

Caracterización hematológica, morfométrica y química del tejido sanguíneo, de juveniles de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) mantenidas en un sistema biofloc y un sistema de recirculación de agua

Trabajo de grado para optar por el título de Médico Veterinario

Jessica Duque Osorio

María Juliana Loaiza Escobar

MVZ, Esp. MSc

Corporación Universitaria Lasallista

Facultad de Ciencias Administrativas y Agropecuarias

Programa de Medicina Veterinaria

Caldas, Antioquia

2017

Tabla de contenido

Resumen del proyecto.....	6
Descripción del proyecto	8
Planteamiento del problema.....	10
Justificación del proyecto.....	11
Pregunta de investigación	12
Objetivos.....	13
Objetivo general:	13
Objetivos específicos:.....	13
Marco teórico.....	14
Cachama Blanca	14
Taxonomía	14
Sistema de biofloc.....	16
Sistema de recirculación de agua.....	17
Patología clínica	19
Fisiología sanguínea	19
Células rojas.....	21
Hematocrito.....	21
Cambios temporales para el hematocrito.....	22

Concentración de hemoglobina corpuscular media (MCHC)	22
Células blancas	23
Química sanguínea	23
Metodología	28
Análisis de los datos	33
Resultados y discusión	34
Análisis estadístico	40
Análisis del núcleo de las células blancas.....	40
Análisis de la célula, glóbulos blancos.	42
Análisis del núcleo, glóbulos rojos.....	43
Análisis de la célula, glóbulos rojos.	44
Análisis de la química Sanguínea.	45
Conclusiones	46
Referencias bibliográficas.....	47

Lista de tablas

Tabla 1. Hemoleucograma.	36
Tabla 2. Química sanguínea.....	36
Tabla 3. Morfometría. Eritrocitos.....	37
Tabla 4. Leucocitos.	38
Tabla 5. Leucocitos	39

Lista de Ilustraciones.

Ilustración 1. Desarrollo el trabajo.....	28
Ilustración 2. Medidas realizadas	32
Ilustración 3. Comparación múltiple LSD, Análisis del núcleo de los glóbulos blancos.....	41
Ilustración 4.Comparación múltiple LSD, Análisis de la célula de los glóbulos blancos.....	42
Ilustración 5. Comparación múltiple LSD, análisis del núcleo de los glóbulos rojos.....	43
Ilustración 6. Comparación múltiple LSD, análisis de la célula de los glóbulos rojos.....	44
Ilustración 7. Comparación múltiple LSD, Química sanguínea	45

Resumen del proyecto

La Cachama Blanca (*Piaractus brachypomus*), es un pez originario de las cuencas de los ríos Orinoco y Amazonas e introducida en la cuenca del Magdalena Medio, usado ampliamente en piscicultura por ser una especie rústica, de rápido crecimiento, cuya carne es de gran aceptación en el mercado por su facilidad de cultivo, adaptación a las bajas concentraciones de oxígeno, poca susceptibilidad a contraer enfermedades, resistencia a los parásitos, fácil alimentación y buen crecimiento. El objetivo de este trabajo es determinar el efecto del sistema de producción en la caracterización hematológica, morfométrica y química del tejido sanguíneo de juveniles de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*). Para tal fin fueron muestreadas 50 cachamas de cada sistema de producción, obteniendo 250 μ l de sangre por punción en la vena caudal. De cada muestra se realizó un hemoleucograma completo y un extendido sanguíneo para la caracterización morfométrica.

Los datos fueron organizados en tablas para su análisis, se utilizó un análisis estadístico de varianza de doble vía. Para el análisis de los datos se empleó un análisis de varianza de doble vía, utilizando un nivel de confianza del 95%, y un nivel de potencia del 80% para determinar diferencias significativas. Cuando se encontraron diferencias significativas se empleo la técnica de comparaciones múltiples de LSD (Least Significant Difference).

Los peces cultivados en biofloc tuvieron mayor número y mayor tamaño de células blancas a diferencia de los peces mantenidos en RAS. Esto debido a una

mayor actividad (quimiotáctica, fagocítica y microbicida) de los glóbulos blancos en el sistema de biofloc.

Dentro de la ictiopatología, la exploración sanguínea constituye una herramienta adicional como medio de mejoramiento del diagnóstico y pronóstico de una enfermedad dentro de una población de peces. La interpretación de los análisis revela en los peces el estado de nutrición, sanitario durante un estado patológico.

Descripción del proyecto

Estudios sobre hematología y química sanguínea de peces demuestran que las variaciones en las condiciones ambientales como temperatura, pH, oxígeno, entre otros, causan modificaciones fisiológicas en los niveles de algunos parámetros sanguíneos. Además, se ha determinado que estos pueden estar también influenciados por numerosos factores tales como la especie, la edad, el fotoperiodo, el estado nutricional y la metodología usada para su determinación. Las variaciones de los parámetros hematológicos como hematocrito, leucocitos y trombocitos pueden ser utilizados como indicadores de contaminación y como indicadores fisiológicos de disfunción orgánica por estrés (Centeno. et al., 2007).

El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto del sistema de producción en las características tanto hematológica como morfométrica y de la química del tejido sanguíneo de juveniles de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) mantenidas en dos sistemas de producción diferentes (recirculación de agua y Biofloc). Para tal fin se muestrearon 50 cachamas de cada sistema de producción, obteniendo 250 μ l de sangre por punción en la vena caudal. El recuento total de eritrocitos, leucocitos y trombocitos se realizó en cámara de Neubauer de 0,0025 mm². Para el conteo de eritrocitos, trombocitos y leucocitos se utilizó el reactivo de Natt-Herrick® a una dilución de 1:200. El hematocrito se realizó en microcentrifuga; La hemoglobina con el reactivo de Drabkin® siguiendo la metodología de la cianometahemoglobina y la lectura con espectrofotómetro a 546 nm. Para la morfometría de las células sanguíneas (eritrocitos, leucocitos y trombocitos), se realizaron extendidos sanguíneos teñidos con Hemacolor® (hematoxilina-eosina), con la ayuda de un microscopio de luz en objetivo

de 100X con cámara fotográfica digital incorporada y un software analizador de imagen se realizaron las mediciones haciendo énfasis en las variables de forma y tamaño.

Planteamiento del problema.

La posibilidad de evaluación de estos parámetros depende de la disponibilidad de valores de referencia “normales” de diferentes componentes sanguíneos (Centeno et al., 2007).

La escasez de información sobre las constantes hematológicas básicas en peces tropicales de América del Sur limita su uso en todas las áreas relacionadas con la industria piscícola. Por tanto, este estudio tiene como propósito determinar el efecto del sistema de producción en la caracterización hematológica, morfométrica y química del tejido sanguíneo de juveniles de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*). Avanzar en el conocimiento de la hematología de la Cachama permitirá abordar la producción en cautiverio con un adecuado manejo sanitario y aportará información para la consolidación de una herramienta diagnóstica para la vigilancia epidemiológica; ya que los parámetros sanguíneos son indicadores rápidos de alteraciones fisiológicas.

