

## Efeitos do sistema de criação, alimentação e mudanças estacionais sobre o peso vivo e valores do hemograma da rã touro gigante (*Rana catesbeiana*)

Fioranelli, S.A.; Mussart, N.B.; Coppo, J.A.

Cátedra de Fisiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE, Sargento Cabral 2139, Corrientes (3400), Argentina, Tel/Fax: 03783–425753, E-mail: jcoppo@vet.unne.edu.ar

### Resumo

**Fioranelli, S.A.; Mussart, N.B.; Coppo, J.A.: Efeitos do sistema de criação, alimentação e mudanças estacionais sobre o peso vivo e valores do hemograma da rã touro gigante (*Rana catesbeiana*). Rev. vet. 15: 1, 9–16, 2004.** Com o propósito de obter valores normais para o hemograma, e indagar modificações fisiológicas atribuíveis ao sexo, idade, peso, clima, e sistemas de criação e alimentação, foram estudados 302 exemplares saudáveis de *Rana catesbeiana* de ambos sexos e idades de 9 a 21 meses, criadas em anfigranjas do nordeste argentino. Obtiveram-se intervalos de referência para hematócrito (28,6–31,6%), eritrócitos (0,40–0,44 T/l), hemoglobina (6,41–7,20 g/dl), VCM (686–732 fl), HCM (151–164 pg) e CHCM (22,6–24,0%). Com relação a outras espécies, ressaltam as baixas concentrações obtidas para eritrócitos e hemoglobina, assim como os altos valores de VCM e HCM. Os pesos correlacionaram-se significativamente com as idades ( $r=0,82$ ,  $p=0,02$ ), mas foram mais baixos que os obtidos no mesmo período de tempo em criatórios de alta tecnologia, pois o peso de abate (170 g) em lugar de atingir-se aos 6–7 meses, no nordeste argentino logra-se aos 12 meses. Em rãs adultas (mais de 12 meses), os maiores pesos foram registrados naquelas alimentadas “naturalmente” em lagoas, seguidas por aquelas alimentadas no piso com ração balanceada peletizada (45% de proteína) e minhocas. Os pesos mais baixos foram verificados em rãs alimentadas com pulmão bovino moído flutuante na água. Com o avanço do crescimento (aumentos de idade e peso), elevaram-se significativamente os valores de hematócrito, eritrócitos e hemoglobina, diminuindo HCM. Entre sexos não se registraram diferenças significativas para o peso nem os parâmetros do hemograma, todavia, as fêmeas obtiveram níveis levemente maiores que os machos. No inverno houve menores ganhos de peso e valores hemáticos mais baixos. Destaca-se a utilidade do hemograma para avaliar os estados nutricionais e sanitários, sugerindo sua aplicação como instrumento idôneo para otimizar a produção da carne de rã.

**Palavras chave:** *Rana catesbeiana*, hemograma, peso vivo, sistema de criação, alimentação, mudanças estacionais.

### Abstract

**Fioranelli, S.A.; Mussart, N.B.; Coppo, J.A.: Breeding system, feeding type, and climate change effects on weight and hemogram values of bullfrog (*Rana catesbeiana*). Rev. Vet. 15: 1, 9–16, 2004.** The purpose of this study was to determine hemogram reference values, and sex, age, weight, climate, breeding and feeding system physiological modifications in bullfrog, *Rana catesbeiana*. Three hundred and two healthy animals (both sexes, 9–21 months old), were studied in breeding places in northeast Argentina. Reference intervals for hematocrit (28.6–31.6%), erythrocytes (0.40–0.44 T/l), hemoglobin (6.41–7.20 g/dl), MCV (686–732 fl), MCH (151–164 pg) and MCHC (22.6–24.0%) were obtained. When these values are compared to those from other species, erythrocytes and hemoglobin low concentrations as well as MCV and MCH high values stood out. Weights correlated significantly with ages ( $r=0.82$ ,  $p=0.02$ ) but they were lower than those obtained in the same lapse on high technology hatcheries; in northeast Argentina the sacrifice weight (170 g) is achieved at 12 months rather than at 6–7 months. On adult frogs (older than 12 months), higher weights were registered in those fed naturally in lagoons, and those fed on balanced pellets (45% of proteins) and worms placed on the floor. The lowest weights were verified in frogs fed on bovine viscera (milled lung) floating on the water. When age and weight increased (growth advance), hematocrit, erythrocytes and hemoglobin values increased significantly, at the same time

that MCH diminished. Although the weight and hemogram values from females were lightly higher than those from males, no significant differences between sexes were found. Lower weight gains and diminished hematic values, were registered during winter. The use of hemogram to evaluate nutritional and sanitary state is suggested, since its application is a way to improve the frog meat production.

**Key words:** *Rana catesbeiana*, hemogram, liveweight, breeding system, feeding type, climatic changes.

## INTRODUÇÃO

A cria intensiva de rã touro com fins comerciais se iniciou em América Latina nas últimas décadas. O pioneiro desta nova atividade foi o Brasil, que favorecido pelo clima ideal para essa atividade, iniciou seus primeiros ensaios a finais da década de 1970<sup>23</sup>. A início da década de 1990 existiam nesse país uns 600 ranários, a partir dos quais se produziram aproximadamente 200.000 kg de carne<sup>18</sup>. Os principais países exportadores de carne de rã são Bangladesh, Tailândia e Brasil, mais somente neste último existem verdadeiros criatórios, pois nos restantes tal atividade e uma produção colateral dos arrozais<sup>20</sup>.

Em Argentina existiriam atualmente umas 200 anfigranjas, várias delas localizadas na região nordeste, cujo clima subtropical possibilita cumprir a principal exigência do mercado, que é a continuidade da produção ao longo do ano. As primeiras rãs touro teriam chegado na Argentina em 1935 provenientes do Canadá e Estados Unidos, mas os primeiros criatórios instalaram-se em 1986 a partir de exemplares importados do Brasil<sup>23,24</sup>.

