

ALGUMAS VARIÁVEIS HEMATOLÓGICAS DO "CASCUDO", *Plecostomus albopunctatus* REGAN (1908)

(Some blood observations of the "cascudo", *Plecostomus albopunctatus* Regan (1908))

Emjco Tahira KAVAMOTO 1
Mikico TOKUMARU 2
Rubens Augusto Penteado de Souza e SILVA 3
Benedito do Espírito Santo de CAMPOS 4

RESUMO

Foram analisadas as seguintes características hematológicas do "cascudo", *Plecostomus albopunctatus*, Regan (1908): número de eritrócitos; de leucócitos; taxa de hemoglobina; valor do hematócrito; volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM). Foram considerados os estádios de maturação gonadal e sexo, no período de fevereiro de 1979 a janeiro de 1980. A análise de variância revelou que as diferenças das características estudadas foram estatisticamente significativas ao nível de 1% de probabilidade nos diferentes estádios de maturação gonadal.

ABSTRACT

With the purpose of ascertaining some blood characteristics of the "cascudo", *Plecostomus albopunctatus*, Regan (1908), 114 fishes were analysed, considering the gonadal maturation stage, from February 1979 to January 1980. The analyses characteristics were: erythrocyte and leucocyte counts, hemoglobin concentration, haematocrit percentage, and were estimated the mean values of hematological index: Mean Corpuscular Volume (MCV); Mean Corpuscular Hemoglobin (MCH) and Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC). The analysis of variance showed a significant difference at 1% probability (** = $P < 0,01$) among the blood characteristics on the different gonadal maturation stages.

1. INTRODUÇÃO

Os peixes vivem em estreito contacto com o seu meio, e por isso são afetados pelas mudanças causadas por diferentes agentes físicos, químicos e biológicos.

Assim, a exploração econômica de qualquer espécie de peixe requer conhecimentos básicos dos principais fatores que direta ou indiretamente estão ligados ao meio ambiente, no manejo e prevenção das doenças.

Tendo em vista a boa perspectiva da piscicultura no Brasil devido ao imenso potencial hidrográfico, as investigações sobre os teleósteos, visando o conhecimento das condições de saúde, quadros patológicos, suscetibilidade em adquirir, transmitir e controlar doenças, merecem atenção dos nossos pesquisadores (PITOMBEIRA, 1972).

Segundo BLAXHALL (1972), os fatores hematológicos são utilizados na avaliação das condições subletais de poluentes

ambientais, podendo ser considerados prováveis indicadores de modificações cromossômicas.

Os cascudos são encontrados na região tropical e subtropical da América do Sul (ALEXANDER, 1965), e considerados peixes de valor econômico, sendo abundantes nos rios do Estado de São Paulo (FAVARETTO, 1977). De acordo com AZEVEDO (1938), os cascudos, *Plecostomus plecostomus*, vivem geralmente em lugares pedregosos, próximos às cachoeiras, podendo ser encontrados em quase todas as bacias dos rios brasileiros, adaptando-se, porém rapidamente em ambientes de águas represadas e fundo lodoso.

Aspectos da biologia de *Plecostomus albopunctatus* quanto a estrutura, população, reprodução e crescimento foram estudados por ANTONIUTTI (1981).

A finalidade deste trabalho foi determinar as características hematológicas tais

(1) Pesquisador Científico - Seção de Biologia Aquática - Divisão de Pesca Interior - Instituto de Pesca.
(2) Professor - Doutor - Instituto de Ciências Biomédicas - USP.
(3) Farmacêutico-Bioquímico - Instituto de Ciências Biomédicas - USP.
(4) Pesquisador Científico - Instituto de Zootecnia - Bolsista do CNPq.

como: número de eritrócitos, leucócitos, taxa da hemoglobina, valor do hematócrito, cálculo do VCM, HCM e CHCM de *Plecostomus albopunctatus*, assim como verificar as diferenças do quadro sangüíneo entre os

sexos nos quatro estádios de maturação gonadal. Isto contribuirá para verificar modificações causadas pelos agentes infecciosos, parasitários ou mesmo à ação de poluentes ambientais.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 114 exemplares de *Plecostomus albopunctatus*, Regan (1908), de ambos os sexos, capturados com tarrafas e redes cujas malhas apresentaram em média de 30 a 40 mm de abertura.

