

ESTUDOS HEMATOLÓGICOS EM "BAGRE" *Rhamdia hilarii* (Val. 1840),
TELEÓSTEO, NO ESTÁDIO DE DESENVOLVIMENTO GONADAL MADURO

(Hematological studies in "bagre" *Rhamdia hilarii* (Val. 1840), Teleostei, in the
mature gonadal stage)

Emico Tahiria KAVAMOTO 1
Maria José TAVARES RANZANI-PAIVA 2
Mikico TOKUMARU 3

RESUMO

Para a caracterização do quadro hematológico de exemplares em estádio gonadal Maduro de *Rhamdia hilarii*, foram feitas as seguintes análises: contagem diferencial de leucócitos, determinação do número de leucócitos e eritrócitos, concentração de hemoglobina, hematocrito e calculadas as constantes corpusculares: VCM (volume corpuscular médio), HCM (hemoglobina corpuscular média) e CHCM (concentração de hemoglobina corpuscular média).

ABSTRACT

Hematological values of mature specimens of *Rhamdia hilarii* were analysed: differential enumeration of various leucocytes, total leucocytes and erythrocytes numbers, hemoglobin and haematocrit concentration; the mean values of the hematological index: Mean Corpuscular Volume (MCV); Mean Corpuscular Hemoglobin (MCH) and Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC) were also calculated.

1. INTRODUÇÃO

O estudo da composição e da função dos componentes do sangue de peixes é de fundamental importância para o conhecimento das condições biológicas e bioquímicas normais e patológicas. Tais informações são particularmente de grande valor quando interpretam as modificações induzidas por poluentes, outro fator ambiental anormal ou por condições intrínsecas como: sexo, estádio de maturação gonadal, alimentação e idade.

Diversos autores têm estabelecido valores normais para algumas variáveis hematológicas em peixes, sendo difícil no entanto, encontrar informações completas referentes a uma única espécie, principalmente de água doce.

PITOMBEIRA (1972) descreveu em condições experimentais o quadro normal de *Astronotus ocellatus*. DIAS; FO-

RESTI; TOLEDO FILHO (1975) fizeram um estudo da morfologia e morfometria das células sanguíneas de alguns peixes das famílias Characidae e Curimatidae; FORESTI et alii (1977a) realizaram análises quantitativas e qualitativas no sangue de *Hoplias malabaricus*; FORESTI et alii (1977b) fizeram algumas observações sobre a morfologia, morfometria, contagem das células e sobre as características fisiológicas do sangue de *Rhamdia hilarii*; TOKUMARU; GODINHO; RANZANI (1977) realizaram ensaios em sangue de *Pimelodus maculatus*, *Prochilodus scrofa*, *Salminus maxillosus* e *Leporinus* sp; RIBEIRO (1978) analisou a morfologia, a citoquímica dos elementos figurados do sangue periférico e a histologia e citologia dos órgãos hematopoéticos de *Pimelodus maculatus*; RANZANI-PAIVA & GODINHO (1979) apresentaram alguns dados de sangue de *Prochilodus scrofa* e RANZANI-PAIVA (1981) descreveu o quadro sanguíneo de *Prochilo-*

(1) Pesquisador Científico – Seção de Biologia Aquática – Instituto de Pesca.
(2) Biologia – Seção de Biologia Aquática – Instituto de Pesca.
(3) Professor – Doutor – Instituto de Ciências Biomédicas – USP.

dus scrofa, considerando sexo, estádio de maturação gonadal e estação do ano.

Modificações no quadro hematológico em peixes, durante o ciclo de maturação dos gônadas foram relatadas por SLICHER (1958), GARDNER & YEVICH (1969), EZZAT; SHABANA; FARGHALY (1974), PANDEY (1977), MAHAJAN &

DHEER (1979) e RANZANI-PAIVA (1981).

Este trabalho refere-se a alguns dados preliminares sobre as variáveis hematológicas de machos e fêmeas do bagre, *Rhamdia hilarii*, no estádio do desenvolvimento gonadal Maduro.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram examinados 18 exemplares (10 machos e 8 fêmeas) de bagre, *Rhamdia hilarii*, no estádio de desenvolvimento gonadal Maduro, coletados no Rio Jaguari, próximo à cidade de Jaguariúna, Estado de São Paulo, em setembro de 1979.