As claves do êxito desta empresa são o manejo e a alimentação. Um sistema que possibilite criar 50 rãs por m<sup>2</sup> e abater cada 4 meses teria uma produtividade muito elevada: dispendo de somente 400 m<sup>2</sup> (“unidade mínima”) poderiam produzir-se 60.000 rãs por ano, que equivale a 6.000 kg de carne, com margens de ganância que ronda o 34%. O alimento deve lograr uma conversão de 3:1, ou seja que a rã de 150 g deve consumir não mais de 450 g de alimento. O rendimento (carcaça) se ubica no 55%: a rã de 150 g de peso vivo rende uns 80 g de carne, de maneira que com 10 rãs se completa um kg de carne para a venda<sup>1,18,23</sup>.

*Rana catesbeiana* oriunda do norte de América, alcançariam a maturidade aos 12 meses, com pesos de até 300 g (30 cm de comprimento); usualmente é abatida aos 6–7 meses de vida, quando alcançou pesos de 170 g, dos quais 60 g correspondem às coxas<sup>24</sup>. É um animal ectotermo eminentemente aquático, que no inverno inicia seu período de letargo (“hibernação”) e deixa de alimentar-se<sup>18,20,23</sup>. De apetite voraz, além de caçar insetos em vôo é capaz de se alimentar de outras rãs e até de aves pequenas, sendo uma predadora eficiente<sup>26</sup>.

Os principais problemas sanitários de *R. catesbeiana* são a malnutrição, o estresse, as doenças transmis-

síveis (parasitoses, bacterioses e viroses) e as intoxicações<sup>11,18</sup>. Estas doenças afetam o crescimento (peso vivo) e os valores do hemograma, pelo qual estes últimos podem constituir ferramentas eficientes para o diagnóstico e controle evolutivo das afecções dos anfíbios. Para isto seria necessário dispor de adequados valores de referência regionais<sup>8</sup>.

Nos textos clássicos de fisiologia animal estão ausentes os dados referidos aos valores sanguíneos em anfíbios. A volemia das rãs seria do 9% do peso corporal<sup>27</sup>. Seus eritrócitos são grandes, ovais e nucleados<sup>17,19</sup> e sua concentração seria muito variável<sup>12</sup>. Na rã touro os hematíes larvários registram uma vida mais curta que a dos adultos; durante a metamorfose são captados por macrófagos de fígado e baço, para ser destruídos<sup>13</sup>. A hemoglobina, contida nos glóbulos vermelhos, possuiria quatro grupos hem; em *R. catesbeiana* (semiaquática), o pigmento respiratório teria menor afinidade pelo oxigênio que em outras espécies (aquáticas) como *Necturus sp*<sup>14</sup>. O clima (mudanças estacionais) provocaria respostas de acomodação cardio-respiratória nos anfíbios<sup>2</sup>. A concentração de hemoglobina diminuiria durante a letargia invernal e a hipoxia resultante induziria hipotermia, provavelmente como mecanismo de defesa<sup>14,22</sup>.

O hemograma reflete fielmente o estado do meio interno, desde o momento que seus valores podem aumentar ou diminuir por problemas nutricionais (estados carenciais por alimentação inadequada em quantidade ou qualidade), malabsorção intestinal, parasitoses, infecções, inflamações, estresse, distúrbios metabólicos, intoxicações, desidratações, hipoxias e outras anomalias<sup>8</sup>.

O objetivo deste estudo foi obter valores de referência para o hemograma da rã touro, assim como verificar eventuais variações fisiológicas atribuíveis ao sexo, idade, peso, clima (época do ano) e sistemas de criação e alimentação praticados no nordeste argentino.

## MATERIAL E MÉTODOS

*Animais, alimentação e manejo.* Ao longo de 2 anos de estudos, foram utilizados em total 302 exemplares de *R. catesbeiana* clinicamente saudáveis. Duzentos setenta foram mantidos em sistemas intensivos, em 3 diferentes criatórios do nordeste argentino. De cada um destes ranários tomaram-se amostras de 90 exemplares de diferentes idades, conformando-se 12 grupos de

7–8 cada um (idades de 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 20 e 21 meses), 50% de cada sexo e pesos entre 50 e 350 g. O 36% das amostras foram tomadas em inverno e o 64% nas restantes estações do ano. Nenhum dos criatórios utilizou aquecimento durante a estação de inverno e todos forneceram alimento a razão do 3–5% peso vivo/dia. No estabelecimento situado em Oberá (Misiones), a água é originária de nascentes naturais e ocupou o 25% da superfície dos tanques; o alimento (dieta 1) consistiu em ração balanceada peletizada para peixes (45% de proteínas), fornecida “em seco” (espalhada no piso), esporadicamente acompanhado por minhocas. No criatório de Paso de la Patria (Corrientes) a água era subterrânea, extraída da segunda napa a partir de uma perfuração, e ocupou o 50% dos tanques; as rãs foram alimentadas com ração peletizada flutuante na água (38% de proteínas), ocasionalmente suplementadas com larvas de moscas (dieta 5). O criatório de Jardín América (Misiones) possuía água nascente, que ocupou o 90% dos tanques e foi utilizada para fornecer o alimento flutuante. Durante o primeiro ano a ingesta dos batracios (dieta 4) foi uma mistura de partes iguais de pulmão moído bovino (“bofe”, 16% de proteínas) e pellets balanceados (45% de proteínas), e durante o segundo ano foram administradas tais vísceras como único alimento (dieta 3). Os 32 exemplares restantes foram originários do estabelecimento mencionado em primer termo, mas o sistema de manejo era extensivo (semi-cativeiro), pois as rãs foram criadas numa lagoa, selecionando exclusivamente alimento “natural” (dieta 2). Eram animais adultos (16–20 meses de idade), de ambos sexos, aos quais foram extraídas amostras tanto em inverno como no resto das estações do ano.

**Toma de amostras.** As rãs foram transferidas ao laboratório em caixas térmicas que continha uma solução isotônica de NaCl 0,6% esfriado com gelo (2–3°C), procedimento que as insensibiliza e aletarga, facilitando a sua manipulação. O peso vivo foi obtido numa balança eletrônica Scientech–SL, com precisão de 0,01 g. As amostras foram tomadas em horário matutino (7–8 AM), depois de um período de jejum de 24 horas. A extração de sangue foi executada com seringa e agulha, por punção intracardiaca, obtendo-se uma mistura de sangues venosa e arterial, dada a característica anatômica da existência de um ventrículo único<sup>9</sup>. A coagulação foi inibida com uma solução de sais sódicas e potássicas de EDTA (0,3 mol/l a pH 7,2).

