

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CENTRO DE AQUICULTURA
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**Efeito de diferentes rações comerciais sobre o
desempenho e parâmetros hematológicos de
rã-touro, *Rana catesbeiana***

Jaime Fenerick Junior
Biólogo

Jaboticabal
Agosto 2004

F332e Fenerick Junior, Jaime
Efeito de diferentes rações comerciais sobre o desempenho e parâmetros hematológicos de rã-touro, ***Rana catesbeiana*** / Jaime Fenerick Junior. – – Jaboticabal, 2004
v, 61 f. : il. ; 30cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aqüicultura, 2004
Orientadora: Marta Verardino De Stéfani
Banca examinadora: Rose Meire Vidotti, Maria José Tavares Ranzani de Paiva
Bibliografia

1. ***Rana catesbeiana***. 2. Desempenho. 3. Hematologia. I. Título. II. Jaboticabal - Centro de Aqüicultura.

CDU 636.95

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I

Considerações Iniciais.....	8
REFERÊNCIAS.....	11

CAPÍTULO II

Efeito no desenvolvimento de rã-touro (<i>Rana catesbeiana</i>) submetida a diferentes rações comerciais.....	17
RESUMO.....	18
ABSTRACT.....	19
INTRODUÇÃO.....	20
MATERIAL E MÉTODOS.....	22
Instalações e condições experimentais.....	22
Material biológico.....	22
Rações utilizados.....	22
Manejo experimental.....	23
Parâmetros analisado.....	23
Parâmetros de desenvolvimento.....	23
Parâmetros metabólicos.....	24
Delineamento experimental.....	25
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
Parâmetro de desenvolvimento.....	26
Parâmetros metabólicos.....	27
CONCLUSÃO.....	30
REFERÊNCIAS.....	31

CAPÍTULO III

Parâmetros hematológicos em rã-touro (<i>Rana catesbeiana</i>) alimentadas com diferentes rações comerciais.....	44
RESUMO.....	45
ABSTRACT.....	46
INTRODUÇÃO.....	47
MATERIAL E MÉTODOS.....	49
Instalações e condições experimentais.....	49
Material biológico.....	49
Manejo experimental.....	49
Parâmetros analisados.....	50
Delineamento Experimental.....	51
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
CONCLUSÕES.....	56
REFERÊNCIAS.....	57

CAPÍTULO IV

Considerações Finais.....	61
---------------------------	----

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

TABELA 1	Composição centesimal analisada (A) e nível de garantia do fabricante (NG).....	35
Tabela 2	Valores de F, coeficiente de variação (CV) e médias obtidas para ganho de peso (g), consumo de ração (g), conversão alimentar).....	36
TABELA 3	Valores médios do ganho de peso (g) das rãs para a das rações e períodos.....	37
TABELA 4	Valores médios do consumo de ração (g) das rãs para a das rações e períodos.....	38
TABELA 5	Valores de F, coeficiente de variação (CV) e médias obtidas para glicemia (mg/100mL), lipídio no fígado (g%), índice hepatossomático-IHS (%) e índice gordurassomático-IGOS (%).....	39
TABELA 6	Valores médios do Índice Hepatossomático (%) das rãs para a das rações e períodos.....	40
TABELA 7	Valores médios do Índice Gordurassomático (%) das rãs para a das rações e períodos.....	41

CAPÍTULO III

TABELA 1	Composição centesimal analisada (A) e nível de garantia do fabricante (NG).....	60
TABELA 2	Valores de F, coeficiente de variação (CV) e médias obtidas do eritrócitos totais ($\times 10^6/\text{mm}^3$), monócito (%), basófilo (%), linfócito (% neutrófilo (%), eosinófilo (%), hematócrito (%), leucócito ($\times 10^6/\text{mm}^3$) trombócito ($\times 10^6/\text{mm}^3$).....	61
TABELA 3	Valores médios dos números de Eritrócitos Totais ($\times 10^6/\text{mm}^3$) do sangue das rãs–touro para rações e coletas.....	62
TABELA 4	Valores médios dos números de Monócitos (%) do sangue das rãs-touro para rações e coletas.....	63
TABELA 5	Valores médios dos números de Basófilos (%) do sangue das rãs–touro para rações e coletas.....	64
TABELA 6	Valores médios do número de Leucócitos ($\times 10^6/\text{mm}^3$)do sangue das rãs–touro para rações e coletas.....	65

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO II

- FIGURA 1 Peso médio das rãs-touro (g) durante o período experimental..... 42
- FIGURA 2 Aspecto geral das rãs-touro no fim do período experimental alimentadas com as diferentes rações comerciais..... 43

CAPÍTULO III

- FIGURA 1 Processo de punção do coração de ***Rana catesbeiana***..... 66
- FIGURA 2 Fotomicrografia (aumento x1000) de extensão do sangue de rãs de ***R. catesbeiana***, coradas pancromaticamente pelo método de Rosenfeld (1947)..... 67

Capítulo I

Considerações iniciais

A ranicultura é hoje uma atividade zootécnica intensiva que se apresenta como uma boa alternativa econômica, com produção média anual estimada em 450 toneladas de carne (Teixeira et al., 2001). Apesar disso, nos ranários comerciais é comum a ocorrência de desenvolvimento anormal ou mortalidade de rãs que podem ser ocasionadas por enfermidades infecciosas, parasitárias ou problemas nutricionais.

A criação de rãs em cativeiro é baseada praticamente em sua totalidade, na exploração da rã-touro, ***Rana catesbeiana***, originária da América do Norte e introduzida no Brasil em 1935.

No final da década de 70 a ranicultura despertou grande interesse dos criadores, estimulados pela divulgação da potencialidade dessa atividade. A implantação de várias unidades de produção comercial tem permitido aprimoramentos técnicos, gerando novas soluções e alternativas, possibilitando que se ampliem as linhas de pesquisa para o avanço tecnológico da ranicultura brasileira.

As principais modificações que ocorreram na ranicultura, com relação à alimentação, surgiram a partir da década de 80, com a introdução da ração (Lima & Agostinho, 1984) consorciada com larvas de mosca doméstica (Aleixo et al., 1984) como atrativo. Entretanto, o número de trabalhos sobre nutrição de anfíbios, principalmente na fase pós-metamorfose é escasso, entre os quais podemos

destacar trabalhos sobre exigência protéica (Monteiro et al., 1988; Barbalho, 1991; Mazzoni et al., 1992; Stéfani, 1995), metabolismo de carboidratos (Stéfani & Urbinati, 1997 a, b) e determinação do valor nutritivo de alimentos (Braga et al., 1998; Castro et al., 1998; Braga & Albino, 2001; Castro et al., 2001).

Atualmente, para a alimentação de rãs os ranários têm utilizado rações comerciais, que na sua maioria, são formuladas e balanceadas a partir do conhecimento das exigências nutricionais de peixes carnívoros, com resultados satisfatórios de ganho de peso e conversão alimentar. Entretanto, vários produtores têm observado em seus ranários a ocorrência de mortalidade na fase pós-metamorfose.

De acordo com Hipolito (2001), houve uma súbita diminuição da mortalidade de rãs decorrentes diretamente de falhas no manejo sanitário, instalações inadequadas, água de má qualidade e problemas relacionados com consangüinidade. Atualmente, o que chama mais a atenção são graves alterações hepáticas, como textura, tamanho, cor e forma. Provavelmente essas alterações devem estar relacionadas à alimentação.

O fígado é um órgão vital, cujas funções principais são: produção de bile, armazenamento de glicogênio, de lipídios e vitaminas (A, D, B₁₂ e K), síntese de proteínas (fibrinogênio, protrombina e albumina) e metabolização de drogas (George & Castro, 1998). Portanto, na ocorrência de qualquer alteração morfológica e/ou histológica no fígado, suas funções ficarão prejudicadas.

A análise dos padrões sangüíneos fornece subsídios importantes para o auxílio do diagnóstico e prognóstico de condições mórbidas em populações de peixes ou animais em geral (Hines & Yashouv, 1970; Anderson, 1974; Achuthan Nair & Balakrishnan Nair, 1983; Silveira & Rigores, 1989; Ranzani-Paiva, 1991;

Moiseenko, 1998; Pravda, 1998; Serpunin & Likhatchyova, 1998; Ranzani-Paiva et al., 1998/1999). A fórmula leucocitária e outras variáveis analisadas no hemograma contribuem para caracterizar estados de saúde ou de doença em animais, pois a alteração na aparência e na frequência normal de distribuição de determinadas células pode, em vários casos, revelar um processo patológico específico (Ranzani-Paiva & Godinho, 1983).

A hematologia é utilizada no diagnóstico de processos anemiantes (Achuthan-Nair & Balakrishnan-Nair, 1983; Munkittrick & Leatherland, 1983; Sopinska, 1985; Mahoney & McNulty, 1992), como indicadores de resposta sistêmica a estímulos externos (Hickey Jr., 1982; Zhiteneva & Gorislavskaya, 1986; Mikryakov et al., 1993; Moiseenko, 1998), enquanto os distúrbios osmorregulatórios (Hines & Spira, 1974; Laidley et al., 1988; Boon et al., 1990; Hoglund et al., 1992; Davis, 1995; Rehulka, 1998) e as alterações na contagem de células brancas do sangue são empregadas como auxílio no diagnóstico de processos infecciosos em teleósteos (Blaxhall & Daisley, 1973; Anderson, 1974; Achuthan-Nair & Balakrishnan-Nair, 1983; Sopinska, 1985; Murad & Mustafa, 1988; Ranzani-Paiva & Eiras, 1992; Stoskopf, 1993; Kurovskaya & Osadchaya, 1993; Serpunin & Likhatchyova, 1998).

A finalidade deste trabalho foi estudar o desempenho e parâmetros hematológicos, em rã-touro, ***Rana catesbeiana***, alimentada com diferentes rações comerciais.

REFERÊNCIAS

- ACHUTHAN NAIR, G.; BALAKRISHNAN NAIR, N. Effect of infestation with the isopod, ***Alitropus typus*** M. Edwards (Crustacea:Flabellifera:Aegidae) on the haematological parameters of the host fish, ***Channa striatus*** (Bloch). Aquaculture, v.30, p.11-19 1983.
- ALEIXO, R. C. et al. Criação de mosca domésticas para suplementação alimentar de rãs. Viçosa, MG: UFV: 12. Informe Agropecuário, 46 p. 1984.
- ANDERSON, D.P. ***Fish immunology***. New Jersey:TFH Publications, Neptune, 239 p., 1974.
- BARBALHO, O. J. M. ***Exigências de proteína bruta de rã-touro (*Rana catesbeiana*, Shaw 1802) na fase de terminação*** 1991. 55f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1991.
- BLAXHALL, P.C.; DAISLEY, K.W. Routine hematological methods for use with fish blood. ***J. Fish Biol.***, London, v.5, p. 771-781, 1973.
- BOON, J.H. et al The effect on different infection levels with infective larvae of ***Anguillicola crassus*** on haematological parameters of European eel (***Anguilla anguilla***). Aquaculture, Amsterdam v. 87, p. 243-253,1990.
- BRAGA, L.G.T. et al. Valor nutritivo de alguns alimentos para rã-touro (***Rana catesbeiana*** Shaw, 1802) na fase de recria. ***Rev. Bras. Zoot.***, Viçosa, v. 27, n. 2, p. 203-209, 1998.