Realizaram-se todas as coletas num mesmo local do rio Jaguari, tomando como referência e corredeira situada à montante da cidade de Jaguariúna, (Lat. 22°42'36"S - Long. 47°00'20" W), no período de fevereiro de 1979 a janeiro de 1980.

Os peixes foram transportados vivos em caixas de polietileno, contendo água do próprio rio, para o laboratório do Instituto de Pesca em São Paulo. Durante aproximadamente 48 horas, os peixes ficaram em jejum, período considerado suficiente para adaptação dos animais no laboratório, eliminando-se possíveis sinais de "stress" provocado pela captura, transporte e variação de ambiente (SOIVIO & OIKARI, 1976, CASILLAS & SMITH, 1977).

Após imobilização de cada exemplar, amostras de 1,0 a 1,5 ml de sangue foram coletados por punção cardíaca, utilizando-se seringas plásticas umedecidas em solução isotônica de EDTA, anticoagulante recomendado por BLAXHALL & DAISLEY (1973). Em seguida as amostras foram depositadas em tubos de vidros siliconizados, já esterilizados e também ligeiramente umedecidos com anticoagulantes. Os vidros foram agitados delicadamente antes de serem estocados numa caixa de isopor. Foram desprezadas todas as amostras que apresentavam suspeita de hemólise ou coágulo.

Os exemplares foram sacrificados pela destruição da medula espinhal, anotando-se o comprimento total em centímetros e peso em gramas. Pela dissecação ventral, verificou-se o sexo, determinando macroscopicamente o estádio de maturação gonadal, as gônadas foram retiradas e pesadas (g).

Os esfregaços sangüíneos foram feitos imediatamente após a coleta, antes da amos-

tra ser depositada no tubo de vidro, para posterior coloração.

Foram realizados os exames de: número de eritrócitos; contagem dos leucócitos; taxa de hemoglobina; hematócrito, seguindo-se determinações das constantes corpusculares, VCM (volume corpuscular médio), HCM (hemoglobina corpuscular média) e CHCM (concentração de hemoglobina corpuscular média).

A contagem das células vermelhas foi feita após diluição do sangue na pipeta tipo Thomas para glóbulos vermelhos, no líquido de Hayem.

Para a contagem do número de leucócitos, empregou-se o método de PUCHKOV (1964), contando-se os núcleos e os citoplasmas corados.

Na dosagem da taxa de hemoglobina, foi empregado o método da cianometahemoglobina, descrito por COLLIER (1944). A intensidade da cor foi medida no espectrofotômetro Coleman Junior.

Para a determinação do volume globular empregou-se a técnica do microhematócrito, utilizando-se centrifuga marca Fanem.

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).

Os diversos resultados hematológicos obtidos nos quatro estádios de maturação gonadal, isto é, Repouso, Maturação, Maduro e Esgotado (ANTONIUTTI, 1981), foram submetidos a uma análise de variância; para analisar os contrastes entre as médias dos estudos hematológicos, foi aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade (PIMENTEL GOMES, 1973). Os dados foram processados em computador, através de programas elaborados por HARVEY (1979), para os efeitos fixos considerados.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para este trabalho, foram utilizados 114 peixes (57 machos, 57 fêmeas), cujo comprimento total variou de 20 a 30 cm, e o peso de 90 a 326 g.

Os valores médios das variáveis hematológicas e as constantes corpusculares dos exemplares analisados de *Plecostomus albopunctatus* nos quatro estádios de desenvolvimento gonadal, foram os seguintes:

- Número de eritrócitos - 915.700/mm³
- Número de leucócitos - 31,750/mm³

- Taxa de hemoglobina - 15,26 g/100 ml
- Hematócrito - 27,8%
- VCM - 30,14 (μ³)
- HCM - 17,16 (μg)
- CHCM - 57,04%

Os dados de coeficientes de correlação entre o número de eritrócitos, de leucócitos (g/100 ml), o nível de hemoglobina, a porcentagem de hematócrito, as constantes hematológicas VCM (μ³), HCM (μg), CHCM (%), estão representados na TABELA 1.

