

CARACTERÍSTICAS HEMATOLÓGICAS DE *Porichthys porosissimus* (PISCES: BATRACHOIDIFORMES) EN EL ESTUARIO DE BAHÍA BLANCA, ARGENTINA

Galeano NA¹, Prat MI², Guagliardo SE¹, Schwerdt CB¹, Tanzola RD¹

¹Cátedra de Patología de Organismos Acuáticos. ²Cátedra de Inmunología.
Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur.

RESUMEN: Ciertos componentes de la sangre de los peces son afectados por factores intrínsecos y extrínsecos, así como por particularidades fisiológicas de cada tronco filogenético, por lo que adquieren relevancia tanto fisiológica, como ecológica y evolutiva. El sedimento del estuario de Bahía Blanca comprende un ambiente sometido a una creciente presión de contaminación urbana e industrial. Con el propósito de caracterizar desde el punto de vista hematológico a un pez residente del bentos estuarial, fueron muestreados 32 ejemplares de *P. porosissimus*. En ellos se determinaron variables hematológicas, que fueron comparadas con peces de similares hábitos, en otros ecosistemas. Los resultados obtenidos de ejemplares machos y hembras, respectivamente, fueron: recuento de eritrocitos $1,32 \pm 0,32 \times 10^6 / \mu\text{l}$; $1,050 \pm 0,260 \times 10^6 / \mu\text{l}$; recuento de leucocitos $3314,8 \pm 2058,8 / \mu\text{l}$; $3270,8 \pm 3171,9 / \mu\text{l}$; hemoglobina $8,13 \pm 1,18 \text{ g/dl}$; $5,04 \pm 1,14 \text{ g/dl}$; hematocrito $36,17 \pm 6,03 \%$; $21,77 \pm 3,33 \%$; volumen corpuscular medio (VCM) $295,14 \pm 90,02 \text{ fl}$, $220,83 \pm 69,16 \text{ fl}$; hemoglobina corpuscular media (HCM) $65,68 \pm 22,32 \text{ pg}$; $53,17 \pm 25,27 \text{ pg}$, y concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) $23 \pm 4,92 \%$; $23,97 \pm 8,12 \%$. Los valores de proteínas plasmáticas en otoño, fueron $4,059 \pm 0,971 \text{ g/dl}$ en tanto los de albúmina $2,073 \pm 1,17 \text{ g/dl}$. Por su parte en primavera, descendieron a $2,477 \pm 0,369 \text{ g/dl}$ y $1,313 \pm 0,308 \text{ g/dl}$, respectivamente. Se describen seis tipos morfológicos celulares: eritrocitos, linfocitos, eosinófilos, neutrófilos, trombocitos y monocitos. Estos resultados permiten corroborar que *P. porosissimus* responde a las características hematológicas de los peces de hábitos bentónicos y sedentarios.

Palabras clave: *Porichthys porosissimus*, peces, variables hematológicas, proteínas plasmáticas.

HAEMATOLOGICAL FEATURES OF *Porichthys porosissimus* (PISCES: BATRACHOIDIFORMES) FROM THE BAHIA BLANCA ESTUARY, ARGENTINA

ABSTRACT: Certain components of the fish blood are affected by intrinsic and extrinsic factors, as well as by physiological particularities of each phylogenetic trunk. By this reason they acquire physiological relevance, as ecological and evolutionary as much. The sediment of the estuary of Bahía Blanca comprises an environment supporting an increasing pressure of urban and industrial pollution. In order to characterize from the haematological point of view a resident fish of the estuarial benthos, 32 specimens of *P. porosissimus* were sampled. In addition, the concentrations of total proteins and albumin in the plasma of females in autumn and spring, were assessed. This information was compared with another teleost species with similar habits. The results obtained of males and females, respectively, were: red blood cells $1.32 \pm 0.32 \times 10^6 / \mu\text{l}$; $1.05 \pm 0.26 \times 10^6 / \mu\text{l}$, leucocytes $3,314.8 \pm 2,058.8 / \mu\text{l}$; $3,270.8 \pm 3,171.9 / \mu\text{l}$, haemoglobin $8.13 \pm 1.18 \text{ g/dl}$; $5.04 \pm 1.14 \text{ g/dl}$, haematocrit (packed cell volume) $36.17 \pm 6.03 \%$; $21.77 \pm 3.33 \%$, mean corpuscular volume (MCV) $295.14 \pm 90.02 \text{ fl}$; $220.83 \pm 69.16 \text{ fl}$, mean corpuscular haemoglobin (MCH) $65.68 \pm 22.32 \text{ pg}$; $53.17 \pm 25.27 \text{ pg}$, mean corpuscular haemoglobin concentration (MCHC) $23.0 \pm 4.92 \%$; $23.7 \pm 8.12 \%$. Plasma proteins were $4.059 \pm 0.971 \text{ g/dl}$ and albumin $2.073 \pm 1.17 \text{ g/dl}$, in autumn, and $2.477 \pm 0.369 \text{ g/dl}$ and $1.313 \pm 0.308 \text{ g/dl}$, in spring. Six morphologic cell types were identified: red blood cells, eosinophils, neutrophils, lymphocytes, trombocytes and monocytes. These results demonstrated that *P. porosissimus* fit well to the haematologic features of fishes with benthonic and sedentary habits.