Após a captura, os peixes foram transportados vivos para o Instituto de Pesca, em São Paulo, permanecendo durante 2 a 3 dias, para diminuir a ação do "stress" (FAVARETTO, 1977). Os animais foram imobilizados, em decúbito dorsal e o sangue coletado da artéria dorsal, utilizando-se seringas plásticas previamente umedecidas com solução isotônica de EDTA. Este sangue foi colocado em frascos siliconizados, também umedecidos em anticoagulante. Todas as amostras com suspeita de hemólise ou coágulo foram desprezadas.

De cada exemplar foram anotados os seguintes dados: comprimento total (em centímetros), peso total (em gramas) e, após incisão mediana ventral, verificou-se o sexo e o estádio de maturação gonadal.

Para a contagem diferencial dos leucócitos foram feitos esfregaços de sangue periférico, corados pelo método de ROSENFIELD (1947). Foram contadas 200 células em cada lâmina na microscopia óptica, sendo identificadas

e contadas as células da série agranulocítica (linfócitos e monócitos) e série granulocítica (neutrófilos e basófilos).

A contagem de eritrócitos em mm^3 foi feita em câmara hematimétrica de Neubauer "Improved", usando-se a solução de Hayem como diluente, e para a contagem de leucócitos usou-se o método de PUCHKOV (1964).

A concentração de hemoglobina em g/100ml de sangue foi determinada pelo método de cianometahemoglobina e a leitura feita no espectrofotômetro Coleman Jr.

Para a determinação do volume globular empregou-se a técnica do microhematocrito.

As constantes corpusculares VCM (volume corpuscular médio), HCM (hemoglobina corpuscular média) e CHCM (concentração de hemoglobina corpuscular média) foram calculadas segundo fórmula de WINTROBE (1934).

Para as análises estatísticas dos resultados, os indivíduos foram separados por sexo e as diferenças entre as médias das diversas variáveis foram testadas através do teste "t" de Student (COSTA NETO, 1977).

3. RESULTADOS

Todos os indivíduos coletados para este estudo encontravam-se no estádio de desenvolvimento gonadal Maduro. A variação do comprimento total de exem-

E DISCUSSÃO

plares foi de 23,0 a 31,5cm e peso de 121,0 a 277,0g.

A TABELA 1 mostra os resultados

da média porcentual e respectivos desvios padrão, de linfócitos, monócitos, neutrófilos e basófilos, para o total de exemplares e por sexos separados. A diferença entre as médias das porcentagens de leucócitos de machos e fêmeas não foi significativa ao nível de 5%.

Para *Rhamdia hilarii*, neste estádio de maturação gonadal, o linfócito foi a célula de maior freqüência. De uma maneira geral, sem considerar o sexo ou estágio de maturação gonadal, PITOMBEIRA et alii (1972), trabalhando com *Opistognathus oglinum* e MUCAHY (1970) com *Ezox Lucius*; PITOMBEIRA (1972),

com *Astronotus ocellatus*, McCARTHY et alii (1973), com *Salmo gairdneri*, BLAXHALL & DAISLEY (1973), com *Salmo trutta*, EZZAT et alii (1974), com *Tilapia zilli*, FORESTI et alii (1977a), para *Hoplias malabaricus*, FORESTI et alii (1977b) com *Rhamdia hilarii* e RIBEIRO (1978) com *Pimelodus maculatus*, também encontraram o linfócito como célula de maior freqüência.

Não foi encontrado eosinófilo no sangue periférico de *Rhamdia hilarii*, o mesmo ocorrendo no sangue periférico de *Prochilodus scrofa* (RANZANI-PAIVA, 1981).

TABELA 1

Resultados estatísticos de freqüência de linfócitos, monócitos, neutrófilos e basófilos, para machos, fêmeas e sexos agrupados, de *Rhamdia hilarii*.

	linfócitos	neutrófilos	monócitos	basófilos
Ax	57,0 - 74,0	1,0 - 2,0	33,0 - 41,0	1,0 - 5,0
N	10	10	10	10
♂ \bar{x}	61,00	1,80	36,00	1,20
s	2,36	0,42	3,33	1,55
cv	3,87	23,33	9,25	129,17
Ax	50,0 - 65,0	1,0 - 3,0	32,0 - 47,0	1,0 - 2,0
N	8	8	8	8
♀ \bar{x}	60,25	1,75	37,25	1,00
s	5,09	0,88	5,01	0,76
cv	8,45	50,05	13,45	76,00
T Ax	50,0 - 65,0	1,0 - 3,0	32,0 - 47,0	1,0 - 5,0
T N	18	18	18	18
O \bar{x}	60,67	1,78	36,56	1,11
T	3,71	0,65	4,08	1,23
A _s	6,12	36,33	11,16	110,81
L _{cv} _t	0,38	0,15	-0,61	0,13

