

VARIAÇÕES MORFOLÓGICAS E CONTAGEM DIFERENCIAL
DAS CÉLULAS LEUCOCITÁRIAS DO "CASCUDO" *Plecostomus albopunctatus*
(Regan, 1908), EM RELAÇÃO AO DESENVOLVIMENTO GONADAL.

(Morphological variations and leucocyte differential counts in "cascudo"
Plecostomus albopunctatus (Regan, 1908), in relation with the reproductive cycle).

Emico Tahira KAVAMOTO (1)

Mikio TOKUMARU (2)

Rubens Augusto Penteado de SOUZA e SILVA (3)

Benedicto do Espírito Santo de CAMPOS (4)

RESUMO

Com a finalidade de realizar a contagem diferencial e a descrição morfológica das células leucocitárias de *Plecostomus albopunctatus* (Regan 1908), foram coletadas 114 amostras de sangue para obtenção de esfregaços, corados pela técnica de ROSENFELD (1947). Foram analisados exemplares de ambos os sexos, levando-se em consideração o desenvolvimento gonadal. Na contagem diferencial encontrou-se cinco tipos de leucócitos: linfócitos, 55,6%; neutrófilos, 38,9%; monócitos, 3,3%; eosinófilos, 1,2% e basófilos, 0,9%.

ABSTRACT

Slides were prepared from specimens of *Plecostomus albopunctatus* (Regan 1908), and were stained with Rosenfeld technique for morphological study of the blood features. Males and females fishes were analysed, considering the gonadal development. On the differential counts of leucocytes, five types of cells have been found: lymphocytes, 55,6%; neutrophils, 38,9%; monocytes, 3,3%; eosinophils, 1,2% and basophils, 0,9%.

1. INTRODUÇÃO

A contagem diferencial das células sanguíneas para cálculo dos valores absolutos em peixes, tal como foi realizado em outros animais, é de grande valor para o diagnóstico das discrasias do sangue, segundo HINES & YASHOUV (1970). Essa contagem (McCARNEY; STEVENSON; ROBERTS, 1973; FAVARETTO, 1977), revelaram variações que foram correlacionadas ao sexo, atividade muscular, alimentação, temperatura, meio ambiente, estação do ano e exposição ao ar. Alterações morfológicas estão associadas com as condições patológicas (WATSON; GUENTHER; ROYCE, 1956) ou com modificações do meio aquático causadas por tóxicos quími-

cos (DAWSON, 1932; GARDNER & YEVICH, 1969; McKIM; CHRISTENSEN; HUNT, 1970).

De acordo com PUCHKOV (1964) o número de leucócitos nos peixes, varia muito dependendo da idade, estação do ano e maturação gonadal. Diversos autores encontraram variações hematológicas correlacionadas com o ciclo reprodutivo em muitas espécies (EINSZORN-ORECKA, 1970; CAVICCHIOLI & ZAVARINI, 1977; MAHAJAN & DHEER, 1979; RANZANI-PAIVA, 1981).

A terminologia e descrição das células leucocitárias em uma ou várias espécies de peixes variam muito segundo HINES &

(1) Pesquisador Científico - Seção de Biologia Aquática - 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.

YASHOUV (1970). Essa designação dos elementos celulares necessitam de uniformidade, havendo desencontro de informações, devido a nomenclatura ainda não estar bem definida para a hematologia ictiológica de acordo com CASAVOLA; MARANO; VACCARELA (1976); RIBEIRO (1978); DIAS; FORESTI; TOLEDO FILHO (1975); RIBEIRO (1978) e RANZANI-PAIVA (1981), descreveram a morfologia das células sanguíneas de peixes das famílias Characidae, Pimelodidae e Curimatidae.

Inúmeras espécies de "cascudo" *Ple-*

costomus, estão amplamente distribuídas em todo o território nacional e são muito resistentes, mesmo em ambientes impróprios à vida de outros peixes (AZEVEDO, 1938). Pela boa aceitação da sua carne por parte do consumidor seu valor econômico é considerável (FAVARETTO, 1977).