Key words: *Porichthys porosissimus*, fishes, haematologic values, plasmatic proteins.

Fecha de recepción: 26/08/09

Fecha de aprobación: 03/10/10

Dirección para correspondencia: RD. Tanzola. Cátedra de Patología de Organismos Acuáticos de Interés Comercial. Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia. Universidad Nacional del Sur. San Juan 670 (8000) Bahía Blanca. Argentina. **E-mail:** rtanzola@uns.edu.ar

INTRODUCCIÓN

Los componentes fluidos y formes de la sangre de los peces suelen variar siguiendo patrones filogenéticos y ecológicos, en particular sus hábitos tróficos y modos de vida. En la práctica, la acuicultura intensiva requiere del control de situaciones de estrés y/o enfermedad, a fin de asegurar la salud de los peces. En este caso el estudio de las variables hematológicas asume importancia como medio auxiliar de diagnóstico (1). Por su parte, en poblaciones naturales de peces, el conocimiento de tales valores hace posible interpretar respuestas fisiológicas del organismo ante la degradación o el cambio ambiental (2, 3).

Hasta el presente, en poblaciones naturales de peces marinos de las costas argentinas no se han realizado estudios hematológicos. En virtud de que *Porichthys porosissimus* (Valenciennes, 1837) es un habitante residente del bentos de Bahía Blanca, donde soporta una permanente exposición a contaminantes de origen industrial y urbano, se ha considerado de interés tipificar su perfil hematológico, en procura de utilizar algunas de sus variables, como marcadores que ayuden a interpretar la situación ambiental del estuario.

El presente estudio tiene como objetivos determinar las variables hematológicas e índices hematimétricos, así como la concentración de proteínas plasmáticas y albúmina de *P. porosissimus* y compararlo con peces de similares hábitos bentónicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Peces y condiciones

El muestreo se realizó entre 2004 y 2007 en el estuario de Bahía Blanca (38° 45' S; 62° 15' O). Consistió de 32 ejemplares de *P. porosissimus*, de los cuales 18 machos y 14 hembras fueron empleados para el análisis de los parámetros hematológicos. Para determinar proteínas plasmáticas y albúmina se tomaron 32 ejemplares hembras, en dos estaciones del año diferentes, 22 en otoño y 10 en primavera. La captura se realizó mediante redes de enmalle. Los peces fueron narcotizados con benzocaína (1g/15 l de agua de clorinada). De cada ejemplar se registró la longitud total (mm), el peso total (gs) y el peso gonadal (gs). De cada parámetro se expresan los valores de media y desvío estándar, salvo otra indicación.

Parámetros bioquímicos y hematológicos:

Se extrajo 1 ml de sangre de cada ejemplar por punción de la vena caudal con ayuda de jeringas plásticas conteniendo EDTA (10 %). Una alícuota se destinó para realizar el conteo de glóbulos rojos y glóbulos blancos, así como para determinar la concentración de hemoglobina, el

porcentaje de hematocrito, el volumen corpuscular medio (VCM), la hemoglobina corpuscular media (HCM) y la concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM). Se confeccionaron extendidos sanguíneos que fueron teñidos con coloración de Giemsa y montados con bálsamo de Canadá sintético. Estos extendidos fueron usados para mediciones de algunos parámetros de los distintos tipos celulares bajo MO a 100x y con ocular micrométrica. Se tomaron datos del diámetro mayor y menor de eritrocitos y del núcleo del eritrocito, diámetro de: linfocitos, eosinófilos, neutrófilos, monocitos y trombocitos. El resultado de las mediciones se expresa como la media aritmética en micrómetros (μm), junto al desvío estándar y el rango. El número de células medidas varió para cada tipo celular. Otros extendidos sanguíneos fueron utilizados para realizar la técnica de la bencidina de Washburn, y así poder demostrar la actividad de la enzima peroxidasa en los leucocitos

El resto de la sangre obtenida se centrifugó a 75 G durante 10 minutos para la separación del plasma, el cual se utilizó para determinar la concentración de proteínas plasmáticas y albúmina. Las proteínas plasmáticas se determinaron por el método de biuret, y la albúmina por su capacidad de unirse al reactivo VBC (verde de bromocresol) utilizando reactivos GT- Lab y Wiener. Las mediciones se realizaron en espectrofotómetro Andali serie 3.

