

PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS DE RÃ-TOURO, *Rana catesbeiana*, ALIMENTADA COM DIFERENTES RAÇÕES COMERCIAIS

Jaime FENERICK JUNIOR^{1,3}; Marta Verardino de STÉFANI¹; Maurício Laterça MARTINS²

RESUMO

O presente trabalho visou estudar possíveis alterações dos parâmetros hematológicos de rã-touro, *Rana catesbeiana*, alimentada com quatro rações comerciais, as quais apresentavam teores de proteína bruta analisada variando de 41,36% a 45,5% e energia bruta calculada entre 4.143 kcal/kg e 4.481 kcal/quilograma. Seiscentas rãs com peso médio inicial variando de 12,6 g a 28,0 g foram utilizadas. Amostras de sangue foram coletadas mensalmente, durante cinco meses, para avaliação do hematócrito, contagem de eritrócitos e leucócitos e contagem diferencial de leucócitos. Nas condições experimentais do trabalho não houve efeito expressivo dos diversos tipos de ração sobre os parâmetros hematológicos, mas observaram-se alterações do número de eritrócitos e leucócitos totais e da porcentagem de basófilos nos diferentes tempos de coleta. A diversidade de resultados encontrados para um mesmo parâmetro nos trabalhos consultados ressalta a necessidade de realização de futuros trabalhos para o estabelecimento de valores basais dos parâmetros hematológicos da espécie estudada.

Palavras-chave: parâmetros hematológicos; rações comerciais; rã-touro; *Rana catesbeiana*

HEMATOLOGICAL PARAMETERS OF BULLFROG, *Rana catesbeiana*, FED WITH DIFFERENT COMMERCIAL RATIONS

ABSTRACT

The present work evaluated possible alterations on the hematological parameters of bullfrog, *Rana catesbeiana*, fed with four commercial rations. The rations presented analyzed crude protein varying from 41.36% to 45.5% and gross energy varying from 4,143 kcal/kg to 4,481 kcal/kilogram. Six hundred bullfrogs with initial medium weight ranging from 12.6 g to 28.0 g were used. Blood samplings were made monthly, during five months, for evaluations of the hematocrit, counting of erythrocytes and leucocytes, and differential counting of leucocytes. In the experimental conditions of the work, there was not observed expressive feeding effect on the hematological parameters of *Rana catesbeiana*, however there were registered alterations in erythrocytes number and total leucocytes and basophiles percentage in the different samplings. The diversity of results found for a same parameter in the consulted papers emphasizes the need of accomplishment of futures works for the establishment of basal values of the hematological parameters of the studied species.

Key words: hematological parameters; commercial rations; bullfrog; *Rana catesbeiana*

Artigo Científico: Recebido em: 21/06/2005 - Aprovado em 20/07/2006

¹ Centro de Aqüicultura, UNESP - Jaboticabal, SP, Brasil - Bolsista do CNPq

² Departamento de Aqüicultura, CCA, UFSC - Florianópolis, SC, Brasil

³ Endereço/Address: Via Prof. Paulo Donato Castellane, s/n - CEP: 14884-900 - Jaboticabal, São Paulo, Brasil
e-mail: FENERICK@caunesp.unesp.br

INTRODUÇÃO

Os anuros ranídeos são o grupo de maior sucesso e distribuição entre os anfíbios. Apesar de serem amplamente usados em experimentos científicos, seu desempenho e comportamento são singulares para cada espécie estudada. HARRIS (1972) relatou que esses animais respondem de maneira rápida a variações ambientais (temperatura, fotoperíodo, umidade) ou a outros fatores, tais como idade, condições nutricionais, estresse ou ação de xeno-bióticos. Essas respostas a variações do ambiente podem ser utilizadas em estudos de toxicidade e monitoramento, desde que padronizadas, uniformizadas e dirigidas a um propósito específico. Desta forma, a caracterização de variações hematológicas constituiu valiosa ferramenta na avaliação da saúde do animal em determinado ambiente.

A grande maioria dos estudos realizados com sangue de anuros refere-se aos glóbulos vermelhos, quantidade de hemoglobina e proteínas do sangue (TURNER, 1988). NAOUM *et al.* (1986), CANNON *et al.* (1987) e DIAS (1992), enfatizando esse fato, afirmaram que a literatura a respeito da hematologia de anfíbios é escassa.

O sangue dos anfíbios, assim como de outros vertebrados não mamíferos, contém eritrócitos nucleados, leucócitos e trombócitos (DUELLMAN e TRUEB, 1986; SCHMIDT-NIELSEN, 1996). Os glóbulos vermelhos, também chamados hemácias ou eritrócitos na maioria dos vertebrados, formam-se e amadurecem na medula óssea, pelo processo que se denomina eritropoiese.

