

**CÉLULAS SANGÜÍNEAS E CONTAGEM
DIFERENCIAL DE LEUCÓCITOS EM
PIRAPITINGA-DO-SUL, *Brycon* sp., SOB
CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS DE CRIAÇÃO
INTENSIVA¹**

Maria José Tavares Ranzani-Paiva²

1. INTRODUÇÃO

A necessidade de se identificarem os leucócitos de uma determinada espécie existe quando se quer compreender a base celular dos processos patológicos. Os leucócitos de muitas espécies de peixes têm sido estudados sob o ponto de vista morfológico e funcional em organismos capturados em seu ambiente natural (13, 14, 17, 19, 20, 21, 22), porém poucos são os trabalhos que dizem respeito às espécies em cativeiro (4, 16, 18, 20).

O objetivo deste trabalho foi estudar as variações da fórmula leucocitária de exemplares de *Brycon* sp., submetidos à criação intensiva em 2 tanques com a mesma densidade, considerando-se separadamente os sexos e os estádios de maturação gonadal.

¹ Aceito para publicação em 11-10-1994.
Convênio CESP/SAA-IP.

² Instituto de Pesca-CPA-SAA. Av. Francisco Matarazzo, 455, CEP 05031-900, São Paulo, SP (bolsista CNPq).

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os peixes utilizados neste estudo foram capturados em tanques de criação da Estação de Aqüicultura de Paraibuna, São Paulo, da Companhia Energética de São Paulo (CESP), durante o período de março de 1984 a maio de 1986.

Os dois tanques de alvenaria utilizados mediam 10 x 20 m, com coluna de água de 1,5 m. No fundo foi colocado uma camada de terra arenosa e feita a calagem na proporção de 60 kg de cal/tanque. Em um dos tanques colocaram-se 400 indivíduos de um ano e quatro meses (tanque C₁₃) e, em outro, 400 de dois anos e seis meses (tanque C₁₄). Os peixes receberam ração balanceada (30% de proteína bruta), duas vezes ao dia, na proporção de 3% a 1% do peso vivo, de acordo com o mês do ano (menor percentagem nos meses frios). Bimestralmente, foram pesados (peso total, em gramas) 40 exemplares de cada tanque (10% do lote inicial) para o ajuste da quantidade de ração.

Para as análises sangüíneas coletaram-se, mensalmente, 10 exemplares de cada tanque. Após a anestesia com clorobutanol (30 g de clorobutanol diluídos em álcool absoluto; desta solução foram utilizados 3 ml diluídos em 1 litro de água), os peixes foram pesados (peso total, em gramas) e o sangue retirado por punção caudal com auxílio de seringas e agulhas descartáveis, heparinizadas. Anotaram-se os dados de comprimento total, em cm, após o que foi feita uma incisão longitudinal ventral para exposição das gônadas, para identificação macroscópica do sexo e dos estádios de maturação gonadal dos indivíduos, segundo NIKOLSKII (15).

Com o sangue obtido foram feitas extensões, coradas pelo Leishman e utilizadas para a identificação e descrição dos diferentes tipos celulares e contagem diferencial dos leucócitos, segundo PITOMBEIRA (21). De cada lâmina contaram-se 200 células brancas e determinou-se a percentagem de cada uma delas.

Calcularam-se as médias, os desvios-padrão das médias e os intervalos de confiança das percentagens de cada leucócito dos indivíduos dos dois tanques, separados por estádios de maturação gonadal. Os resultados foram analisados por inspeção gráfica.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para este estudo foram analisados 407 exemplares, sendo 213 (135 fêmeas e 78 machos) do tanque C₁₃ (comprimento total variando de 17,2 a 30,4 cm e peso de 46,4 a 218,3 g) e 194 fêmeas do tanque C₁₄

(comprimento total variando de 23,0 a 31,0 cm e peso de 119,6 a 290,2 g).