BRAGA, L. G. T.; ALBINO, C. F. T. Digestibilidade do fubá de milho pela rã-touro ***Rana catesbeiana***. In: ENCONTRO NACIONAL DE RANICULTURA, 11., 2001. Anais... Bragança Paulista, 2001. p. 58.

CASTRO, J. C. et al. Energia metabolizável de alguns alimentos usados em rações de rãs. **Rev. Bras. Zoot.**, Viçosa, v. 27, n. 6, p. 1051-1056, 1998.

CASTRO, J. C. et al. Valor nutritivo de alguns alimentos para rãs. **Rev. Bras. Zoot.**, Viçosa, v. 30, n. 3, p. 605-610, 2001.

DAVIS, S.W. Values for selected serum analyses during experimental ***Ichthyophthirius multifiliis*** infection of channel catfish. **J. Aquat. Anim. Health.**, Bethesda, v. 7, p. 262-264, 1995.

GEORGE, L. L.; CASTRO, R. R. L. **Histologia comparada**. 2. ed. São Paulo: Roca, 286 p., 1998.

HICKEY JR, C.R. Comparative hematology of wild and captive cunners. **Trans. Am. Fish. Soc.**, Bethesda, v. 111, p. 242-249, 1982.

HINES, R.S.; YASHOUV, A. Differential leukocyte counts and total leukocyte and erythrocyte counts for same normal Israel mirror carp. **Israel J. Aquacult. Bamidgeh**, Rehovot, v. 22, p. 106-113, 1970.

HINES, R.S.; SPIRA, D.T. Ichthyophthiriasis in the mirror carp ***Cyprinus carpio*** (L). IV. Physiological dysfunction. **J. Fish Biol.**, London, v. 6, p. 365-371, 1974.

HIPOLITO, M. Alteração hepática: problemas nutricionais? In: ENCONTRO NACIONAL DE RANICULTURA, 11., 2001, Bragança Paulista. Anais..., 2001. p. 49-50.

HOGLUND, J. et al. Hematological responses in the European eel, *Anguilla anguilla*, L. to sub lethal infestation by *Anguillicola crassus* in a thermal effluent of the Swedish Baltic. **J. Fish Dis.**, Oxford, v. 15, p. 507-514, 1992.

KUROSIVSKAYA, L.N.; OSADCHAYA, S.A. The influence of *Ichthyophthirius multifiliis* on underyearling carp, *Cyprinus carpio*. **J. of Ichthyol.**, Silver Springv. 33, n. 4, p. 81-92, 1993.

LAIDLEY, C.W. et al. The stress-response of rainbow trout to experimental infection with the blood parasite *Cryptobia salmositica* Katz, 1951. **J. Fish Biol.**, London, v. 32, p. 253-261, 1988.

LIMA, S.L.; AGOSTINHO, C.A. Ranicultura:Técnicas e propostas para alimentação de rãs. U.F.V., Viçosa-MG. **Informe Técnico** v. 5, n. 50, 11 p., 1984.

MAHONEY, J.B.; MCNULTY, K.K. Disease-associated blood changes and normal seasonal hematological variation in winter flounder in the Hudson-Raritan Estuary. **Trans. Am. Fish. Soc.**, Bethesda, v.121, p. 261-268, 1992.

MAZZONI, R. et al. Estudio del porcentaje de proteína y la energia en el alimento peleteado para engorde de rana toro (*Rana catesbeiana* Shaw, 1802). In: ENCONTRO NACIONAL DE RANICULTURA, 7, 1992, e SEMINÁRIO DE RANICULTURA, 2, 1992, Rio de Janeiro, 1992. Anais ... 1992 p. 185-190.

MIKRYAKOV, V.R. et al. Analysis of blood leukocytes for populations screening in ecological studies using Crussian carp, *Carassius carassius*. **J. Ichthyol.**, Silver Spring, v. 33, n.2, p. 151-158, 1993.

MOISEENKO, T.I. Hematological indices of fishes in the evaluation of their toxicoses with reference to ***Coregonus lavaretus***. ***J. Ichtyol.***, Silver Spring, v. 38, n. 4, p. 315-324, 1998.

MONTEIRO, E. S. et al. Avaliação de desenvolvimento de rã-touro (***Rana catesbeiana*** Shaw) alimentadas com diferentes níveis de proteína. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 25., 1988, Viçosa. Anais... 1988. p.77.

MUNKITTRICK, K.F.; LEATHERLAND, J.F. Haematocrit values in feral goldfish, ***Carassius auratus*** L., as indicators of health of the population. ***J. Fish Biol.***, London, v. 23, p. 153-161, 1983.

MURAD, A.; MUSTAFA, S. Blood parameters of catfish, ***Heteropneustes fossilis*** (Bloch), parasitized by metacercariae of ***Diplostomum*** sp. ***J. Fish Dis.***, Oxford, v. 11, p. 365-368, 1988.

PRAVDA, D. The present european ichthyohaematology and prospects towards the 21st century. ***Acta Vet. Brno.***, Tchecoslováquia, v. 67, p. 205-206, 1998.

RANZANI-PAIVA, M.J.T. Características sangüíneas da pirapitinga do sul, ***Brycon*** sp, sob condições experimentais de criação intensiva. ***Braz. J. Vet. Anim. Sci.***, v. 28, n. 2, p. 141-153, 1991.

RANZANI-PAIVA, M.J.T.; GODINHO, H.M. Sobre células sangüíneas e contagem diferencial de leucócitos e eritroblastos em curimatá, ***Prochilodus scrofa*** Steindachner, 1881 (Osteichthyes, Cypriniformes, Prochilodontidae)- ***Rev. Bras. Biol.***, São Carlos, v. 43, n. 4, p. 331-338, 1983.

RANZANI-PAIVA, M.J.T.; SALLES F.A.; EIRAS, J.C.; et al. Análise hematológica de curimatá (*Prochilodus scrofa*), pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e tambaqui (*Colossoma macropomum*) das estações de piscicultura do Instituto de Pesca, Estado de São Paulo. **Bol. Inst.Pesca**, São Paulo, v. 25, p. 77-83, 1998/1999.

RANZANI-PAIVA, M.J.T.; EIRAS, A.C. Células sangüíneas e contagem diferencial de leucócitos de 13 espécies de teleósteos do Rio Paraná-PR. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 7., 1992. ENCONTRO BRASILEIRO DE PATOLOGISTAS DE ORGANISMOS AQUÁTICOS, 2., 1992 Peruíbe. Anais... 1992. p. 173-182.

REHULKA, J. Blood indices of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) in aeromonas-induced ulcerous dermatitis. **Acta Vet. Bmo**, Tchecoslováquia, v. 67, p. 317-322, 1998.

SERPUNIN, G.G.; LIKHATCHYOVA, O. A. Use of the ichthyohaematological studies in ecological monitoring of the reservoirs. **Acta Vet. Bmo**, Tchecoslováquia, v. 67, p. 339-345, 1998.

SILVEIRA, R.; RIGORES, C. Características hematológicas normales de *Oreochromis aureus* en cultivo. **Rev. Latinoam. de Aquic.**, v. 39, p. 54-56, 1989.

SOPINSKA, A. Effects physiological factors, stress, and disease on hematologic parameters of carp, with a particular reference to the leukocyte patterns. III. Changes in blood accompanying branchionecrosis and bothriocephalosis. **Acta Ichthyol.**, Silver Springer, v. 15, n. 2, p. 141-165, 1985.

STÉFANI, M. V. Níveis de proteína adequada ao crescimento da rã-touro, *Rana catesbeiana* (Shaw, 1802). In: INTERNATIONAL MEETING ON FROG RESEARCH

AND TECHNOLOGY, 1st., ENCONTRO NACIONAL DE RANICULTURA, 8., Viçosa, 1995. **Resumos...** p. 65, 1995.

STÉFANI, M. V.; URBINATI, E. C. Metabolic studies em utilization of carbohydate in bullfrog (***Rana catesbeiana***, Shaw,1802) diets. In : WORLD AQUACULTURE 97. THE ANNUAL INTERNATIONAL CONFERENCE & EXPOSITION OF THE WORLD AQUACULTURE SOCIETY, Seattle, 1997, Proceedings... 1997a. p. 111.

STÉFANI, M. V.; URBINATI, E. C. Effect of different levels of carbohydate in diet of bullfrog on body composition. In: WORLD AQUACULTURE 97. THE ANNUAL INTERNATIONAL CONFERENCE & EXPOSITION OF THE WORLD AQUACULTURE SOCIETY, Seattle, 1997. Proceedings... 1997b. p. 112.

STOSKOPF, M. K. ***Fish medicine***. Philadelphia:W.B. Saunders Company .882p. 1993.

TEIXEIRA, R. D. et al. The world market frog legs, FAO/***Globefish Research Programine***. Rome, FAO. 68: 44p. 2001.

ZHITENEVA, L.D.; GORISLAVSKAYA, M.M. Hematological parameters of herring, ***Clupea pallasii pallasii***, in relation to its physiological conditions. ***J. Ichthyol.***, Silver Spring, v. 26, n. 2, p. 106-116, 1986.

Capítulo II

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

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

DEVELOPMENT OF THE BULLFROG, *Rana catesbeiana*, FED WITH DIFFERENT COMMERCIAL RATIONS

Jaime Fenerick Junior¹, Profa. Dra. Marta Verardino De Stéfani¹, Dr. Maurício Laterça Martins²

¹ Centro de Aquicultura da Unesp. Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, Jaboticabal, SP, 14844-900.

² Universidade Federal de Santa Catarina, - UFSC Rod. SC 404, km 3, Itacorubi, Florianópolis, SC, 88040900

RESUMO

O presente trabalho visou estudar o desenvolvimento da rã-touro, ***Rana catesbeiana***, alimentada com quatro rações comerciais, que apresentavam teores de proteína bruta analisada variando de 41,5 a 45,0% e energia bruta calculada entre 4.143 a 4.481 kcal/kg. Seiscentas rãs com peso médio inicial variando de 12,6g a 28g foram utilizadas para avaliação do desempenho zootécnico, glicemia, do índice hepatossomático (IHS) e do índice gordurassomático (IGOS), em cinco coletas mensais. O pior desempenho foi observado em rãs alimentadas com a ração R₄, apresentando menor ganho de peso e consumo de ração. Não foram observadas diferenças significativas entre as rações para conversão alimentar, lipídio hepático e IHS. Também foi observado um maior IGOS nas rãs que receberam R₂, com tendência de aumento deste índice com o tempo em todos os tratamentos.