Os glóbulos brancos, ou leucócitos, dos anfíbios são de dois tipos: os agranulócitos, sem granulações visíveis no citoplasma, são produzidos nos lóbulos linfáticos e no baço e constituem os linfócitos e os monócitos; e os granulócitos, que se formam na medula óssea e se classificam em neutrófilos, basófilos e eosinófilos, cujo citoplasma apresenta granulações visíveis, com diferentes afinidades pelo corante de Romanowisk (TAVARES, 2004). Nestes animais, os glóbulos brancos são também nucleados, de nomenclatura semelhante à dos mamíferos e em número médio próximo a 7.000 por milímetro cúbico.

Os efeitos deletérios de variadas substâncias sobre o organismo podem ser analisados de diversas formas. Um dos tecidos mais utilizados para essa análise é o sangüíneo, pois as alterações ocorridas nesse tecido são, em geral, relevantes (SCHVARTSMAN, 1991). A literatura descreve anemia em peixes, com conseqüentes perdas econômicas, relacionada a

rações, em piscigranjas do Alabama, Estados Unidos (KLAR, 1986). Em rãs-touro, esses dados não são disponíveis.

O objetivo do presente estudo foi avaliar as alterações hematológicas em rã-touro, *Rana catesbeiana*, alimentada com diferentes rações comerciais.

MATERIAL E MÉTODOS

Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com quatro tratamentos (R_1 , R_2 , R_3 , R_4), em um esquema em parcelas subdivididas, sendo as rações nas parcelas, e as coletas no tempo nas subparcelas. Os dados foram submetidos a análise de variância, e as médias, comparadas pelo teste de Tukey.

Instalações e condições experimentais

O experimento foi realizado no Setor de Ranicultura do Centro de Aqüicultura da UNESP, da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal, no período de 5 de dezembro de 2002 a 10 de abril de 2003. As rãs foram distribuídas em 12 baias experimentais do galpão de engorda, com 3 m² cada uma, as quais apresentavam cochos, abrigos e canaletas de água dispostos linearmente. A água utilizada era proveniente de poço artesiano, apresentando fluxo contínuo. Diariamente, as baias eram limpas, as canaletas, esvaziadas e limpas, e a água, repostas.

Material biológico

Foram utilizadas 600 rãs-touro, *Rana catesbeiana*, oriundas do próprio Setor de Ranicultura do Centro de Aqüicultura da UNESP. As rãs foram distribuídas nas baias, de maneira que em cada uma foram colocados 50 animais, com peso médio inicial de 20,3 gramas.

Manejo experimental

Para alimentar as rãs foram utilizadas quatro rações comerciais (R_1 , R_2 , R_3 , R_4), fornecidas nos cochos, uma vez ao dia, de acordo com LIMA e AGOSTINHO (1992). A composição centesimal e os níveis de garantia das rações comerciais encontram-se na tabela 1.

Para a obtenção dos dados hematológicos foram realizadas coletas mensais de sangue, totalizando cinco amostragens, nas seguintes datas: 05/12/2002, 09/01, 06/02, 10/03 e 10/04/2003. No dia anterior à coleta de amostras, as rãs foram submetidas a jejum, para que a alimentação não interferisse nos resultados.

Tabela 1. Composição centesimal analisada (A) e nível de garantia do fabricante (NG) das rações utilizadas no experimento com rã-touro, *Rana catesbeiana*

Tratamento	Nutriente (%)									
	Matéria Seca (MS)	Proteína Bruta (PB)	Extrato Etéreo (EE)	Fibra Bruta (FB)	Material Mineral (MM)	Extrato não Nitrogenado (ENN)	Cálcio	Fósforo	Energia Bruta ¹ (Kcal/kg)	
R ₁	A	90,13	42,36	1,81	2,56	7,88	35,52	-	-	4.143,70
	NG		40 (mín.)	1,5 (mín.)	7,0 (máx.)	12 (máx.)	-	2,0 (máx.)	1,0 (mín.)	-
R ₂	A	91,05	41,36	7,80	2,98	8,22	30,69	-	-	4.467,30
	NG		40 (mín.)	10 (mín.)	6 (máx.)	13 (máx.)	-	3,5 (máx.)	0,6 (mín.)	-
R ₃	A	92,61	45,5	6,71	2,11	9,56	28,73	-	-	4.481,30
	NG		45 (mín.)	14 (mín.)	6 (máx.)	14 (máx.)	-	2,5 (máx.)	1,0 (mín.)	-
R ₄	A	91,47	42,24	6,61	1,21	13,35	28,06	-	-	4.222,60
	NG		42 (mín.)	7 (mín.)	5 (máx.)	15 (máx.)	-	4,0 (máx.)	1,5 (mín.)	-

¹ Energia Bruta = (PB x 5,65) + (FB x 4,15) + (EE x 9,40) + (ENN x 4,15) (TEIXEIRA, 1998)