No tanque C₁₄ não foi possível uma análise do sangue dos machos, em razão do reduzido número de exemplares desse sexo neste tanque. Os poucos indivíduos encontrados apresentavam as gônadas atrofiadas e de difícil caracterização macroscópica. Também não foram encontrados, neste tanque, indivíduos jovens.

3.1. *Descrição das Células do Sangue Periférico de Brycon sp. e Contagem Diferencial dos Leucócitos*

3.1.1. *Eritrócitos*

Os eritrócitos de *Brycon sp.* são ovais, com um núcleo central acompanhando o formato da célula, e de cromatina densa. Não foram observados nucléolos. O citoplasma apresenta-se basofílico, é relativamente abundante (Figura 1-1).

Os eritrócitos de *Brycon sp.* assemelham-se aos dos outros teleósteos estudados (14, 18, 19). Uma pequena percentagem destes era imatura (eritroblastos). Apresentam-se, no sangue periférico, com núcleos mais arredondados, cromatina menos densa que a dos eritrócitos maduros e citoplasma com basofilia mais acentuada. Para o curimatá, *Prochilodus scrofa* (19), a percentagem de eritroblastos no sangue periférico foi muito superior à encontrada em *Brycon sp.*, chegando a 20,9% das células contadas, sendo incluídos, por esta razão, naquela espécie, na contagem diferencial dos leucócitos. BOYAR (2), SAUNDERS (23) e GARDNER e YEVICH (9) também descreveram eritroblastos em sangue periférico de *Clupea harengus harengus*, 121 espécies de peixes marinhos e Cyprinodontídeos, respectivamente. Foram encontrados, também, em *Brycon sp.*, alguns eritrócitos anucleados, outros com estrangulamento central e restos de citoplasmas (Figura 1-1). Essas células anômalas foram, também, descritas por SAUNDERS (23) e EIRAS (6), não tendo sido relacionadas com qualquer enfermidade ou contaminação ambiental.

A amplitude de variação do número de eritrócitos no sangue periférico de *Brycon sp.* foi de 57,5 a 318,5 $10^4/\text{mm}^3$ (16).

3.1.2. *Trombócitos*

Os trombócitos de *Brycon sp.* possuem forma variada (arredondadas, ovais e fusiformes), com núcleo grande que acompanha o formato da célula; o citoplasma é escasso e cora-se fracamente pela eosina

(Figura 1-2). São, freqüentemente, agrupados em duas ou mais células e considerados as células críticas envolvidas no mecanismo de coagulação do sangue dos peixes, à semelhança dos outros vertebrados (5, 7). Segundo SRIVASTAVA (25), a taxa de coagulação do sangue dos teleósteos está relacionada com o número de trombócitos presentes no sangue periférico.

Vários autores incluem os trombócitos na contagem diferencial dos glóbulos brancos, em razão da dificuldade de diferenciá-los dos linfócitos pequenos. Entretanto, HAIDER (10, 11), citado por RIBEIRO (22), descreve a "spindle cell" ou trombócito como um elemento de linhagem própria sem nenhuma ligação com a linfocitária.

3.1.3. *Linfócitos*

São células pequenas, arbitrariamente divididas em pequenos e grandes linfócitos. O núcleo é arredondado, de cromatina compacta, homogênea e não se observam nucléolos. O núcleo ocupa virtualmente toda a célula, deixando apenas um pequeno anel de citoplasma basofílico, sem granulações (Figura 1-2). A diferenciação entre linfócitos pequenos e trombócitos arredondados dá-se pela coloração intensamente basofílica e pela emissão visível de pseudópodos do citoplasma dos linfócitos. Foram encontrados, freqüentemente, linfócitos de forma atípica, com intensa quantidade de pseudópodos.

Vários autores têm descrito a função imunológica do sistema linfóide nos peixes, dentre eles FINSTAD *et alii* (8). Fazem parte, também, desse complexo sistema elementos jovens, precursores das várias linhagens celulares, como os plasmócitos ou células plasmocitóides e os hemoblastos (3, 22).