Justificación del proyecto

La hematología y la química sanguínea son herramientas empleadas con éxito para el diagnóstico en la ciencia veterinaria pero en acuicultura es aún muy poco utilizada. De acuerdo con Tabares-Días & Morales (2007) la medición de variables sanguíneas permite detectar alteraciones fisiológicas y provee información que puede ser utilizada para el diagnóstico y el pronóstico de enfermedades en peces cultivados.

El éxito en las explotaciones intensivas de las diferentes especies acuícolas, dependen de diversos factores para alcanzar su máximo potencial productivo, entre estos factores se encuentra el manejo sanitario, entendido como la prevención de las principales enfermedades que afectan a la población (Mendoza et al., 1999).

Para tratar de evitar pérdidas, es necesario un monitoreo permanente de los estados fisiológicos, nutricionales y sanitarios de los peces, situación que se logra a través de un certero y oportuno diagnóstico hematológico; ya que la sangre es por excelencia el punto de confluencia de las situaciones anómalas producidas por las distintas patologías, razón por la cual permite anticiparse a las manifestaciones clínicas de las enfermedades (Conroy & Armas, 1984).

Además de las cualidades antes mencionadas, la hematología y la química sanguínea son técnicas que no requieren de grandes esfuerzos económicos para su realización, lo que las posiciona aún más como herramientas en la prevención y en el diagnóstico de enfermedades (Deufel & Pöllnitz, 1977).

Pregunta de investigación

¿Existen diferencias en la caracterización hematológica, morfométrica y química del tejido sanguíneo de juveniles de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) mantenidas en un sistema biofloc y un sistema de recirculación de agua?

Objetivos

Objetivo general:

- Realizar la caracterización hematológica morfométrica y química del tejido sanguíneo de juveniles de cachama blanca mantenidas en un sistema de biofloc y un sistema de recirculación de agua.

Objetivos específicos:

- Realizar mediciones morfométricas de células sanguíneas de peces.
- Comparar la información hematológica de la especie con otros reportes a nivel nacional e internacional bajo sistemas de producción similares.
- Estandarizar rangos de los valores hematológicos y químicos entre los peces de los dos sistemas de producción.

Marco teórico

Cachama Blanca

Taxonomía

Reino	Animalia
Filo	Chordata
Clase	Actinopterygii
Orden	Characiformes
Familia	Characidae
Subfamilia	Serrasalminae
Género	<i>Piaractus</i>
Especie	<i>P. brachypomus</i>

(Wiley & Sons 1994), (Salinas y Agudelo 2000).

Clase Actinopterygii

Se refiere a los peces óseos. Su característica principal es la posesión de un esqueleto de espinas óseas en sus aletas (aletas radiadas). Tienen el cráneo cartilaginoso (en parte calcificado) recubierto por huesos dérmicos, y un solo par de aberturas branquiales cubiertas por un opérculo (Lagler, K. F 1990).

Orden Characiformes

Las características de estos peces son: 1) Presencia de escamas bien definidas, 2) aleta adiposa (se ubica en la región dorsal y posterior del cuerpo, por detrás de la aleta dorsal), y 3) las aletas pélvicas que están por detrás de las aletas pectorales. Presentan dientes en la boca y no tienen bigotes. Además poseen el órgano de Weber completo; que consiste en la modificación de las primeras vértebras en un órgano sensitivo que utiliza la vejiga natatoria (Géry et al 1977).

En general se distinguen por presentar escamas en la línea lateral, un opérculo pequeño y ausencia de radios osificados en la aleta adiposa, la cual se degenera con el crecimiento y se pierde casi totalmente en los adultos. Su cuerpo es alto y robusto, de color plateado con la región dorsal oscura. Los peces jóvenes tienen la región ventral, las aletas pectorales y pélvicas de color naranja intenso. Las aletas dorsal, caudal y anal son oscuras (Géry et al 1977).

Habita en lugares más o menos profundos (lagunas o cerca de raudales) y en áreas inundadas en invierno. Es una especie migratoria que forma cardumen. Son omnívoros, se alimenta principalmente de frutas, semillas y limo durante el invierno. Además, de filtradores y carroñeros en el verano. Su reproducción está sincronizada con el período de lluvias; la maduración ocurre durante la sequía. Esta especie es de gran importancia comercial para el consumo humano. Los juveniles tienen además, valor ornamental por su llamativa coloración (Géry et al 1977).

Es un pez nativo de las cuencas de los ríos Orinoco y Amazonas, es considerada como la especie de mayor potencial productivo y comercial en la

piscicultura extensiva, semi intensiva e intensiva de aguas cálidas continentales de América tropical. Es una especie resistente al manejo en cautiverio, presenta alta docilidad y rusticidad. Resistente a enfermedades y de fácil adaptación a condiciones limnológicas desfavorables por períodos no prolongados (Mesa-Granda, M. N. 2007). Se desarrollan bien en aguas con temperaturas de 23 a 30 °C, resisten bajas concentraciones de oxígeno por cortos periodos (Salinas y Agudelo 2000).

Es una de las principales especies trasplantadas de Colombia, de hecho su introducción a la cuenca del río Magdalena ha sido exitosa, aportando 2,98 ton (1996) y 5.03 ton. (1997/1998) a la producción de dicha cuenca. Igualmente se ha introducido a muchas otras cuencas del país, con fines de piscicultura (Mojica, J. I et al 2012)

La Cachama Blanca (*Piaractus brachypomus*), es una especie de considerable importancia económica en la actividad acuícola de Brasil, Colombia, Venezuela, Perú y Centro América (Nascimento et al., 2010). En Colombia las principales zonas de producción son los departamentos del Meta, Córdoba, Tolima, Santander, Caquetá, Valle, Putumayo y Antioquia (Merino et al., 2006).

Sistema de biofloc.

El Biofloc (flóculos microbianos) está formado por una mezcla heterogénea de microorganismos, detritus, coloides, polímeros orgánicos, hongos, cationes y células muertas (Favre 2015).

El sistema biofloc fue desarrollado para mejorar el control ambiental sobre la producción y prevenir la introducción de enfermedades en lugares en donde se practican formas de acuicultura más intensivas (Hargreaves, J. A. 2013).

Este sistema se desarrolló en la década de los 70. Se basa en aprovechar los residuos de los alimentos, materia orgánica y compuestos inorgánicos tóxicos a través de microorganismos (micro algas, bacterias, protozoos) presentes en los medios acuáticos. Además producen como beneficio adicional, proteína microbiana que puede ser utilizada como alimento y ayudan a minimizar o evitar los recambios de agua (Avnimelech, 2009).

Entre las ventajas del biofloc se destacan, la mejora en la conversión del alimento, el uso más eficiente del agua (menos recambio) y del suelo, la reducción a la sensibilidad de los animales a las fluctuaciones de la luz, entre otros (Hargreaves, J. A. 2013).