Análisis estadístico: Mediante estadística descriptiva se estimaron la media, desvío estándar y el rango de dispersión de los parámetros hematológicos, proteínas plasmáticas y albúmina. Los mismos fueron correlacionados con el peso, la talla y peso gonadal mediante el cálculo del índice de correlación por rangos de Spearman (4). Se analizaron diferencias debidas al sexo mediante el test no paramétrico de Mann Whitney (4).

RESULTADOS

Los machos examinados (N=18) poseían una longitud total de 258 (234 - 330) mm y un peso de 185,69 (131 - 368) g en tanto que las hembras (N=14) alcanzaron 202 (184 - 218) mm de longitud y 89,53 (65,8 - 111,1) g, respectivamente.

El peso gonadal de los machos fue $0,28 \pm 0,31$ g y el de las hembras $11,14 \pm 6,52$ g. La prueba no paramétrica U de Mann Whitney evidencia diferencias altamente significativas ($p < 0,01$) entre hembras y machos en cuanto al peso ($U=9$, $p=0,000$), la longitud total ($U=7,5$, $p=0,000$) y el peso gonadal ($U=3,5$, $p=0,000$).

Los valores de proteínas plasmáticas y albúmina del plasma de las hembras tomadas en otoño, son $4,059 \pm 0,971$ g/dl y $2,073 \pm 1,17$ respectivamente, en tanto que para las hembras

de primavera, los valores son $2,477 \pm 0,369$ g/dL y $1,313 \pm 0,308$ g/dl, respectivamente. En la tabla 1 se muestran los valores medios \pm desvío estándar (DS) de los datos biológicos de los peces utilizados para dicha cuantificación.

El índice de correlación por rangos de Spearman evidenció para el peso y la talla de *P. porosissimus* una correlación positiva y altamente significativa tanto en machos ($r=0,88$, $p=0,000$) como en hembras ($r=0,91$, $p=0,000$). También

Tabla 1. Datos biológicos de *P. porosissimus*. Los valores son expresados como media \pm desvío estándar.

Table 1. Biological information of *P. porosissimus*. The values are expressed for mean \pm standard deviation.

	Hembras (n=22) otoño		Hembras (n=10) primavera	
	Media \pm DS	Rango	Media \pm DS	Rango
Longitud total (mm)	210,29 \pm 11,9	190 - 230,6	190,68 \pm 14,1	170,2 - 220,6
Peso Total (g)	94 \pm 21,38	66,1 - 57,7	84,17 \pm 9,57	52,6 - 104
Peso Gonadal (g)	1,68 \pm 1,55	0,1 - 6,6	4,48 \pm 2,77	1,5 - 10,7

DS: desvío estándar, mm: milímetros, g: gramos.

Tabla 2. Parámetros hematológicos de machos (N=18) y hembras (N=14) de *P. porosissimus*. Los valores son expresados como media \pm desvío estándar.

Tabla 2. Haematologic values of males (N=18) and females (N=14) of *P. Porosissimus*. The values are expressed for média \pm standard deviation.

	Machos (n=18)		Hembras (n=14)	
	Media \pm DS	Rango	Media \pm DS	Rango
Eritrocitos(x10⁶/µl)	1,32 \pm 0,32	0,11 - 1,89	1,05 \pm 0,26	0,64 - 1,42
Leucocitos (µl)	3314,8 \pm 2058,8	385,5 - 4843,8	3270,8 \pm 3171,9	281,2 - 12343,7
Hemoglobina (g/dl)	8,13 \pm 1,18	2,91 - 11,74	5,04 \pm 1,14	3,22 - 7,53
Hematocrito (%)	36,1 \pm 6,03	12 - 42,5	21,77 \pm 3,33	10 - 39,2
VCM (fL)	295,1 \pm 90,0	138,5 - 340,1	220,83 \pm 69,16	140,0 - 378,9
HCM (pg)	65,6 \pm 22,3	34,6 - 74,3	53,1 \pm 25,2	23,9 - 64,6
CHCM %	23 \pm 4,92	11,6 - 38,2	23,9 \pm 8,1	14,0 - 31,5

Referencias: µl: microlitro, fl: femtolitro, pg: picogramo, VCM: volumen corpuscular medio, HCM: hemoglobina corpuscular media, CHCM: concentración de hemoglobina corpuscular media.

muestra, en las hembras, una correlación positiva significativa entre las proteínas plasmáticas con el peso ($r=0,397$, $p=0,02$), pero no así con la talla ($r=0,328$, $p=0,067$).