Os linfócitos de *Brycon* sp., nos dois tanques estudados, apresentaram uma amplitude de variação de freqüência entre 0,0 e 80,0%. Desses, o linfócito pequeno representa a maior percentagem. Em outras espécies de peixes, como apaiari, *Astronotus ocellatus* (21), mandi, *Pimelodus maculatus* (22), e cascudo, *Plecostomus albopunctatus* (14), o linfócito é a célula que se apresenta em maior percentagem no sangue periférico.

3.1.4. *Monócitos*

São células grandes, de forma variável, apresentando núcleo também grande, às vezes em forma de ferradura, ocupando cerca de 2/3 da célula. A cromatina é fina, ligeiramente reticulada. O citoplasma mostra-se discretamente basofílico, vacuolizado e sem granulações (Figura 1-3).

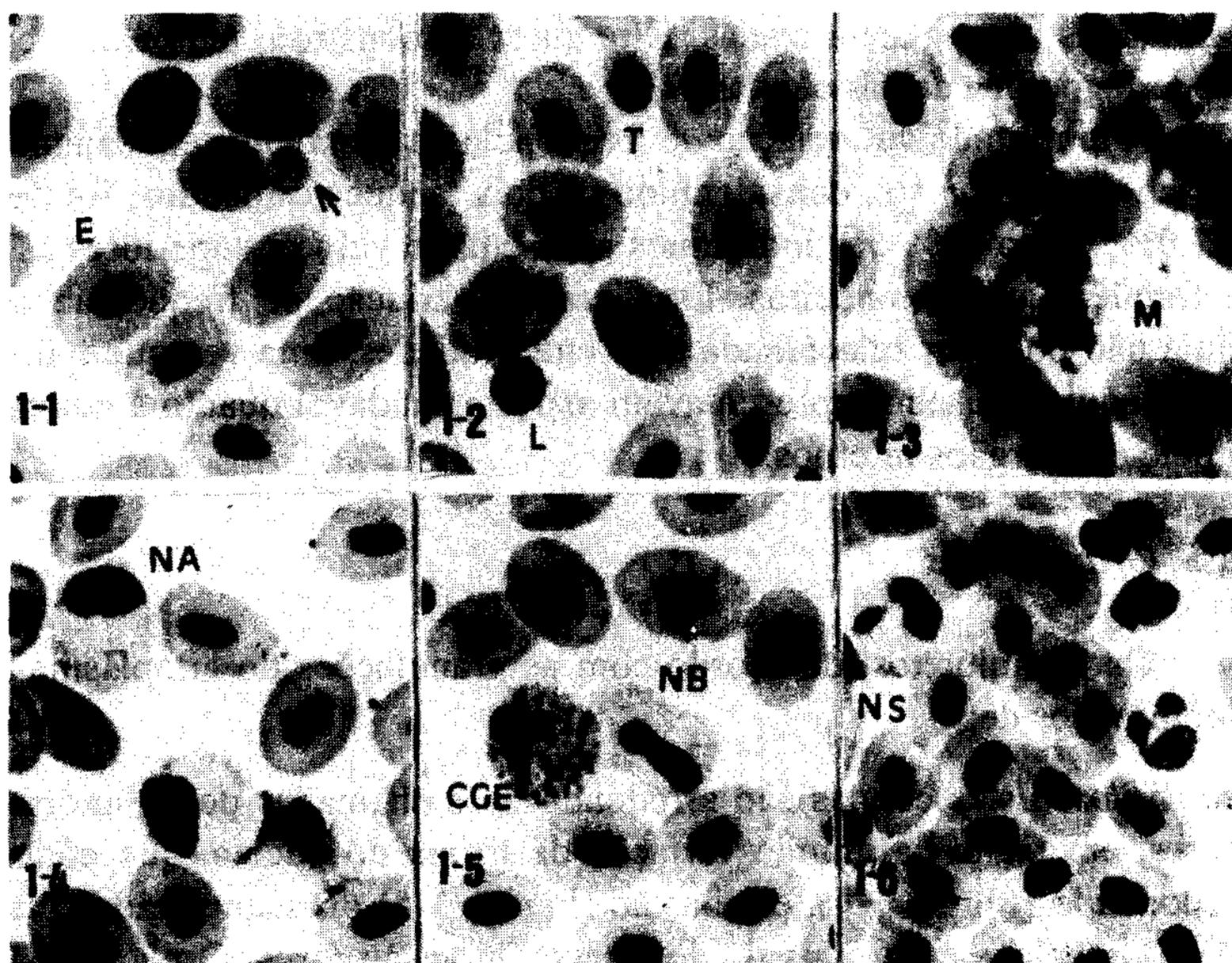


FIGURA 1 - Células do sangue periférico de *Brycon* sp.

- 1-1 - E = eritrócito. seta = célula anômala.
 1-2 - T = trombócito. L = linfócito.
 1-3 - M = monócito.
 1-4 - NA = neutrófilo arredondado.
 1-5 - NB = neutrófilo em bastão. CGE = célula granulocítica especial.
 1-6 - NS = neutrófilo segmentado.

Coloração = Leishman. Aumento = 1.650 X.

O monócito é de ocorrência contestável no sangue circulante de peixes. Na opinião de muitos autores, os teleósteos sadios não têm monócitos no sangue periférico. JAKOWSKA (12) fez um estudo detalhado em várias espécies de teleósteos de água doce e marinhos e postulou que estas células transformam-se em macrófagos teciduais, representando os principais fagócitos dos peixes. Entretanto, este tipo celular foi descrito em peixes sadios como *Astronotus ocellatus* (21), *Pimelodus maculatus* (22), *Prochilodus scrofa* (19). Em *P. maculatus* portadores de infecções, RIBEIRO (22) verificou que o número de monócitos no sangue periférico

estava mais elevado, a morfologia mais variada e as vacuolizações citoplasmáticas mais generalizadas. Este autor demonstrou, também, a capacidade fagocítica destas células.