Estos sistemas trabajan mejor con especies que son capaces de aprovechar algunos beneficios nutricionales del consumo directo de biofloc o de especies que puedan tolerar altas concentraciones de sólidos en el sistema y puedan tolerar la deficiente calidad del agua (Hargreaves, J. A. 2013).

Sistema de recirculación de agua.

La producción en sistemas de recirculación de agua, ofrecen un ambiente más eficiente y controlado para los peces. Los costos no son elevados y proporcionan

buenos dividendos. En estos sistemas el agua de desperdicio cargada con subproductos metabólicos de los peces se recicla con purificación biológica y física, reutilizándola en más de un 90 % (Hernández Barraza 2009).

Un sistema de recirculación es esencialmente un sistema cerrado que implica tanques para peces, filtros y sistemas de tratamiento de agua. Los peces son colocados en tanques en los que el agua es recambiada continuamente para garantizar las condiciones de óptimo crecimiento. El agua que es bombeada dentro de los tanques, pasa a través de sistemas de filtración biológica y mecánica antes de ser retornada a los tanques (Hernández Barraza 2009).

Las operaciones básicas de la recirculación han sido la separación sólido-líquido, la transferencia de gases, la bio-conversión, la desinfección del agua para disminuir el riesgo de enfermedades, y finalmente la impulsión y manejo hidráulico del agua a través de sistema de cultivo (Kubitza F., 2006)

La utilización de la tecnología en el tratamiento del agua tiene como ventajas: un monitoreo y control constante de las variables físico-químicas y sanitarias del agua, la reutilización del agua, producciones de altas densidades, y como desventajas: la necesidad de mano de obra calificada. El tratamiento del agua en Acuicultura persigue la eliminación de sustancias inertes, la destrucción de gérmenes patógenos y facilitar intercambios de gas entre la fase líquida y la gaseosa (Hernández Barraza 2009).

Patología clínica

Los estudios acerca de la patología clínica de los peces pueden potencialmente proveernos de información acerca de la salud del individuo y de la población. El estrés ambiental causado por la pobre calidad del agua debido a los gases tóxicos, a la toxicidad por metales pesados, o toxicidad debido a pesticidas puede ser detectado en las etapas tempranas monitoreando los cambios hematológicos, citológicos y en la química sanguínea. En adición el estrés por hacinamiento, deficiencias nutricionales, enfermedades infecciosas como no infecciosas pueden ser detectados mediante análisis sanguíneos y de tejido de los peces (Mancera y Alvarez. 2006).

Es necesario considerar que para realizar un diagnóstico en peces no basta con analizar sólo un individuo, sino que por el contrario, debe considerarse una muestra representativa de la población de peces. Así la información obtenida de esta muestra puede extrapolarse a la población de la cual provienen (Blaxhall y Daisley, 1973).

En medicina veterinaria, los perfiles bioquímicos de analítica sanguínea se solicitan muy frecuentemente e informan al médico del diagnóstico, la evolución de la enfermedad y la utilidad del tratamiento. Además estos parámetros informan sobre el estado y la función de órganos como el hígado, riñón, páncreas y corazón, entre otros (Herrera 2004).

Fisiología sanguínea

La sangre es un tejido que junto con el sistema circulatorio cumple funciones de transporte. Posee tres componentes fundamentales, las células rojas (Eritrocitos), las

células blancas (Leucocitos), y un espacio alrededor de estas células llamado espacio extracelular. Mientras que las células rojas por lo general permanecen dentro del sistema circulatorio, las células blancas pasan de la sangre, a través del endotelio a los espacios intersticiales entre las células para cumplir funciones de defensa (Farrell et al., 2011).

La sangre es, principalmente un medio de transporte para gases y solutos, incluyendo, oxígeno, dióxido de carbono, amoníaco, nutrientes y hormonas. Algunos de los anteriores componentes estrechamente relacionados entre sí. La composición sanguínea puede variar si varían sus componentes, por ejemplo, tanto los nutrientes como los desechos aumentan durante la ingesta de alimento. Así, mismo algunas hormonas se elevan durante el desarrollo reproductivo (Reagan. 1999).

Cuando una muestra de sangre es centrifugada y separada en un tubo, las células más densas son los glóbulos rojos, debido, en gran medida a la cantidad de hierro que transportan. Encima de los eritrocitos se encuentra una capa blanca o capa flogística, allí se encuentran los leucocitos o células blancas, se distinguen de las células rojas debido a su falta de hemoglobina y a su baja densidad celular. Encima de estas células descansa el plasma que puede tener en su interior células de grasa que son menos densas que el agua. El aumento de la composición relativa de la sangre es representada por un aumento en las células rojas, las células blancas y el plasma (Reagan. 1999).

Típicamente la sangre de los peces se compone de un 60 a 80 % por plasma, de un 20 a un 40% de glóbulos rojos y de 0.5 a 2.0% de leucocitos. Aunque en casos excepcionales el hematocrito puede exceder el 50% (Farrell et al., 2011).

Células rojas

Las células rojas de los peces son elipsoidales u ovoides, como las de los anfibios o reptiles, ellas poseen núcleo, que contrasta no solamente con las células rojas de los mamíferos sino también resultan más pesadas y grandes. Aunque estas dimensiones varían con las diferentes especies de peces, típicamente estarán dentro de los rangos de 10 a 20 μm de largo y entre 6 y 10 μm de ancho. La concentración de hemoglobina a nivel sanguíneo está bajo el control de la hormona eritropoyetina, quien regula el recambio de células rojas viejas o dañadas con células rojas nuevas por un fenómeno denominado eritropoyesis. El tejido hematopoyético más importante en los peces es el timo, bazo y riñón (Farrell et al., 2011).

Hematocrito

Las concentraciones de hemoglobina sanguínea en peces son típicamente lineales en cuanto al hematocrito se refiere. La concentración del hematocrito varía mucho de acuerdo a la especie de peces que estemos hablando. En la mayoría de los peces, la concentración del hematocrito puede variar desde el 10 al 40%. Cambios temporales primarios en el hematocrito principalmente envuelven, salida de las células

de los sitios de almacenamiento (Bazo) o secundariamente pueden envolver movimientos de los diferentes fluidos en el pez (Farrell et al., 2011).

La viscosidad sanguínea aumenta con el aumento del hematocrito y disminuye con la temperatura, tiene sentido energéticamente hablando llevar el hematocrito al mínimo que se necesite para el transporte del oxígeno durante la locomoción, especialmente bajo condiciones frías. (Reagan. 1999).

Cambios temporales para el hematocrito

Los peces experimentan un aumento temporal en el hematocrito y el transporte del oxígeno durante la hipoxia, estrés y ejercicio; en estas situaciones los glóbulos rojos almacenados en el bazo son liberados a la circulación bajo el control del nervio simpático (Farrell et al., 2011).