**Determinações de laboratório.** Devido a que os eritrócitos dos anfíbios são nucleados, os parâmetros do eritrograma foram obtidos aplicando as técnicas recomendadas para aves<sup>6</sup>. A quantificação da hemoglobina foi realizada num espectrofotômetro Zeltec–ZL digital, pela técnica de Drabkin (cian–meta–Hb, leituras a 540 nm, reativo Wiener Lab); previamente deveu centrifugar-se o sangue hemolizada para eliminar os núcleos dos eritrócitos. A concentração de hematíes foi determinada por meio de reconto microscópico em câmara de Neubauer (diluente Biopur) e o hematócrito por centrifugação de capilares a 12.000 rpm durante

5 minutos. O diâmetro dos eritrócitos foi estabelecido microscopicamente com ajuda de um ocular micrométrico. Os índices hematimétricos (volume corpuscular médio VCM, hemoglobina corpuscular média HCM e concentração de hemoglobina corpuscular média CHCM) foram obtidos por cálculos convencionais dos dados prévios. A concentração de bilirrubina foi determinada pelo método do diazorreactivo sulfanílico, leituras fotométricas a 530 nm, reativos Wiener Lab.

**Desenho experimental e análise estatístico.** Utilizou-se um desenho completamente aleatorizado, onde as variáveis independentes foram idade, sexo, peso, época do ano e sistemas de alimentação e manejo (de acordo com origem), considerando como variáveis dependentes (quantitativas contínuas) aos valores do hemograma, expressados em Tera/Litro ( $T/l = 10^{12}/l$ ), femtolitros ( $fl = 10^{-15} l$ ), picogramas ( $pg = 10^{-12} g$ ), gramas por decilitro (g/dl) e porcentagem (%). A simetria da distribuição foi verificada por meio da prova de Wilk Shapiro (WS). As estatísticas paramétricas incluíram medidas de tendência centrais (média aritmética,  $\bar{x}$ ) e dispersão (desvio padrão, DP). A probabilidade fiducial foi avaliada por meio de intervalos de confiança ( $IC \pm 95\%$ ). A análise da variância (ANOVA) foi executada por modelo lineal a uma via, prévia verificação da homogeneidade da variância por meio da prova de Bartlett. Nos casos em que o ANOVA resultou ser significativo ( $p < 0,05$ ), se aplicou uma prova de comparação de médias (Tukey). O grau de associação lineal foi estabelecido por correlação (test de Pearson). Os análises estatísticos foram executadas com ajuda de um programa informático (Statistix 1996). Para todas as inferências foi estipulado um  $\alpha = 5\%$ , por abaixo deste, a hipótese nula de igualdade foi rejeitada.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores obtidos para o peso e os parâmetros do hemograma tiveram uma distribuição aproximadamente normal (WS), a qual possibilitou o uso de estatísticas paramétricas. Os intervalos de confiança situaram-se em proximidades da média aritmética, mas os rangos foram amplos, o qual poderia ser explicado porque os escassos mecanismos de regulação e a maior tolerância a hemodiluições e hemoconcentrações, causariam que a oscilação dos valores sanguíneos seja muito pronunciada nas rãs<sup>12</sup>.

Os anfíbios registrariam mudanças na concentração plasmática de vários analitos depois do consumo de alimento<sup>3</sup> e também como um resultado do ritmo circadiano causado pelas oscilações do cortisol<sup>28</sup>. No presente estudo, tanto o efeito pós-prandial como o ritmo circadiano ficaram marginados do desenho devido ao jejum prévio e a toma de amostra efetuada em horário matutino uniforme (condições basais).

A media geral do peso vivo resultou de  $170 \pm 32$  g. As fêmeas tiveram pesos superiores a os machos (179 contra 161 g), mas as diferenças não foram significativas. O teste de Pearson revelou que existiu correlação

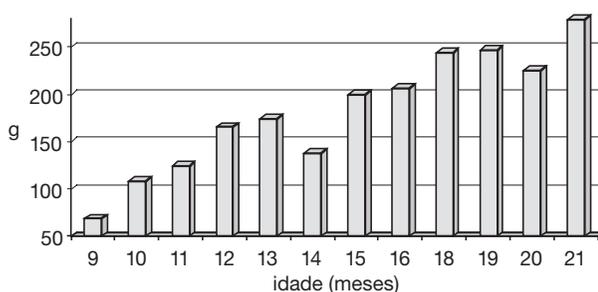
entre peso e idade, embora a associação lineal foi só moderadamente significativa ( $r = 0,82$ ,  $p = 0,02$ ), talvez devido ao atraso de crescimento que teria acontecido durante o inverno<sup>18</sup>.

Na Figura 1 são ilustradas as médias de peso de acordo com a idade dos animais. A significação das diferenças (letras diferentes indicam diferenças significativas,  $p < 0,05$ ) foi (g): 9 meses (68,9a), 10 meses (108,7ab), 11 meses (124,4b), 12 meses (165,8cd), 13 meses (174,4d), 14 meses (138,3bc), 15 meses (200,2de), 16 meses (206,8de), 18 meses (244,2ef), 19 meses (246,6ef), 20 meses (225,4e) e 21 meses (279,1f).

Em ranários de alta tecnologia (Brasil), as rãs alcançariam pesos de 115 g aos 4 meses de vida<sup>18</sup> e seriam sacrificadas aos 6–7 meses de vida, quando alcançam pesos em torno de 170 g<sup>24</sup>. Como se adverte, as condições existentes no nordeste argentino provocam que o peso ideal para o sacrifício (quando as coxas pesam uns 60 g) recém é alcançado aos 12 meses.