Premix Ração 1: vitamina A 12.000 UI, vitamina D₃ 2.000 UI, vitamina E 20 UI, vitamina K₃ 5 mg, vitamina B₁₂ 25 mcg, riboflavina 8 mg, piridoxina 2 mg, biotina 100 mg, ácido pantotênico 15 mg, niacina 40 mg, colina 350 mg, ferro 40 mg, cobre 8 mg, zinco 50 mg, manganês 70 mg, cobalto 0,5 mg, iodo 2 mg, selênio 0,2 mg, antioxidante 120 mg

Premix Ração 2: vitamina A 10.000 UI, vitamina B₁ 25 mg, vitamina B₂ 25 mg, vitamina B₆ 25 mg, vitamina B₁₂ 30 mcg, vitamina C 350 mg, vitamina D₃ 4.000 UI, vitamina E 100 mg, vitamina K₃ 5 mg, ácido fólico 5 mg, ácido pantotênico 50 mg, colina 2.000 mg, cobre 14 mg, cobalto 0,2 mg, ferro 100 mg, inositol 50 mg, iodo 0,6 mg, manganês 26 mg, selênio 0,6 mg, zinco 140 mg, niacina 100 mg, biotina 0,8 mg, antioxidante 150 mg

Premix Ração 3: vitamina A 20.000 UI, vitamina B₁₂ 45 mcg, vitamina C 200 mg, vitamina D₃ 4.400 UI, vitamina E 350 UI, vitamina K 45 mg, magnésio 400 mg, ferro 75 mg, cobre 10 mg, zinco 100 mg, manganês 10 mg, iodo 1 mg, selênio 0,15 mg, cobalto 0,18 mg, ácido fólico 16 mg, biotina 0,50 mg, colina 2.500 mg, niacina 300 mg, pantotenato de cálcio 90 mg, tiamina 35 mg, riboflavina 45 mg, piridoxina 45 mg, antioxidante 200 mg

Premix Ração 4: vitamina A 18.000 UI, vitamina B₁ 15 mg, vitamina B₂ 30 mg, vitamina B₆ 15 mg, vitamina B₁₂ 0,06 mg, vitamina C 400 mg, vitamina D₃ 3.000 UI, vitamina E 75 mg, vitamina K₃ 7,5 mg, zinco 90 mg, niacina 150 mg, ácido fólico 6 mg, ácido pantotênico 75 mg, antioxidante 185 mg, colina 1.000 mg, cobre 6 mg, cobalto 0,30 mg, ferro 75 mg, inositol 12 mg, iodo 2 mg, manganês 30 mg, selênio 0,16 mg

Para as coleta das amostras, três rãs de cada repetição, capturadas ao acaso de cada baía experimental, foram descerebradas e pesadas, e, com auxílio de tesoura, a cavidade abdominal foi aberta para retirada de uma alíquota (amostra) de sangue, de aproximadamente 2 mL, diretamente do coração da rã, com agulha e seringa plástica contendo anticoagulante (EDTA a 10%).

Parâmetros analisados

As amostras de sangue foram colocadas em tubos plásticos com tampa e mantidas em gelo.

A contagem de eritrócitos no sangue ($n^\circ/\mu\text{L}$) foi realizada em câmara hemocitométrica de Neubauer,

utilizando-se solução fisiológica 0,65%. Outra alíquota do sangue foi utilizada para a determinação do hematócrito, feita pelo método do microhematócrito (GOLDENFARB *et al.*, 1971).

A contagem diferencial de células sangüíneas foi realizada em extensões coradas pancromaticamente pelo método de ROSENFELD (1947), em microscopia de luz comum. Foram contadas 100 células por lâmina, estabelecendo-se o percentual de cada componente celular de interesse.

Os números de leucócitos e trombócitos foram calculados pelo método indireto, proposto por PITOMBEIRA e MARTINS (1966), contando-se 2.000 células na extensão.

$$\text{Leucócitos (n}^\circ/\text{mm}^3) = \frac{\text{n}^\circ \text{ de leucócitos na extensão} \times \text{n}^\circ \text{ de eritrócitos (por mm}^3)}{2.000 \text{ eritrócitos na extensão sangüínea}}$$

$$\text{Trombócitos (n}^\circ/\text{mm}^3) = \frac{\text{n}^\circ \text{ de trombócitos na extensão} \times \text{n}^\circ \text{ de eritrócitos (por mm}^3)}{2.000 \text{ eritrócitos na extensão sangüínea}}$$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na figura 1 pode-se observar os diferentes tipos de leucócitos encontrados no sangue de rã-touro, *Rana catesbeiana*. Os tipos celulares considerados foram: linfócito, neutrófilo, basófilo, eosinófilo e monócito.

DUELLMAN e TRUEB (1986) e DIAS (1992) afirmam que os linfócitos são os leucócitos mais freqüentes no sangue periférico de larvas de anuros, apresentando núcleo redondo com cromatina densa e citoplasma basofílico e, algumas vezes, microvilosidades (projeções citoplasmáticas). Os neutrófilos freqüentemente possuem núcleo segmentado e apresentam citoplasma ocupado por extensas áreas de retículo endoplasmático granular bem desenvolvido. Os basófilos são comuns no sangue periférico de girinos, particularmente de *Rana catesbeiana*, e mostram núcleos sem segmentação e citoplasma com exuberantes grânulos basofílicos. Os eosinófilos apresentam núcleos segmentados e numerosos grânulos ovalados ou esféricos, fracamente acidófilos, no citoplasma. Os monócitos são raros e podem ser descritos como células com núcleo geralmente excêntrico, ocupando quase a totalidade da célula, com citoplasma levemente vacuolizado e fracamente basofílico.