A amplitude de variação de frequência de monócitos em sangue periférico de *Brycon* sp., considerando os dois tanques estudados, foi de 0,0 a 81,0%, tendo 12% dos indivíduos apresentado valores superiores a 30% de frequência de monócitos. Essa grande variação de frequência desta célula não pôde ser relacionada com enfermidades, uma vez que todos os peixes aqui analisados apresentavam aspecto saudável quanto à coloração da pele e de órgãos internos.

3.1.5. *Granulócitos*

Os granulócitos, de acordo com as granulações do citoplasma, são denominados de:

Neutrófilos: Estas células são arredondadas e chamadas de polimorfonucleares, em razão da grande variação da forma do núcleo, que pode ser arredondado (Figura 1-4), em bastão (Figura 1-5) ou segmentado (Figura 1-6). Os núcleos com mais de dois segmentos são raros. O núcleo é, geralmente, central e a cromatina ligeiramente compacta.

Este mesmo tipo celular é denominado por alguns autores de heterófilos (24). O citoplasma cora-se pouco pela eosina, e são observadas granulações em finos grumos, quase imperceptíveis ao microscópio de luz, que parecem apresentar uma função fagocítica, segundo RIBEIRO (22).

Os neutrófilos são bastante freqüentes em sangue circulante de peixes. Em algumas espécies, como no caso de *Brycon* sp., é a célula que ocorre em maior percentagem (19, 22).

Em *Brycon* sp., a amplitude de variação da frequência dos neutrófilos, nos dois tanques estudados, foi de 8,0 a 93,0%.

Célula Granulocítica Especial (CGE): Este tipo celular é diferente dos demais granulócitos observados nesta espécie. São células semelhantes em tamanho aos neutrófilos, porém o núcleo é excêntrico e de cromatina bastante densa. O citoplasma cora-se fracamente pela técnica empregada e apresenta grânulos que, em algumas células, não se coram por corante ácido ou básico. Entretanto, foram encontradas outras células morfologicamente iguais a estas, porém com alguns grânulos finos no citoplasma (Figura 1-5). Essa granulação varia de célula para célula, em intensidade e tamanho. Para se determinar a composição desses grânulos é necessário o emprego de técnicas de citoquímica.