O Quadro 1 mostra que nas rãs adultas (idade > 1 ano, peso > 130 g), os pesos mais elevados foram registrados nessas que consumiram alimento natural em lagoa, seguidas por as alimentadas com pellets balanceados e minhocas. Significativamente diferentes foram os pesos registrados por os exemplares cuja dieta consistiu em alimento balanceado adicionado com larvas de moscas. Os pesos significativamente mais baixos ( $p < 0,05$ ) foram correspondentes a rãs mantidas com balanceado + vísceras (pulmão bovino moído) e vísceras como único alimento.

O Quadro 2 expõe que em rãs adultas em cria intensiva ( $n = 203$ ), os pesos significativamente mais altos foram obtidos no sistema de manejo que empregou a administração do alimento a piso (balanceado) e os pesos significativamente mais baixos foram registrados no estabelecimento onde o alimento (balanceado + vísceras e vísceras só) foi oferecido flutuando na água dos tanques. Os animais submetidos a alimentação flutuante a base de balanceado e larvas de moscas registraram pesos intermédios. Quanto aos efeitos climáticos,



**Figura 1.** Evolução do peso acorde com as idades das rãs ( $n = 302$ ).

**Quadro 1.** Diferenças de peso segun alimento consumido (rãs adultas,  $n = 235$ ).

	tipo de dieta				
	1	2	3	4	5
peso $\bar{x}$ (g)	228,6 <sup>a</sup>	231,7 <sup>a</sup>	131,6 <sup>c</sup>	138,1 <sup>c</sup>	183,5 <sup>b</sup>

$\bar{x}$ : media aritmética, Dieta 1: balanceado + minhocas, 2: natural, 3: vísceras, 4: balanceado + vísceras, 5: balanceado + larvas. Em cada fila, letras distintas indicam diferenças significativas (test de Tukey,  $p < 0,05$ ).

**Quadro 2.** Diferenças de peso segun manejo do ranário e época do ano em rãs adultas ( $n = 203$ ).

	procedencia			temporada	
	Oberá	J. América	P. Patria	invierno	resto do año
peso $\bar{x}$ (g)	200,9 <sup>a</sup>	138,2 <sup>b</sup>	166,8 <sup>ab</sup>	158,2 <sup>a</sup>	187,4 <sup>b</sup>

$\bar{x}$ : media aritmética. Em cada fila, letras distintas indicam diferenças significativas (test de Tukey,  $p < 0,05$ ).

**Quadro 3.** Valores do hemograma obtidos para a população total estudada ( $n = 302$ ).

	$\bar{x} \pm DP$	WS	IC $\pm 95\%$	rango
hematócrito (%)	30,1 $\pm$ 5,4	0,936	28,6–31,6	25–39
eritrócitos (T/l)	0,42 $\pm$ 0,07	0,952	0,40–0,44	0,31–0,59
VCM (fl)	709 $\pm$ 136	0,969	686–732	505–788
hemoglobina (g/dl)	6,80 $\pm$ 1,48	0,929	6,41–7,20	5,12–11,06
HCM (pg)	157 $\pm$ 22	0,966	151–164	121–197
CHCM (%)	23,3 $\pm$ 2,7	0,951	22,6–24,0	20–31

T/l: Tera/litro, VCM: volume corpuscular medio, fl: femtolitro, HCM: hemoglobina corpuscular media, pg: picogramo, CHCM: concentração de HCM,  $\bar{x}$ : media aritmética, DP: desvio padrão, WS: test de normalidade distributiva de Wilk–Shapiro (valor em Tabla W: 0,947 para  $\alpha = 0,05$ ), IC: intervalo de confianza.

os pesos das rãs adultas foram significativamente mais baixos em inverno que durante o resto da temporada.

Os eritrócitos das rãs resultaram ser células grandes, nucleadas e de contorno elíptico, embora as formas juvenis adotaram formas mais arredondadas<sup>17</sup>. Neste estudo, as dimensões dos eritrócitos (comprimento: 24  $\pm$  1,9  $\mu\text{m}$  e largura: 16,2  $\pm$  1,2  $\mu\text{m}$ ) resultaram ser semelhantes aos achados em *R. catesbeiana* por Raimon *et al.* (1996) de 24  $\times$  14  $\mu\text{m}$ . Os anfíbios estariam filogeneticamente mais relacionados com as aves que com os mamíferos<sup>9,12</sup>, apesar de que as dimensões de seus eritrócitos foram maiores das reportadas para aves, de 12  $\times$  7  $\mu\text{m}$ <sup>16,17</sup>. Também foram maiores que os publicados para mamíferos domésticos, de 3,2–9,6  $\mu\text{m}$ <sup>6</sup>, 3,2–7  $\mu\text{m}$ <sup>16</sup> e 3,9–7,2  $\mu\text{m}$ <sup>17</sup>.

No Quadro 3 detalha-se os valores do hemograma obtidos para a totalidade dos anfíbios estudados. O hematócrito obtido no presente estudo resultou ser mais alto que o informado por Cathers (1997) para *R. catesbeiana* (22  $\pm$  5%), mas se ajustou no intervalo de referência publicado por Singh (1978) para *Rana tigrina* (19,5–31,8%). Sapos terrestre (*Bufo sp*) registraríamos valores de 36–44%<sup>8</sup>. O hematócrito da rã touro