Células jovens ou imaturas estiveram presentes nas extensões sangüíneas analisadas, mas não foram consideradas no presente trabalho. Os valores médios da contagem diferencial de leucócitos estão expressos na tabela 2.

Os valores médios do número de neutrófilos e eosinófilos do sangue periférico de rã-touro não foram influenciados pelas diferentes rações e nem pelas diferentes datas de coleta. Nos diferentes tratamentos, a quantidade média de neutrófilos variou de 1376,51 a 1496,56/mm³, e a de eosinófilos, de 88,88 a 210,86/mm³.

Em relação ao número de eritrócitos, pode-se observar que ocorreram efeitos significativos ($p < 0,05$) para a interação entre tratamentos e coletas (Tabela 2). Os valores médios dos eritrócitos totais encontram-se na tabela 3. A análise dos dados indica que não houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre os tratamentos nas diferentes coletas. Nas rãs alimentadas com as rações R_1 e R_4 não ocorreram alterações significativas do número de eritrócitos com o passar do tempo. Este fato não foi verificado nos outros tratamentos, tendo-se observado que no tratamento com R_2 houve diferença significativa na última coleta (C_5), ocorrendo aumento no número de eritrócitos; com R_3 só houve diferença significativa da segunda coleta (C_2) para a terceira (C_3), quando ocorreu aumento do número de eritrócitos, não diferindo das outras coletas (C_4 e C_5).

O hematócrito de rã-touro foi influenciado significativamente ($P < 0,01$) pelo tempo (Tabela 2), pois observa-se aumento significativo a partir da segunda coleta (C_2) e estabilização do hematócrito até o final das coletas.

O número de leucócitos totais também foi influenciado significativamente pelas diferentes rações e pelo tempo (Tabela 4). Pode-se observar que o menor número de leucócitos ($5.878/\text{mm}^3$) foi registrado no sangue de rãs-touro alimentadas com a ração R_4 e na última coleta (C_5) e que somente nas rãs-touro alimentadas com a ração R_1 houve diminuição significativa do número de leucócitos,

registrada de C_1 para C_2 . Relacionando esses dados observa-se que, apesar de não haver ocorrido diferença significativa do número de leucócitos no sangue das rãs-touro alimentadas com as diferentes rações, exceto com R_4 e na última coleta, o número de leucócitos no sangue das rãs alimentadas com a R_4 foi menor, coincidindo com os menores ganho de peso e consumo de ração.