Palavras chave: Rações comerciais, desenvolvimento, rã-touro, lipídio hepático, índice hepatossomático, índice gordurassomático.

ABSTRACT

This work evaluated the development of bullfrog, *Rana catesbeiana*, fed with four commercial rations, with presented analyzed crude protein ranging from 41.5% to 45.0% and energy ranging from 4,143 to 4,481 kcal/kg. Six hundred bullfrogs with initial medium weight varying from 12.6g to 28.0g were used for evaluation of growth, consumption, hepatossomatic index (HIS) and fatty somatic index (FSI), in five monthly samples. The worst growth result was observed in frogs fed with R₄, presenting smaller weight gain and food consumption. No significant differences were observed among the rations for the food conversion, hepatic lipid and hepatossomatic index. In addition, a larger fatty somatic index was observed in frogs that received R₂, with a tendency of increase of this index along the time, in all treatments.

Key words: commercial rations, development, bullfrog, hepatic lipid, liver somatic index, fatty somatic index

INTRODUÇÃO

No Brasil, a criação de rãs em cativeiro é baseada em sua totalidade, na exploração da rã-touro, ***Rana catesbeiana***, originária da América do Norte e aqui introduzida em 1935. Somente na década de 80 é que a ranicultura nacional começou a se firmar como atividade zootécnica, devido ao interesse de alguns pesquisadores em racionalizar os sistemas de criação existentes, explorando todo o potencial biológico dessa espécie animal.

As principais modificações que ocorreram na ranicultura, com relação à alimentação, surgiram a partir da década de 80, com a introdução de ração (Lima e Agostinho, 1984) e uso de larvas de mosca doméstica (Aleixo ***et al.***,1984) como atrativo. Entretanto, o número de trabalhos sobre nutrição de anfíbios, principalmente na fase pós-metamorfose é escasso, entre os quais podemos destacar trabalhos sobre exigência protéica (Monteiro ***et al.***,1988; Barbalho,1991; Mazzoni ***et al.***, 1992 a, b; Stéfani,1995), metabolismo de carboidratos (Stéfani e Urbinati,1997 a, b) e determinação do valor nutritivo de alimentos (Braga ***et al.***,1998; Castro ***et al.***,1998; Braga e Albino, 2001; Castro ***et al.***, 2001).

Segundo Lima e Agostinho (1984), os problemas relacionados com a nutrição e alimentação das rãs, tanto na fase aquática quanto na pós-metamórfica, são: inexistência de identificação da forma adequada das rações nas diferentes fases de criação; falta de conhecimento das exigências nutricionais das rãs levando ao uso de rações empíricas; e, além disso, as rações comerciais são produzidas em pequena escala, o que as torna mais caras e com fornecimento irregular; além do manejo alimentar (quantidade, frequência e utilização ou não de atrativo) ser muito variado.

Para a alimentação de rãs após a metamorfose, a maioria dos ranários têm utilizado rações comerciais, formuladas para peixes carnívoros, com resultados satisfatórios de ganho de peso e conversão alimentar. Entretanto, vários produtores têm observado em seus ranários a ocorrência de mortalidade na fase pós-metamorfose.

Como as rãs são animais heterotérmicos, o consumo alimentar varia com a temperatura da água e do ambiente, qualidade da ração oferecida e peso corporal dos animais (Lima e Agostinho, 1992; Braga et al, 1997; Lima et al, 2003), dificultando o manejo alimentar adequado. Se o ranicultor fornece alimento em excesso, além de arcar com um custo maior com a alimentação, prejudicará os animais poluindo o ambiente, devido à deterioração das sobras da ração; por outro lado, quando se oferece uma quantidade de alimento insuficiente, o resultado será a diminuição do peso dos animais.

Os índices zootécnicos observados para a rã-touro variam com o sistema de criação utilizado e também com a qualidade nutricional da ração utilizada (Lima e Agostinho, 1992; Braga et al, 1995; Lima et al ,2003). Alterações no manejo, eficiência do cocho, qualidade das rações e variações climáticas podem dificultar uma comparação entre os valores de conversão alimentar dos diversos trabalhos (Lima **et al.**, 1997).

O objetivo do presente estudo foi observar o efeito de diferentes rações comerciais no desempenho e metabolismo da rã-touro, ***Rana catesbeiana***.

MATERIAL E MÉTODOS

Instalações e condições experimentais

O experimento foi realizado no Setor de Ranicultura do Centro de Aqüicultura da UNESP, localizado na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal, no período 05 de dezembro de 2002 a 10 de abril de 2003. Foram utilizadas 12 baias experimentais do galpão de engorda, com 3 m² cada, as quais apresentavam cochos, abrigos e canaletas de água dispostos linearmente. A água utilizada era proveniente de poço artesiano, com fluxo contínuo. Diariamente, as baias foram limpas, as canaletas esvaziadas, limpas e a água repostas.

Material biológico

Foram utilizadas 600 rãs-touro, *Rana catesbeiana*, com peso médio inicial variando de 12,6 a 28g, oriundas do Setor de Ranicultura do Centro de Aqüicultura da UNESP, as quais foram distribuídas nas 12 baias experimentais, sendo 50 animais por baia.

Rações utilizadas

Os animais foram alimentados uma vez ao dia de acordo com Lima e Agostinho (1992), evitando ao máximo sobras de rações, de forma que a quantidade oferecida foi considerada a consumida.

Foram utilizadas quatro rações comerciais extrusadas (R₁, R₂, R₃ e R₄), analisadas no Laboratório de Nutrição Animal (LANA) do Departamento de Zootecnia da FCAV-UNESP, segundo normas da A.O.A.C. (1990). A composição centesimal analisada (CA) e níveis de garantia (NG) o rótulo das diferentes rações estão apresentados na Tabela 1.

Manejo experimental

O experimento iniciou-se em 05/12/2002, quando todos animais foram pesados e três rãs-touro de cada parcela foram sacrificadas para coleta dos dados iniciais, (momento zero). Para obtenção dos dados foram realizadas quatro coletas (09/01, 06/02, 10/03 e 10/04/2003). No dia anterior à coleta das amostras, as rãs foram submetidas ao jejum para que houvesse maior padronização dos dados.

Para obtenção dos dados metabólicos, três rãs-touro foram coletadas ao acaso de cada baia experimental, descerebradas, logo após pesadas em balança digital e a sua cavidade abdominal aberta com auxílio de tesoura. Uma alíquota de sangue, aproximadamente 2 ml, foi coletada diretamente do coração através de seringa plástica contendo anticoagulante (EDTA a 10%). As amostra de sangue foram colocadas em gelo e posteriormente processadas no laboratório para a determinação dos níveis de glicose sangüínea. Em seguida, os corpos adiposos foram retirados e pesados para o cálculo de índice gordurassomático (IGOS); o fígado também foi retirado , pesado para o cálculo do índice hepatossomático (IHS), embalado em papel alumínio e armazenado em freezer a -20°C , para posterior análise de lipídio hepático.

Todas as rãs-touro foram pesadas no início do experimento, e depois mensalmente, um dia após a coleta, em balança digital para avaliação do desenvolvimento das mesmas.

Parâmetros analisados

Parâmetros de Desenvolvimento:

Para a avaliação do desenvolvimento das rãs-touro, foi analisados o ganho de peso, consumo alimentar e conversão alimentar.

$$C.A. = \frac{\text{consumo de alimento}}{\text{ganho de peso}}$$

Parâmetros Metabólicos:

A glicose sangüínea (mg/100ml) foi determinada utilizando-se o método colorimétrico de King e Garner (1947), o qual consiste em adicionar 0,1 ml de solução de tungstato de sódio 10% em 1,8 ml de solução isotônica. Após centrifugação por 10 minutos a 2000 rpm, o sobrenadante foi retirado e armazenado em freezer à -20°C até a realização das análises, as quais foram feitas adicionando-se 1 ml de reagente cúprico e 3 ml de arsenomolibdico, sendo analisadas em espectrofotômetro (540 nm).

A extração dos lipídios totais (g/100g) foi feita através da técnica de Bligh e Dyer (1959). Para isto, foi utilizado 500mg de tecida homogeneizada em 5 ml de mistura extrativa clorofórmio-metanol (2:1). Após filtragem do homogenado e centrifugação com H₂O na proporção de 5:1, ocorreu a separação da camada de clorofórmio (que contém a fração lipídica) da camada de metanol (não lipídica), a qual foi desprezada. Cada amostra foi colocada em uma placa de Petri previamente pesada e em seguida, levada a estufa à 100°C por 1 hora para evaporação. Após este período as placas foram pesadas, permitindo a realização dos cálculos para obtenção da quantidade de lipídios em cada amostra.

O índice hepatossomático (IHS) foi obtido pela seguinte fórmula:

$$IHS(\%) = \frac{\text{peso do fígado} \times 100}{\text{peso corporal}}$$

O índice gordurassomático (IGOS) foi obtido pela seguinte fórmula:

$$IGOS(\%) = \frac{\text{peso dos corpos adiposos} \times 100}{\text{peso corporal}}$$

Delineamento Experimental

O delineamento experimental utilizado foi o Inteiramente Casualizado com 4 tratamentos (R_1 , R_2 , R_3 e R_4), em um esquema em parcelas subdivididas, sendo as rações nas parcelas e as coletas no tempo nas sub-parcelas. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Parâmetros de Desenvolvimento

Os valores médios do ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar encontram-se na Tabela 2.

A análise de variância indicou efeitos significativos ($P < 0,01$) para a interação entre ração e períodos (Tabela 2), quanto ao ganho de peso e consumo de ração. Os valores médios do ganho de peso das rãs-touro encontram-se na Tabela 3. De maneira geral, observou-se um ganho de peso significativamente maior no primeiro período experimental para todas as rações comerciais, quando comparado aos demais períodos. Com relação às diferentes rações comerciais, podemos observar que as rãs-touro que receberam a ração 4 apresentaram menor ganho de peso, nos diferentes períodos, diferindo significativamente das demais rações. Provavelmente esse menor ganho de peso, foi devido ao menor consumo de ração observado neste tratamento e também à qualidade da proteína utilizada, uma vez que não houve grande variação no teor de PB analisada das diferentes rações. Entre as rações R_1 , R_2 e R_3 não houve diferença significativa no ganho de peso.

Na Figura 1 pode-se observar o peso médio das rãs durante o período experimental e na Figura 2 o aspecto geral das mesmas no último dia do experimento, onde confirma-se o pior desempenho das rãs que foram alimentadas com a ração 4.