**Quadro 4.** Diferenças do hemograma segun idade ( $\bar{x}$ ).

	idade (meses)											
	9	10	11	12	13	14	15	16	18	19	20	21
Hto %	26 <sup>a</sup>	27 <sup>a</sup>	26 <sup>a</sup>	29 <sup>a</sup>	28 <sup>a</sup>	31 <sup>b</sup>	29 <sup>a</sup>	31 <sup>b</sup>	33 <sup>b</sup>	38 <sup>c</sup>	37 <sup>c</sup>	37 <sup>c</sup>
Gr T/l	0,35 <sup>a</sup>	0,39 <sup>b</sup>	0,36 <sup>a</sup>	0,41 <sup>b</sup>	0,44 <sup>b</sup>	0,40 <sup>b</sup>	0,47 <sup>c</sup>	0,40 <sup>b</sup>	0,39 <sup>b</sup>	0,48 <sup>c</sup>	0,52 <sup>d</sup>	0,49 <sup>c</sup>
Vcm fl	723 <sup>a</sup>	672 <sup>a</sup>	702 <sup>a</sup>	713 <sup>a</sup>	668 <sup>a</sup>	755 <sup>a</sup>	657 <sup>a</sup>	745 <sup>a</sup>	720 <sup>a</sup>	761 <sup>a</sup>	722 <sup>a</sup>	745 <sup>a</sup>
Hb g/dl	5,9 <sup>a</sup>	6,5 <sup>b</sup>	7,0 <sup>b</sup>	6,7 <sup>b</sup>	6,6 <sup>b</sup>	6,7 <sup>b</sup>	6,8 <sup>b</sup>	6,8 <sup>b</sup>	7,4 <sup>c</sup>	6,9 <sup>b</sup>	7,5 <sup>c</sup>	7,7 <sup>c</sup>
Hcm pg	174 <sup>a</sup>	181 <sup>a</sup>	169 <sup>b</sup>	163 <sup>b</sup>	150 <sup>c</sup>	167 <sup>b</sup>	158 <sup>b</sup>	166 <sup>b</sup>	155 <sup>b</sup>	144 <sup>c</sup>	143 <sup>c</sup>	148 <sup>c</sup>
Chcm %	23 <sup>a</sup>	24 <sup>a</sup>	25 <sup>a</sup>	23 <sup>a</sup>	24 <sup>a</sup>	22 <sup>a</sup>	23 <sup>a</sup>	22 <sup>a</sup>	22 <sup>a</sup>	21 <sup>a</sup>	22 <sup>a</sup>	22 <sup>a</sup>

$\bar{x}$ : media aritmética. Hto: hematócrito, Gr: glóbulos vermelhos, Vcm: volume corpuscular medio, Hb: hemoglobina, Hcm: hemoglobina corpuscular media, Chcm: concentração de Hcm. Em cada fila, letras distintas indicam diferenças significativas (test de Tukey,  $p < 0,05$ ).

**Quadro 5.** Diferenças do hemograma segun sexo e peso vivo ( $\bar{x}$ ).

	sexo		peso vivo (g)					
	machos	fêmeas	50–99	100–149	150–199	200–249	250–299	300–349
hematócrito (%)	30,0 <sup>a</sup>	30,3 <sup>a</sup>	27,3 <sup>a</sup>	29,5 <sup>b</sup>	29,0 <sup>b</sup>	29,8 <sup>b</sup>	32,9 <sup>c</sup>	35,3 <sup>c</sup>
eritrócitos (T/l)	0,41 <sup>a</sup>	0,43 <sup>a</sup>	0,40 <sup>a</sup>	0,39 <sup>a</sup>	0,41 <sup>a</sup>	0,45 <sup>b</sup>	0,47 <sup>b</sup>	0,46 <sup>b</sup>
VCM (fl)	698 <sup>a</sup>	719 <sup>a</sup>	678 <sup>a</sup>	736 <sup>b</sup>	717 <sup>b</sup>	688 <sup>a</sup>	710 <sup>b</sup>	757 <sup>c</sup>
hemoglobina (g/dl)	6,78 <sup>a</sup>	6,82 <sup>a</sup>	6,1 <sup>a</sup>	6,7 <sup>b</sup>	6,6 <sup>b</sup>	6,9 <sup>b</sup>	7,3 <sup>c</sup>	7,6 <sup>c</sup>
HCM (pg)	155 <sup>a</sup>	160 <sup>a</sup>	167 <sup>a</sup>	162 <sup>a</sup>	163 <sup>a</sup>	159 <sup>b</sup>	158 <sup>b</sup>	155 <sup>b</sup>
CHCM (%)	23,2 <sup>a</sup>	23,5 <sup>a</sup>	22 <sup>a</sup>	23 <sup>a</sup>	23 <sup>a</sup>	23 <sup>a</sup>	22 <sup>a</sup>	22 <sup>a</sup>

$\bar{x}$ : media aritmética. Em cada fila, letras distintas indicam diferenças significativas (test de Tukey,  $p < 0,05$ ).

não seria muito diferente do encontrado nas aves, de 25–35%<sup>8</sup> e 22–35%<sup>16</sup>, mas seria mais baixo que os reportados para mamíferos domésticos, de 32–45%<sup>17</sup> e 37–47%<sup>8</sup>.

A concentração de eritrócitos achada nestas rãs foi sensivelmente mais baixa que a reportada para galinhas, de 2,5–3 T/l<sup>8</sup>, 3 T/l<sup>17</sup>, 2,2–5,1 T/l<sup>6</sup> e 2,5–3,5 T/l<sup>16</sup>, assim como aquelas publicadas para mamíferos domésticos, de 6,7–9,3 T/l<sup>8</sup>, 7–14 T/l<sup>17</sup>, 6–13 T/l<sup>6</sup> e 5–18 T/l<sup>16</sup>. Nosso VCM resultou muito maior que aqueles publicados para galinhas, de 105–115 fl<sup>8</sup>, 115–125 fl<sup>17</sup> e 90–140 fl<sup>16</sup>, assim como aqueles comunicados para mamíferos domésticos, de 45–65 fl<sup>8</sup>, 19–69 fl<sup>17</sup>, 19–70 fl<sup>6</sup> e 16–77 fl<sup>16</sup>.

O valor de hemoglobina das rãs estudadas foi mais alto que o achado em *R. catesbeiana*, de 4,7±0,9 g/dl<sup>5</sup> e *R. tigrina*, de 3,87–6,22 g/dl<sup>25</sup>. Dito pigmento respiratório seria mais alto em sapos, de 10–13 g/dl<sup>8</sup> e aves, de 8–12 g/dl<sup>17</sup>, 7–13 g/dl<sup>16</sup> e 7,2–9,6 g/dl<sup>8</sup>, assim como em mamíferos domésticos, de 12–16 g/dl<sup>8</sup>, 11–14 g/dl<sup>17</sup>, 11–15 g/dl<sup>6</sup> e 8–19 g/dl<sup>16</sup>. Devido a que o VCM das rãs seria muito maior que aqueles achados no resto das espécies que são comparadas, o índice HCM também foi maior que aqueles reportados para aves, de 29–33 pg<sup>8</sup>, 25–27 pg<sup>17</sup>, 33–47 pg<sup>16</sup> e mamíferos, de 16–25 pg<sup>8</sup>, 13–31 pg<sup>17</sup>, 7–23 pg<sup>6</sup> e 5,2–24,5 pg<sup>16</sup>. Nossa CHCM foi semelhante a aquelas publicadas para aves, de 21–23%<sup>17</sup> mas menor que as achadas em mamíferos domésticos, de 32–37%<sup>8</sup>, 27–39%<sup>17</sup>, 31–35%<sup>6</sup> e 30–37%<sup>16</sup>.