Foram realizadas no presente trabalho, uma descrição morfológica e a contagem diferencial das células leucocitárias de *Plecostomus albopunctatus*, que poderão servir de base para posteriores estudos hematológicos experimentais nesta ou em outras espécies de peixes.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Todos os peixes utilizados no experimento, foram capturados num mesmo local do rio Jaguari, a montante da cidade de Jaguariúna (São Paulo), no período de fevereiro de 1979 a janeiro de 1980.

Os animais foram transportados vivos, em caixas de polietileno contendo água do próprio rio, para o laboratório do Instituto de Pesca em São Paulo, onde a temperatura média da água dos tanques foi de 22°C. Foram utilizados somente exemplares aparentemente saudáveis.

O sangue foi coletado por punção cardíaca, fazendo-se imediatamente os esfregaços sanguíneos, sendo as lâminas secas ao ar e coradas segundo a técnica de ROSENFELD (1947).

A contagem diferencial e descrição das células do sangue de 114 exemplares, foram baseadas na terminologia e nos dados morfológicos para sangue dos teleostes estudados por CATTON (1951); PITOMBEIRA (1972); ELLIS (1977) e RIBEIRO (1978).

Para a determinação das porcentagens relativas da série leucocitárias, foram contadas ao acaso duzentas células em cada lâmi-

na, com auxílio de microscopia óptica em objetiva de imersão (DACIE & LEWIS, 1963).

Foram identificadas células da série agranulocíticas (linfócitos e monócitos) e da série granulocítica (neutrófilos, eosinófilos e basófilos).

Na análise estatística dos dados, inicialmente foram calculados os valores absolutos de cada tipo de leucócitos por indivíduo, a partir do produto da contagem diferencial relativa (%), em relação ao número total de leucócitos (mm^3).

Os coeficientes de correlação linear foram determinados, seguindo-se a análise de variância para estudar os efeitos de sexo, estádios de desenvolvimento gonadal e interação entre eles. Para analisar os contrastes entre as médias dos estádios estudados para cada um dos parâmetros das células leucocitárias, aplicou-se o teste de Tukey ao nível de 1% de probabilidade (PIMENTEL GOMES, 1966). Os dados foram processados em computador, através de programa elaborado por HARVEY (1979), para os efeitos fixos considerados.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com o objetivo de facilitar a visualização dos resultados, na Tabela 1 encontram-se as médias dos valores absolutos e relati-

vos de cada tipo de leucócitos dos 114 exemplares, separados por sexo nos quatro estádios de desenvolvimento gonadal.

TABELA 1

Médias das frequências absolutas (mm³) e relativas (%) das células leucocitárias de 114 exemplares de *Plecotomus albopunctatus*, em relação ao sexo e desenvolvimento gonadal.

Estádios	Células Leucocitárias		Linfócitos		Neutrófilos		Eosinófilos		Basófilos		Monócitos	
	SEXO	Nº	F. a.	F. r.	F. a.	F. r.	F. a.	F. r.	F. a.	F. r.	F. a.	F. r.
Reposso	♂	15	1616,27	63,73	797,27	30,80	125,13	1,73	29,27	1,20	62,60	2,46
	♀	15	1888,40	69,00	695,60	25,70	49,50	1,80	14,60	0,50	82,87	3,00
	Total	30	1772,33	66,37	746,43	28,25	87,37	1,77	21,93	0,85	72,73	2,73
Maturação	♂	15	2009,40	60,85	1076,73	32,89	38,07	1,30	34,80	1,16	94,80	2,93
	♀	15	1533,20	62,07	823,20	32,00	75,07	2,00	14,13	0,66	74,53	2,80
	Total	30	1771,30	57,24	949,97	32,40	55,57	1,65	24,47	0,91	84,67	2,81
Maduro	♂	15	2040,80	52,40	1640,00	42,40	27,33	0,75	24,80	0,66	145,20	3,50
	♀	15	1840,13	56,60	1256,80	39,60	19,53	0,69	20,73	0,81	116,53	3,40
	Total	30	1940,47	54,50	1447,10	40,50	23,43	0,68	23,40	0,76	130,87	3,45
Esgotado	♂	12	1344,83	38,78	1929,35	55,50	18,50	0,57	11,08	0,33	168,88	4,80
	♀	12	1596,42	41,53	2051,25	52,83	16,33	0,72	86,92	1,43	138,58	3,50
	Total	24	1470,63	40,16	2006,82	54,17	17,42	0,65	49,00	0,88	153,33	4,15