Concentración de hemoglobina corpuscular media (MCHC)

La concentración de hemoglobina de un solo glóbulo rojo, se expresa con la concentración de hemoglobina corpuscular media que puede variar entre la mayoría de peces de 170 a 340 g/L. La concentración de hemoglobina corpuscular media en la mayoría de las especies de peces es más baja que en la mayoría de los mamíferos, en parte por el espacio que ocupa el núcleo en la célula (Farrell et al., 2011).

El MCHC disminuye temporalmente por 2 razones principales: los glóbulos rojos de los peces tienden a hincharse. Por ejemplo las catecolaminas en situaciones de excitación tienden a hinchar las células sanguíneas. Esta hinchazón de las células puede cambiar el hematocrito hasta en un 5%. Este cambio se puede reconocer

fácilmente por que el valor del hematocrito aumenta pero el valor de la concentración de hemoglobina no (Farrell et al., 2011).

Células blancas

Como sucede en los mamíferos, las células blancas tienen funciones tanto de defensa como inmunitarias. Van a ser formados en 3 sitios principales de producción (timo, bazo y riñón). Los peces regulan la presencia de células blancas aunque su representación sea muy poca en el total de células sanguíneas (Farrell et al., 2011).

Química sanguínea

Los valores de química sanguínea son considerados indicadores válidos en la determinación del estado nutricional y de salud de peces; permiten determinar condiciones normales, detectar desórdenes fisiológicos y enfermedades causadas por factores diversos; la evaluación comparativa de parámetros de química sanguínea depende de la disponibilidad de valores de referencia normales para cada especie (Vásquez et al 2012).

Las variables plasmáticas más estudiadas en peces son glucosa, proteínas, triglicéridos, colesterol y urea. En el perfil bioquímico los de peces los substratos que se analizan frecuentemente son las proteínas totales, la fracción de albúminas y los lípidos (colesterol y triglicéridos) (Herrera 2004).

Las proteínas son esenciales para el mantenimiento, crecimiento, renovación y reemplazo de los tejidos, además de servir como fuente de energía en el metabolismo. La deficiencia de proteínas produce retardo del crecimiento, escaso desarrollo de huesos y cartílagos, entre muchas otras alteraciones. Entre las funciones de las proteínas se refieren el mantenimiento de la presión oncótica en el plasma, el transporte de sustancias a través del cuerpo (por ejemplo la ferritina y la ceruloplasmina), la inmunidad humoral, su acción tampón y la regulación enzimática. Su determinación está indicada cuando se sospecha de un proceso intestinal, renal y/o hepático o de una hemorragia (Herrera 2004).

La albúmina es la proteína de mayor concentración en el plasma y transporta muchas moléculas pequeñas en la sangre. Es vital para el mantenimiento de la presión oncótica de la sangre. Dado que la albúmina se sintetiza en el hígado, la disminución de la albúmina sérica puede ser producto de una enfermedad hepática, pero también puede ser resultado de una enfermedad renal que permite que la albúmina se escape por la orina. La disminución de la albúmina también tiene su explicación en una dieta baja en proteínas (Herrera 2004).

En los peces la albúmina sérica puede disminuir sus niveles en enfermedad hepática, lo cual también afecta al calcio, esto probablemente porque la albúmina actúa como transportador del calcio sérico (Casillas y col., 1986).

La hipoproteïnemia (disminución de albúminas y globulinas) en peces es indicativa de desnutrición, baja síntesis hepática y por pérdida o degradación en infecciones. La deficiencia de proteínas es usualmente debida a deficiencia de uno o

más aminoácidos esenciales, el primer signo es usualmente reducción del crecimiento, esto redundando en un mal funcionamiento hepático, mala hematopoyesis y mala función endocrina (Stoskopf 1992).

En cuanto a las proteínas totales, en los peces en general sus niveles también pueden estar disminuidos debido a daño renal, inanición, daño hepático y septicemia, tal como ocurre en la infección por *Aeromonas* (Herrera 2004).

Con respecto a los lípidos, el colesterol es el esteroide más común en los tejidos corporales y actúa como precursor de la síntesis de hormonas esteroidales y es también el principal componente estructural de las membranas celulares y de las vainas de mielina. La mayor parte del colesterol se sintetiza en el hígado, el resto procede de la dieta (Herrera 2004).

El colesterol en los peces participa como catalizador a nivel hepático. La concentración plasmática de colesterol está asociada a la alimentación, puede observarse un incremento marginal en la concentración de colesterol en las muestras extraídas en el periodo postprandial cuando se comparan con muestras obtenidas en ayuno (Bruno 1986).

Los triglicéridos son los lípidos más abundantes del organismo y su almacenamiento en el tejido adiposo supone una reserva especial de energía química para las necesidades de los tejidos. Proceden de la dieta y de la síntesis en el hígado (Davidson y Lumsden 2000). El descenso en los triglicéridos no está relacionado a una enfermedad específica, aunque ha sido descrito en varios casos de insuficiencia hepática aguda y crónica (Ford, 1977).

Dentro de los compuestos nitrogenados no proteicos (NNP), se encuentra la urea y creatinina. La urea en peces aumenta por daño en hígado y branquias y disminuye en daño renal. El consumo de proteína y el catabolismo de amino ácidos produce amonio, además de dióxido de carbono y agua. El catabolismo de purinas y argininas produce urea. La excreción del amonio y urea conlleva a la pérdida de material combustible por parte del pez. La mayor parte de esta pérdida de nitrógeno ocurre por la excreción a través de las branquias en forma de amonio, con alguna pérdida por parte de los riñones como urea y amonio (Herrera, 2004).

La urea en peces es producida a nivel hepático y pasa rápidamente a todos los tejidos del organismo. Su aumento en sangre es un indicador de insuficiencia hepática o alteración de las branquias y no necesariamente es indicadora de enfermedad renal (Stoskopf, 1992).

La creatinina en peces al igual que en mamíferos es producida a nivel muscular y excretada a nivel renal. El examen de creatinina en suero mide la cantidad de creatinina en la sangre. La creatinina es un producto de la degradación de la creatina, la cual es un elemento importante constitutivo del músculo y es utilizada comúnmente para medir la tasa de filtración glomerular (Herrera, 2004).

Las enzimas indicadoras de daño hepático en peces son: alanino amino transferasa (ALT) la cual aumenta en necrosis hepática, aspartato amino transferasa (AST) y glutamato deshidrogenasa (GLDH) la que es indicadora de daño celular a nivel de hepatocito. Las transaminasas son enzimas que intervienen en la síntesis y

degradación de aminoácidos actuando sobre la transferencia de grupos amino a cetoácidos (Herrera, 2004).