O Quadro 4 expõe o efeito do crescimento sobre os valores do eritrograma. Surge claramente que a medida que avançou a idade, aumentaram significativamente hematócrito, eritrócitos e hemoglobina. A HCM dimi-

nuiu significativamente ante o avanço do crescimento, enquanto as mudanças de VCM e CHCM não foram significativas. Estes fenômenos pareceriam ser opostos aos constatados em mamíferos em crescimento, onde a ontogenia causaria leve diminuição de eritrócitos com significativo aumento do VCM<sup>7</sup>.

No Quadro 5 são consignados os resultados do teste de comparação de médias para as variáveis sexo e peso. Não houve diferenças significativas entre sexos, não obstante os valores dos machos foram levemente mais baixos, contrário da tendência existentes em animais domésticos e seres humanos<sup>6,8,16,17</sup>. Não obstante, também achou valores de hematócrito e hemoglobina mais baixos em machos que em fêmeas. O aumento de peso traduziu-se em significativos incrementos de hematócrito, eritrócitos, VCM e hemoglobina, sem mudanças para CHCM. A HCM diminuiu significativamente ao ser elevado o peso. Estas mudanças coincidem aproximadamente com os acontecidos ao avançar a idade das rãs, reafirmando a significativa associação lineal observada entre peso e idade. O hematócrito correlacionou significativamente com os eritrócitos ( $r = 0,62$ ,  $p = 0,03$ ) e com a hemoglobina ( $r = 0,83$ ,  $p = 0,0001$ ); esta última revelou um moderado grau de associação lineal com os eritrócitos ( $r = 0,55$ ,  $p = 0,02$ ). Não se registraram correlações significativas entre VCM e outros parâmetros do eritrograma.

No Quadro 6 são ilustradas outras associações lineais verificadas entre os valores do hemograma, idade e peso. Com exceção dos casos não significativos (tendência incrementativa do VCM e declinante de CHCM com idade e peso), ressaltam as correlações positivas de hematócrito, eritrócitos e hemoglobina, assim como

a correlação negativa de HCM, com as variáveis idade e peso.

O Quadro 7 relata que os valores do hemograma foram diferentes segun as dietas que consumiram as rãs. Os valores mais altos de hematócrito, eritrócitos e hemoglobina corresponderam aos grupos de batráquios alimentados naturalmente em lagoa e aos que consumiram pellets balanceados como alimento principal. Pelo contrário, os valores mais baixos foram achados em rãs mantidas com pulmão bovino moído. Estes dados achados supõem singular importância devido a que os parâmetros do hemograma são indicadores nutritivos que estariam indicando a eficiência dos alimentos fornecidos<sup>8</sup>.

Os eritrócitos integram o painel de indicadores do estado nutricional, diminuindo por insuficiente aporte alimentario de proteínas, vitaminas B<sub>12</sub>, E, niacina e folato<sup>17</sup>. A adequada eritropoyesis requereria o contínuo e equilibrado aporte de minerais como Fe, Cu, Co e Se; os fracassos nutricionais também causariam decrementos de hematócrito e hemoglobina<sup>16</sup>.

É inferido que a dieta “natural” em lacuna teria sido a mais apropriada para uma adequada eritropoyesis, seguida de perto por os pellets balanceados com mais alta proporção de proteínas (45%) combinados com minhocas. A mistura de balanceados (45% e 38% de proteínas) com vísceras ou larvas de mosca ocupou um lugar intermédio, enquanto a dieta a base de vísceras (16% de proteínas), se correspondeu com eritrogramas baixos e glóbulos vermelhos significativamente mais pequenos (VCM).

As necropsias permitiram verificar que os tubos digestivos das rãs mantidas na lacuna continham pequenos peixes, outras rãs e girinos, caranguejos, miriápodes, coleópteros e hemípteros, assim como abundante pasto aquático. Desde o ponto de vista ecológico *R. catesbeiana* seria um “hóspede indesejável” pois ao se instalar em alguma lagoa não demoraria em aniquilar o resto da fauna aquática; o canibalismo não resultaria inusual nesta espécie<sup>18, 19, 24</sup>.

Em quanto ao sistema de manejo dos criatórios (Quadro 7), surge que os hemogramas mais altos corresponderam às rãs procedentes de Oberá (alimentadas “a piso”) e os mais baixos as de Jardín América, onde o alimento flutuava na água dos tanques, embora tais diferenças só alcançaram significação estatística para a hemoglobina.

Em uns poucos exemplares (n = 12) foram determinadas as concentrações de bilirrubina, metabólito terminal da hemoglobina, resultando médias de 0,70 mg/l para a fração total e 0,50 mg/l para a fração dire-

**Quadro 6.** Correlações obtidas entre hemograma, idade e peso.

	idade (meses)			peso vivo (g)		
	r	p	tendencia	r	p	tendencia
hematócrito (%)	0,94	0,01	↑	0,93	0,006	↑
eritrócitos (T/l)	0,78	0,02	↑	0,91	0,01	↑
VCM (fl)	0,47	0,12	↑	0,52	0,28	↑
hemoglobina (g/dl)	0,84	0,006	↑	0,96	0,001	↑
HCM (pg)	-0,83	0,007	↓	-0,96	0,02	↓
CHCM (%)	-0,58	0,07	↓	-0,29	0,57	↓

r: correlação (Pearson), p: significância.