F. a. = frequência absoluta — F. r. = frequência relativa

As FIGURAS 1 e 2 ilustram o comportamento dos valores médios das porcentagens dos leucócitos nos diferentes estádios de maturação gonadal. O número de linfócitos aumenta nos estádios de Repouso e Maturação, diminuindo nos estádios de Maduro e Esgotado, representando as células de maior frequência no sangue periférico do *Plecostomus albopunctatus*. Os neutrófilos aparecem com menor frequência nos estádios de Repouso e Maturação, aumentando nos estádios de Maduro e Esgotado. Quanto aos monócitos apresentam um aumento no estádio de Esgotado para os machos. O basófilo apareceu como célula menos frequente no sangue periférico da espécie estudada, apresentando maior valor em fêmeas esgotadas.

As correlações lineares entre o número médio das células leucocitárias sem considerar os efeitos de sexo, estádios de desenvolvimento gonadal, estão representados na TABELA 2.

Ao nível de 5% de probabilidade o número de linfócitos e de monócitos apresentaram uma correlação positiva e uma correlação negativa entre o número de neutrófilos e eosinófilos.

A análise de variância (TABELA 3) demonstrou diferenças significativas ao nível de 1% de probabilidade para o número de linfócitos, neutrófilos e monócitos nos estádios de desenvolvimento gonadal. Ainda uma diferença ao nível de 5% de probabilidade foi encontrada para o número de eosinófilos. Ainda, verificou-se que os coeficientes de variação são bastante altos para os eosinófilos, basófilos e monócitos. Esses resultados sugerem uma variação individual, que depende do estado momentâneo na hora da amostragem (RANZANI-PAIVA, 1981), não sendo possível uma explicação para as alterações na contagem diferencial, desde que a exata função de cada tipo de leucócitos em teleostes é ainda obscura (ELLIS, 1977), necessitando do incremento de novas pesquisas.

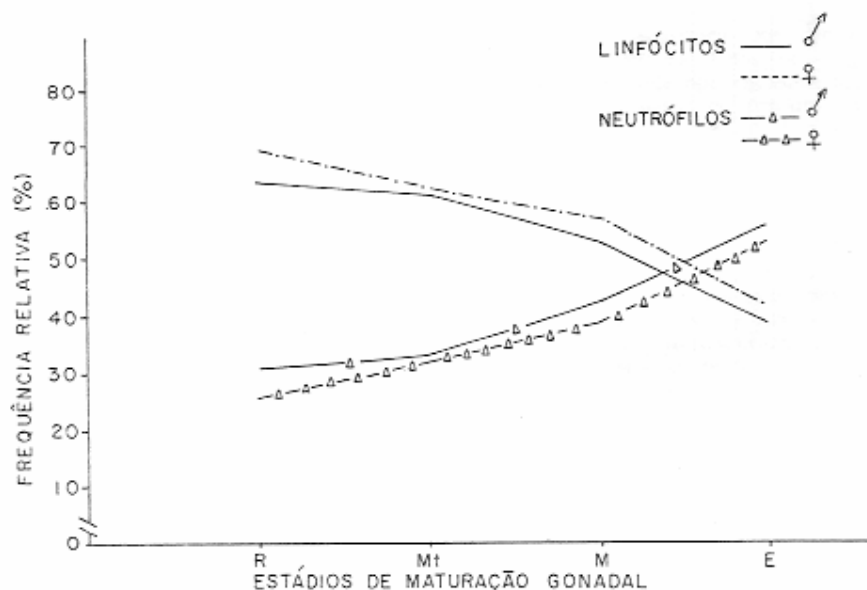


FIGURA 1 - Variação dos valores médios da porcentagem relativa de Linfócitos (Lf), Neutrófilos (N) entre machos e fêmeas nos estádios de Repouso (R), Maturação (Mt), Maduro (M) e Esgotado (E).

KAVAMOTO, E. T. et alii 1985 Variações morfológicas e contagem diferencial das células leucocitárias do "cascudo" *Plecostomus alhopunctatus* (Regan, 1908), em relação ao desenvolvimento gonadal. B. Inst. Pesca, São Paulo, 12(2): 15-23, jul.