El recuento de eritrocitos y leucocitos, la concentración de hemoglobina, el porcentaje de hematocrito y los índices hematimétricos: VCM, HCM, CHCM, de machos y hembras de *P. porosissimus* se presentan en la tabla 2.

De acuerdo a lo observado en los extendidos sanguíneos de *P. porosissimus*, se reconocen seis tipos morfológicos de células: eritrocitos, linfocitos, eosinófilos, neutrófilos, trombocitos y monocitos.

Los eritrocitos presentan forma elipsoidal con abundante citoplasma acidófilo de tono que varía entre gris a rosado. El núcleo es central de forma ovalada, basófilo y orientado según el eje mayor de la célula (Fig. 1).

Los linfocitos, las células más abundantes del linaje linfomieloide, tienen forma redondeada y un citoplasma escaso, basófilo, con un contorno irregular debido a la emisión de pseudópodos. El núcleo es grande de forma redondeada o le-

vemente reniforme y ocupa la mayor parte del citoplasma (Fig. 1).

Los eosinófilos presentan predominantemente forma redondeada, con citoplasma abundante y rico en granulaciones de color rosado brillante. El núcleo violáceo, excéntrico es poligonal o bilobulado (Fig. 2).

Los neutrófilos, células de forma redondeada y citoplasma débilmente basófilo y abundante. El núcleo es excéntrico intensamente basófilo, bilobulado o esférico en su mayoría. Sus gránulos demostraron tener actividad peroxidasa (Fig. 3 y 6).

Los trombocitos presentan forma predominantemente elíptica con núcleo elongado o fusiforme y su citoplasma escaso y débilmente basófilo (Fig. 4).

Los monocitos poseen un contorno irregular, más o menos redondeado, con citoplasma basófilo y vacuolado. El núcleo en general es excéntrico, elongado o esférico (Fig. 5).

Las dimensiones de los seis tipos celulares se resumen en la Tabla 3.

Tabla 3: Valores morfométricos (en μm) de células sanguíneas en sangre periférica de *P. porosissimus*.Tabla 3: Morphometric values (in μm) of blood cells in peripheral blood of *P. porosissimus*.

	Media \pm DS	Rango
Eritrocitos	n=90	
Eje mayor	13,83 \pm 1,05	(11 – 17)
Eje menor	9,05 \pm 0,99	(5 – 11)
Núcleo del eritrocito	n=90	
Eje mayor	5,94 \pm 0,63	(4,5 – 7)
Eje menor	3,73 \pm 0,48	(3 – 6)
Linfocitos (diámetro)	n=100	
	5,3 \pm 0,89	(3-7)
Eosinófilos (diámetro)	n=90	
	8,81 \pm 1,44	(6 – 12)
Neutrófilos (diámetro)	n=50	
	6,67 \pm 1,23	(4 – 10)
Trombocitos	n=40	
Eje mayor	9,46 \pm 2,41	(6 – 14)
Eje menor	4,48 \pm 0,67	(3 – 6)
Monocitos (diámetro)	n=29	
	11,77 \pm 0,94	(10 – 12,5)

DISCUSIÓN

La sangre de los peces puede ser caracterizada a través de variables, en particular hematocrito, concentración de hemoglobina, recuento de eritrocitos y leucocitos e índices hematimétricos (5, 6). Estas variables pueden ser afectadas por múltiples factores, tanto intrínsecos como extrínsecos, así como por las características fisiológicas particulares de los distintos grupos de peces, por lo que adquieren interés fisiológico y ecológico. Además permiten contribuir a clarificar la relación entre la fisiología, la filogenia, la actividad física, el hábitat y la adaptabilidad de los peces al ambiente (1, 6, 7). El examen de las proteínas del plasma en sangre periférica es una fuente válida de información de posibles alteraciones en actividades funcionales de órganos somáticos y de cambios metabólicos (8).

Hasta el presente no se conocen estudios hematológicos en peces del orden Batrachoidiformes.

Las células identificadas en los frotis sanguíneos de *P. porosissimus*, presentan características morfológicas similares a las descritas en *Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887 (Characiformes: Characidae) (9), *Mugil platanus* Günther, 1880 (Osteichthyes, Mugilidae) (10) y en *Cyprinus carpio* L. (Cypriniformes, Cyprinidae) (11).