**Quadro 7.** Diferenças do hemograma segun alimentação e manejo ( $\bar{x}$ ).

	dieta					manejo		
	1	2	3	4	5	Oberá	J.América	P.Patria
hematócrito (%)	33,8 <sup>a</sup>	34,5 <sup>a</sup>	26,8 <sup>b</sup>	29,3 <sup>c</sup>	29,2 <sup>c</sup>	30,2 <sup>a</sup>	29,2 <sup>a</sup>	30,0 <sup>a</sup>
eritrócitos (T/l)	0,43 <sup>a</sup>	0,45 <sup>b</sup>	0,38 <sup>c</sup>	0,41 <sup>a</sup>	0,42 <sup>a</sup>	0,43 <sup>a</sup>	0,39 <sup>a</sup>	0,41 <sup>a</sup>
VCM (fl)	769 <sup>a</sup>	751 <sup>a</sup>	703 <sup>b</sup>	692 <sup>b</sup>	688 <sup>b</sup>	704 <sup>a</sup>	736 <sup>a</sup>	729 <sup>a</sup>
hemoglobina (g/dl)	7,3 <sup>a</sup>	7,5 <sup>a</sup>	6,2 <sup>b</sup>	6,4 <sup>b</sup>	6,3 <sup>b</sup>	6,9 <sup>a</sup>	6,4 <sup>b</sup>	6,8 <sup>a</sup>
HCM (pg)	159 <sup>a</sup>	162 <sup>a</sup>	166 <sup>a</sup>	154 <sup>a</sup>	151 <sup>a</sup>	163 <sup>a</sup>	155 <sup>a</sup>	160 <sup>a</sup>
CHCM (%)	22 <sup>a</sup>	22 <sup>a</sup>	23 <sup>a</sup>	21 <sup>a</sup>	22 <sup>a</sup>	23 <sup>a</sup>	22 <sup>a</sup>	23 <sup>a</sup>

$\bar{x}$ : media aritmética. Dieta 1: balanceado + minhocas, 2: natural, 3: vísceras, 4: balanceado + vísceras, 5: balanceado + larvas. Em cada fila, letras distintas indicam diferenças significativas (test de Tukey, p < 0,05).

**Quadro 8.** Diferenças do hemograma segun época do ano ( $\bar{x}$ ).

	temporada	
	inverno	resto do ano
hematócrito (%)	27,2 <sup>a</sup>	32,9 <sup>b</sup>
eritrócitos (T/l)	0,38 <sup>a</sup>	0,46 <sup>b</sup>
VCM (fl)	707 <sup>a</sup>	711 <sup>a</sup>
hemoglobina (g/dl)	5,92 <sup>a</sup>	7,48 <sup>b</sup>
HCM (pg)	154 <sup>a</sup>	159 <sup>a</sup>
CHCM (%)	22,5 <sup>a</sup>	23,7 <sup>a</sup>

$\bar{x}$ : media aritmética. Em cada fila, letras distintas indicam diferenças significativas (test de Tukey, p < 0,05).

ta, os quais foram sensivelmente inferiores aos níveis habituais dos animais domésticos<sup>8</sup>. Talvez isso deva se relacionar à circunstância que nos anfíbios o pigmento de excreção do Hem seria predominantemente biliverdina em vez de bilirrubina; quando aquela eleva sua concentração em sangue, o plasma de *Bufo arenarum* adquiriria uma coloração verdosa (cloricia em vez de ictericia).

O Quadro 8 põe de manifesto que a época em que as amostras foram tomadas influiu consideravelmente nos valores do hemograma. Em inverno, o sangue das rãs mostrou níveis significativamente mais baixos de hematócrito, eritrócitos e hemoglobina, com relação ao resto das estações do ano. Os índices hematimétricos (VCM, HCM e CHCM) também resultaram mais baixos na estação fria, mas as diferenças não foram significativas. Talvez estas mudanças devam ser relacionadas ao caráter ectotermo destes animais, que em inverno deixam de se alimentar e caem em letargia<sup>9, 18</sup>. As rãs

regulariam sua taxa metabólica acorde à temperatura ambiental<sup>23</sup>; na “hibernação” se registrariam grandes flutuações da hemoglobina<sup>14</sup> e algumas hormônios metabólicos<sup>28</sup>. As mudanças cíclicas estacionais afetariam marcadamente o consumo de oxigênio, provocando respostas orgânicas de acomodação<sup>2,22</sup>.

Em rãs com presumível deterioro do estado de saúde (adinamia, fraqueza, anorexia, jejum prolongado, desidratação, peso diminuído, anormal coloração da pele), excluídas das estatísticas anteriores, foram registrados valores individuais muito longe da média, tanto para VCM (por baixo de 440 e acima de 829 fl), hematócrito (diminuído a 11%), eritrócitos (0,18 T/l), hemoglobina (1,21 g/dl), HCM (95 pg) e CHCM (18%). Tais mudanças sugerem que os parâmetros da série vermelha, além de comportar-se como indicadores nutricionais, poderiam ser úteis para indicar outros quebrantos do estado de saúde nos anfíbios.

As anemias nutricionais seriam comuns nos anfíbios. Além do mais, coccídios como *Babesiosoma stableri*, seriam localizados no interior dos eritrócitos; *Lankesterella minima* também parasitaria aos glóbulos vermelhos de girinos e adultos<sup>10</sup>. Em *R. catesbeiana*, hematócrito e hemoglobina descenderiam por carências alimentarias e jejum prolongado<sup>25</sup>. O hematócrito diminuiria nas anemias e se elevaria na desidratação e a etapa pós-prandial, no último caso por liberação de eritrócitos desde o baço<sup>3</sup>.

Os requerimentos nutricionais da rã touro não estão totalmente esclarecidos, pelo qual nos criatórios são comuns os estados carências e o canibalismo<sup>18</sup>. Uma das prioridades actuais da ranicultura é avaliar cientificamente o tipo de alimento administrado, pois até agora as formulações realizaram-se empiricamente a partir de balanceados concebidos para peixes. Fariam falta estudos que relacionem o tipo de alimento com indicadores nutricionais do meio interno<sup>4</sup>, uns dos quais é o hemograma. Tais conhecimentos tornariam mais eficiente o alimento y se traduziriam em maiores lucros econômicos para os produtores.