BARBER e WESTERMANN (1), realizaram estudos citoquímicos detalhados em sangue de *Catostomus commersoni*, e demonstram em "imprints" de rim a presença de heparina nas células mais jovens desta linhagem. Estes grânulos são fortemente corados pela reação de PAS, caracterizando, desse modo, a presença de mucopolissacarídeos neutros associados a componente protéico (22).

A amplitude de variação de frequência da CGE em *Brycon* sp. oscilou entre 0,0 e 40,0%, com apenas 5% dos indivíduos apresentando frequências superiores a 20%.

3.1.6. Células Imaturas

De modo geral são grandes, de forma ligeiramente arredondada. Apresentam núcleo grande, ocupando quase toda a célula e cromatina distribuída em grumos finos. O citoplasma é intensamente corado pela hematoxilina.

Essas células assemelham-se aos linfoplasmacitóides descritos por RIBEIRO (22), em *P. maculatus*. Esse elemento apresentou amplitude de variação de frequência de 0,0 a 34,0%.

Não foram encontrados eosinófilos e basófilos no sangue periférico de *Brycon* sp. O eosinófilo é uma célula muito rara ou mesmo ausente no sangue dos teleósteos. HAIDER (11), citado por RIBEIRO (22), considerou o eosinófilo como o mais raro granulócito de sangue de peixes. Segundo PITOMBEIRA (21), em peixes este leucócito é mais abundante na submucosa intestinal, no fluido peritoneal e nas brânquias. Esta célula apresentou frequência alta em carpas, *Cyprinus carpio*, com uma intensa infestação por um copépodo, *Argulus* sp. (19).

Na Figura 2, são apresentados os resultados gráficos das médias, desvios-padrão das médias e intervalos de confiança dos indivíduos analisados por estádios de maturação gonadal, uma vez que, de acordo com a maioria dos dados da literatura, não ocorre diferença significativa entre os valores das análises sangüíneas de machos e fêmeas e que no tanque C₁₄ havia apenas fêmeas. Por esta figura nota-se que apenas as médias dos linfócitos dos indivíduos em maturação são diferentes entre os dois tanques analisados, uma vez que não houve sobreposição dos intervalos de confiança.

Com o avanço da maturação gonadal, os neutrófilos apresentaram aumento visível dos valores médios. Ao contrário, os demais leucócitos apresentaram diminuição desses valores.

Estes dados estão de acordo com os obtidos por PAIVA e GODINHO (19) e PAIVA (16), que analisam as médias das análises san-

transformam-se em cistos, que, assexualmente, geram rédias, em cujo interior se originam cercárias, que, abandonando o molusco, nadam até se fixar no peixe, no qual vão formar cistos; no caso da enfermidade dos pontos negros, tais cistos se localizam sob a pele, formando, devido à presença de melanomacrófagos, manchas-negras.

Trata-se de achado inédito no híbrido em pauta e, sobretudo, contribui ao conhecimento das metacercariose e aprimoramento da piscicultura no Estado de São Paulo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O material estudado foi extraído de um lote de 4.000 híbridos tambacus (7), provenientes de um criatório de Juquiá (SP), em setembro de 1994, dos quais 10% foram examinados.

Amostras de pele e tecido muscular da região mediana do flanco esquerdo, abaixo da linha lateral, foram fixadas em formol, a 10%, e posteriormente processadas por técnicas histológicas de rotina para inclusão em parafina. Cortes de 5 µm foram corados por Hematoxilina - Eosina e Tricrômico de Masson (1).