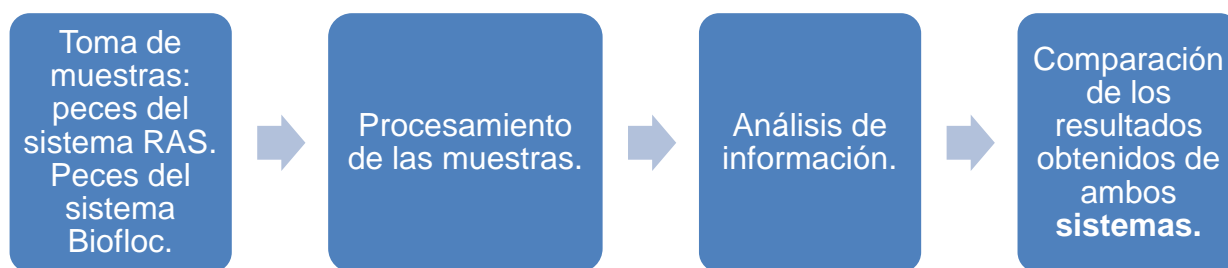
La ALT también conocida como transaminasa glutámico-pirúvica, GPT y SGPT, utiliza a la alanina como sustrato y se ubica básicamente en el citoplasma de las células hepáticas, por lo que su aumento es indicativo de alteración hepática. La AST también conocida como transaminasa glutámico-oxalacética, GOT y SGOT, utiliza aspartato como sustrato, se encuentra localizada además del citoplasma y las mitocondrias de las células hepáticas, en la célula cardíaca, tejido muscular esquelético, en el riñón, y en menor grado en otros tejidos (Herrera. 2004).

Al existir daño hepático se produce un incremento de ambas a nivel plasmático. Sin embargo, el nivel de estas enzimas no es tan elevado en enfermedades crónicas del hígado. Cuando existe daño hepático, el aumento de ALT es mayor al de AST. Si se produce un aumento más marcado de AST, puede ser debido a una alteración muscular, una falla cardíaca o una enfermedad renal. También un aumento sostenido en el tiempo de AST, puede corresponder a una enfermedad de origen vírico (Herrera. 2004).

Metodología

El trabajo fue realizado de la siguiente manera:

Ilustración 1. Desarrollo el trabajo.



Se examinaron 50 peces con un peso esperado promedio de 145 gramos/animal, provenientes de un cultivo semi intensivo en un sistema de recirculación de agua e igual número de individuos de un sistema Biofloc; estos peces se encontraban en la estación piscícola de la Corporación Universitaria Lasallista, allí se mantuvieron controladas las condiciones óptimas para la especie como: oxígeno disuelto, pH, temperatura, dureza, alcalinidad, amonio entre otros.

Para la toma de las muestras los peces fueron depositados en recipientes plásticos grandes con agua (a temperatura ambiente) y aceite de clavo (eugenol®) como anestésico, utilizado para disminuir el estrés pos captura y reducir temporalmente la sensibilidad y reflejos de los individuos al bloquear la actividad nerviosa de forma reversible y al reducir la transmisión sináptica en la unión neuromuscular. La sangre fue extraída por punción en la vena caudal con jeringas heparinizadas como

anticoagulante, esta se localiza punzando caudal a la aleta anal y dirigiendo la aguja hacia la línea media sin chocar la columna vertebral del pez; la heparina de litio es comúnmente usada como anticoagulante para la toma de muestras en aves, reptiles, peces y anfibios, esta actúa sobre la trombina, que desempeña un importante papel en la formación del coágulo en la sangre. Se obtuvo en promedio 250 µl por animal, y se depositó en tubos para toma de muestra (Vacuette®) con anticoagulante EDTA (Ethylen Diamino Tetra Acético); cuyo mecanismo de acción es quelando el calcio de manera irreversible; también se depositó una parte de la muestra en tubos tapa roja para realizar la química sanguínea.

Al mismo tiempo de la toma de la muestra se realizaron extendidos sanguíneos para la descripción morfológica de eritrocitos, leucocitos y trombocitos.

Una vez en el laboratorio de estudios clínicos veterinarios de la Corporación Universitaria Lasallista, se continuó con el procesamiento las muestras.

El recuento total de eritrocitos, leucocitos y trombocitos se realizó en cámara de Neubauer de 0,0025 mm² (Optic Labor, Alemania) y como diluyente se usó el reactivo de Natt-Herrick®. La cámara hemocitométrica de Neubauer es una gruesa placa de cristal con forma de portaobjetos con de unos 30 x 70 mm y unos 4 mm de grosor, el cual cuenta con una cuadrícula que mide 3 mm x 3 mm de lado, subdividida a su vez en 9 cuadrados de 1mm de lado cada uno. Se usa para realizar conteos celulares en un medio líquido.

Luego de depositar una gota de la muestra diluida se cubre la cámara con un cubreobjetos y se observa al microscopio. Se cuentan los cuadrados de las esquinas

(4) y el central de la cuadrícula de la cámara. El número total de eritrocitos por microlitro se calcula multiplicando el número de eritrocitos contados por 10.000.

El reactivo de Natt-Herrick®, se usa para el recuento microscópico de eritrocitos, leucocitos y trombocitos en sangre de aves, reptiles y peces. Se usa en dilución 1:200. Además, puesto que se utiliza la misma dilución tanto para las células rojas, blancas y trombocitos, el recuento total de células puede obtenerse simultáneamente a partir del mismo hemacitómetro cargado.

Para medir el hematocrito se utilizó una microcentrifuga (Indulab®, CT1-D, Colombia) con tubos de microhematocrito heparinizados. Este se refiere al porcentaje que ocupan los hematíes respecto a la sangre. Al ser centrifugada la sangre a 1.500 rpm, se separan el plasma de las células, quedando el plasma en la parte superior del tubo, las células blancas en el medio (capa flogística) y las células rojas en el fondo. El resultado se expresa en porcentaje y se mide con la ayuda de una tabla de microhematocrito.

La hemoglobina (Hb) se miden con el reactivo de Drabkin® siguiendo la metodología de la cianometahemoglobina y la lectura con espectrofotómetro a 546 nm. La hemoglobina es una proteína conjugada que sirve para el transporte de oxígeno y dióxido de carbono. La hemoglobina presente en la muestra, en presencia de ferricianuro, se oxida a hemiglobina (también llamada metahemoglobina) que, a su vez, se combina con iones de cianuro a pH 7,2 convirtiéndose en cianuro de hemiglobina (o cianometahemoglobina). La concentración del último es directamente proporcional a la cantidad de hemoglobina presente en la muestra.