Os valores médios do consumo de ração encontram-se na Tabela 4, onde observou-se menor consumo de ração para as rãs que receberam a ração 4 e que entre as outras rações (R_1 , R_2 e R_3), não ocorreram diferenças significativas. Houve tendência de aumento do consumo de ração nos diferentes períodos, exceto para

animais alimentados com a ração 2, nos quais não foram observadas diferenças significativas ($P < 0,05$), provavelmente devido ao alto teor de extrato etéreo da R₂ (7,80%), o que de certa forma pode ter limitado o consumo de ração. Como a rã-touro é um animal heterotérmico, o consumo de ração é influenciado pela temperatura, pelo peso corporal e qualidade da ração (Braga e Lima, 2001; Lima *et al.*, 2003).

A conversão alimentar não foi afetada pelas diferentes rações comerciais (Tabela 2). Entretanto, observaram-se diferenças significativas ($P < 0,01$) nos diferentes períodos, onde no período de 05/12 a 09/01 (P₁) ocorreu o melhor índice de conversão alimentar (1,22), diferindo significativamente dos demais. Essa piora nos índices de conversão alimentar nos períodos subsequentes foi que com o aumento do tamanho das rãs-touro nas baias houve um grande desperdício de ração que caía na água, o qual não foi possível ser contabilizado. Exceto o valor encontrado em P₁, os demais valores de conversão alimentar foram próximos ao observado por Lima e Agostinho (1988) e maiores do que aqueles observados por Braga *et al.*, 1995 (1,22:1 e 1,15:1 nas temperaturas de 25 e 30 °C); Lima *et al.*, 1997 (1,23 a 1,64:1) e Lima *et al.*, 2003 (0,9 a 2,5:1). Vale ressaltar a dificuldade de comparação entre os valores de conversão alimentar devido às diferentes condições de cada trabalho (tipo de instalação, eficiência do cocho, qualidade da ração, etc).

Parâmetros Metabólicos

As diferentes rações comerciais não afetaram significativamente ($P > 0,05$) a concentração de glicose sangüínea nas rãs (Tabela 5). Entretanto, com o passar do tempo, houve diferenças significativas ($P < 0,05$), onde observou-se a menor concentração desse metabólito (45,02mg/100ml de sangue) na última coleta (C₄),

não deferindo significativamente de C₃. Os valores médios de glicemia (53,45 a 61,38 mg%) observados nas rãs do presente experimento, foram próximos àqueles encontrados por Byrne e White (1975) em população de rã-touro, na natureza, antes e depois da desova no verão (40-50mg%) e também daqueles observados por Stéfani e Urbinati, 1997a, (48,97 a 55,86 mg%) em rãs-touro alimentadas com diferentes níveis de carboidratos na ração. Smith (1954); Hutchison e Turney (1975) observaram valores inferiores de glicose sangüínea para ***Rana temporária*** ($38 \pm 1,42$ mg %) e ***Rana pipiens*** ($24,5 \pm 3,0$ mg%), respectivamente. De acordo com Herman (1977) as diferenças nos níveis de glicose sangüínea entre as espécies, podem ser atribuídos a diferenças no manejo, procedimentos de amostragem e/ou método analítico utilizado. Além disso, deve-se considerar também as diferentes espécies de rãs e a época do ano em que ocorreu a coleta.

A concentração de lipídio no fígado das rãs variou entre 2,86 e 4,68% e não foi influenciada pelas diferentes rações e nem pelo tempo de coleta (Tabela 5). De acordo com Byrne e White (1975), as reservas de lipídios nos anfíbios ocorrem, principalmente, nos corpos adiposos, no fígado e tecidos reprodutivos. Este comportamento pode explicar o que ocorreu no presente estudo, onde rações com diferentes teores de extrato etéreo e extrativo não nitrogenado (Tabela 1) não afetaram a concentração de lipídio hepático. Stéfani e Urbinati (1997a) observaram valores próximos aos encontrados no presente estudo (2,41 a 4,83 %) para a mesma espécie.

Os valores médios do IHS encontram-se na Tabela 5, onde pode-se observar que ocorreram efeitos significativos ($P < 0,05$) para a interação entre rações e coletas no tempo. Os valores médios do IHS das rãs nos diferentes tratamentos e coletas encontram-se na Tabela 6. As análises dos dados indicaram que não houve

diferença significativa ($P>0,05$) do IHS das rãs alimentadas com as diferentes rações. Quando se analisou o IHS nas diferentes datas de coleta, pode-se observar que houve aumento desse índice da terceira para a quarta coleta nos tratamentos T_1 , T_2 e T_3 , apesar de não haver diferença significativa entre os valores da última coleta (C_4) para a coleta inicial (C_0), indicando portanto que não houve aumento do tamanho do fígado das rãs. Na ração 4 não houve diferença significativa ($P>0,05$) do IHS nas diferentes coletas. Byrne e White (1975) obtiveram valores de IHS de rãs-touro da natureza variando de 1,6 a 3,7 %, sendo que o valor mais alto é semelhante aos valores médios dos diferentes tratamentos no presente experimento (3,80 a 4,29%).

Para o IGOS, a análise de variância indicou efeito significativo ($P<0,01$) para a interação entre rações e coletas (Tabela 5). Os valores médios do IGOS das rãs encontram-se na Tabela 7. De maneira geral, pode-se verificar que o IGOS das rãs-touro alimentadas com a ração 2 foi mais elevado, apresentando um valor médio de 6,53 %. Também houve tendência de aumento deste índice com o passar do tempo, o que pode ser considerado normal, pois com o desenvolvimento das rãs os corpos adiposos vão aumentando de tamanho, principalmente no período pré-desova. Provavelmente, este maior IGOS observado nas rãs que foram alimentadas com a ração 2 seja devido ao maior teor de extrato etéreo presente na ração (7,8%) ou devido à utilização de fontes de gordura que não foram bem aproveitadas pelas rãs.

CONCLUSÃO

Apesar dos parâmetros metabólicos não terem sido influenciados pelas diferentes rações utilizadas, exceto para o IGOS, pode-se concluir que nas condições em que foi realizado o trabalho, rãs que foram alimentadas com a ração 4 apresentaram piores ganho de peso e consumo de ração.

REFERÊNCIAS

ALEIXO P. G. T. et al. Criação de moscas domesticas para suplementação alimentar de rãs. Viçosa, MG: UFV. Informe Técnico, v. 46, p.12p, 1984.

A.O.A.C. **Official methods of analysis. Washington** D. C., Association of Official Agricultural Chemists, 1990.

BARBALHO, O. J. M. **Exigências de proteína bruta de rã-touro (*Rana catesbeiana*, Shaw 1802) na fase de terminação.** 1991. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1991.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Can. J. of Biochem. Physiol.**, Ottawa, v. 37, n. 8, p 911-917, 1959.

BRAGA, L.G.T. et al. Desempenho da rã-touro (***Rana catesbeiana*** Shaw, 1802) submetida a diferentes temperaturas em baias teste do sistema anfigranja. In: ENCONTRO NACIONAL DE RANICULTURA, 8, TECNOFROG, 1., 1995, Viçosa. Anais...Viçosa: ABETRA, 1995. p. 87.

BRAGA, L.G.T. et al. Consumo de alimento em função do peso da rã-touro (***Rana catesbeiana*** Shaw, 1802) na fase de recria. In: ENCONTRO NACIONAL DE RANICULTURA, 9, TECNOFROG 97, 2., 1997, Santos. Anais... Santos 1997. p. 190.

BRAGA, L.G.T. et al. Valor nutritivo de alguns alimentos para rã-touro (***Rana catesbeiana*** Shaw, 1802) na fase de recria. **Rev. Bras. Zoot.**, Viçosa, v. 27, n. 2, p. 203-209, 1998.

BRAGA, L. G. T.; ALBINO, C. F. T. Digestibilidade do fubá de milho pela rã-touro ***Rana catesbeiana***. In: ENCONTRO NACIONAL DE RANICULTURA, 11., 2001, Bragança Paulista. Anais...Bragança Paulista: ABETRA, 2001. p. 58.

BRAGA, L.G.T.; LIMA, S.L. Influência da temperatura ambiente no desempenho da rã-touro, ***Rana catesbeiana*** (Shaw, 1802), na fase de recria. **Rev. Bras. de Zoot.**, Viçosa, v. 30, n. 6, p.1659-1663, 2001.

BYRNE, J. J.; WHITE, R. J. Cyclic changes in liver and muscle glycogen tissue lipid and blood glucose in a naturally occurring population of ***Rana catesbeiana***. **Comp. Biochem. Physiol.**, Oxford, v. 50, p. 709-715, 1975.

CASTRO, J. C. et al. Energia metabolizável de alguns alimento usados em rações de rãs. **Rev. Bras. Zoot.**, Viçosa, v.27, n.6, p. 1051-1056, 1998.

CASTRO, J. C. et al. Valor nutritivo de alguns alimentos para rãs. **Rev. Bras. Zootec.**, Viçosa, v.30, n.3, p. 605-610, 2001.

HERMAN, C. A. Comparative effects of epinephrine and norepinephrine on plasma glucose and hematocrit levels in the American bullfrog (***Rana catesbeiana***). **Gen. Comp. Endocrinol.**, San Diego, v. 32, p. 321-329, 1977.

HUTCHISON, V. H.; TURNEY, L. D. Glucose and lactate concentrations during activity in the leopard frog, ***Rana pipiens***. **J. Comp. Physiol.**, Berlin, v. 99, p.287-295, 1975.

KING, E. J.; GARNER, R. J. Colorimation of glucose. **J. Clin. Pathol.**, London, v.1, p.30-33, 1947.

LIMA, S. L.; AGOSTINHO, C. A. Técnicas e propostas para alimentação de rãs. Viçosa, MG: UFV. Informe Técnico, v. 50, 11 p., 1984.

LIMA, S. L., AGOSTINHO, C. A. **A criação de rã**. R. Janeiro, RJ: Globo, 1988. 187p.

LIMA, S. L.; AGOSTINHO, C. A. **A tecnologia de criação de rãs**. Viçosa, MG, UFV, Impr. Univ., 1992.

LIMA, S.L. et al. Sistema anfigranja I: índices de produtividade com rã-touro, **Rana catesbeiana**. In: ENCONTRO NACIONAL DE RANICULTURA, 9, TECHNOFROG 97, 2., 1997, Santos. Anais... Santos, 1997. p. 198.

LIMA, S. L. et al. Desempenho zootécnico e percentual de alimento de rã-touro (**Rana catesbeiana**) na fase de recria (pós-metamorfose) do sistema anfigranja. **Rev. Bras. de Zoot.**, v. 32, n.3, p. 505-511, 2003.

MAZZONI, R. et al. Estudio del porcentaje de proteína en alimento peleteado para engorde de rana toro (**Rana catesbeiana** Shaw, 1802), In: ENCONTRO NACIONAL DE RANICULTURA, 7., 1992, Rio de Janeiro. Anais... Rio de Janeiro: ENAR, 1992a. p. 191-199.