Foi coletado sangue de quatro espécimes, escolhidos ao acaso, para confecção de extensões que, em seguida, foram coradas pelo método de ROSENFELD (6) e utilizadas para a contagem diferencial dos leucócitos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

EXAME MACROSCÓPICO - Todos os peixes deste plantel estavam infestados. Distribuindo-se por todo o corpo do animal, foram observadas manchas-escuras, algumas levemente salientes, com contornos não bem precisos, de forma tendendo à circular, simulando manchas naturais. Tais manchas, no seu eixo maior, mediam de 3 a 4 mm, em média. A sua cor variava do cinza-claro (as mais profundas) ao negro (as mais superficiais). Acometiam com menor intensidade a região abdominal e as nadadeiras (Figura 1).

Os tambacus deste lote, quando comparados aos de outro lote de mesma idade e alimentação, em que os animais se encontravam sadios, mostraram rendimento menor, provavelmente por os animais estarem submetidos ao estresse da infestação, provocando-lhes falta de apetite.

EXAME MICROSCÓPICO - Foram observados cistos bem típicos no tegumento afetado, com cápsula interna delgada, mas bem nítida, composta de células achatadas, bem próximas entre si, basofílicas, cujos núcleos eram bastante evidentes. Envolvendo esta cápsula, havia um halo

güíneas de *Prochilodus scrofa* e *Brycon* sp., respectivamente, através da inspeção gráfica dos resultados. Em PAIVA (17) os resultados gráficos coincidiram com os da análise de variância e do teste t de Student, indicando a validade de se analisarem estes dados apenas através da inspeção gráfica.

4. CONCLUSÕES

No sangue periférico de *Brycon* sp. foram encontrados os leucócitos: linfócito, monócito, neutrófilo e célula granulocítica especial (CGE). Porém, não foi possível essa mesma comparação no tanque C₁₄, pois neste analisaram-se apenas as fêmeas. Quanto aos estádios de maturação gonadal não foi possível uma análise mais conclusiva, pois as diferenças encontradas não apresentaram nenhuma tendência e não existem na literatura dados sobre esta espécie em seu ambiente natural para se compararem os resultados. Pôde-se concluir que os exemplares do tanque C₁₄ apresentaram quadro mais homogêneo que os do tanque C₁₃, possivelmente pelo fato de esses apresentarem, também, maior homogeneidade morfológica e morfométrica e por serem apenas fêmeas.

5. RESUMO

Este trabalho, realizado no período de março de 1984 a maio de 1986, foi desenvolvido com exemplares de pirapitinga-do-sul, *Brycon* sp., provenientes da Estação de Aqüicultura de Paraibuna, da Companhia Energética de São Paulo (CESP). Em tanques de 10 x 20 m foram colocados dois lotes de 400 peixes cada, com idades iniciais de um ano e quatro meses (Tanque C₁₃) e de dois anos e seis meses (Tanque C₁₄), respectivamente. Mensalmente, 10 exemplares de cada tanque foram capturados, anestesiados com clorobutanol, pesados (peso total) e medidos (comprimento total). Foram analisados 407 exemplares, com comprimento total variando entre 17,2 e 31,0 cm e peso entre 46,4 e 290,2 g. O sangue, retirado por punção caudal, foi utilizado para a confecção de extensões, que foram posteriormente coradas pelo método de Leishman, nas quais foram feitas a identificação das células e a contagem diferencial dos leucócitos: linfócitos, monócitos, neutrófilos e célula granulocítica especial (CGE). Os neutrófilos apresentaram a maior frequência de ocorrência

no sangue periférico de *Brycon* sp. A análise gráfica dos resultados demonstrou não haver diferença entre as médias das frequências da maioria dos leucócitos dos indivíduos dos dois tanques estudados (com exceção dos linfócitos). Apenas os neutrófilos apresentaram aumento dos valores médios com o avanço da maturação gonadal, nos indivíduos dos dois tanques analisados. No tanque C₁₄ foram encontradas apenas fêmeas, com distribuição mais homogênea das percentagens dos leucócitos entre os estádios de maturação gonadal.