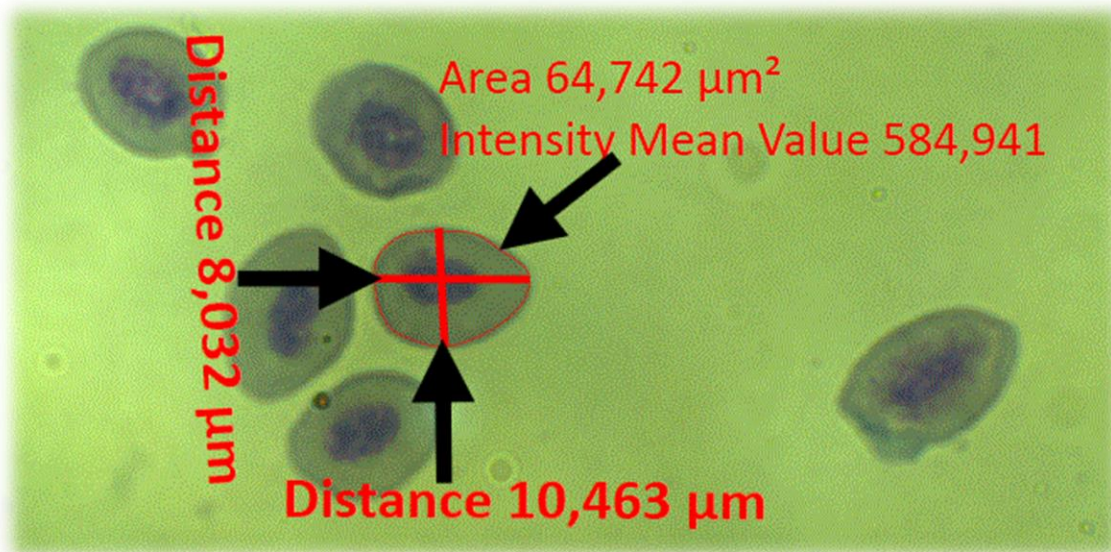
Cada extendido sanguíneo se tiñó con Hematoxilina-Eosina (Hemacolor®).

La hematoxilina al ser catiónica o básica, tiñe estructuras ácidas (basófilas) en tonos azul y violeta (afinidad por los núcleos celulares).

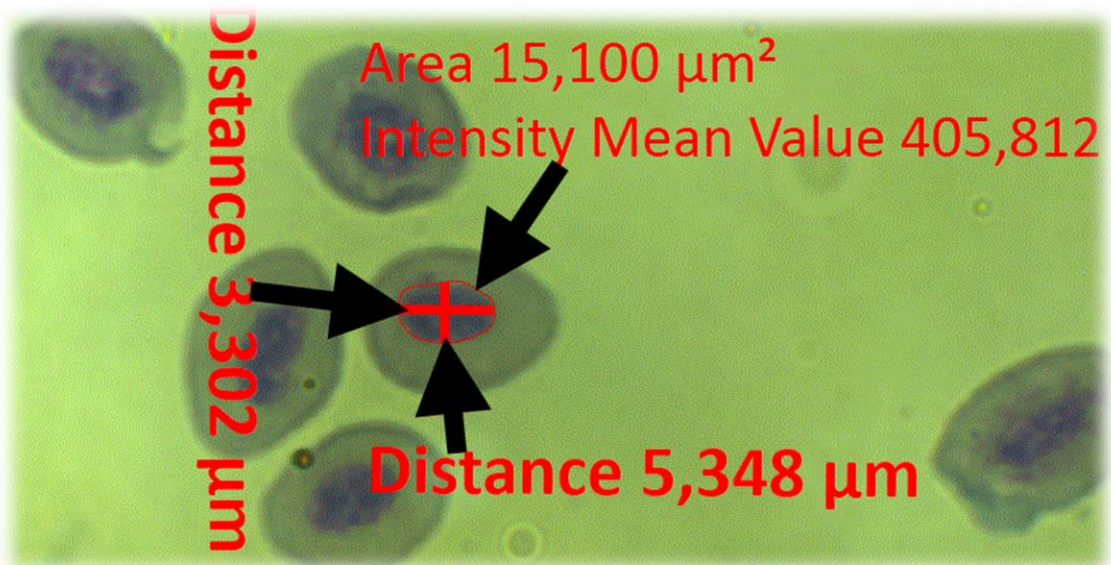
La eosina al ser aniónica o ácida, tiñe estructuras básicas (acidófilos) en tonos rosa (afinidad por el citoplasma).

Procedimiento: Se introduce la placa con el extendido sanguíneo seco en metanol durante 3 segundos. Pasado el tiempo se deja secar al aire libre sin tocarla. Cuando está seca se introduce la hematoxilina durante 5 segundos y sin limpiar o dejar secar se introduce en la eosina durante otros 5 segundos. Se enjuaga con agua limpia para retirar el exceso de colorante y se deja secar al aire libre.

Para continuar con la morfometría de las células sanguíneas, se tomaron fotografías de los distintos tipos de células con la ayuda de un microscopio de luz en objetivo de 100X y una gota de aceite de inmersión, con cámara fotográfica digital incorporada (Carl Zeiss, Microscopy GmbH). Se midió el ancho, largo y área total de la célula y el núcleo. Estas mediciones se realizaron con la ayuda de un software analizador de imagen (ZEN imaging software V3.0 ®) **Imagen 1**. La información obtenida fue organizada en tablas de Excel para su análisis estadístico.

Ilustración 2. Medidas realizadas

Largo ancho y área de la célula.



Largo ancho y área del núcleo.

Análisis de los datos

Los datos fueron organizados en tablas para su análisis, se utilizó un análisis estadístico de varianza de doble vía; Este diseño permite estudiar simultáneamente los efectos de dos fuentes de variación. La información permitirá entender el manejo sanitario al que pueden ser sometidos los individuos de esta especie bajo los diferentes sistemas de producción.

Para el análisis de los datos se empleó un análisis de varianza de doble vía, utilizando un nivel de confianza del 95%, y un nivel de potencia del 80% para determinar diferencias significativas. Cuando se encontraron diferencias significativas se empleo la técnica de comparaciones múltiples de LSD (Least Significant Difference).

Se dividieron las células en glóbulos rojos (eritrocitos) y glóbulos blancos (heterófilos, monocitos, linfocitos y trombocitos), en cada caso se analizaron las variables largo, ancho y área del núcleo y de la célula por separado, luego se observó si había diferencias significativas en cada sistema (biofloc y RAS). Se dice que la diferencia es estadísticamente significativa cuando el valor p es menor a 0.05.

Resultados y discusión

Para el hemoleucograma (**tabla1**) se reportan los valores de eritrocitos, hemoglobina, hematocrito y leucocitos, donde no se encontraron diferencias significativas.

En la química sanguínea (**Tabla 2**) no se encontraron diferencias significativas con respecto a los valores reportados en la literatura para triglicéridos, proteínas, creatinina, colesterol y albumina.

Para los valores de Aspartato aminotransferasa (AST) y alanino aminotransferasa (ALT) se evidenciaron diferencias significativas. Esta diferencia se observó más marcada en el caso de la AST de los peces de biofloc, lo cual era de esperarse ya que en este medio, los peces están expuestos a una carga patógena alta con la que tienen que convivir y a un medio donde hay poca oxigenación, por lo que el amonio producto de los desechos de los peces tarda más en liberarse, lo que hace que el organismo tenga que adaptarse a todas estas condiciones y probablemente el órgano que más funcionamiento lleve a cabo es el hígado, dando como consecuencia un aumento de las enzimas liberadas en el en caso de daño.

En cuanto la morfometría de los eritrocitos (**tabla 3**), las células presentaron diferencias significativas para el largo y ancho de la célula y para el ancho del núcleo. Aun así se puede inferir que los eritrocitos del sistema de biofloc son más grandes tanto en el tamaño de la célula como en el tamaño del núcleo.