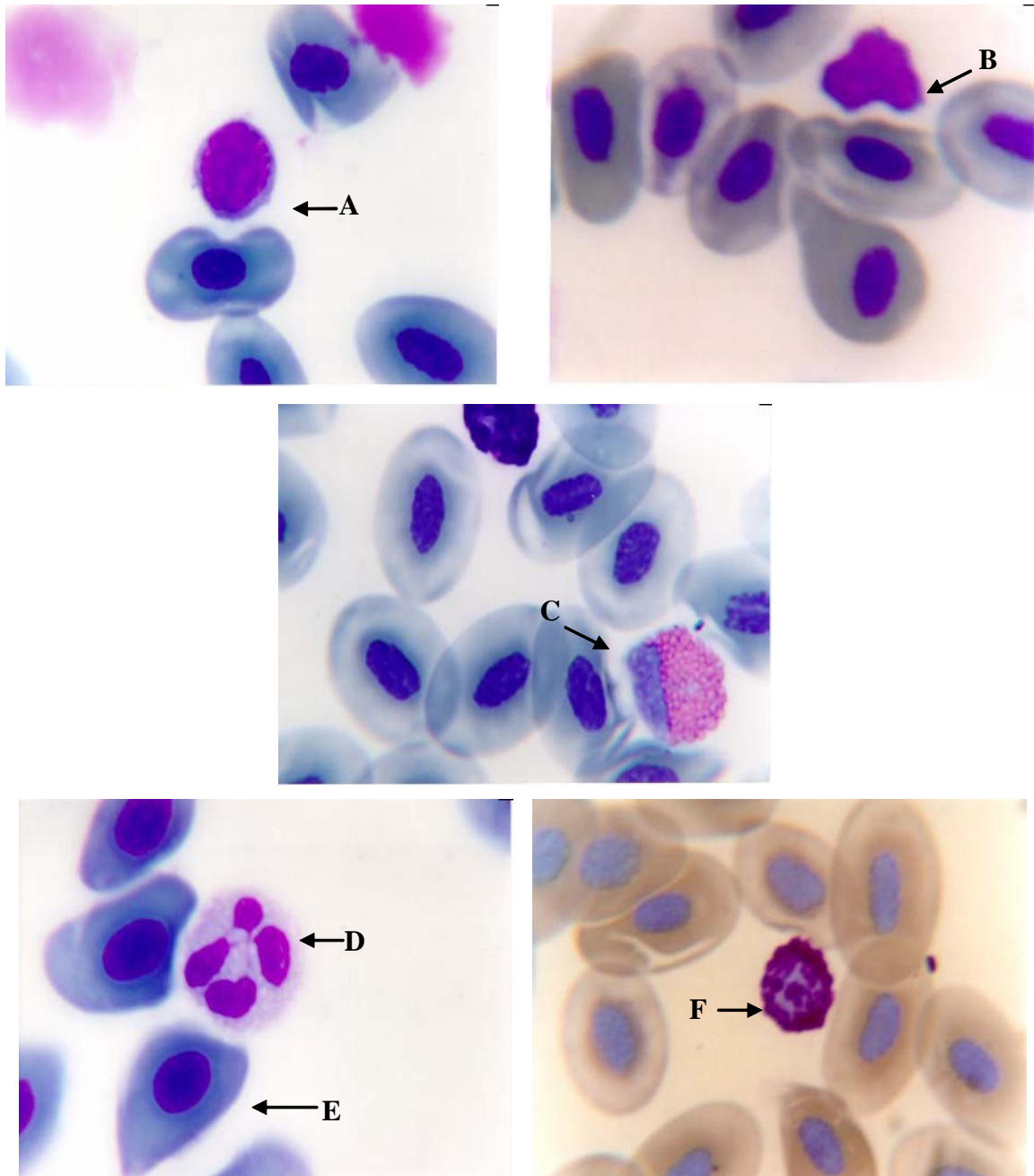


Figura 1. Fotomicrografia (aumento 1.000x) de extensão do sangue de rã-touro, *Rana catesbeiana*, corada pancromaticamente pelo método de ROSENFELD (1947). A-Linfócito jovem; B-Linfócito; C-Eosinófilo; D-Neutrófilo; E-Eritrócito; F-Basófilo

Tabela 2. Valores de F, coeficiente de variação (CV) e médias dos valores de eritrócitos totais, hematócrito, leucócitos, monócitos, linfócitos, neutrófilos, basófilos, eosinófilos e trombócitos no sangue de rã-touro, *Rana catesbeiana*, alimentada com diferentes rações comerciais

	Variável									
	Eritrócitos Totais (x10 ⁶ /mm ³)	Hematócrito (%)	Leucócitos (N/mm ³)	Monócitos (N/mm ³)	Linfócitos (N/mm ³)	Neutrófilos (N/mm ³)	Basófilos (N/mm ³)	Eosinófilos (N/mm ³)	Trombócitos (N/mm ³)	
F para Tratamento (T)	5,44 ^{ns}	1,39 ^{ns}	3,64*	0,99 ^{ns}	0,34 ^{ns}	0,12 ^{ns}	2,33 ^{ns}	1,02 ^{ns}	1,38 ^{ns}	
F para Coletas (C)	8,21**	9,91*	5,14*	6,16**	10,08**	1,59 ^{ns}	10,51**	2,23 ^{ns}	2,06*	
F para inter. T x C	2,21*	0,52 ^{ns}	0,92*	2,17*	0,87 ^{ns}	1,35 ^{ns}	2,33*	1,26 ^{ns}	0,64 ^{ns}	
CV (%) - Parcela	21,7	31,41	42,30	155,63	10,67	55,48	19,07	71,3	77,84	
CV (%) - Subparcelas	21,61	19,78	32,66	141,9	9,62	37,59	30,43	80,62	87,76	
Média R ₁	34,65	28,46	11.398	30,77 (0,27) ¹	8.011,66 (70,15)	1.496,56 (13,13)	1.648,15 (14,46)	210,86 (1,85)	7,89	
R ₂	34,06	29,76	11.846	13,03 (0,11)	8.550,44 (72,02)	1.376,51 (11,62)	1.697,53 (14,33)	208,49 (1,6)	6,47	
R ₃	40,03	27,66	12.858	20,57 (0,16)	9.212,12 (71,6)	1.591,17 (12,33)	1.837,41 (14,29)	196,73 (1,53)	11,61	
R ₄	29,03	23,68	7.662	12,26 (0,16)	5.331,99 (69,62)	956,98 (12,49)	1.271,89 (16,6)	88,88 (1,16)	6,66	
Média C ₁	31,72	18,83 b	11.568	6,94 (0,06)	7.103,91 c (61,42)	1.735,20 (15)	2.452,42 (21,2)	269,53 (2,33)	8,07 a	
C ₂	25,08	28,65 a	7.173	31,56 (0,44)	5.014,65 b (69,92)	918,86 (12,81)	1.078,10 (15,03)	129,83 (1,81)	4,09 b	
C ₃	37,32	28,3 a	10.344	3,10 (0,03)	7.380,45 ab (70,83)	1.241,28 (12)	1.595,04 (15,42)	124,13 (1,2)	10,56 a	
C ₄	37,32	29,85 a	13.330	33,33 (0,25)	10.486,71 a (78,53)	1.387,65 (10,41)	1.247,69 (9,36)	174,62 (1,31)	6,35 a	
C ₅	40,78	31,31 a	12.290	9,83 (0,08)	9.042,98 ab (73,56)	1.437,93 (11,7)	1.672,67 (13,61)	126,59 (1,03)	11,73 a	

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$).