TABELA 1

Coefficientes das Correlações lineares entre as diferentes variáveis hematológicas e dados biométricos

| Características | Lt | Wg | Er | Leuc. | Hb | Ht | VCM | HCM | CHCM |
|---|-------|---------|-------|---------|---------|---------|----------|----------|----------|
| Comprimento (Lt) | 1,000 | 0,910** | 0,003 | 0,185* | -0,015 | 0,131 | 0,090 | -0,033 | -0,083 |
| Peso (Wg) | | 1,000 | 0,044 | 0,256** | 0,003 | 0,211** | 0,114 | -0,059 | -0,125 |
| Eritrócitos (Er) | | | 1,000 | 0,139 | -0,242* | 0,286** | -0,722** | -0,844** | -0,443** |
| Leucócitos (Leuc.) | | | | 1,000 | 0,203* | 0,272** | 0,017 | -0,030 | -0,107 |
| Hemoglobina (Hb) | | | | | 1,000 | 0,114 | 0,221* | 0,674** | 0,618** |
| Hematócrito (Ht) | | | | | | 1,000 | 0,400** | 0,198** | -0,620** |
| Volume Corpuscular médio | | | | | | | 1,000 | 0,617** | -0,042 |
| Hemoglobina Corpuscular média | | | | | | | | 1,000 | 0,700** |
| Concentração de Hemoglobina corpuscular média | | | | | | | | | 1,000 |

** = P < 0,01

* = P < 0,05

De acordo com os resultados obtidos, verificou-se que o comprimento total apresentou correlação positiva (P < 0,01), com o peso total, confirmando as conclusões de ANTONIUTTI (1981), e com o número de leucócitos; este último demonstrou correlação positiva (P < 0,01), com o peso total, concordando com os resultados de SIDDIQUI & NASEEM (1979).

Quanto ao número de eritrócitos, a correlação foi positiva (P < 0,01), com hematócrito e negativa com VCM, HCM e CHCM.

Na determinação da taxa de hemoglobina, encontrou-se uma variação de 13 a 21 g/100 ml nos machos e 12 a 20 g/100 ml

nas fêmeas, próximos aos encontrados em *Plecostomus regani*, por FAVARETTO (1977) e em *Amphipnous cuchia* por MISHRA et alii (1977). Os dados encontrados neste trabalho foram superiores aos de RIBEIRO (1978) que registrou valores médios de 13,46 g/100 ml em *Pimelodus maculatus*, e RANZANI-PAIVA (1981) que encontrou variação de 9,1 a 17,0 g/100 ml, para *Prochilodus scrofa*. A taxa de hemoglobina apresentou correlação positiva (P < 0,01) com HCM, CHCM, e correlação positiva (P < 0,05), com número de leucócitos e correlação negativa com o número de eritrócitos.

O hematócrito variou de 20 a 30% nos

machos e 22 a 36% nas fêmeas, dados semelhantes aos de HATTINGH (1972); apresentou correlação positiva ($P < 0,01$) com o peso total, VCM, número de eritrócitos, número de leucócitos e correlação negativa em relação ao HCM e ao CHCM.

O quadrado médio (TABELA 2) in-

cluindo os efeitos dos quatros estádios de desenvolvimento gonadal, sexos e interação entre eles, demonstrou que os estádios de maturação gonadal influenciaram ao nível de 1% de probabilidade as características estudadas, exceto o comprimento total.

TABELA 2

Quadrado médio do peso, comprimento e variáveis hematológicas em relação aos estádios de maturação gonadal (E), sexo (S), interação entre os estádios e sexo (E x S).

| Características | Fonte de variação | ESTÁDIO (E) | SEXO (S) | INTERAÇÃO (E x S) | RESÍDUO | C.V. |
|---|-------------------|-------------|------------|-------------------|----------|-------|
| | G.L. | 3 | 1 | 3 | 106 | % |
| Comprimento | | 22,89* | 29,79* | 5,02 | 5,88 | 9,53 |
| Peso | | 16084,67** | 17406,69** | 1104,06 | 2502,73 | 27,53 |
| Eritrócitos | | 472941,31** | 4037,69 | 17244,83 | 10221,31 | 11,04 |
| Leucócitos | | 7034,54** | 109,92* | 2219,15** | 228,56 | 15,06 |
| Hemoglobina | | 13,89** | 33,32** | 3,78 | 3,12 | 11,58 |
| Hematócrito | | 182,61** | 2,33 | 8,89 | 8,21 | 10,54 |
| Volume Corpuscular Médio | | 358,33** | 5,09 | 53,99 | 22,22 | 15,64 |
| Hemoglobina Corpuscular Médio | | 273,26** | 57,64* | 3,52 | 9,17 | 17,65 |
| Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média | | 1068,01** | 557,24** | 36,48 | 89,47 | 16,58 |

** = $P < 0,01$

* = $P < 0,05$

G.L. = graus de liberdade

C.V. = coeficiente de variação (%)

O efeito de sexo foi significativo ($P < 0,05$) para HCM, número de leucócitos e altamente significativo ($P < 0,01$) para a taxa de hemoglobina e CHCM. A interação entre estádio e sexo apresentou-se altamente significativa ($P < 0,01$) para o número de leucócitos, demonstrando números distintos de leucócitos nos diferentes estádios em cada sexo.