Ax = amplitude da variável x

N = número de exemplares

\bar{x} = média

s = desvio padrão

cv = coeficiente de variação

t = teste "t" de Student

Nos esfregaços de sangue periférico, foram identificadas as células:

– Série vermelha:

– *eritrócitos*: são células elípticas, apresentando núcleo central geralmente acompanhando o formato da célula. Cromatina compacta. Citoplasma acidófilo, ocupando grande parte da célula.

– Série trombocítica:

– *trombócitos*: células ovais, de núcleo grande, citoplasma escasso e pouco corado na maioria das células. Aparecem quase sempre agrupadas.

– Série branca:

– *linfócitos*: células, na maioria, pequenas. Entretanto, freqüentemente aparecem grandes linfócitos. Núcleo chanfrado, ocupando quase toda a célula. Cromatina compacta e homogênea. Citoplasma basofílico e escasso.

– *monócitos*: células grandes, arredondadas, de contorno irregular. Núcleo arredondado, às vezes chanfrado. Citoplasma varia em abundância, apresentando-se vacuolizado e discretamente basofílico.

– *neutrófilos*: células arredondadas, núcleo excêntrico que varia em forma (segmentada ou lobulada) e em tamanho. Cromatina em finos grumos, citoplasma abundante, levemente róseo.

– *basófilos*: são células redondas, núcleo excêntrico. Citoplasma escasso. Apresentam grânulos basofílicos grosseiros, esféricos e escuros que cobrem o núcleo.

Contagem diferencial

A análise da contagem diferencial de leucócitos tem grande aplicação em estudos clínicos dos animais, dando indicação de anormalidades metabólicas, condições de doenças, estado de adaptação, mudanças imunoquímicas e processos de defesa fisiológica. Em peixes, entretanto, o significado deste grupo de células e sua função biológica não são ainda claramente compreendidos. Pesquisadores discordam na

identificação dos diferentes leucócitos, principalmente por causa das diferenças no número e morfologia dessas células, entre as espécies e mesmo dentro de uma única espécie.

Número de leucócitos

A contagem do número de leucócitos em peixes apresentou alguma dificuldade devido à presença do núcleo nos eritrócitos. Os métodos normalmente usados para esta análise, em mamíferos, não podem ser utilizados em peixes. Para isto usou-se o método de PUCHKOV (1964) que emprega um corante vital.

A TABELA 2 mostra as médias e os respectivos desvios padrão para o número de leucócitos, para o total de exemplares e por sexos separados. As diferenças entre as médias do número de leucócitos para machos e fêmeas não foi significativa ao nível de 5%.

O número de leucócitos em *Rhamdia hilarii*, é bastante inferior ao encontrado para outras espécies. PITOMBEIRA (1972), para *Astronotus ocellatus* encontrou um valor de 12.600/mm³, ao passo que RIBEIRO (1978), para *Pimelodus maculatus* encontrou 77.800mm³.

Número de eritrócitos

O número de eritrócitos, em peixes, é bastante baixo quando comparado com mamíferos. Segundo WINTROBE (1934) o tamanho e o número de eritrócitos refletem a posição da espécie na escala evolutiva. Os vertebrados inferiores apresentam glóbulos vermelhos maiores, mas em menor número.

Os valores das médias porcentuais e desvio padrão do número de eritrócitos do total de exemplares de *Rhamdia hilarii*, Maduros e por sexos separados, são apresentados na TABELA 2. A diferença entre as médias do número de eritrócitos, de machos e fêmeas não foi significativa ao nível de 5%.