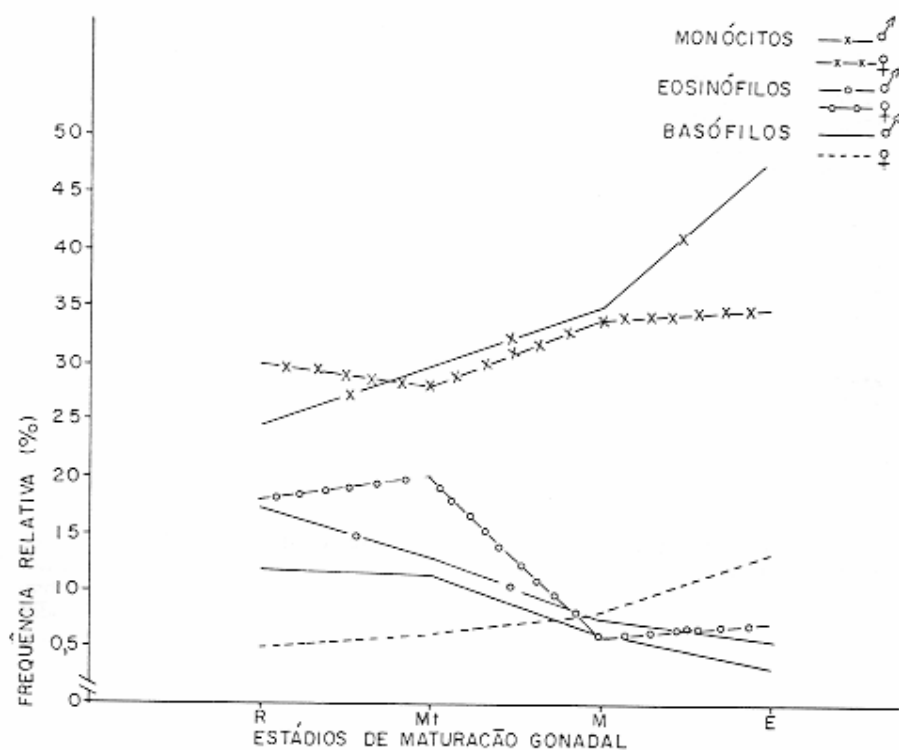


FIGURA 2 - Variação dos valores médios da porcentagem relativa de Monócitos (Ma), Eosinófilos (Es), Basófilos (Bs) entre machos e fêmeas nos estádios de Repouso (R), Maturação (Mt), Maduro (M) e Esgotado (E).

TABELA 2
Correlação linear entre os números médios de células leucocitárias.

Células Leucocitárias	Linfócitos	Neutrófilos	Eosinófilos	Basófilos	Monócitos
Linfócitos	1.000	-0,028	-0,064	-0,063	0,215*
Neutrófilos		1.000	-0,225*	0,176	0,471
Eosinófilos			1.000	-0,090	-0,160
Basófilos				1.000	-0,023
Monócitos					1.000

* = $P < 0,05$.

KAVAMOTO, E. T. et alii 1985. Variações morfológicas e contagem diferencial das células leucocitárias do "cascudo" *Plecostomus albopunctatus* (Regan, 1908), em relação ao desenvolvimento gonadal. *B. Inst. Pesca*, São Paulo, 12(2): 15-23, jul.

TABELA 3

Quadrados médios e teste F das células leucocitárias.

Células Leucocitárias	Fonte de variação	ESTÁDIO (E)	SEXO (S)	INTERAÇÃO E x S	RESÍDUO	COEFICIENTE DE VARIAÇÃO
	Grau de Liberdade	3	1	3	106	%
Linfócitos		9934,67**	419,33	9528,12**	1023,04	18,30
Neutrófilos		82129,11**	6704,98**	3132,61**	767,16	22,22
Eosinófilos		294,90*	45,36	159,00	102,03	213,02
Basófilos		42,15	25,08	127,92**	29,64	189,82
Monócitos		395,51**	59,71	40,51**	37,37	56,53

** = $P < 0,01$

* = $P < 0,05$

Entre os sexos, houve diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade para o número de neutrófilos.