^{ns} - não significativo; * - significativo em nível de 5% de probabilidade; ** - significativo em nível de 1% de probabilidade; ¹ - Valores entre parênteses expressam porcentagens.

R₁=Ração 1; R₂=Ração 2; R₃=Ração 3; R₄=Ração 4

C₁=Coleta de 05/12/2002; C₂=Coleta de 09/01/2003; C₃=Coleta de 06/02/2003; C₄=Coleta de 10/03/2003; C₅=Coleta de 10/04/2003

A análise de variância do número de monócitos demonstrou efeito significativo ($P < 0,05$) para a interação entre diferentes rações e coletas (Tabela 2). Os valores médios de monócitos nos diferentes tratamentos e coletas encontram-se na tabela 5, onde se pode observar que o maior número de monócitos (88,9-0,78%) foi encontrado no sangue das rãs alimentadas com R_1 , na quarta coleta (C_4), não diferindo significativamente do valor encontrado no sangue das rãs alimentadas com R_3 (29,57-0,22%). Nos tratamentos com as rações R_1 , R_2 e R_4 destaca-se a estabilidade da quantidade de monócitos nas diferentes coletas, não ocorrendo alteração significativa. WANG e CHANG (1994), em estudos realizados com rãs-touro adultas criadas em cativeiro, obtiveram porcentagem de monócitos de 10,67%. Já, SZUBARTOWSKA *et al.* (1990) obtiveram o valor relativo de 12,87% de monócitos no sangue periférico

de exemplares adultos de *Rana esculenta*. FERREIRA (2002) observou em girinos de *Rana catesbeiana* valor próximo ao encontrado no presente trabalho (0,17%), 0,14% e 0,38%, respectivamente nas amostragens de 14 e 312 horas, no grupo controle.

O número de linfócitos no sangue das rãs somente foi influenciado significativamente ($P < 0,01$) pelo tempo de coleta (Tabela 2), podendo-se observar que houve tendência de aumento da porcentagem de linfócitos com o passar do tempo, apresentando valores médios de 61,42 a 78,53%. Esses resultados diferem daquele obtido por WANG e CHANG (1994) para rãs-touro adultas mantidas em cativeiro: 52,77% de linfócitos; por SZUBARTOWSKA *et al.* (1990) para *Rana esculenta* adulta: 52,87% de linfócitos; e por FERREIRA (2002) para girinos de *R. catesbeiana* (controle): 94,22% em 48 horas e 89,84% em 312 horas, no período de amostragem.

Tabela 3. Valores médios do número de eritrócitos ($\times 10^6/\text{mm}^3$) no sangue de rã-touro, *Rana catesbeiana*, para interação entre rações e coletas

Tratamento	Coleta				
	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅
R ₁	36,33 Aa	23,11 Aa	36,86 Aa	36,86 Aa	40,11 Aa
R ₂	31,17 Ab	29,44 Ab	31,67 Ab	31,67 Ab	46,33 Aa
R ₃	28,06 Aab	23,33 Ab	50,17 Aa	50,17 Aa	48,44 Aa
R ₄	31,33 Aa	24,44 Aa	30,58 Aa	30,58 Aa	28,22 Aa

Em cada linha (letra minúscula) e em cada coluna (letra maiúscula): resultados seguidos de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 4. Valores médios do número de leucócitos (N/mm^3) no sangue de rã-touro, *Rana catesbeiana*, para interação entre rações e coletas

Tratamento	Coleta				
	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅
R ₁	12.870 Aa	6.287 Ab	10.573 Aa	12.344 Aa	14.916 Aa
R ₂	13.623 Aa	8.251 Aa	11.289 Aa	14.327 Aa	11.738 ABa
R ₃	10.394 Aab	8.078 Ab	12.721 Aab	16.473 Aa	16.628 Aa
R ₄	9.389 Aa	6.077 Aa	6.791 Aa	10.177 Aa	5.878 Ba

Em cada linha (letra minúscula) e em cada coluna (letra maiúscula): resultados seguidos de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 5. Valores médios do número de monócitos (N/mm^3) no sangue de rã-touro, *Rana catesbeiana*, para interação entre rações e coletas

Tratamento	Coleta				
	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅
R ₁	14,82 Aa	50,15 Aa	0 Aa	88,90 Aa	0 Aa
R ₂	0 Aa	65,15 Aa	0 Aa	0 Ba	0 Aa
R ₃	0 Ab	73,29 Aa	0 Ab	29,57 ABab	0 Ab
R ₄	9,19 Aa	17,62 Aa	9,19 Aa	0 Ba	25,28 Aa

Em cada linha (letra minúscula) e em cada coluna (letra maiúscula): resultados seguidos de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$).