TABELA 2

Resultados estatísticos do nº de leucócitos/mm³, nº de eritrócitos ($10^4/\text{mm}^3$), taxa de hemoglobina (g/100 ml), hematócito (%) de machos, fêmeas e sexos agrupados de *Rhamdia hilarii*.

	nº de leucócitos	nº de eritrócitos	taxa de hemoglobina	hematócito
Ax	3600,0 - 8800,0	111,0 - 202,0	9,9 - 12,5	29,0 - 40,0
N	10	10	10	10
♂ \bar{x}	6180,0	169,90	11,53	34,05
s	1547,79	37,10	1,02	4,45
cv	25,04	21,83	8,85	13,07
Ax	5050,0 - 8000,0	121,0 - 195,0	9,9 - 12,5	33,0 - 42,0
N	8	8	8	8
♀ \bar{x}	6425,0	144,25	11,32	36,62
s	1026,09	23,57	0,88	3,33
cv	15,97	16,34	7,77	9,09
Ax	3600,0 - 8800,0	111,0 - 202,0	9,9 - 12,5	29,0 - 42,0
T N	18	18	18	18
O \bar{x}	6288,89	158,50	11,43	35,19
T s	1310,54	33,60	0,94	4,10
A cv	30,84	21,20	8,22	11,65
L t	-0,40	1,78	0,47	-1,40

FORESTI et alii (1977b) trabalhando com *Rhamdia hilarii*, encontraram valores médios de $170 \times 10^6/\text{mm}^3$ bastante próximo à média de $158,50 \times 10^6/\text{mm}^3$ encontrado neste trabalho.

Esta característica parece sofrer alteração quanto ao estádio de maturação gonadal, sendo que na época de desova há uma diminuição do número de eritrócitos, acentuando-se mais, ainda, este declínio entre as fêmeas, como relatam EZZAT et alii (1974) e MAHAJAN & DHEER (1979) para *Tilapia zilli* e *Channa punctatus*, respectivamente.

Concentração de hemoglobina

Na TABELA 2, também, são encontradas as médias e respectivos desvios padrão da concentração de hemoglobina para o total de exemplares de *Rhamdia hilarii* e por sexos separados.

A diferença entre as médias de machos e fêmeas não foi significativa ao nível de 5%.

A concentração de hemoglobina, consiste num dos métodos mais usados para a detecção de anemias. Segundo HALL & GRAY (1929) parece haver, para peixes marinhos, uma relação direta entre a concentração de hemoglobina e atividade, sendo que, as espécies pelágicas e migradoras, apresentam, aparentemente, maiores valores que as bentônicas.

Para o bagre, *Rhamdia hilarii*, foi encontrado um valor médio de 11,43g/100ml, superior aos dados de FORESTI et alii (1977b), que encontraram um valor de 7,44g/100ml, para esta mesma espécie.

Com relação a peixes de água doce, sem considerar sexo ou estádio de matura-

ção gonadal, PITOMBEIRA (1972), encontrou valor médio de concentração de hemoglobina de 6,6g/100ml para *Astronotus ocellatus*, espécie considerada de ambiente lêntico. Já, para *Pimelodus maculatus* (RIBEIRO, 1978) e *Prochilodus scrofa* (RANZANI-PAIVA, 1981), foram encontrados valores médios, respectivamente de 13,46 g/100ml e 12,6g/100ml, sendo que estas espécies são de ambiente lótico e migradoras.

É conhecido também, que os valores desta variável podem sofrer modificações dependendo do estádio de maturação gonadal, aumentando durante a reprodução, e também, dependendo do nível de O₂ dissolvido na água.

Hematócrito

O hematócrito, também, como o número de eritrócitos, apresenta um caráter evolutivo. Entre as espécies marinhas, os valores menores ocorrem em peixes situa-

dos inferiormente na escala evolutiva (LARSSON et alii, 1976).

Os valores de média porcentual e desvio padrão para o hematócrito, do total de exemplares de *Rhamdia hilarii* e separados por sexo, são apresentados na TABELA 2. A diferença entre as médias do hematócrito de machos e fêmeas, não foi significativa ao nível de 5%.

FORESTI et alii (1977) encontraram para *Rhamdia hilarii* um valor de 30,14% para o hematócrito, valor este, bem próximo ao valor médio de 35,19% encontrado neste trabalho.

Constantes corpusculares

Foram calculadas as seguintes constantes corpusculares: VCM (volume corpuscular médio), HCM (hemoglobina corpuscular média) e a CHCM (concentração de hemoglobina corpuscular média). Esses valores médios e seus respectivos desvios padrão são apresentados na TABELA 3, bem como a média do total de exemplares.

TABELA 3

Resultados estatísticos dos valores das constantes corpusculares VCM (μ^3), HCM (μg) e CHCM (%), para machos, fêmeas e sexos agrupados, de *Rhamdia hilarii*.