Pela aplicação do teste de Tukey (TABELA 3), ao nível de 5% de probabilidade, concluiu-se que o comprimento total e o peso total nos estádios Maduro e Esgotado foram superiores ao de Repouso.

O número de eritrócitos dos estádios de Maturação e Maduro, foi superior ao de Repouso e Esgotado; ENOMOTO (1969) descreveu no "Yellow tail", que o número de eritrócitos diminui no início da estação

de desova, durante a época de crescimento do indivíduo.

O número de leucócitos nos estádios Maduro e Esgotado apresentou valores superiores aos de Repouso e Maturação, confirmando as afirmações de MAHAJAN & DHEER (1979), os quais concluíram que o número de leucócitos diminui no início da estação da desova, aumentando apreciavelmente durante o período da atividade sexual.

Quanto ao hematócrito, o estádio Maduro apresentou valores superiores aos demais, enquanto a taxa de hemoglobina foi superior nos estádios de Repouso e Maduro em relação aos demais.

Os valores do VCM nos estádios de Repouso, Maduro e Esgotado foram superiores aos de Maturação. Verificou-se tam-

bém que os valores do HCM nos estádios de Repouso e Esgotado foram superiores aos de Maturação e Maduro. Em relação a CHCM, os estádios de Repouso e Esgotado superaram aos demais.

MOLNAR & TAMASSY (1970), que estudaram o quadro hematológico de *Silurus glanis* durante um ano, concluíram que

a taxa de CHCM pode estar relacionada ao hábito alimentar dos peixes, sendo mais elevada nas espécies herbívoras. Esse fato foi observado também no casquito que, por alimentar-se exclusivamente de algas (AZEVEDO, 1938), deve ter apresentado maiores valores de CHCM.

TABELA 3

Médias e valores do Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade das características hematológicas para os quatro estádios de maturação gonadal.

| CARACTERÍSTICAS | REPOUSO | MATURAÇÃO | MADURO | ESGOTADO* | DMSa | DMSb |
|---|---------|-----------|---------|-----------|-------|-------|
| Comprimento (cm) | 24,23 | 25,50 | 26,01 | 26,23 | 1,64 | 1,74 |
| Peso (g) | 151,43 | 182,73 | 204,93 | 195,79 | 33,79 | 35,84 |
| Eritrócitos mm ³ | 770,00 | 1025,67 | 1012,33 | 839,33 | 68,70 | 72,43 |
| Leucócitos mm ³ | 263,77 | 292,27 | 357,00 | 366,87 | 32,30 | 32,25 |
| Hemoglobina (g/100 ml) | 15,83 | 14,30 | 15,63 | 15,26 | 1,19 | 1,27 |
| Hematócrito (g/100 ml) | 24,97 | 26,10 | 30,67 | 26,96 | 1,94 | 2,05 |
| Volume globular médio (μ^3) | 32,87 | 25,32 | 30,21 | 32,66 | 3,38 | 4,13 |
| Hemoglobina globular média ($\mu\mu$) | 20,86 | 14,20 | 15,32 | 18,52 | 2,05 | 2,16 |
| Concentração de hemoglobina corpuscular média (%) | 64,75 | 55,20 | 50,45 | 57,94 | 6,39 | 6,78 |

* : O estádio esgotado tem 24 repetições, enquanto os demais têm 30 repetições.

DMS = diferença mínima significativa (pelo teste de Tukey)

a : n = 30

b : n = 24

4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho permitem sugerir as seguintes conclusões:

1. Pela análise da variância, concluiu-se que houve diferença significativa no nível de 1% de probabilidade para todas as características hematológicas estudadas, nos quatro estádios de desenvolvimento gonadal.

2. Em relação a interação entre está-

dio e sexo, verificou-se diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade somente para o número de leucócitos.

3. Pôde-se observar que o número de eritrócitos apresentou diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade, nos estádios de Maturação e Maduro, assim como o número de leucócitos nos estádios Maduro e Esgotado.