Moura y col. (12) distinguieron tres tipos de granulocitos (neutrófilos, eosinófilos y células reticulares) y tres agranulocitos (linfocitos, trombocitos y monocitos) en *Colossoma macropomum* y en *Hoplosternum littorale*. Al igual que ocurre en *P. porosissimus*, estos autores observaron que los pseudopodios estaban presentes en pocas célu-

las. En el presente trabajo no se hallaron células reticulares ni se observó núcleo trilobulado de los neutrófilos. Imagawa y col. (11) diferencian tres tipos de linfocitos en *C. carpio* L. de acuerdo al diámetro de las células, designándolas pequeñas, medianas y grandes. El tipo más abundante encontrado en *P. porosissimus* coincide con las formas pequeñas de Imagawa y col. (op.cit.). En menor proporción se hallaron linfocitos grandes. Ranzani-Paiva (13) afirma que la distinción entre linfocitos grandes y pequeños es arbitraria y probablemente representa diferentes estadios funcionales de una misma población celular y no a poblaciones diferentes.

Los eosinófilos y neutrófilos de *P. porosissimus* se corresponden con las características morfométricas, morfológicas y tintoriales de *C. carpio* (14). Ellis (15) describió en *Pleuronectes platessa* L. cuatro tipos de trombocitos (designados como “spiked” form, “spindle” cell, “ovoid” form y “lone-nucleus”), en *P. porosissimus* se encontraron trombocitos cuyas características corresponden al tipo “spindle” cell de Ellis (op.cit.).

La ausencia de basófilos podría deberse a un inadecuado procedimiento en la tinción como ha sido sugerido (16, 17). Así mismo, la presencia de basófilos en la sangre periférica de *Sparus aurata* (L.) sólo fue confirmada por microscopía electrónica (18).

El número de eritrocitos en los peces es relativamente bajo cuando se lo compara con los mamíferos. Según Wintrobe (19) y Tavares-Dias y Moraes (10), el tamaño y número refleja la posición de la especie en la escala evolutiva. Los vertebrados inferiores presentan eritrocitos

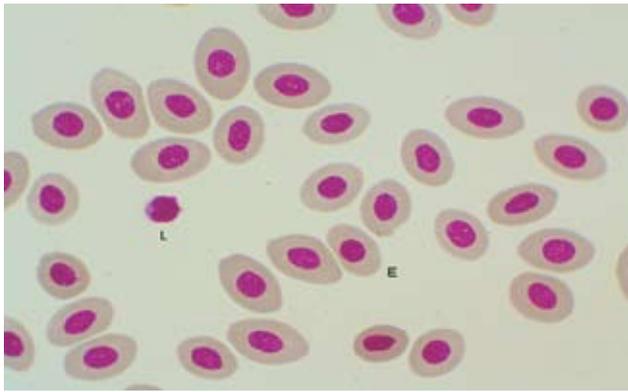


Figura 1. Linfocito (L), Eritrocitos (E). Coloracion Giemsa. (100x).

Figure 1: Lymphocyte (L), Erythrocyte (E). Giemsa stain. (100x).

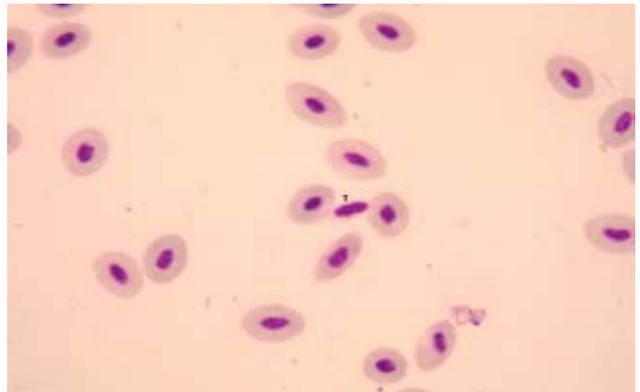


Figura 4. Trombocito (T). Coloracion Gernsa. (100x).

Figure 4. Thrombocyte (T). Giemsa stain. (100x).

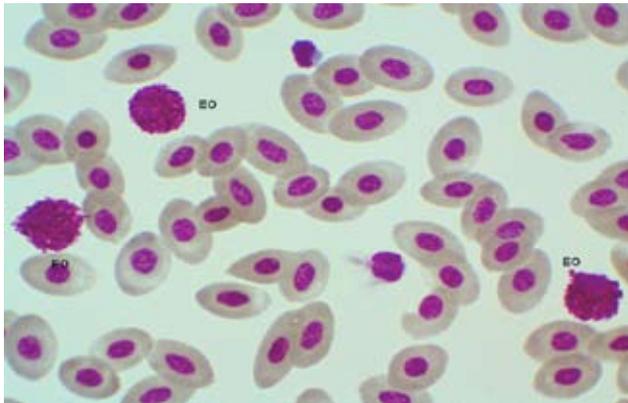


Figura 2. Eosinofilos (EO). Coloracion Giemsa (100x).