	VCM	HCM	CHCM
Ax	14,92 – 33,90	49,50 – 100,81	24,75 – 13,10
N	10	10	10
♂ \bar{x}	21,00	70,14	34,48
s	5,76	19,05	5,38
cv	27,43	27,16	15,60
Ax	20,51 – 31,40	50,77 – 103,31	24,75 – 34,85
N	8	8	8
♀ \bar{x}	25,74	80,47	31,12
s	3,22	14,68	3,32
cv	12,51	18,24	10,67
Ax	14,92 – 33,90	49,50 – 103,31	24,75 – 43,10
T N	18	18	18
O \bar{x}	23,11	74,73	32,98
T s	5,26	17,57	4,79
A cv	22,76	23,51	14,52
L			
t	-2,21	-1,30	1,63

Não foi encontrada diferença significativa entre as médias de machos e fêmeas ao nível de 5%.

Segundo MIGLIANO (1967), a CHCM é a constante que se apresenta mais uniforme entre os vertebrados, com valores ao redor de 30%. Para o bagre, *Rhamdia hilarii*, o valor desta constante foi de 24,75%. Segundo MOLNAR & TAMASSY (1970), que analisaram o sangue de *Silurus glanis* duran-

te o período de um ano, parece que esta constante está, também, relacionada ao hábito alimentar dos peixes. As espécies herbívoras apresentam valores mais elevados.

Com relação ao VCM, WINTROBE (1934) relata que seu valor é sempre mais elevado nos peixes, que nos mamíferos, devido ao maior tamanho dos glóbulos vermelhos, explicável pela presença de núcleo nos mesmos.

4. CONCLUSÕES

Foram encontradas as seguintes células da série branca, no sangue periférico de *Rhamdia hilarii*, no estádio de desenvolvimento gonadal Maduro, com sua respectiva porcentagem relativa:

linfócitos — 60,67%
monócitos — 1,78%
neutrófilos — 36,56%
basófilos — 1,11%

Não foi detectada a presença de eosinófilos.

As variáveis hematológicas e as constantes corpusculares, analisadas neste tra-

lho, apresentaram os seguintes valores médios:

nº de leucócitos: 6.288,89/mm³
nº de eritrócitos: 158,50 . 10⁶/mm³
taxa de hemoglobina: 11,43 g/100 ml
hematocrito: 35,19%
VCM = 23,11 μ³
HCM = 74,73 μg
CHCM = 32,98%

Não foram encontradas diferenças significativas entre as médias de machos e fêmeas, em toda as análises realizadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BLAXHALL, P.C. & DAISLEY, K.W. 1973 Routine haematological methods for use with fish blood. *J. Fish Biol.*, Huntingdon, 5:771-81.
- COSTA NETO, P.L.O. 1977 *Estatística*. São Paulo, Edgard Blücher, 264p.
- DIAS, E.; FORESTI, F.; TOLEDO FILHO, S.A. 1975 Características das células do sangue de peixes pertencentes às famílias Characidae e Curimatidae. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O PROGRESSO DA CIÊNCIA, 27, Belo Horizonte, 1975. Resumos... S. Paulo, SBPC, p. 299.
- EZZAT, A.A.; SHABANA, M.B.; FARGHALY, A.M. 1974 Studies on blood characteristics of *Tilapia zillii* (Gervais). I. Blood Cells. *J. Fish Biol.*, Huntingdon, 6: 1-12.
- FAVARETTO, A.L. 1977 *Efeitos da exposição do ar sobre parâmetros fisiológicos do cascudo, Plecostomus regani (Ihering, 1905), peixe teleósteo de respiração aquática aérea*. São Paulo, 95 p. (Tese de doutoramento. Instituto de Biociências, USP).
- FORESTI, F. et alii. 1977a Hematologia da traíra (*Hoplias malabaricus* Bloch, 1794) (Pisces: Erythrinidae). Aspectos morfológicos e fisiológicos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O PROGRESSO DA CIÊNCIA, 29, S. Paulo, 1977. Resumos... S. Paulo, SBPC, p. 580.
- FORESTI, F. et alii. 1977b Medidas de alguns parâmetros morfológicos e fisiológicos do sangue de bagre (*Rhamdia hilarii* Valenciennes, 1840) (Pisces: Pimelodidae). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O PROGRESSO DA CIÊNCIA, 29, S. Paulo, 1977. Resumos... S. Paulo, SBPC, p. 580.
- GARDNER, G.R. & YEVICH, P.P. 1969 Studies of the blood morphology of three estuarine Cyprinodontiform fishes. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, Ottawa, 26 (2): 433-47.
- HALL, F.G. & GRAY, I.E. 1929 The hemoglobin concentration of the blood of marine fishes. *J. Biol. Chem.*, Baltimore, 81: 589-94.
- LARSSON, A.; JOHANSSON-SJÖBECK, M.J.; FÄNGE, R. 1976 Comparative study of some haematological and biochemical blood parameters in fishes from the Skagerrak. *J. Fish Biol.*, Huntingdon, 9: 425-40.
- MAHADAN, C.L. & DHEER, J.S. 1979 Seasonal variations in the blood constituents of an airbreathing fish, *Channa punctatus* Bloch. *J. Fish Biol.*, Huntingdon, 14 (4): 413-17.

