish Immunology**, v.31, p.774-780, 2011 b.

MORAES, F.R., MARTINS, M.L. **Predisposing conditions and principal diseases of intensive fish farming teleosts**. In Cyrino, J.E.P., Urbinatti, E.C., Fracalossi, D.M., Castagnolli, N. (Eds.). Especial topics in intensive freshwater fish culture in the Tropics. São Paulo/SP, Brazil, TecArt, 343-383, 2004.

PÁDUA, S.B.; ISHIKAWA, M.M. Metacromasia para identificação de basófilos sanguíneos em surubim híbrido: contribuição metodológica. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.33, p.147-150, 2011.

PÁDUA, S.B.; ISHIKAWA, M.M.; KASAI, R.Y.D.; JERÔNIMO, G.T.; CARRIJO-MAUAD, J.R. Parasitic infestations in hybrid surubim catfish fry *Pseudoplatystoma reticulatum* x *P. corruscans*. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.34, n.3, p.235-240, 2012.

PÁDUA, S.B.; ISHIKAWA, M.M.; VENTURA, A.S.; JERÔNIMO, G.T.; MARTINS, M.L.; TAVARES, L.E.R. Brazilian catfish parasitized by *Epistylis* sp. (Ciliophora, Epistylididae), with description of parasite intensity score. **Parasitology Research**, v.112, p.443-446, 2013.

PENHA, J.M.F.; MATEUS, L.A.F. Sustainable harvest of two large predatory catfish in the Cuiabá river basin, northern Pantanal, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v.67, n.1, p.81-89, 2007.

RANZANI-PAIVA, M.J.T.; ROMAGOSA, E.; ISHIKAWA, C.M. Hematological parameters of “cachara” *Pseudoplatystoma fasciatum* Linnaeus, 1766 (Osteichthyes, Pimelodidae) reared in captivity. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v.31, n.1, p.47-53, 2005.

REIS, R.E.; KULLANDER S.O.; FERRARIS, C.J. **Check list of the freshwater fishes of south and Central America**. EDIPUCRS, Porto Alegre/RS, Brasil, 729 p., 2003.

ROSSI, L.M. **Ontogenetic diet shifts in a neotropical catfish, *Sorubim lima* Schneider from the river paraná system**. Instituto Nacional de Limnologia (IN ALI-CONICET), Blackwell Science Ltd, Santo Tomé/S<sup>ta</sup> Fé, Argentina, 2001.

SALVADOR, R., TOAZZA, C.S., MORAES, J.R.E., MORAES, F.R. Inflammatory responses of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* to *Streptococcus agalactiae*: effects of vaccination and yeast diet supplement. **Diseases of Aquatic Organisms**, v.98, p.235-241, 2012.

SHIBATTA, O.A.; NOVELLI, J.L.; DIAS, J.H.P.; BRITTO, S.G.C.; FILHO, M.C. Reprodução em cativeiro do Jurupecê, *Sorubim lima* (Siluriformes, Pimelodidae), por meio de indução hormonal. **Semina: Ciências Agrárias**, v.32, n.1, p.363-372, 2011.

SILVA, B.C.; MOURINO, J.L.P.; VIEIRA, F.N.; BEZERRA, A.J.M.; SEIFFERT, W.Q.; MARTINS, M.L. Haemorrhagic septicaemia in the hybrid surubim *Pseudoplatystoma corruscans* x *Pseudoplatystoma fasciatum* caused by *Aeromonas hydrophila*. **Aquaculture Research**, v.43, n.6, p.908-916, 2012.

TAVARES-DIAS, M. A morphological and cytochemical study of erythrocytes, thrombocytes and leukocytes in four freshwater teleosts. **Journal of Fish Biology**, v.68, p.1822-1833, 2006.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F.R. **Hematologia de peixes teleósteos**. Vilimpress, Ribeirão Preto/SP, Brasil, 144p. : il., 22cm, 2004.

TAVARES-DIAS, M., MORAES, F.R. Leukocyte and thrombocyte reference values for channel catfish, *Ictalurus punctatus* Raf, with an assessment of morphologic, cytochemical, and ultrastructural features. **Veterinary Clinical Pathology**, v.36, n.1, 2007.

VOLPEDO, A.V.; FUCHS, D.V. Ecomorphological patterns of the *lapilli* of Paranoplatense Siluriforms (South America). **Fisheries Research**, v.102, p.160-165, 2010.

ZANIBONI-FILHO, E.; NUÑER, A.P.O. (Org.). **Reservatório de Itá: estudos ambientais, desenvolvimento de tecnologias de cultivo e conservação da ictiofauna**. Editora da UFSC, Florianópolis/SC, Brasil, 319p. : il., 2008.

ZANIBONI-FILHO, E.; MEURER, S.; SHIBATTA, O.A.; NUÑER, A.P.O. **Catálogo ilustrado de peixes do alto rio Uruguai**. Editora da UFSC, Florianópolis/SC, Brasil, 128p. : il., 2004.