MAZZONI, R. A. et al. Estudio del porcentaje de proteína y la energía en alimento peleteado para engorde de rana toro (**Rana catesbeiana** Shaw, 1802), In: ENCONTRO NACIONAL DE RANICULTURA, 7., 1992, Rio de Janeiro. Anais... Rio de Janeiro: ENAR, 1992b. p. 185-190.

MONTEIRO, E. S., et al. Avaliação de desenvolvimento de rã-touro (**Rana catesbeiana** Shaw 1802) alimentadas com diferentes níveis de proteína In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 25., 1988, Viçosa. Anais... Viçosa, 1988. p. 77.

SMITH, C. L. The relation between seasonal hyperglycemia and thyroid activity in the frog (*Rana temporaria*) *J. Endocrinol.*, Bristol, v.10, p. 184-191, 1954.

STÉFANI, M. V. Níveis de proteína adequada ao crescimento da rã-touro, *Rana catesbeiana* (Shaw, 1802). In: INTERNATIONAL MEETING ON FROG RESEARCH AND TECHNOLOGY, 1st, ENCONTRO NACIONAL DE RANICULTURA, 8., 1995, Viçosa. **Resumos**... Viçosa, 1995. p. 65.

STÉFANI, M. V.; URBINATI, E. C. Metabolic studies em utilization of carbohydrate in bullfrog (*Rana catesbeiana*, Shaw,1802) diets. In : WORLD AQUACULTURE 97. THE ANNUAL INTERNATIONAL CONFERENCE & EXPOSITION OF THE WORLD AQUACULTURE SOCIETY, 1997, Seattle. Proceedings...Seattle, 1997a. p. 111.

STÉFANI, M. V.; URBINATI, E. C. Effect of different levels of carbohydrate in diet of bullfrog on body composition. In: WORLD AQUACULTURE 97. THE ANNUAL INTERNATIONAL CONFERENCE & EXPOSITION OF THE WORLD AQUACULTURE SOCIETY, 1997, Seattle. Proceedings... Seattle, 1997b. p. 112.

TEIXEIRA, A. S. Alimento e alimentação dos animais. 4. ed. Lavras: UFLA/FAESPG, 1998.

Tabela 1 – Composição centesimal analisada (A) e nível de garantia do fabricante (NG).

		Nutrientes (%)								EB calculada ¹ (Kcal/kg)
Tratamentos		MS	PB	EE	FB	MM	ENN	Ca	P	
R ₁	A	90,13	42,36	1,81	2,56	7,88	35,52	-	-	4.143,70
	NG		40 (Min)	1,5 (Min)	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 (Min)	10 (Min)	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 (Min)	14 (Min)	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 (Min)	7 (Min)	5 (Máx)	15 (Máx)	-	4,0 (Máx)	1,5 (Mín)	

¹ EB = (PB x 5,65) + (FB x 4,15) + (EE x 9,40) + (ENN x 4,15) (Teixeira, 1998)

PREMIX RAÇÃO 1: vitamina A 12 000UI, vitamina D₃ 2 000UI, vitamina E 20UI, vitamina K₃ 5mg, vitamina B₁₂ 25mcg, Tiamina 2mg, riboflavina 8mg, piridoxina 2mg, biotina 100mg, ácido pantotênico 15mg, niacina 40mg, colina 350mg, ferro 40mg, cobre 8mg, zinco 50mg, manganês 70mg, cobalto 0,5mg, iodo 2mg, selênio 0,2mg e antioxidante 120mg.

PREMIX RAÇÃO 2: vitamina A 10 000UI, vitamina B₁ 25mg, vitamina B₂ 25mg, vitamina B₆ 25mg, vitamina B₁₂ 30mcg, vitamina C 350mg, vitamina D₃ 4 000UI, vitamina E 100mg, vitamina K₃ 5mg, ácido fólico 5mg, ácido pantotênico 50mg, colina 2 000mg, cobre 14mg, cobalto 0,2mg, ferro 100mg, inositol 50mg, iodo 0,6mg, manganês, 26mg, selênio 0,6mg, zinco 140mg, niacina 100mg, biotina 0,8mg e antioxidante 150mg.

PREMIX RAÇÃO 3: vitamina A 20 000UI, vitamina B₁₂ 45mcg, vitamina C 200mg, vitamina D₃ 4 400UI, vitamina E 350UI, vitamina K 45mg, magnésio 400mg, ferro 75mg, cobre 10mg, zinco 100mg, manganês 10mg, iodo 1mg, selênio 0,15mg, cobalto 0,18mg, ácido fólico 16mg, biotina 0,50mg, colina 2 500mg, niacina 300mg, pantotenato de cálcio 90mg, tiamina 35mg, riboflavina 45mg, piridoxina 45mg e antioxidante 200mg.

PREMIX RAÇÃO 4: vitamina A 18 000UI, vitamina B₁ 15mg, vitamina B₂ 30mg, vitamina B₆ 15mg, vitamina B₁₂ 0,06mcg, vitamina C 400mg, vitamina D₃ 3 000UI, vitamina E 75mg, vitamina K₃ 7,5mg, zinco 90mg, niacina 150mg, ácido fólico 6mg, ácido pantotênico 75mg, ntioxidante 185mg, colina 1 000mg, cobre 6mg, cobalto 0,30mg, ferro 75mg, inositol 12mg, iodo 2mg, manganês 30mg e selênio 0,16mg.

Tabela 2—Valores de F, coeficiente de variação (CV) e médias obtidas para ganho de peso (g), consumo de ração (g), conversão alimentar.

	Variáveis		
	Ganho de Peso (g)	Consumo de ração (g)	Conversão Alimentar
F para Tratamento (T)	48,63**	26,77**	2,11 ^{ns}
F para Período (P)	44,71**	12,60**	91,47**
F para inter. T x P	3,29**	1,45**	1,42 ^{ns}
CV (%) – Parcela	14,8	15,84	11,60
CV (%) - Subparcelas	21,76	14,17	14,27
Médias R ₁	45,89	4859,59	2,88
R ₂	49,22	4915,83	2,65
R ₃	44,08	4815,42	2,94
R ₄	22,67	2807,08	2,96
Médias			
P ₁ (05/12 a 09/01)	65,48	3798,33	1,22 b
P ₂ (09/01 a 06/02)	29,73	3941,67	3,03 a
P ₃ (06/02 a 10/03)	29,93	4463,75	3,57 a
P ₄ (10/03 a 10/04)	36,72	5194,17	3,61 a

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade
^{ns} não significativo

* significativo ao nível de 5% de probabilidade

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

Tabela 3 – Valores médios do ganho de peso (g) das rãs para rações e períodos.

Tratamentos	Períodos			
	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄
R ₁	73,88 Aa	37,43 ABb	29,17 ABb	43,06 Ab
R ₂	84,72 Aa	39,08 Ab	38,22 Ab	34,88 ABb
R ₃	73,39 Aa	27,80 Bc	33,63 ABbc	41,48 ABb
R ₄	29,94 Ba	14,59 Cb	18,68 Bb	27.47 Ba

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

Tabela 4 – Valores médios do consumo de ração (g) das rãs para rações e períodos.

Tratamentos	Períodos			
	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄
R ₁	4240,00 ABb	4606,67 Aab	4526,67 Aab	6065,00 Aa
R ₂	4433,33 Aa	4620,00 Aa	5655,00 Aa	4955,00 ABa
R ₃	4376,67 Ab	4136,67 Ab	4936,67 Aab	5811,67 ABa
R ₄	2143,33 Bb	2403,33 Bb	2736,67 Bb	3945,00 Ba

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

Tabela 5 – Valores de F, coeficiente de variação (CV) e médias obtidas para glicemia (mg/100mL), lipídio no fígado (g%), índice hepatossomático–IHS (%) e índice gordurassomático–IGOS (%).

	Variáveis			
	Glicemia (mg/100ml)	Lipídio no fígado (g%)	IHS (%)	IGS (%)
F para Tratamento (T)	3,96 ^{ns}	1,03 ^{ns}	1,62*	21,86**
F para Coletas (C)	5,96**	1,05 ^{ns}	25,13**	13,41**
F para inter. T x C	1,24 ^{ns}	1,48 ^{ns}	2,3*	3,94**
CV (%) – Parcela	15,42	86,17	16,42	25
CV (%) - Subparcelas	19,25	86,7	12,26	17,66
Médias R ₁	59,42	2,86	4,13	4,42
R ₂	61,38	3,81	4,29	6,53
R ₃	53,45	3,1	3,80	3,48
R ₄	55,56	4,68	3,92	3,80
Médias C ₀ (05/12)	63,39 a	2,6	4,55	3,15
C ₁ (09/01)	61,35 a	3,69	4,02	4,87
C ₂ (06/02)	62,98 a	4,14	3,56	4,8
C ₃ (10/03)	54,54 ab	2,81	3,15	4,54
C ₄ (10/04)	45,02 b	4,82	4,91	5,43

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

^{ns} não significativo

* significativo ao nível de 5% de probabilidade

** significativo ao nível de 1% de probabilidade

Tabela 6 – Valores médios do Índice Hepatosomático (%) das rãs para rações e períodos.

Tratamento	Coletas				
	C ₀	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄
R ₁	4,39 Aab	4,37 Aab	3,56 Aab	2,81 Ab	5,54 Aa
R ₂	4,48 Aab	4,28 Aab	4,16 Aab	3,60 Ab	4,94 Aa
R ₃	4,75 Aa	3,36 Ab	3,01 Ab	2,80 Ab	5,09 Aa
R ₄	4,57 Aa	4,08 Aa	3,51 Aa	3,37 Aa	4,08 Aa

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

Tabela 7 – Valores médios do Índice Gordurassomático (%) das rãs para rações e períodos.