Conclusões: estabelecem-se valores de referência para o hemograma de rã touro em condições de cativeiro no nordeste argentino. Ao compará-los com os valores de outras espécies ressaltam as baixas concentrações de eritrócitos e hemoglobina, assim como os valores altos de VCM e HCM. Não são achadas variações fisiológicas entre sexos, mas registra-se diferenças significativas segundo idade, peso, época do ano (clima) e sistemas de manejo e dieta. Os métodos de criação existentes na zona provocam que o peso ideal para o sacrifício seja alcançado vários meses mais tarde com relação ao obtido em anfigranjas de alta tecnologia.

**Agradecimientos.** A empresa Wiener Lab por prover os reactivos utilizados. Ao Dr. Enrique Yáñez por a re-  
vição do idioma português.

## REFERÊNCIAS

1. **Barbado JL.** 1992. *Cria Rentable de Ranas*, Albatros, Buenos Aires, 237 p.
2. **Bicego KC, Branco LG.** 1999. Seasonal changes in the cardiorespiratory responses to hypercarbia and temperature in the bullfrog, *Rana catesbeiana*. *Comp Biochem Physiol* 124: 221–229.
3. **Busk M, Jensen FB, Wang T.** 2000. Effects of feeding on metabolism, gas transport, and acid–base balance in the bullfrog, *Rana catesbeiana*. *Am J Physiol* 278: 185–195.
4. **Carnevia D.** 1995. Ranicultura, estado actual de la explotación y comercialización de ranas para consumo. *Anales de las VIII Jornadas Veterinarias de Corrientes, Argentina*, 24 p.
5. **Cathers T.** 1997. Serum chemistry and hematology for anesthetized american bullfrogs. *J Zoo & Wildlife Med* 28: 171–174.
6. **Coles EH.** 1989. *Veterinary Clinical Pathology*, 4<sup>th</sup> ed., Saunders, Philadelphia, 486 p.
7. **Coppo JA.** 2000. Impacto del destete precoz sobre el medio interno de terneros cruzado cebú. *Tesis doctoral*, Biblioteca de la Facultad de Ciencias Veterinarias, UNNE, Corrientes, Argentina, 216 p.
8. **Coppo JA.** 2001. *Fisiología Comparada del Medio Interno*, Dunken, Buenos Aires, 297 p.
9. **Curtis H, Barnes MS.** 1992. *Biology*, 6<sup>th</sup> ed., Freeman, New York, 1496 p.
10. **Desser SS, Siddall ME, Barta JR.** 1990. Ultrastructural observations on the developmental stages of *Lankesterella minima* (Apicomplexa) in experimentally infected *Rana catesbeiana* tadpoles. *J Parasit* 76: 97–103.
11. **Fraser CM.** 1991. *The Merck Veterinary Manual*, 7<sup>th</sup> ed., Merck Co., New Jersey, 2092 p.
12. **Goldstein L.** 1982. *Comparative Physiology*, Saunders, Philadelphia, 454 p.
13. **Hasebe T, Oshima H, Kawamura K, Kikuyama S.** 1999. Rapid and selective removal of larval erythrocytes from systemic circulation during metamorphosis of the bullfrog, *Rana catesbeiana*. *Dev Growth Differ* 41: 639–643.
14. **Hill RW.** 1980. *Fisiología Animal Comparada*, Reverté, Barcelona, 512 p.
15. **Houssay BA.** 1980. *Fisiología Humana*, 5<sup>o</sup> ed., El Ateneo, Buenos Aires, 972 p.
16. **Jain NC.** 1993. *Essentials of Veterinary Hematology*, Lea & Febiger, Philadelphia, 417 p.
17. **Kolb E.** 1987. *Fisiología Veterinaria*, 3<sup>o</sup> ed., Acribia, Zaragoza, 1115 p.
18. **Lima SL, Agostinho CA.** 1992. *A Tecnologia de Criação de Rãs*, Impr.Univ., Viosa, 430 p.
19. **Longo AD.** 1985. *Manual de Ranicultura*, 2<sup>o</sup> ed., Icone, Sao Paulo, 252 p.
20. **Pavan M.** 1994. Carne de ranas. Un futuro promisorio. *Rev Med Vet* 75: 75–76.
21. **Raimon E, Ronci N, Ozzan M, Faryluk R, Borgogno P, González D, Suárez W.** 1996. Caracterización citométrica de elementos formes en sangre de *Rana catesbeiana*. *Monografía*, Biblioteca de la Facultad de Ciencias Exactas, UNAM, Posadas, Argentina, 10 p.

22. **Rocha PL, Branco LG.** 1998. Seasonal changes in the cardiovascular, respiratory and metabolic responses to temperature and hypoxia in the bullfrog *Rana catesbeiana*. *J Exp Biol* 201: 761–768.
23. **Roman LR.** 1994. Ranicultura. Nueva tecnología de la cría de rana toro. *Anales del VII Congreso Argentino de Ciencias Veterinarias*, Buenos Aires, 52 p.
24. **Roux P.** 1994. Ranicultura. *Anales del Ciclo de Conferencias organizadas por la Facultad de Ciencias Veterinarias*, UNNE, Corrientes, Argentina, 5 p.
25. **Singh K.** 1978. Hematology of the common Indian frog *Rana tigrina*. III. Hemoglobin and hemaocrit. *Anat Anz* 143: 161–166.
26. **Werner EE, Wellborn GA, McPeck MA.** 1995. Diet composition in postmetamorphic bullfrogs and green frogs: implications for interspecific predation and competition. *J Herpetol* 29: 600–607.
27. **Wilson JA.** 1989. *Fundamentos de Fisiología Animal*, Limusa, México, 984 p.
28. **Wright ML, Rzas BA, Weir RJ, Babski AM.** 1999. Influence of cortisol on the larval bullfrog thyroid axis *in vitro* and *in vivo* and on plasma and ocular melatonin. *Gen Comp Endocrinol* 116: 249–260.