- McCARTHY, D.H.; STEVENSON, J.P.; ROBERTS, M.S. 1973 Some blood parameters of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*, Richardson) I. The Kamloops variety. *J. Fish Biol.*, Huntingdon, 5: 1-8.
- MIGLIANO, M.F. 1967 *Curso de hematologia clínica veterinária*. 179 p. (mimeografado).
- MOLNAR, G. & TAMASSY, E. 1970 Study of haemoglobin content of a single erythrocyte (M index) in various cultured fish species. *J. Fish Biol.*, Huntingdon, 2: 167-71.
- MULCAHY, M.F. 1970 Blood values in the pike, *Esox lucius* L. *J. Fish Biol.*, Huntingdon, 2: 203-9.
- PANDEY, B.N. 1977 Haematological studies in relation to environmental temperature and different periods of breeding cycle in an air breathing fish, *Heteropneustes fossilis*. *Folia Haemotol.* Leipzig, 104(1): 69-74.
- PITOMBEIRA, M.S. 1972 *Hematologia do apaiari, Astronotus ocellatus (Cuvier, 1829). Peixe teleósteo. Aspectos morfológicos e fisiológicos*. São Paulo. 133 p. (Tese de Doutorado. Departamento de Fisiologia geral e Instituto de Biologia Marinha. Instituto de Biociências, USP).
- _____; MARTINS, J.M. & FURTADO, E. 1968 Hematology of the Atlantic thread herring, *Opisthonema oglinum* (Le Sueur). *Arg. Est. Biol. Mar. Univ. Fed. Ceará*, Fortaleza, 8(2): 111-16, dez.
- PUCHKOV, N.V. 1964 The white blood cells. In: *Techniques for the Investigation of Fish Physiology*. Academy of Sciences of the U.S.S.R. Ichthyological Board p. 11-5.
- RANZANI-PAIVA, M.J.T. 1981 *Estudos hematológicos em curimbatá, Prochilodus scrofa Steindachner, 1881 (Osteichthyes, Cypriniformes, Prochilodontidae)*. São Carlos. 119 p. (Tese de Mestrado. Departamento de Ciências Biológicas. Univ. Federal de São Carlos).
- RANZANI-PAIVA, M.J.T. & GODINHO, H.M. 1979 Estudos hematológicos do curimbatá, *Prochilodus scrofa*, Steind. 1881, In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O PROGRESSO DA CIÊNCIA, 31, Fortaleza, 1979. Resumos... São Paulo, SBPC p. 415.
- RIBEIRO, W.R. 1978 *Contribuição ao estudo de hematologia de peixes. Morfologia e citoquímica das células do sangue e dos tecidos hematopoéticos do mandi amarelo, Pimelodus maculatus Lacépède 1803*. (Tese de doutoramento. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP).
- ROSEMFIELD, G. 1947 Corante pancrônico 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: 329-34, dez.
- SLICHER, A.M. 1958 Seasonal changes in the erythrocytes of *Fundulus heteroclitus*, with observations on the effects of hypophysectomy and replacement therapy methyltestosterone. *Anat. Rec.*, Philadelphia, PA, 132: 508.
- TOKUMARU, M.; GODINHO, H.M.; RANZANI-PAIVA, M.J.T. 1977 Estudos hematológicos em teleósteos de água doce. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O PROGRESSO DA CIÊNCIA, 29, S. PAULO, 1977. Resumos... S. Paulo, SBPC, p. 580.
- WINTROBE, M.M. 1934 Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. *Folia Maematolo*, Leipzig, 51: 32-49.