Tratamentos	Coletas				
	C ₀	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄
R ₁	3,19 Ab	4,61 Bab	4,32 ABab	5,45 ABa	4,51 Bab
R ₂	3,15 Ab	7,09 Aa	7,76 Aa	6,56 Aab	8,10 Aa
R ₃	3,11 Aa	4,02 Ba	3,45 Ba	2,62 Ca	4,17 Ba
R ₄	3,14 Ab	3,75 Bab	3,65 Bab	3,54 BCb	4,92 Ba

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

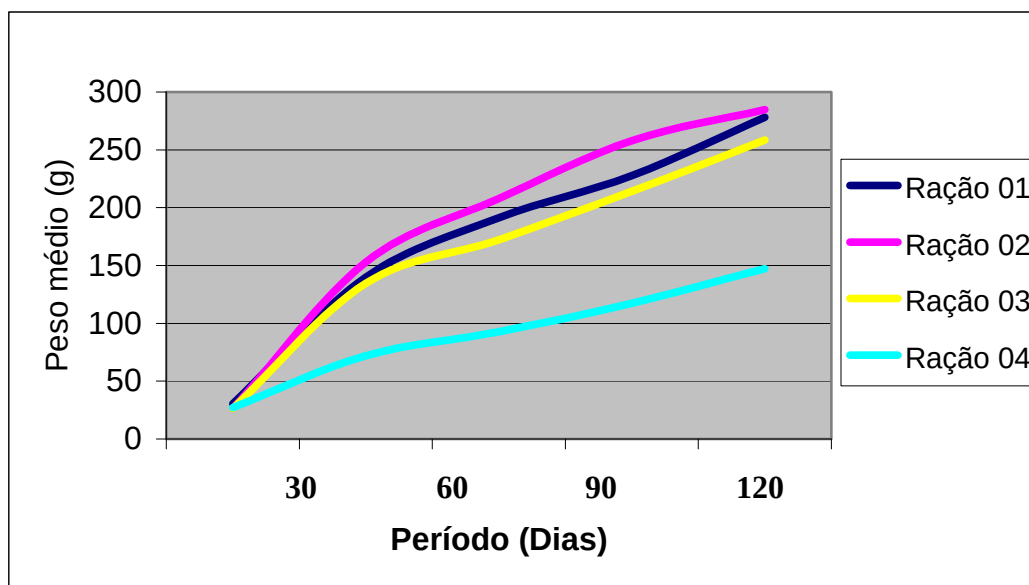


Figura 1 – Peso médio das rãs-touro (g) durante o período experimental



Figura 2 – Aspecto geral das rãs-touro no fim do período experimental alimentadas com as diferentes rações comerciais.

Capítulo III

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

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

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

Jaime Fenerick Junior¹, Profa. Dra. Marta Verardino De Stéfani¹, Dr. Maurício Laterça Martins²

¹ Centro de Aquicultura da Unesp. Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, Jaboticabal, SP, 14844-900.

² Universidade Federal de Santa Catarina, - UFSC Rod. SC 404, km 3, Itacorubi, Florianópolis, SC, 88040900.

O presente trabalho visou estudar possíveis alterações dos parâmetros hematológicos de rã-touro, *Rana catesbeiana*, alimentada com quatro rações comerciais. Estas apresentavam teores de proteína bruta analisada variando de 41,5% a 45,0% e energia bruta calculada entre 4.143 a 4.481 kcal/kg. Seiscentas rãs com peso médio inicial variando de 12,6g a 28g foram utilizadas. Colheitas foram feitas mensalmente, durante cinco meses, para avaliação do hematócrito e contagem de eritrócitos e leucócitos. Nas condições experimentais deste trabalho, não houve efeito expressivo das diversas marcas de ração na hematologia, havendo alterações no número de eritrócitos e leucócitos totais e porcentagem de basófilos nos diferentes tempos de coletas. A diversidade de resultados encontrados para um mesmo parâmetro nos trabalhos compilados ressalta a necessidade de realização de futuros trabalhos para o estabelecimento de valores basais na hematologia da espécie estudada.

Palavras-chaves: parâmetro hematológicos, rações comerciais, rã-touro, *Rana catesbeiana*.

ABSTRACT

The present work evaluated possible alterations on the hematological parameters of bullfrog, ***Rana catesbeiana***, fed with four commercial rations, with presented analyzed crude protein varying from 41.5 to 45.0% and energy varying from 4,143 to 4,481 kcal/kg. Six hundred bullfrogs with initial medium weight ranging from 12.6g to 28.0g were used. Data samples 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 this work, there was not expressive feeding effect on the hematology of ***Rana catesbeiana***, however there were alterations in erythrocytes number and total leucocytes and basophiles percentage in the different samples. The diversity of results found for a same parameter in the compiled works emphasizes the need of accomplishment of futures works for the establishment of basal values in the hematology of the studied species.

Key words: hematological parameters commercial rations, bullfrog, ***rana catesbeiana***

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) relata que esses animais respondem de maneira rápida a variações ambientais (temperatura, fotoperíodo e umidade) ou a outros fatores tais como idade, condições nutricionais, estresse ou ação de xenobióticos. Essas respostas à variações do ambiente podem ser utilizadas em estudos de toxicidade e monitoramento, desde que padronizadas, uniformizadas e dirigidas para um propósito específico. A caracterização de variações hematológica constituiu-se, desta forma, em uma valiosa ferramenta na avaliação da saúde do animal em determinado ambiente.

A grande maioria dos estudos realizados com o sangue de anuros refere-se aos glóbulos vermelhos, quantidade de hemoglobina e proteína do sangue. Assim, os critérios adotados pelos hematologistas para estabelecimento da nomenclatura dos elementos figurados do sangue de anfíbios na fase larval e adultos estão baseados em estudos comparativos, particularmente com peixes teleósteos (Saunders, 1968; Ellis, 1977).

Naoum **et al.** (1986) e Cannon **et al.** (1987) enfatizam esse fato afirmando que a literatura a respeito da hematologia de anfíbios é escassa, e este quadro se agrava na pesquisa dos elementos celulares sangüíneos das formas pré-metamórficas de anuros. Dias (1992) relata a carência de informações sobre a composição celular do sangue dos anfíbios.

O sangue dos anfíbios, assim como de outros vertebrados não mamíferos é composto por 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. Segundo Maples (1985) e Turner (1988), os principais órgãos eritropoéticos nos girinos são o fígado e os rins.

Os glóbulos brancos ou leucócitos são de dois tipos: os agranulócito, sem granulações visíveis no citoplasma, que 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, cujos citoplasmas apresentam granulações visíveis com diferentes afinidades pelo corante de Romanowisk (Tavares, 2004). Nestes animais, os glóbulos brancos ou leucócitos são também nucleados e de nomenclatura semelhante à dos mamíferos, e em média em número próximo a 7000 por mm^3 .

Os efeitos deletérios de variadas substâncias sobre o organismo, podem ser analisados de diversas formas. Um dos tecidos mais utilizado 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 **et al.**,1986). Em rãs-touro esses dados não são disponíveis.

O sangue dos vertebrados é um tecido líquido e móvel, onde está presente uma categoria de células livres do tecido conjuntivo e, que está em equilíbrio com, praticamente, todos os outros tecidos, constituindo uma das grandes forças homeostáticas do organismo (Kalashnikova, 1976).

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

MATERIAL E MÉTODOS

Instalações e condições experimentais

O experimento foi realizado no Setor de Ranicultura do Centro de Aqüicultura da UNESP, localizado na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal, no período 05 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, as quais apresentam cochos, abrigos e canaletas de água dispostos linearmente. A água utilizada era proveniente de poço artesiano, apresentando fluxo contínuo. Diariamente, as baias foram limpas, as canaletas esvaziadas, 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 quais foram divididas em 12 baias, sendo que em cada baia foram colocados 50 animais com peso médio inicial variando de 12,6 a 28 g.

Manejo experimental

Para alimentar as rãs, foram utilizadas quatro rações comerciais (R₁, R₂, R₃ e R₄), 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 foram realizadas coletas mensais, totalizando cinco amostragens (05/12/2002, 09/01, 06/02, 10/03 e 10/04/2003). No dia anterior à coleta das amostras, as rãs foram submetidas ao jejum para que houvesse uma maior padronização.

Para as coleta das amostras, três rãs foram capturadas ao acaso de cada baia experimental, foram descerebradas, pesadas sua cavidade abdominal aberta com auxílio de tesoura e uma alíquota de sangue de aproximadamente 2 ml foi coletada diretamente do coração das rãs (Figura 1), com auxílio de agulha e seringa plástica contendo anticoagulante (EDTA a 10%).

Parâmetros Analisados

As amostras do sangue foram colocadas em tubos plásticos com tampa e mantidas em gelo. Foram realizadas a contagem do número de eritrócitos totais e a contagem diferencial de células sangüíneas de defesa orgânica.

A contagem do número de eritrócitos/ μL de sangue foi realizada em câmara hemocitométrica de Neubauer, utilizando-se solução fisiológica 0,65%. Outra alíquota do sangue foi utilizada para a determinação do hematócrito 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 proposto por Pitombeira e Martins (1966).

$$\text{Leucócitos (por } \mu\text{L)} = \frac{\text{n}^\circ \text{ de leucócitos na extensão} \times \text{n}^\circ \text{ de eritrócitos (por } \mu\text{L)}}{2000 \text{ eritrócitos na extensão sangüínea}}$$

$$\text{Trombócitos (por } \mu\text{L)} = \frac{\text{n}^\circ \text{ de trombócitos na extensão} \times \text{n}^\circ \text{ de eritrócitos (por } \mu\text{L)}}{2000 \text{ eritrócitos na extensão sangüínea}}$$

Delineamento Experimental

O delineamento experimental utilizado foi o Inteiramente Casualizado com 4 tratamentos (R_1 , R_2 , R_3 e R_4), em um esquema em parcelas subdivididas, sendo as rações nas parcelas e as coletas no tempo nas sub-parcelas. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 2 pode-se observar os diferentes tipos leucocitários encontrados no sangue das rãs-touro. Os tipos celulares considerados foram: linfócito, neutrófilo, basófilo, eosinófilo e monócito. Linfócitos são os leucócitos mais freqüentes no sangue periférico de anuros larvais. Apresentam núcleo redondo com cromatina densa e citoplasma basofílico, algumas vezes apresentando microvilosidades (projeção citoplasmática). Os neutrófilos freqüentemente possuem núcleo segmentado, apresentam citoplasma ocupado por extensas áreas de retículo endoplasmático granular bem desenvolvido. Os basófilos são comuns no sangue periférico de girinos, particularmente em *R. 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 vacuolado e fracamente basofílico.

Células jovens, ou imaturas, estiveram presentes nas extensões sangüíneas analisadas, mas foram ignoradas no presente trabalho. Os valores médios da contagem diferencial de células de defesa orgânica estão expressos na Tabela 2.

Os valores médios das porcentagens de neutrófilos e eosinófilos do sangue periférico das rãs não foram influenciados pelas diferentes rações e nem pelas diferentes coletas no tempo. Nos diferentes tratamentos, a quantidade média de neutrófilos variou de 11,62 a 13,13% e para os eosinófilos a variação foi de 1,16 a 1,85%.

Para o 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 indicou que não houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre os tratamentos nas diferentes coletas. Para as rãs alimentadas com as rações R1 e R4 não ocorreram alterações significativas dos eritrócitos com o passar do tempo. Este comportamento não ocorreu nos outros tratamentos, onde observou-se que para a R₂ houve diferença significativa na última coleta (C₅), ocorrendo aumento no número de eritrócitos; para a R₃ só houve diferença significativa da segunda coleta (C₂) para a terceira (C₃) onde ocorreu aumento do número de eritrócitos, não diferindo das outras coletas (C₄ e C₅).