Como a interação entre Estádios e Sexo foi estatisticamente significativa ao

nível de 1% de probabilidade quanto ao número de linfócitos, neutrófilos, basófilos e monócitos, efetuou-se o desdobramento dos efeitos dos estádios estudados dentro de cada sexo, conforme a TABELA 4.

TABELA 4

Quadrados médios e teste F para as células leucocitárias com o desdobramento dos efeitos de estádios dentro de cada sexo.

Células Leucocitárias	Fonte de Variação	SEXO (S)	ESTÁDIO		RESÍDUO
	Grau de Liberdade	1	MACHO 3	FÊMEA 3	106
Linfócitos		419,33	14967,77**	4495,03**	1023,04
Neutrófilos		6704,98**	36566,23**	48695,57**	767,16
Eosinófilos		45,36	351,66	102,31	102,03
Basófilos		25,08	13,36	156,71**	29,64
Monócitos		59,71	316,00**	120,07	37,37

** = $P < 0,01$

* = $P < 0,05$

Com o desdobramento dos efeitos de estágio dentro de cada sexo, os resultados da análise estatística através do método dos quadrados mínimos pela aplicação do teste F, revelaram diferenças estatisticamente significativas ao nível de 1% de probabilidade para ambos os sexos, quanto aos números de linfócitos e neutrófilos. O número de basófilos para os estádios de fêmea, foram significativos ao mesmo nível de probabilidade, acontecendo o mesmo aos machos, quanto ao número de monócitos.

A diferença mínima significativa pelo teste de Tukey, aplicado ao nível de 1% de probabilidade (TABELA 5) apresentou para os machos número de linfócitos nos estádios de Maturação e Maduro superiores aos de Esgotado e Repouso.

De um modo geral, sem considerar o sexo ou estágio de maturação gonadal, PITOMBEIRA (1972) para *Astronotus ocellatus*, RIBEIRO (1978) para *Pimelodus maculatus*, também encontraram os linfócitos como célula de maior frequência. PUCKKOV (1964) afirmou que os linfócitos são as formas que predominam no sangue periférico de todas as espécies de Teleosteos.

Considerando ambos os sexos, o número de neutrófilos dos estádios Maduro e Esgotado, foram superiores aos de Repouso e Maturação. Verificou-se que no outono, ou seja, no período que precede a reprodução dessa espécie, que ocorre na primavera-verão, o número de linfócitos é mais elevado que o número de neutrófilos. Ainda nos estádios de Maduro e Esgo-

TABELA 5

Médias e valores do teste de Tukey ao nível de 1% de probabilidade das variações morfológicas das células leucocitárias do sangue do "cascudo", nos quatro estádios de desenvolvimento gonadal.

SEXO	ESTÁDIOS	CÉLULAS LEUCOCITÁRIAS			
		Linfócitos	Neutrófilos	Basófilos	Monócitos
♂	REPOUSO	161,63 ^b	79,73 ^b	2,93 ^{ns}	6,26 ^b
	MATURACÃO	200,94 ^a	107,67 ^b	3,48 ^{ns}	9,48 ^{ab}
	MADURO	204,18 ^a	164,00 ^a	2,48 ^{ns}	14,53 ^a
	ESGOTADO	134,48 ^b	192,92 ^a	1,11 ^{ns}	16,80 ^a
♀	REPOUSO	188,84 ^{ns}	69,56 ^c	1,46 ^b	8,29 ^{ns}
	MATURACÃO	153,32 ^{ns}	82,32 ^c	1,41 ^b	7,45 ^{ns}
	MADURO	184,01 ^{ns}	125,68 ^b	2,20 ^{ab}	11,65 ^{ns}
	ESGOTADO	159,64 ^{ns}	205,12 ^a	8,70 ^a	13,86 ^{ns}
D. M. S. (N = 15) 1%		37,33	32,32	6,35	7,13
D. M. S. (N = 12) 1%		39,59	34,29	6,74	7,57

D. M. S. = Diferença mínima significativa (pelo teste de Tukey).

N = número de repetições

a, b, c = contrastes significativos pelo teste de Tukey.

ns = não significativo

tado a porcentagem de neutrófilos aumenta em ambos os sexos, confirmando observações de EINSZPORN-ORECKA (1970) em *Tinca tinca*, EZZAT; SHABANA; FAR-GHALY (1974) em *Tilapia zillii*, CAVICCHIOLI & ZAVARINI (1977) em *Coregonus macrophthalmus* Nüssli.