6. SUMMARY

(BLOOD CELLS AND DIFFERENTIAL LEUCOCYTE COUNTS IN "PIRAPITINGA DO SUL", *Brycon* sp., UNDER EXPERIMENTAL CONDITIONS OF INTENSIVE REARING)

This study was carried out from March 84 through May 86, on species of "pirapitinga do sul", *Brycon* sp., reared at the "Estação de Aqüicultura de Paraibuna (CESP)", SP. Two tanks (C₁₃ and C₁₄) were used, each measuring 10 x 20 m. Two groups of fish (400 sixteen-month and 400 thirty-one month olds) were placed in C₁₃ and C₁₄, respectively. Every month, 10 fishes from each tank were captured, anesthetized with chloro butanol, weighed (total weight) and measured (total length). A total of 407 species, with total length ranging from 17.2 to 31.0 cm and total weight from 46.4 to 290.2 g were analyzed. The blood was withdrawn by caudal puncture and utilized for smears, stained by Leishman method for cellular identification and determination of differential leucocyte counts. Lymphocytes, monocytes, neutrophils and special granulocytic cells were found. Neutrophils were the most frequent cells in *Brycon* sp. peripheral blood. A graphic analysis of the results showed no difference between the frequency averages of the majority of leucocytes from both tanks (except for lymphocytes). Neutrophils showed an average increase throughout the gonadal maturation stages. In tank C₁₄, only females presented a more homogeneous percentage distribution among the gonadal maturation stages.

7. AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao técnico José Plaza, pelo constante apoio nos trabalhos de campo e laboratoriais; à pesquisadora Maria Teresa Duarte Giamas e às estagiárias Fernanda Alberti e Augusta Cocuzza das Eiras, pela colaboração nas análises estatísticas.

8. LITERATURA CITADA

1. BARBER, D.L. & WESTERMANN, J.E.M. Morphological and histochemical studies on a P.A.S. positive granular leucocyte in blood and connective tissues of *Catostomus commersoni* Lacèpède (Teleostei:Pisces). *Am.J.Anat.*, 142: 205-220, 1975.
2. BOYAR, H.C. Blood cell types and differential cell counts in Atlantic herring, *Clupea harengus harengus*. *Copeia*, 2: 463-465, 1962.
3. CATTON, W.T. Blood cell formation in certain teleost fishes. *Blood*, 6 :39-60, 1951.
4. DOGGETT, T.A.; WRATHMELL, A.B. & HARRIS, J.E. A cytochemical and light microscopical study of the peripheral blood leucocytes of *Oreochromis mossambicus*, Cichlidae. *J. Fish Biol.*, 31: 147-153, 1987.
5. DOOLITTLE, R.F. & SURGENOR, D.M. Blood coagulation in fish. *Am. J. Physiol*, 203: 964-970, 1962.
6. EIRAS, J.C. Erythrocyte degeneration in the European eel (*Anguilla anguilla* L.). *Bull. Eur. Ass.Fish Path.*, 3 : 18-20, 1983.
7. FANGE, R. White blood cells and lymphomyeloid tissues in fish. *Bull. Off. Int. Epiz.*, 69: 1357-1363, 1968.
8. FINSTAD, J.; PAPERMASTER, B.W. & GOOD, R.A. Evolution of the immune response. II - Morphologic studies on the origin of the thymus and organized lymphoid tissue. *Lab. Invest.*, 13:490-512, 1964.
9. GARDNER, G.R. & YEVICH, P.P. Studies of the blood morphology of three stuarine Cyprinodontiform fishes. *J. Fish. Res.Bd. Canada*, 26: 433-447, 1969.
10. HAIDER, G. Vergleichende Untersuchungen Blutmorphologie und Hematopoesee einiger Teleostier. II Beobachtungungen an spindelzellen. *Zool. Anz.*, 179: 384-409, 1967. Citado em RIBEIRO, W.R. (22).
11. HAIDER,G. Vergleichenden Untersuchungen zur Blutmorphologie und Hamatopoesee einiger Teleostier. III Biobachtungungen an Leukozyten und Plasmazellen. *Zool. Anz.*, 180: 110-130, 1968. Citado em RIBEIRO, W.R. (22)
12. JAKOWSKA, S. Morphologie et nomenclature des celules du sang des teleóstins. *Rev. Hemat.*, 11: 519-539, 1956.
13. KAVAMOTO, E.T.; PAIVA, M.J.T.R. & TOKUMARU, M. Estudos hematológicos em bagre, *Rhamdia hylarii* (Val. 1840) Teleósteo, no estágio de desenvolvimento gonadal maduro. *B. Inst. Pesca*, 10 (único) : 53-60, 1983.
14. KAVAMOTO, E.T.; TOKUMARU , M.; SOUZA E SILVA, R.A.P. & CAMPOS, B.E.S. Variações morfológicas e contagem diferencial das células leucocitárias do "cascudo", *Plecostomus albopunctatus* (Regan, 1908) em relação ao desenvolvimento gonadal. *B. Inst. Pesca*, 12 (2): 15-23, 1985.
15. NIKOLSKII, G.V. *Theory of fish population dynamics*. Edinburg, Oliver & Boyd, 1969. 323 p.
16. PAIVA, M.J.T.R. Características sangüíneas da pirapitinga do sul, *Brycon* sp, sob condições experimentais de criação intensiva. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Scie.*, 28: 141-153, 1991.
17. PAIVA, M.J.T.R. *Estudos hematológicos em curimatá, Prochilodus scrofa Steindachner, 1881 (Osteichthyes, Cypriniformes, Prochilodontidae)*. São Carlos, Universidade Federal de São Carlos, 1981. 119 p. (Dissertação de Mestrado).
18. PAIVA, M.J.T.R.; ISHIKAWA, C.M.; PORTELA, M.C. & CELIBERTO, R.J. Hematologia da carpa, *Cyprinus carpio*, infestada por *Argulus* sp. e após um tratamento com fosfonato de 0,0-dimetil-oxi-2,2,2-tricloroetilo (Neguvon). *B. Inst. Pesca*, 14 (único): 83-92, 1987.