A análise de variância da porcentagem de monócitos apresentou efeito significativo ($P < 0,05$) para a interação entre as diferentes rações e coletas (Tabela 2). Os valores médios da porcentagem de monócitos nos diferentes tratamentos e coletas encontram-se na Tabela 4, onde se pode observar que a maior porcentagem de monócitos (0,78%) foi encontrada no sangue das rãs alimentadas com a R₁ na quarta coleta (C₄), não diferenciando significativamente do valor encontrado para as rãs submetidas a R₃ (0,22%). Nos tratamentos com as rações R₁, R₂ e R₄ destaca-se a estabilidade na porcentagem de monócitos nas diferentes coletas, não ocorrendo alteração significativa. Wang e Chang (1994) em estudos realizados com rãs-touro adultas criadas em cativeiros, obtiveram uma porcentagem de monócito 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% em 14 e 312 horas de amostragem no grupo controle.

A porcentagem de basófilo no sangue das rãs-touro também apresentou efeito significativo ($P < 0,05$) para a interação entre rações e coletas (Tabela 2). Na Tabela 5 são apresentados os valores médios das porcentagens de Basófilos no sangue das rãs-touro. A análise dos dados indicou que não houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre os tratamentos nas diferentes coletas. Quando se compara os diferentes tratamentos ao longo do tempo, observa-se estabilidade na porcentagem de basófilos no sangue das rãs alimentadas com a R_1 nas diferentes coletas, não ocorrendo alteração significativa; nas rãs alimentadas com a R_2 ocorreu diminuição significativa na porcentagem de basófilos, de 28,78% da primeira coleta (C_1) para 9,11% na segunda coleta (C_2), estabilizando nas coletas seguintes; para as rãs alimentadas com a R_3 e R_4 houve uma diminuição significativa de C_1 para C_4 . Os resultados aqui apresentados diferem dos Ferreira (2002) que obteve em girino de *R. catesbeiana* (controle), uma porcentagem de 8,32% em 48 horas e 5,01% em 312 horas no período de amostragem; de Wang e Chang (1994) que obtiveram para rãs-touro adultas em cativeiros 2,66% de basófilos e de Szubartowska *et al.* (1990) que obtiveram para *Rana esculenta* adulta 2,03% de basófilos.

A porcentagem de linfócitos no sangue das rãs somente foi influenciada significativamente ($P < 0,01$) pelas tempo de coleta (Tabela 2), onde se pode 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 daqueles obtidos por Wang e Chang (1994) que obtiveram para rãs-touro adultas em cativeiros 52,77% de linfócitos; de Szubartowska *et al.* (1990) que obtiveram para *Rana esculenta* adulta 52,87% de linfócitos e Ferreira (2002) obteve em girino de *R. catesbeiana* (controle), uma porcentagem de 94,22% em 48 horas e 89,84% em 312 horas no período de amostragem.

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

O número de leucócitos totais também foi influenciado significativamente pelas diferentes rações e tempo (Tabela 6). Pode-se observar que o menor número de leucócitos ($5878 \times 10^6/\text{mm}^3$) foi encontrado no sangue das rãs-touro alimentada com o ração 4, na última coleta (C_5); e que somente nas rãs-touro alimentadas com a ração 1, houve uma diminuição significativa do número de leucócitos de C_1 para C_2 . Relacionando esses dados com o trabalho anterior, observa-se que apesar de não ter ocorrido diferença significativa do número de leucócitos no sangue das rãs-touro alimentadas com as diferentes rações, exceto para R_4 na última coleta, pode-se notar um número menor de leucócitos no sangue das rãs alimentadas com a R_4 , coincidindo com os menores ganho de peso e consumo de ração.

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

O número de trombócitos no sangue das rãs foram influenciados significativamente ($P < 0,01$) somente pelos tempo de coleta (Tabela 2) onde observa-se diminuição significativa do seu número na segunda coleta (C_2).

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

CONCLUSÃO

Nas condições experimentais deste trabalho, não houve efeito das diferentes rações na hematologia de exemplares de rã-touro, entre tanto houve alterações no número de eritrócitos e leucócitos e porcentagem de basófilos nos diferentes tempos de coletas. A diversidade de resultados encontrados para um mesmo parâmetro nos trabalhos compilados ressalta a necessidade de realização de futuros trabalhos para o estabelecimento de valores basais na hematologia da espécie estudada.

REFERÊNCIAS

CANNON, M. S. et al. The blood leukocytes of *Bufo marinus*: a light, phase contrast and histochemical study. **Can. J. Zool.**, Ottawa, v. 65, p. 1445-1453, 1987.

DIAS, J. L. C. ***Influência da temperatura ambiental sobre a resposta celular inflamatória e as evolução do perfil leuco-trombocitário no sangue periférico de rã-touro gigante (Rana catesbeiana Shaw ,1802)***. 1992. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 1992.

DUELLMAN, W. E.; TRUEB, L. ***Biology of amphibians***, Baltimore – Maryland, The Johns Hopkins University Press. 1986.

ELLIS, A. E. The leukocytes of fish: review. **J. Fish Biol.** , London, v. 11, p. 453-492, 1977.

FERREIRA, C. M. ***Avaliação da toxicidade do cobre e do uso de girinos de rã-touro (Rana catesbeiana Shaw, 1802) como animais sentinelas***. 2002. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2002.

GOLDENFARB, P.B. et al. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. **Am. J. Clin.Pathol.**, v. 56, p. 35-39, 1971.

HARRIS, J. A. Seasonal variations in some hematological characteristics of ***Rana pipens***. **Comp. Biochem. Physiol.**, Oxford, v. 43, p. 975-989, 1972.

KALASHNIKOVA, E.T. On the classification of morphological elements in the blood of fish. **J. Ichthyol.**, Silver Spring, v. 3, n. 16, p. 459-472, 1976.

KLAR, G.T.; et al. Diet related anemia in channel catfish: Case history and laboratory

induction. *Programs Fish-Culturist*, v. 48, p. 60-64, 1986.

KRAUTER, P. W. et al. Radiation-induced micronuclei in peripheral erythrocytes of ***Rana catesbeiana***: An aquatic animal model for in vivo genotoxicity studies. ***Arch. Env.. Mol. Mutagen.***, v.10, p.285 – 296, 1987.

LIMA, S. L.; AGOSTINHO, C. A. ***A tecnologia de criação de rãs***. Viçosa, MG, UFV, Impressão Universitária p. 168, 1992.

MAPLES, P.B. ***In vivo regulation of hemoglobin phenotypes during the development of the bullfrog, Rana catesbeiana***. 1985.Dissert. (Ph.D.), - Oklahoma University (Abstract), 1985.

NAOUM, P. C. et al. Contribuição para a determinação dos valores hematológicos em Bufo paracnemis (Amphibia-Anura). ***Cienc. Cult.***, v. 38, p. 883-892, 1986.

NOGA, E.J. ***Fish Disease: diagnosis and treatment***. New Jersey:Mosby-Year Inc, 1996.

PITOMBEIRA, M.S.; MARTINS, J. M. A direct method for white blood count in fishes. ***Arq. Est. Biol. Mar. Univ. Fed. Ceará***, v. 6, n. 2, p. 205, 1966.

ROSENFELD, G. 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. Butant.***, São Paulo, v.20, p. 329-334, 1947.

SAUNDERS, D. C. Variations in the trombocytes and small lymphocytes found in the circulation blood of marine fishes. ***Trans. Am.Micros Soc.***, v. 87, p. 39-43, 1968.

SCHMIDT-NIELSEN, K. ***Fisiologia Animal, Adaptação e Meio Ambiental***. 5a.Ed.,

São Paulo, livraria Santos, 1996.

SCHVARTSMAN, S. **Intoxicações Agudas**. 4a Ed., São Paulo, Sarvier, 1991.

SZUBARTOWSKA, E. et al. 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, v.45, p. 796–803, 1990.

TAVARES, M. D. Hematologia de Peixes Teleósteos. Ribeirão Preto: Villimpress Complexo Gráfico, 2004.

TEIXEIRA, A. S. Alimento e alimentação dos animais. 4. ed. Lavras: UFLA/FAESPG, 1998.

TURNER, R. J. Amphibians. In: ROWLEY, A. F; RATCLIFFE, N. N.A. (Editor), **Vertebrate Blood Cells**, New York,. Cambridge University Press, 1988. p. 129 – 209.

WANG, J. H.; CHANG, M. H. Studies on hematology of captive bullfrog, ***Rana catesbeiana***. **Coa Fisheries Series**, v. 46, p. 69-87, 1994.

Tabela 1 – Composição centesimal analisada (A) e nível de garantia do fabricante (NG).

		Nutrientes (%)								EB calculada ¹ (Kcal/kg)
Tratamentos		MS	PB	EE	FB	MM	ENN	Ca	P	
R ₁	A	90,13	42,36	1,81	2,56	7,88	35,52	-	-	4.143,70
	NG		40 (Min)	1,5 (Min)	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 (Min)	10 (Min)	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 (Min)	14 (Min)	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 (Min)	7 (Min)	5 (Máx)	15 (Máx)	-	4,0 (Máx)	1,5 (Mín)	

¹ EB = (PB x 5,65) + (FB x 4,15) + (EE x 9,40) + (ENN x 4,15) (Teixeira, 1998)

PREMIX RAÇÃO 1: vitamina A 12 000UI, vitamina D₃ 2 000UI, vitamina E 20UI, vitamina K₃ 5mg, vitamina B₁₂ 25mcg, Tiamina 2mg, riboflavina 8mg, piridoxina 2mg, biotina 100mg, ácido pantotênico 15mg, niacina 40mg, colina 350mg, ferro 40mg, cobre 8mg, zinco 50mg, manganês 70mg, cobalto 0,5mg, iodo 2mg, selênio 0,2mg e antioxidante 120mg.

PREMIX RAÇÃO 2: vitamina A 10 000UI, vitamina B₁ 25mg, vitamina B₂ 25mg, vitamina B₆ 25mg, vitamina B₁₂ 30mcg, vitamina C 350mg, vitamina D₃ 4 000UI, vitamina E 100mg, vitamina K₃ 5mg, ácido fólico 5mg, ácido pantotênico 50mg, colina 2 000mg, cobre 14mg, cobalto 0,2mg, ferro 100mg, inositol 50mg, iodo 0,6mg, manganês, 26mg, selênio 0,6mg, zinco 140mg, niacina 100mg, biotina 0,8mg e antioxidante 150mg.

PREMIX RAÇÃO 3: vitamina A 20 000UI, vitamina B₁₂ 45mcg, vitamina C 200mg, vitamina D₃ 4 400UI, vitamina E 350UI, vitamina K 45mg, magnésio 400mg, ferro 75mg, cobre 10mg, zinco 100mg, manganês 10mg, iodo 1mg, selênio 0,15mg, cobalto 0,18mg, ácido fólico 16mg, biotina 0,50mg, colina 2 500mg, niacina 300mg, pantotenato de cálcio 90mg, tiamina 35mg, riboflavina 45mg, piridoxina 45mg e antioxidante 200mg.