Figure 2: Eosinophil (EO). Giemsa stain. (100x).

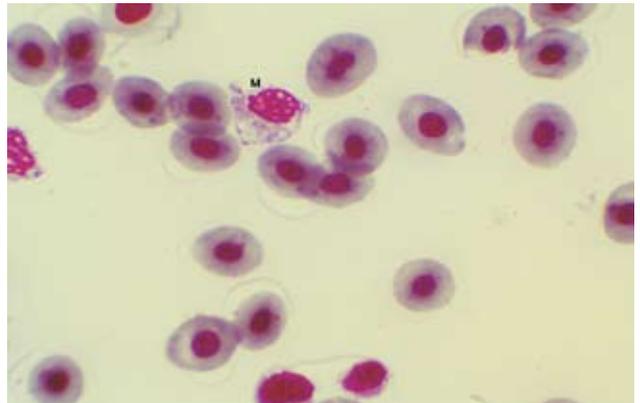


Figura 5. Monocito (M). Coloracion Giemsa. (100x).

Figure 5. Monocyte (M). Giemsa stain. (100x).

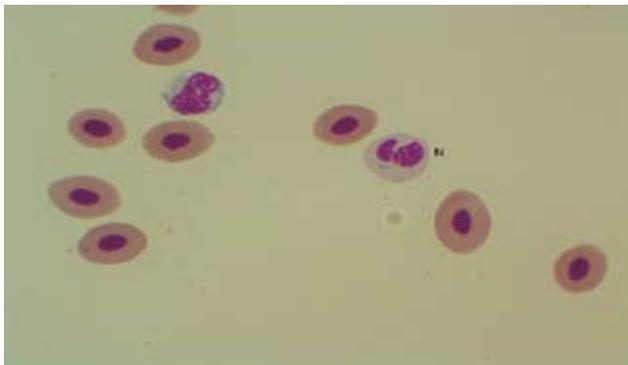


Figura 3. Neutrofilo (N). Coloracio Giemsa. (100x).

Figure 3. Neuthrophil (N). Giemsa stain. (100x).

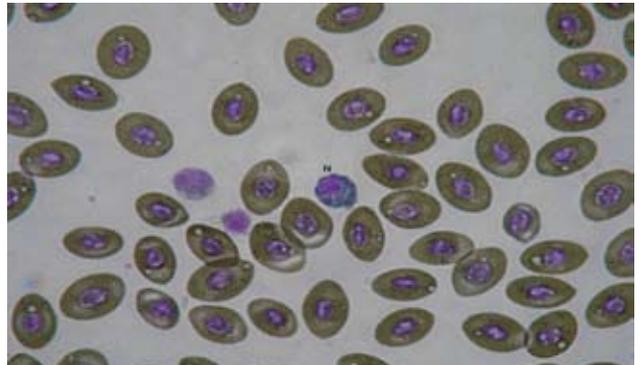


Figura 6. Neutrófilo con actividad peroxidasa positiva (N). (100x).

Figure 6. Peroxidase reactivity in neutrophil (N). (100x).

de mayor tamaño pero en menor número (20). En los frotis sanguíneos son las células más abundantes.

Existe una relación inversa entre el tamaño de los eritrocitos y la habilidad natatoria de los teleósteos marinos, con incidencia en la concentración de hemoglobina (6). Las especies que habitan ambientes lénticos, sedentarios y bentónicos poseen menor cantidad de eritrocitos, menor concentración de hemoglobina corpuscular media y mayor volumen celular. En tanto que

las especies marinas y pelágicas, más activas, por ejemplo la lisa, *Mugil platanus*, poseen mayor número de eritrocitos, mayor concentración de hemoglobina, mayor concentración de hemoglobina corpuscular media y menor volumen corpuscular medio (21, 10, 13), lo cual asegura mayor eficiencia en el transporte de oxígeno, en función de un aumento de la relación superficie/volumen (13). En el hipotético caso de que la situación anterior fuera extrapolable a todas las especies marinas, *P. porosissimus* se aproxima a

los valores estimados para las especies sedentarias, menos activas.