O número de basófilos no sangue de rãs-touro também apresentou efeito significativo ($P < 0,05$) para a interação entre rações e coletas (Tabela 2). Na tabela 6 são apresentados os valores médios do número de basófilos no sangue de rãs-touro. A análise dos dados indica que não houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre os tratamentos nas diferentes coletas. Quando se comparam os diferentes tratamentos ao longo do tempo, observa-se estabilidade do número de basófilos no sangue das rãs alimentadas com a ração R_1 , nas diferentes coletas, não ocorrendo alteração significativa; nas rãs alimentadas com R_2 ocorreu diminuição significativa do número de basófilos: de 3.408,09 (28,78%) na primeira coleta (C_1) para 1.077,99 (9,11%) na segunda coleta (C_2), estabilizando-se nas coletas seguintes; nas rãs alimentadas com R_3 e R_4 houve diminuição significativa de C_1 para C_4 . Os resultados obtidos neste trabalho diferem daqueles registrados por FERREIRA (2002) em girinos de *R. catesbeiana* (controle): 8,32% em 48 horas e 5,01% em 312 horas, no período de amostragem; por WANG e CHANG (1994) em rãs-

touro adultas, em cativeiro: 2,66%; e por SZUBARTOWSKA *et al.* (1990) em *Rana esculenta* adulta: 2,03%.

O sistema imunológico dos animais está relacionado com o peso do animal, sendo tanto mais efetivo quanto maior for o indivíduo (NOGA, 1996). Neste trabalho, rãs que receberam a ração R_4 apresentaram menor ganho de peso (Figura 2) e diminuição no número de leucócitos nas extensões sanguíneas.

O número de trombócitos no sangue das rãs foi influenciado significativamente ($P < 0,01$) somente pelos tempos de coleta (Tabela 2), observando-se diminuição significativa de seu número na segunda coleta (C_2).

HARRIS (1972) e KRAUTER *et al.* (1987) enumeraram alguns fatores que contribuíram para imediatas mudanças hematológicas, tais como: tipos e níveis de infecção, situações estressantes, variáveis ambientais (fotoperíodo, temperatura, umidade), estado nutricional, além das variações individuais.

Tabela 6. Valores médios do número de basófilos (N/mm^3) no sangue de rã-touro, *Rana catesbeiana*, para interação entre rações e coletas

Tratamento	Coleta				
	C_1	C_2	C_3	C_4	C_5
R_1	1.518,21 Aa	1.746,17 Aa	2.039,10 Aa	1.177,41 Aa	1.759,85 Aa
R_2	3.408,09 Aa	1.077,99 Ab	1.684,50 Ab	816,19 Ab	1.500,89 Ab
R_3	2.400,59 Aa	2.158,86 Aab	1.856,70 Aab	1.213,80 Ab	1.557,10 Aab
R_4	1.838,88 Aa	1.447,35 Aab	1.157,73 Aab	825,96 Ab	1.089,54 Ab

Em cada linha (letra minúscula) e em cada coluna (letra maiúscula): resultados seguidos de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$).

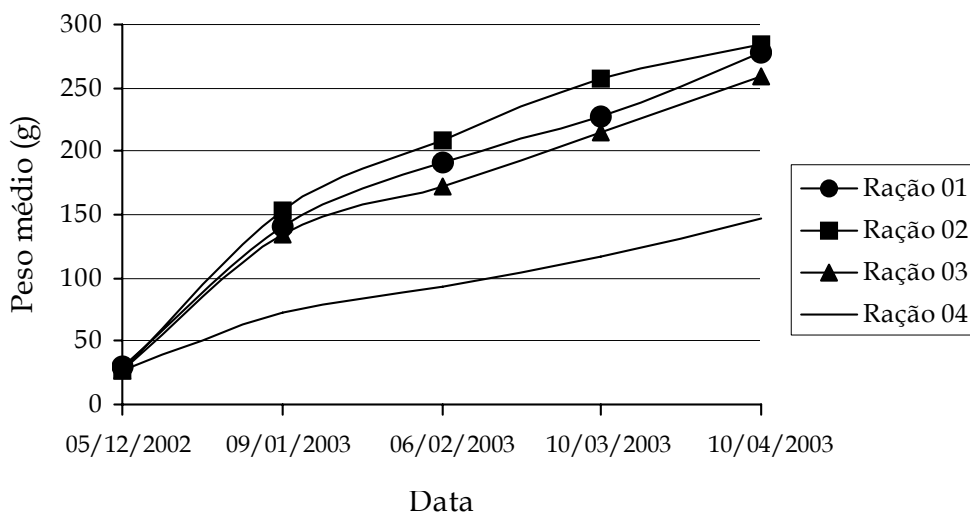


Figura 2. Peso médio (g) de rãs-touro, *Rana catesbeiana*, durante o período experimental