PREMIX RAÇÃO 4: vitamina A 18 000UI, vitamina B₁ 15mg, vitamina B₂ 30mg, vitamina B₆ 15mg, vitamina B₁₂ 0,06mcg, vitamina C 400mg, vitamina D₃ 3 000UI, vitamina E 75mg, vitamina K₃ 7,5mg, zinco 90mg, niacina 150mg, ácido fólico 6mg, ácido pantotênico 75mg, ntioxidante 185mg, colina 1 000mg, cobre 6mg, cobalto 0,30mg, ferro 75mg, inositol 12mg, iodo 2mg, manganês 30mg e selênio 0,16mg.

Tabela 2-Valores de F, coeficiente de variação (CV) e médias obtidas dos eritrócitos totais ($\times 10^6/\text{mm}^3$), monócito (%), basófilo (%), linfócito (%), neutrófilo (%), eosinófilo (%), hematócrito (%), leucócito ($\times 10^6/\text{mm}^3$) e trombócito ($\times 10^6/\text{mm}^3$).

	Variáveis								
	Eritrócitos Totais ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	Monócito (%)	Basófilo (%)	Linfócito (%)	Neutrófilo (%)	Eosinófilo (%)	Hematócrito (%)	Leucócito ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	Trombócito ($\times 10^6/\text{mm}^3$)
F para Tratamento (T)	5,44 ^{ns}	0,99 ^{ns}	2,33 ^{ns}	0,34 ^{ns}	0,12 ^{ns}	1,02 ^{sn}	1,39 ^{ns}	3,64*	1,38 ^{ns}
F para Coletas (C)	8,21**	6,16**	10,51**	10,08**	1,59 ^{ns}	2,23 ^{ns}	9,91*	5,14*	2,06*
F para inter. T x C	2,21*	2,17*	2,33*	0,87 ^{ns}	1,35 ^{ns}	1,26 ^{ns}	0,52 ^{ns}	0,92*	0,64 ^{ns}
CV (%) – Parcela	21,7	155,63	19,07	10,67	55,48	71,3	31,41	42,30	77,84
CV (%) - Subparcelas	21,61	141,9	30,43	9,62	37,59	80,62	19,78	32,66	87,76
Médias R ₁	34,65	0,27	14,46	70,15	13,13	1,85	28,46	11398	7,89
R ₂	34,06	0,11	14,33	72,02	11,62	1,6	29,76	11846	5,47
R ₃	40,03	0,16	14,29	71,6	12,33	1,53	27,66	12858	11,61
R ₄	29,03	0,16	16,6	69,62	12,49	1,16	23,68	7662	6,66
Médias C ₁ (05/12)	31,72	0,06	21,2	61,42 c	15	2,33	18,83 b	11568	8,07 a
C ₂ (09/01)	25,08	0,44	15,03	69,92 b	12,81	1,81	28,65 a	7173	4,09 b
C ₃ (06/02)	37,32	0,03	15,42	70,83 ab	12	1,2	28,3 a	10344	10,56 a
C ₄ (10/03)	37,32	0,25	9,36	78,53 a	10,41	1,31	29,85 a	13330	6,35 a
C ₅ (10/04)	40,78	0,08	13,61	73,56 ab	11,7	1,03	31,31 a	12290	11,73 a

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

^{ns} – não significativo.

* – significativo ao nível da 5% de probabilidade. ** – significativo ao nível da 1% de probabilidade

Tabela 3—Valores médios dos números de Eritrócitos Totais ($\times 10^6/\text{mm}^3$) do sangue das rãs–touro para rações e coletas.

Tratamentos	Coletas				
	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 pela mesma letra não diferem entre si, pelo Teste de Tukey (0,05).

Tabela 4—Valores médios dos números de Monócitos (%) do sangue das rãs-touro para rações e coletas.

Tratamentos	Coletas				
	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅
R ₁	0,11 Aa	0,44 Aa	0,00 Aa	0,78 Aa	0,00 Aa
R ₂	0,00 Aa	0,56 Aa	0,00 Aa	0,00 Ba	0,00 Aa
R ₃	0,00 Ab	0,56 Aa	0,00 Ab	0,22 ABab	0,00 Ab
R ₄	0,11 Aa	0,22 Aa	0,11 Aa	0,00 Ba	0,33 Aa

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

Tabela 5—Valores médios dos números de Basófilos (%) do sangue das rãs–touro para rações e coletas.

Tratamentos	Coletas				
	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅
R ₁	13,33 Aa	15,33 Aa	17,89 Aa	10,33 Aa	15,44 Aa
R ₂	28,78 Aa	9,11 Ab	14,22 Ab	6,89 Ab	12,67 Ab
R ₃	18,67 Aa	16,78 Aab	14,44 Aab	9,44 Ab	12,11 Aab
R ₄	24,00 Aa	18,89 Aab	15,11 Aab	10,78 Ab	14,22 Ab

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

Tabela 6—Valores médios do número de Leucócitos ($\times 10^6/\text{mm}^3$) do sangue das rãs-touro para rações e coletas.

Tratamentos	Coletas				
	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 pela mesma letra não diferem entre si, pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$).

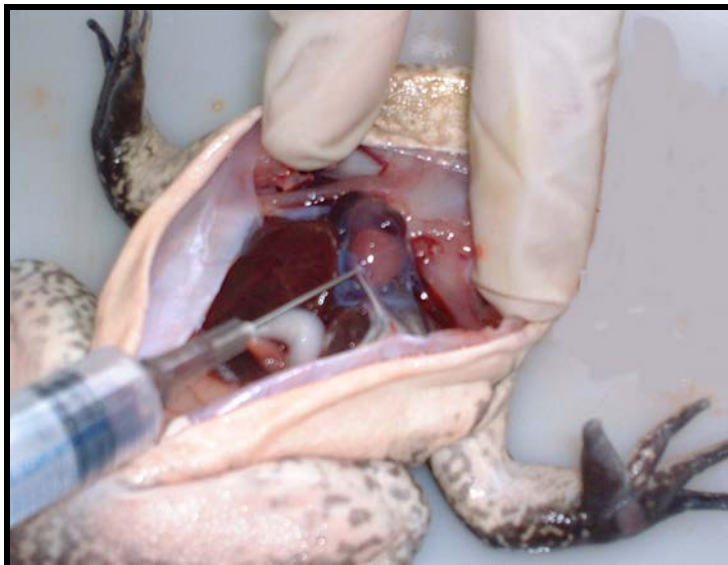


Figura 1 – Processo de punção do coração de ***Rana catesbeiana***

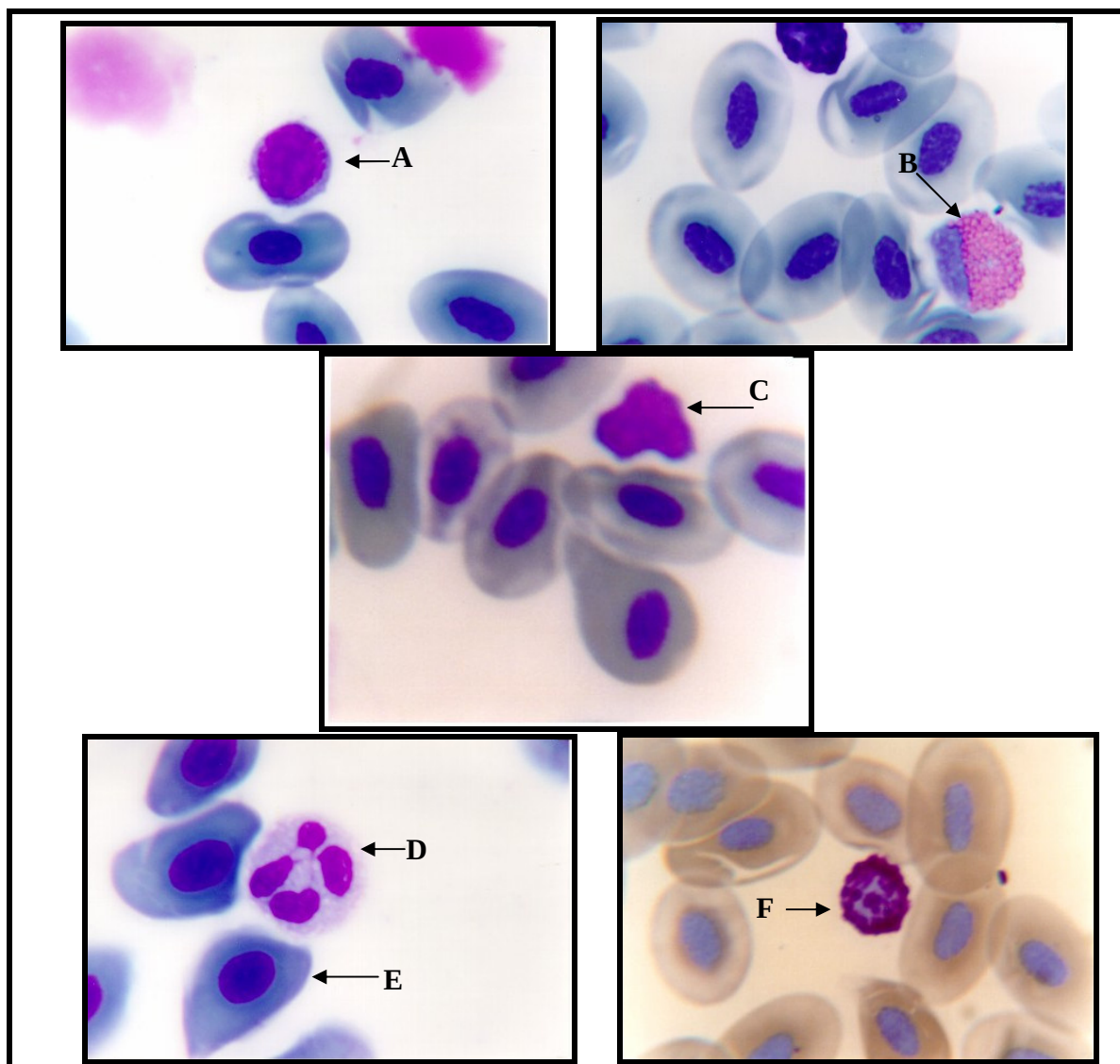


Figura 2– Fotomicrografia (aumento x1000) de extensão do sangue de rãs de *R. catesbeiana*, coradas pancromaticamente pelo método de Rosenfeld (1947).

- A – Linfócito Jovem
- B – Eosinófilo
- C – Linfócito
- D – Neutrófilo
- E – Eritrócito
- F – Basófilo

Capítulo IV

Considerações Finais

Considerando que encontramos varias rações comerciais no mercado, as quais apesar de não serem específicas para rãs-touro, são utilizadas pelos ranicultores, há necessidade da realização de futuros trabalhos, testando outras rações e observando não só desempenho, como também possíveis alterações metabólicas que possam causar no organismo do animal, bem como alterações histológicas e morfológicas no fígado, órgão vital para qualquer animal.