Las diferencias fisiológicas entre los sexos están relacionadas con las características sexuales primarias, secundarias y de sus adaptaciones, resultado de diferentes estrategias empleadas para el éxito reproductivo (10). La literatura sugiere una interacción entre el sexo y el estadio de desarrollo gonadal con las condiciones ecofisiológicas (22). En la especie estudiada en el presente trabajo, tanto el peso, la talla como el peso gonadal muestran diferencias muy altamente significativas entre ambos sexos. Los machos de *P. porosissimus* presentan valores mayores de hemoglobina y hematocrito que las hembras, al igual que los machos de *Tautogolabrus adspersus* y *Piaractus mesopotamicus* de ambientes naturales y no se observan diferencias entre los sexos para los índices hematimétricos (VCM, HCM, CHCM), en concordancia con otras especies estuariales como *Mugil platanus* y *Oncorhynchus mykiss* (13, 10).

Wintrobe (19) y Tavares-Dias y Moraes (10), comparando valores hematológicos de varios vertebrados observaron que las variaciones encontradas para HCM se corresponden para VCM; por consiguiente, células mayores poseen más hemoglobina. Por otro lado, las variaciones en el HCM son inversas a las del número de eritrocitos/ μl , de forma tal que la concentración de hemoglobina en la sangre varía muy poco. Estos resultados corroboran lo observado para *P. porosissimus*, en tanto que lo mismo fue observado por Ranzani-Paiva (13) en mugilidos de regiones estuariales.

Magnadóttir y col. (23, 24) han reportado un aumento en la concentración de proteínas plasmáticas en proporción al peso corporal del bacalao noruego, *Gadus morhua* L., como lo registrado en el presente trabajo. Al analizar la época del año en que fueron tomadas las muestras sanguíneas, los valores de proteínas en el plasma fueron mayores en otoño que en primavera, reflejando de tal modo, las mejores condiciones nutricionales del pez en otoño. Además, Magnadóttir y col. (op.cit.) han observado una correlación positiva con la talla del bacalao noruego, efecto que no ha sido observado en los individuos objeto del presente estudio. Según Rehulka y col. (8) las concentraciones de proteínas totales en el plasma sanguíneo son frecuentemente aceptadas como indicadoras de status nutricional.

De acuerdo a las variables hematológicas, tales como la baja cantidad de eritrocitos, la menor concentración de hemoglobina corpuscular media y el mayor volumen de los eritrocitos, podemos inferir que *P. porosissimus* se aproxima a las características citadas por diversos autores para un pez bentónico y sedentario.

No obstante debe tenerse en cuenta que las

variaciones que se pudieran encontrar en esta población con respecto a otras de la misma especie, pueden atribuirse a las condiciones ambientales como temperatura, pH, oxígeno, entre otros, que causan modificaciones fisiológicas en los niveles de algunos parámetros sanguíneos (25, 26). Sin dejar de lado otras variables de interés como fotoperíodo, estado nutricional y la metodología usada para su determinación (27).

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar su agradecimiento al Dr. Marcos Tavares-Dias de la Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuaria (EMBRAPA, Estado de Macapá, Brasil) y al Sr. Pablo Bustos, de la flota pesquera de Ing. White por la provisión de material vivo.

REFERENCIAS

1. Tavares-Dias M, Mataqueiro MI. Características hematológicas, bioquímicas e biométricas de *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae) oriundos de cultivo intensivo. ActaSciBiolSci 2004; 26 (2): 157-162.
2. Aguilar Ibarra, A. Los peces como indicadores de la calidad ecológica de agua. Revista Digital Universitaria 2005; 6 (8): 14 <http://www.revista.unam.mx/vol.6/num8/art78/int78.htm>
3. Jawad LA, Al-Mukhtar MA, Ahemed HK. The relationship between haematocrit and some biological parameters of the Indian shad, *Tenulosa ilisha* (Family Clupeidae). Anim. Biodivers. Conserv. 2004; 27(2): 47-52.
4. Siegel S, Castellan N. Estadística no Paramétrica aplicada a las ciencias de la conducta. Ed. Trillas. Mexico, 1998; 437 pp.
5. Centeno L, Silva-Acuña R, Barrios R, Salazar Lugo R, Matute C, Pérez JL. Características hematológicas de la cachama (*Colossoma macropomum*) en tres etapas de crecimiento cultivadas en el estado Delta Amacuro, Venezuela. Zootecnia Trop. 2007; 25(4): 237-243.
6. Tavares-Dias M, Moraes FR. Haematological and biochemical reference intervals for farmed channel catfish. J. Fish Biol. 2007; 71: 383-388.
7. Cazenave J, Wunderlin DA, Hued AC, Bistoni MA. Haematological parameters in a neotropical fish, *Corydoras paleatus* (Jenyns, 1842) (Pisces, Callichthyidae), captured from pristine and polluted water. Hydrobiologia 2005; 537: 25-33.
8. Rehulka J, Minarik B, Adamec V, Rehulkova E. Investigations of physiological and pathological levels of total plasma protein in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Aquaculture Research 2005; 36: 22-32.
9. Tavares-Dias M, Schalch SHC, Martins ML, Onaka EM, Moraes FR. Haematological characteristics of Brazilian Teleosts. III. Parameters of the hybrid tambacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg x *Colossoma macropomum* Cuvier) (Osteichthyes, Characidae). Rev. Bras. de Zool. 2000; 17(4): 899 - 906.