AGRADECIMENTO

Agradecemos ao colega Henrique Arruda Soares pela sua colaboração nos

cálculos estatísticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEXANDER, R.McN. 1965 Structure and function in the catfish. *Z. Zool.* 148: 88-152.
- ANTONIUTTI, D.M. 1981 *Estrutura da população, reprodução e crescimento do cascudo Plecostomus albopunctatus, (Regan, 1908) Osteichthyes, Loricariidae do Rio Jaguari, São Paulo, Brasil.* (Tese do Mestrado, Universidade Federal do Paraná.
- AZEVEDO, P. de 1938 O cascudo dos açúdes nordestinos *Plecostomus plecostomus*. *Arq. Inst. Biol.* 9:211-224.
- BLAXHALL, P.C. 1972 The haematological assessment of the health of freshwater fish. A review of selected literature. *J. Fish. Biol.*, 4: 593-604.
- & DAISLAY, K.W. 1973 Routine haematological methods for use with fish blood. *J. Fish. Biol.*, Huntingdon, 5: 711-81.
- CASILLAS, E. & SMITH, L.S. 1977 Effect of stress on coagulation and haematology in rainbow trout. *Salmo gairdneri*. *J. Fish. Biol.*, Huntingdon, 10: 461-91.
- COLLIER, H.B. 1944 The standardization of a blood haemoglobin determinations. *Can. Med. Ass. J.*, Toronto, 50: 550-2.
- ENOMOTO, Y. 1969 On some notes about the fluctuations of the Blood Leucocyte numbers of the cultured Fish. *Bull. Tokai. Reg. Fish. Res. Lab.* 57: 137-39.
- FAVARETOO, A.L. 1977 *Efeitos de exposição ao ar sobre parâmetros fisiológicos do cascudo, Plecostomus regani (Ihering, 1905), peixe teleosteo de respiração aquática e aérea.* São Paulo. 95 p. (Tese de Doutorado. Instituto de Biociências, USP).
- HARVEY, W.R. 1979 *Least-square analysis of data with unequal subclass numbers.* Ohio State University Columbus. United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service and Education Administration. 157 p. (mimeo).
- HATTINGH, J. 1972 Observations on the blood physiology of five South African freshwater fish. *J. Fish. Biol.*, Huntingdon, 4: 555-563.
- MARAJAN, C.L. & DHEER, J.S. 1979 Seasonal variations in the blood constituents of an air breathing fish, *Channa punctatus* Bloch., *J. Fish. Biol.*, 14
- MISHRA, N. et alii 1977 Haematological parameters of an air-breathing mud eel, *Amphipnous cuchia* (Ham) Amphipnoidae; Pisces). *J. Fish. Biol.*, 10: 567-73. (4):413-7.
- 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.
- PIMENTEL GOMES, F. 1973 *Estatística experimental* 5ª ed. Piracicaba, Nobel, 430 p.
- PITOMBEIRA, M.S. 1972 *Hematologia do Apaiari, Astronatus ocellatus (Cuvier, 1829) Peixe teleosteo. Aspectos morfológicos e fisiológicos.* São Paulo. 133p. (Tese de Doutorado. Departamento de Fisiologia Geral e Instituto de Biologia Marinha - Instituto de Biociências, USP).
- PUCHKOV, N.V. 1964 *The white blood cells.* In: Techniques for the Investigation of Fish Physiological Board, p. 11-15.
- RANZANI-PAIVA, M.J.T. 1981 *Estudos hematológicos em curimatá, Prochilodus scrofa, Steindachner, 1881 (Osteichthyes, Cypriniformes, Prochilodontidae), São Carlos.* 119 p. (Tese de Mestrado. Departamento de Ciências Biológicas. Univ. Federal de S. Carlos).
- RIBEIRO, W.R. 1978 *Contribuição ao estudo da hematologia de peixes. Morfologia e citoquímica das células do sangue e dos tecidos hematopoéticos do mandil amarelo, Pimelodus maculatus Lacépède 1803.* Ribeirão Preto. 111 p. (Tese de Doutorado Ciências. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP).
- SIDDIQUI, A.Q. & NASEEM 1979 The haematology of rohu, *Labeo rohita*. *J. Fish. Biol.*, Huntingdon, 14 (1): 67-72.
- SOIVIO, A. & OIKARI, A. 1976 Haematological effects of stress on a teleost, *Esox lucius L.*, *J. Fish. Biol.*, 8: 397-411.