O número de monócitos nos machos, foram superiores nos estádios de Maduro e Esgotado, enquanto, para as fêmeas o número de basófilos no estágio de Esgotado superou aos de Repouso e Maturação. De acordo com PUCHKOV (1964) durante a desova, o número de linfócitos decresce aumentando consideravelmente o número de monócitos. CAVICCHIOLI & ZAVARINI (1977) observando as variações morfológicas e estacionais das células sanguíneas em *Coregonus macrophthalmus* Nüssli, verificaram que os granulócitos basófilos e eosinófilos, são raros no sangue periférico, não ultrapassando de 2 a 5% do total das células leucocitárias. Ainda descreveram que esses dois tipos de células são particularmente abundantes em "imprints" dos órgãos hematopoiéticos tais como o rim cefálico e o baço.

A descrição das células leucocitárias no sangue periférico foi a seguinte:

- 1— Linfócitos: apresentam formas irregulares com o núcleo ocupando quase toda a célula e citoplasma escasso, difuso, ligeiramente basófilo. O periqueno linfócito aparece com maior frequência que o grande.
- 2— Monócitos: são células maiores que outros leucócitos, variando na forma, apresentando freqüentemente cromatina mais frouxa e citoplasma levemente basófilo.
- 3— Neutrófilos: são os granulócitos mais freqüentemente encontrados, célula de tamanho médio, com citoplasma róseo, típico da coloração neutrofilica, apresentando finas granulações. O núcleo é polimorfo, geralmente excêntrico, ovalado, reniforme nas formas jovens, lobulado quando adulta.
- 4— Eosinófilos: são células maiores que os neutrófilos, de fácil identificação, apresentando granulações típicas, acidófilas, de coloração vermelho-róseo brilhante, e o núcleo é geralmente ovalado, arredondado ou esférico.
- 5— Basófilos: são raramente encontrados nos esfregaços sanguíneos, mas aparecem em maior quantidade nos tecidos hematopoiéticos como por exemplo no corte histológico do rim cefálico como afirmam CAVICCHIOLI & ZAVARINI (1977). Apresenta forma arredondada, citoplasma com grande número de granulações finas de cor púrpura arroxeado. O núcleo é pouco visível, acompanhando geralmente a forma da célula.

4. CONCLUSÕES

Os dados obtidos neste trabalho sugerem as seguintes conclusões:

- 1— Na série branca do sangue periférico do "cascudo" *Plecostomus albopunctatus*, foram encontrados linfócitos, neutrófilos, eosinófilos, monócitos e basófilos.
- 2— Os linfócitos foram as células de maior frequência e os basófilos, o

de menor frequência.

- 3— O número de linfócitos, neutrófilos e monócitos nos diferentes estádios de desenvolvimento gonadal foram significativamente diferentes para machos e fêmeas.
- 4— Os maiores valores das células leucocitárias ocorreram no estágio Maduro para os machos e no estágio Esgotado para as fêmeas.