CONCLUSÃO

Nas condições experimentais do presente trabalho não houve efeito das diferentes rações sobre as características hematológicas de exemplares de rã-touro, *Rana catesbeiana*, entretanto observaram-se alterações do número de eritrócitos e leucócitos e da porcentagem de basófilos nos diferentes tempos de coleta. A diversidade de resultados encontrados para um mesmo parâmetro nos trabalhos consultados ressalta a necessidade de realização de futuros trabalhos para o estabelecimento de valores basais de características hematológicas da espécie estudada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CANNON, M.S.; SAMPSON, H.W.; KAPES, E.D. 1987 The blood leukocytes of *Bufo marinus*: a light, phase contrast and histochemical study. *Can. J. Zool.*, Ottawa, 65: 1445-1453.
- DIAS, J.L.C. 1992 *Influência da temperatura ambiental sobre a resposta celular inflamatória e a evolução do perfil leuco-trombocitário no sangue periférico de rã-touro gigante (Rana catesbeiana Shaw, 1802)*. São Paulo. (Tese de Doutorado. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia/USP).
- DUELLMAN, W.E. e TRUEB, L. 1986 *Biology of amphibians*. Baltimore: The Johns Hopkins University Press.
- FERREIRA, C.M. 2002 *Avaliação da toxicidade do cobre e do uso de girinos de rã-touro (Rana catesbeiana Shaw, 1802) como animais sentinelas*. São Paulo. (Tese de Doutorado. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo).
- GOLDENFARB, P.B.; BOWYER, F.P.; HALL, E.; BROSIUS, E. 1971 Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. *Am. J. Clin. Pathol.*, Philadelphia, 56: 35-39.
- HARRIS, J.A. 1972 Seasonal variations in some hematological characteristics of *Rana pipens*. *Comp. Biochem. Physiol.*, Oxford, 43: 975-989.
- KLAR, G.T. 1986 Diet related anemia in channel catfish: Case history and laboratory induction. *Prog. Fish-Cult.*, 48: 60-64.
- KRAUTER, P.W.; ANDERSON, S.L.; HARRISON, F.L. 1987 Radiation-induced micronuclei in peripheral erythrocytes of *Rana catesbeiana*: An aquatic animal model for in vivo genotoxicity studies. *Arch. Env. Mol. Mutagen.*, 10: 285-296.
- LIMA, S.L. e AGOSTINHO, C.A. 1992 *A tecnologia de criação de rãs*. Viçosa: MG, UFV, Imprensa Universitária. p.168.
- NAOUM, P.C.; NAGEL, A.A.; SILVA, F.S. 1986 Contribuição para a determinação dos valores hematológicos em *Bufo paracnemis* (Amphibia, Anura). *Ciênc. Cult.*, São Paulo, 38: 883-892.
- NOGA, E.J. 1996 *Fish Disease: diagnosis and treatment*. New Jersey: Mosby-Year Inc.
- PITOMBEIRA, M.S. e MARTINS, J.M. 1966 A direct method for white blood count in fishes. *Arq. Est. Biol. Mar. Univ. Fed. Ceará*, 6(2): 205.
- ROSENFELD, G. 1947 Corante pancrômico para hematologia e citologia clínica. Nova combinação dos componentes do May-Grünwald e do Giemsa num só corante de emprego rápido. *Mem. Inst. Butantan*, São Paulo, 20: 329-334.
- SCHMIDT-NIELSEN, K. 1996 *Fisiologia Animal, Adaptação e Meio Ambiental*. 5.ed. São Paulo: Livraria Santos.
- SCHVARTSMAN, S. 1991 *Intoxicações Agudas*. 4.ed. São Paulo: Sarvier.
- SZUBARTOWSKA, E.; GROMYSZ-KALOWSKA, K.; WÓJCIK, K. 1990 Behavior of the formed blood elements in *Rana esculenta* after repeated contacts of the animal with a therapeutic dose of foschlor. *Bull. Arch. Env. Cont. Toxicol.*, New York, 45: 796-803.
- TAVARES, M.D. 2004 *Hematologia de Peixes Teleósteos*. Ribeirão Preto: Villimpress Complexo Gráfico.
- TEIXEIRA, A.S. 1998 *Alimento e alimentação dos animais*. 4.ed. Lavras: UFLA/FAESPG.
- TURNER, R.J. 1988 Amphibians. In: ROWLEY, A.F e RATCLIFFE, N.N.A. (Ed.). *Vertebrate Blood Cells*. New York: Cambridge University Press. p.129-209.
- WANG, J.H. e CHANG, M.H. 1994 Studies on hematology of captive bullfrog, *Rana catesbeiana*. *C O A Fish. Ser. Rep.*, 46: 69-87.