10. Tavares-Dias M, Moraes FR. Hematología de Peixes Teleósteos. Ed Eletrônica e Arte Final. San Paulo (Brasil), 2004; p 144.
11. Imagawa T, Hashimoto Y, Kitagawa H, Kon Y, Kudo N, Sugimura M. Morphology of blood cells in Carp (*Cyprinus carpio* L.) Jpn J Vet Sci 1989; 51 (6):1163-1172.
12. Moura MAF, Farias IP, Val AL. Effects of temperature on leucocytes of *Colossoma macropomum* and *Hoplosternum littorale* (Pisces). Braz J. Med. Biol. Res. 1994; 27:1589-1598.
13. Ranzani-Paiva MJT. Características hematológicas de Tainha *Mugil platanus* Güther, 1880 (Osteichthyes, Mugilidae) da região estuarino-lagunar de Cananéia-SP. B. Inst. Pesca 1995; 22(1): 1-22.
14. Tripathi NK, Latimer KS, Burnley VV. Hematologic reference intervals for koi (*Cyprinus carpio*), including blood cell morphology, cytochemistry, and ultrastructure. Vet Clin Path 2004; 33 (2):74-83
15. Ellis AE. Leucocytes and related cells in the plaice *Pleuronectes platessa*. J Fish Biol 1976; 8: 143-156.
16. Barber DL, Westermann JEM. Morphological and histochemical studies on a PAS-positive granular leucocyte in blood and connective tissue of *Catostomus commersonnii* Lacépède (Teleostei:Pisces). Am J Anat 1975;142, 205-220.
17. Tavares-Dias M. Cytochemical method for staining fish basophils. J Fish Biol 2006; 69: 312-317
18. Messenger J, Esteban AM, Lopez Ruiz A, Bielek E. Ultrastructure of nonspecific cytotoxic cells in teleosts. I. Effector-tarjet cell binding in a marine and a freshwater species (seabream *Sparus aurata* L., and carp: *Cyprinus carpio* L. Anat. Rec. 1994; 239: 468-474
19. Wintrobe MM. Variation on the size and haemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. Folia Haematol. 1934; 51: 32-49.
20. Kavamoto ET, Ranzani-Paiva MJT, Tokumaru M. Estudos hematológicos em “bagre” *Rhamdia hilarii* (Val. 1840), teleosteo, no estágio de desenvolvimento gonadal maduro. B. Inst Pesca 1983; 10:53-60
21. Larsson A, Johansson-Sjöbeck ML, Fänge R.. Comparative study of some haematological and biochemical blood parameters in fishes the Skagerrak. J Fish Biol 1976; 9: 425-440.
22. Luskova V. Factors affecting haematological indices in free-living fish populations. Acta Vet. Brno 1998; 67: 249-255.
23. Magnadóttir B, Jónsdóttir H, Helgason S, Björnsson B, Jørgensen T, Pilstrom L. Humoral immune parameters in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) I. The effects of environmental temperature. Com Biochem Phys B 1999; 122: 173-180.
24. Magnadóttir B, Jónsdóttir H, Helgason S, Björnsson B, Jørgensen T, Pilstrom L. Humoral immune parameters in Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) II. The effects of size and gender under different environmental conditions. Com Biochem Phys B 1999; 122: 181-188.
25. Alvarado H. Efecto de tres concentraciones de calcio en el agua sobre algunos parámetros hematológicos de la trucha arco iris. Vet. Trop 1997; 22(1): 5-12
26. Valenzuela A, Alveal K, Tarifeño E. Respuesta hematológica de truchas (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) a estrés hipoxico agudo: Serie roja. Gayana 2002; 66(2):255-261.
27. De Pedro N, Guijarro A, López-Patiño MA, Martínez-Álvarez RM, Alonso-Bedate M, Delgado MJ. Parámetros hematológicos y bioquímicos en la Tenca (*Tinca tinca*): ritmos diarios y estacionales. Comunicación Científica CIVA 2004: 173-190.