KAVAMOTO, E. T. et alii. 1985. Variações morfológicas e contagem diferencial das células leucocitárias do "cascudo" *Plecostomus albopunctatus* (Regan, 1908), em relação ao desenvolvimento gonadal. *B. Inst. Pesca*, São Paulo, 12(2): 15-23, jul.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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 de Mestrado, Universidade Federal do Paraná), 125 p.
- AZEVEDO, P. de. 1938. O cascudo dos açudes nordestinos *Plecostomus plecostomus*. *Arg. Inst. Biol.*, 9: 211-24.
- CASAVOLA, N.; MARANO, G.; VACCARELLA, R. 1976. Il Quadro hematologico del sangue peritrichico in *Liza ramada* (Risso). *Boll. Pesca Pisc. Idrobiol.*, 31(1/2):145-51.
- CATTON, W. T. 1951. Blood cell formation in certain teleost fishes. *Blood*, 6: 36-60.
- CAVICCHIONI, G. & ZAVARINI, A. 1977. Observations on the morphology and seasonal variations of blood cells in the whitefish *Bondella, Coregonus macrophthalmus* Nüssl of lake Maggiore (North Italy). *Monitore Zool. Ital.* (N. S.) 11: 173-82.
- DACIE, J. V. & LEWIS, S. M. 1963. *Practical hematology*. London, J. & A. Churchill Ltd., 435 p.
- DAWSON, A. B. 1932. The reaction of the erythrocytes of vertebrates, specially fishes, to vital dyes. *Biol. Bull. Wood's Hole*, 63:48-73.
- DIAS, E.; FORESTI, F.; TOLLDO FILHO, S. A. 1975. Características das células do sangue de peixes pertencentes às famílias Characidae e Curimatidae. In: REUNIAO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O PROGRESSO DA CIÊNCIA, 27, Belo Horizonte, 1975. *Resumo*, São Paulo, SBPC, p. 299.
- EINSPORN-ORUCKA, T. 1970. Quantitative changes in the circulating blood of tench (*Tinca tinca* L.) in the annual cycle. *Polskie Archiw. Hydrobiol.*, 17: 435-44.
- ELLIS, A. E. 1977. The leucocytes of fishes: A review. *J. Fish Biol.*, 11: 453-91.
- EZZAT, A. A.; SHABANA, M. B.; FARGHALY, A. M. 1974. Studies on the blood characteristics of *Tilapia zilli* Gervais. 1. Blood cells. *J. Fish. Biol.*, 6:1-12.
- FAVAROTTO, A. L. 1977. *Efeitos de exposição ao ar sobre parâmetros fisiológicos do cascudo, Plecostomus regani* (Bleeker, 1905), peixe teleosteo de respiração aquática e aérea. São Paulo. (Tese de Doutorado, Instituto de Biociências, USP), 95 p.
- GARDNER, G. R. & YEVICH, P. 1969. Studies on the blood morphology of three estuarine cyprinodontiform fishes. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 26:433-47.
- HARVEY, V. R. 1979. *Least Squares of data with unequal subclass members*. U. S. D. A., and E. D., Ohio State University Columbus, Mimeo, 157 p., Dec.
- HINES, R. & YASHOUV, A. 1970. Differential leucocyte counts and total leucocyte and erythrocyte counts for some normal Israeli *mirror carp*. *Banul. geb. Nir David*, 22(4):106-13.
- MAHAJAN, C. L. & DHEER, J. S. 1979. Seasonal variations in the blood constituents of an air-breathing fish, *Channa punctatus* Bloch. *J. Fish. Biol.*, Huntington, 14(4):413-17.
- MCCARTHY, J. P.; STEVENSON, J. P.; ROBERTS, M. S. 1973. Some blood parameters of the rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *J. Fish. Biol.*, Huntington, 5:1-8.
- McKIM, J. M.; CHRISTENSEN, G. M.; HUNT, L. P. 1970. Changes in the blood of brook trout (*Salvelinus fontinalis*) after short-term and long-term exposure to copper. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, Ottawa, 27(1): 1883-9.
- PIMENTEL GOMES, F. 1966. *Estatística experimental*, 5a ed., Piracicaba, Nobel, 430 p.
- PITOMBEIRA, M. S. 1972. *Hematologia do apaiari, Astronotus ocellatus* (Cuvier, 1829) Peixe teleosteo. Aspectos morfológico e fisiológico, São Paulo. (Tese de Doutorado, Departamento de Fisiologia Geral e Instituto de Biologia Marinha, Instituto de Biociências, USP), 133 p.
- 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 curimatã, Prochilodus scrofa*, Steindachner, 1881 (Osteichthyes, Cypriniformes), Prochilodontidae. São Carlos. (Tese de Mestrado, Departamento de Ciências Biológicas Univ. Federal de São Carlos), 119 p.
- RIBEIRO, W. R. 1978. *Contribuição ao estudo da hematologia de peixes. Morfologia e citoquímica das células do sangue e dos tecidos hematopoieticos do mandá amarelo, Pimelodus maculatus* Lacépède 1803. Ribeirão Preto. (Tese de Doutorado em Ciências, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP), 111 p.
- ROSINILLI, 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, 20:329-34, dez.
- WATSON, M. E.; GUENTHER, R. W.; ROYCE, R. D. 1956. Hematology of healthy and virus diseased sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka*. *Zoologia, New York*, 41(1):27-7.