Para los leucocitos se organizaron dos tablas. Para los heterófilos (**Tabla 4**), se encontraron diferencias en todas las medidas, siendo las células de recirculación más

pequeñas que las de biofloc, los parámetros que más variación tuvieron fueron los que corresponden al núcleo (largo, ancho y área del núcleo) lo que podría decir que es una célula muy activa.

Para los monocitos (**tabla 4**) también encontramos que las células de biofloc son más grandes que las de recirculación, pero la diferencia en todos los parámetros es mucho más marcada. Teniendo en cuenta que la principal función de los monocitos/macrófagos es fagocítica.

Los linfocitos, son células con un núcleo grande, de casi todo el tamaño de la célula, lo que nos llevó a realizar solo las medidas de la célula, (largo, ancho, área).Nuevamente se encuentra que las células de biofloc son más grandes. Los linfocitos se ocupan tanto de las respuestas humorales como celulares. **Tabla 5.**

Tablas

Tabla 1. Hemoleucograma.

	Recirculación de agua.		BIOFLOC	
	Promedio	DS	Promedio	DS
Eritrocitos X 106	1.289	283,17	1.198	172,55
Hemoglobina g/dl	13,1	2,40	14,8	2,43
Hematocrito %	39	7,19	30	4,94
Leucocitos X 103	3004,8	1274,61	3078,8	2329,12

Tabla 2. Química sanguínea.

	Recirculación de agua.		BIOFLOC	
	Promedi o	DS	Promedi o	DS
Triglicéridos mg/dl	362	8,49	317,33	76,428
Proteínas g/l	32,73	1,17	35,53	1,78
Creatinina g/dl	0,24	0,09	0,25	0,05
Col mg/dl	172	9,90	177,66	31,53
AST U/L	295	38,18	498,66	452,69
ALT U/L	30,5	12,02	48,33	19,59
Albumina g/l	10,665	0,09	11,33	2,12

Tabla 3. Morfometría. Eritrocitos.

ERITROCITOS.						
	Largo Célula	Ancho Célula	Área Célula	Largo Núcleo	Ancho Núcleo	Área Núcleo
Recirculación de agua.						
Promedio	11,4	7,6	70,0	5,3	3,1	14,9
Desv. Estad.	1,1	2,9	12,4	0,3	0,5	4,0
Biofloc.						
Promedio	27,9	21,0	72,2	5,7	8,4	15,8
Desv. Estad.	439,5	340,4	9,4	0,7	128,9	2,7

Tabla 4. Leucocitos.

LEUCOCITOS.												
Recirculación de agua.						Biofloc.						
	Largo Célula	Ancho Célula	Área Célula	Largo Núcleo	Ancho Núcleo	Área Núcleo	Largo Célula	Ancho Célula	Área Célula	Largo Núcleo	Ancho Núcleo	Área Núcleo
Heterofilos.												
Promedio	12,60	13,67	156,82	6,37	5,97	28,69	21,04	19,86	429,72	12,51	63,89	133,23
Desv. Estad.	4,57	0,26	5,55	0,45	0,74	5,11	10,02	10,22	361,96	7,41	606,76	119,17
Monocitos.												
Promedio	9,01	9,24	65,71	4,363	3,21	7,539	19,88	2288,25	344,45	13,21	12,81	151,52
Desv. Estad.	0,22	1,00	12,709	0,27	0,35	1,06	9,66	15322,6	328,75	6,44	6,37	115,23

Tabla 5. Leucocitos

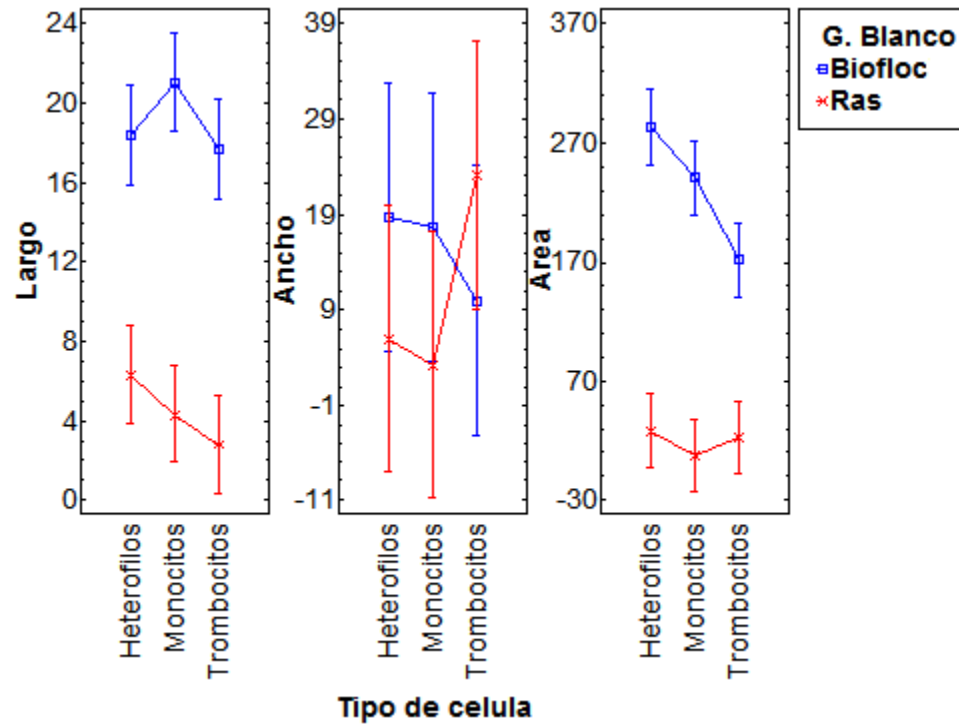
LEUCOCITOS.												
Recirculación de agua.							Biofloc.					
	Largo Célula	Ancho Célula	Área Célula	Largo Núcleo	Ancho Núcleo	Área Núcleo	Largo Célula	Ancho Célula	Área Célula	Largo Núcleo	Ancho Núcleo	Área Núcleo
Linfocitos.												
Promedio	7,94	6,35	27,90	-	-	-	12,16	10,64	1149,15	-	-	-
Desv. Estad.	1,33	0,36	2,92	-	-	-	15,76	8,94	14596,22	-	-	-
Trombocitos.												
Promedio	10,98	5,2525	25,21	2,78	23,07	22,92	17,81	12,34	198,53	12,93	8,71	103,18
Desv. Estad.	0,77	0,95	22,6981	0,45	28,13	0,72	7,93	5,64	138,98	5,60	4,20	69,93

Análisis estadístico

Análisis del núcleo de las células blancas.