19. PAIVA, M.J.T.R. & GODINHO, H.M. Sobre células sanguíneas e contagem diferencial de leucócitos e eritroblastos em curimatá, *Prochilodus scrofa* Steindachner, 1881 (Osteichthyes, Cypriniformes, Prochilodontidae). *Rev. Brasil. Biol.*, 43: 331-338, 1983.
20. PAIVA, M.J.T.R.; GODINHO, H.M.; PLAZA, J. & GUILHERME, M.C.M. Características hematológicas do pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1883) = (*Colossoma mitrei* Berg., 1895). In: *CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOLOGIA*, 15, Curitiba. *Resumos*, 1988. p. 372.
21. PITOMBEIRA, M.S. *Hematologia do apaiari, Astronotus ocellatus* (Curvier, 1829). *Peixes teleósteo- Aspectos morfológicos e fisiológicos*. São Paulo, Inst. de Biociências - USP, 1972. 133p. (Tese de Doutorado).
22. RIBEIRO, W.R. *Contribuição ao estudo de hematologia de peixes. Morfologia e citoquímica das células do sangue e tecido hematopoético do mandi amarelo, Pimelodus maculatus Lacépède, 1803*. Ribeirão Preto, Fac. Med. Ribeirão Preto - USP, 1978. 110p. (Tese de Doutorado).
23. SAUNDERS, D.C. Differential blood cell counts of 121 species of marine fishes of Puerto Rico. *Trans. Amer. Microsc. Soc.*, 85: 427-449, 1966.
24. SHERBURNE, S.M. Occurrence of both heterophils and neutrophils in the blood of the spiny dogfish, *Squalus acanthias*. *Copeia*, 1:259-261, 1974.
25. SRIVASTAVA, A.K. Studies on the hematology of certain freshwater teleost. V. Trombocytes and the clotting of blood. *Anat. Anz. Bd.*, 124: 368-374, 1969.