En la **Ilustración 3** vemos como las líneas del largo y el área no se sobreponen, lo que indica que hay una diferencia significativa entre ambos sistemas, mientras que las líneas del ancho se entrelazan en los 3 tipos de células, esto significa que para ambos sistemas las medidas son similares, por lo que tienen que usar los mismos dígitos en la gráfica. También podemos apreciar en todos los casos que las células de biofloc (líneas azules) presentan mayor medida que las células de RAS (líneas rojas).

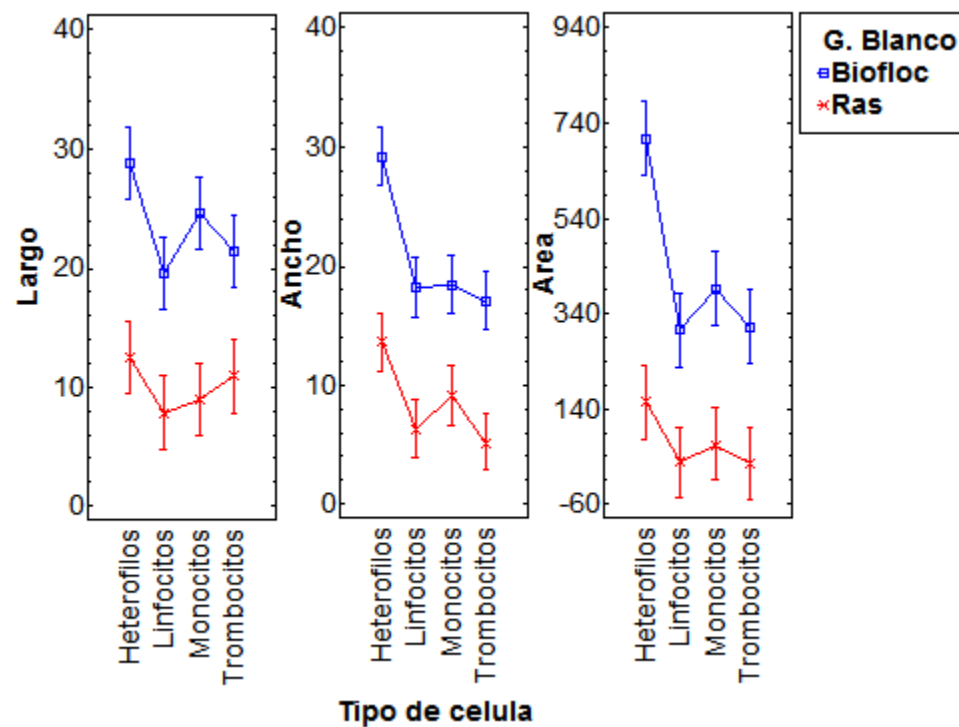
Ilustración 3. Comparación múltiple LSD, Análisis del núcleo de los glóbulos blancos.



Análisis de la célula, glóbulos blancos.

En la **Ilustración4** se ve como ninguna línea se entrelaza y muestra que las células de biofloc (líneas azules) son de mayor tamaño que las de RAS, además muestra que para todas las medidas, las células de mayor tamaño son los heterófilos y el ancho de las 4 células de biofloc es similar.

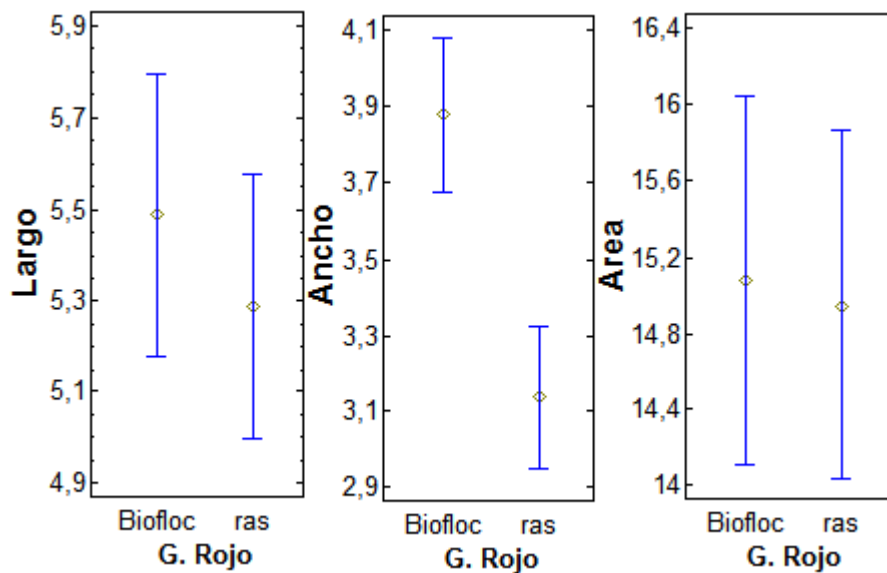
Ilustración 4. Comparación múltiple LSD, Análisis de la célula de los glóbulos blancos.



Análisis del núcleo, glóbulos rojos.

La **Ilustración 5** muestra que el largo y el área usan los mismos dígitos de la grafica, por lo que se entrelazan, esto significa que no hay diferencia significativa en estas medidas. El ancho muestra diferencia al haber un espacio entre ambas líneas en el plano vertical.

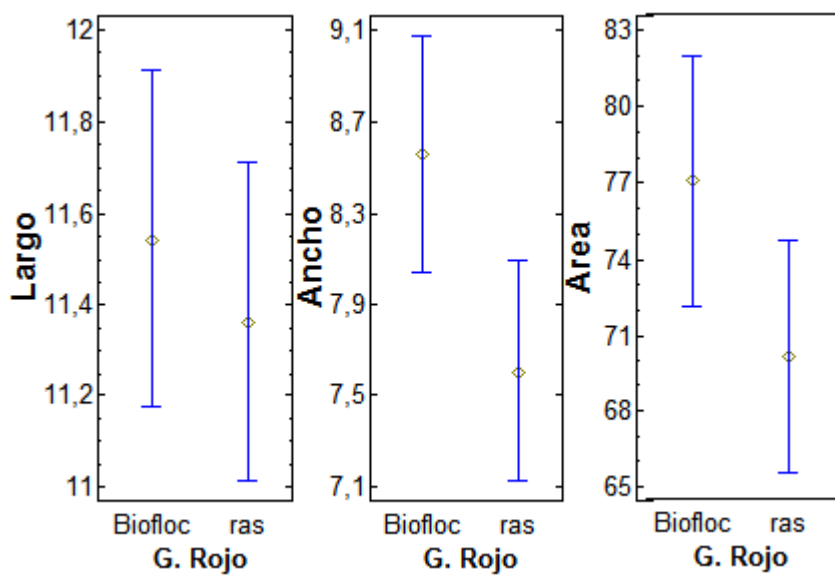
Ilustración 5. Comparación múltiple LSD, análisis del núcleo de los glóbulos rojos.



Análisis de la célula, glóbulos rojos.

La **Ilustración 6** muestra que todas las medidas usan los mismos valores de la gráfica, esto significa que no hay diferencia significativa en estas medidas. También muestra que las células de biofloc son de mayor tamaño que las de RAS.

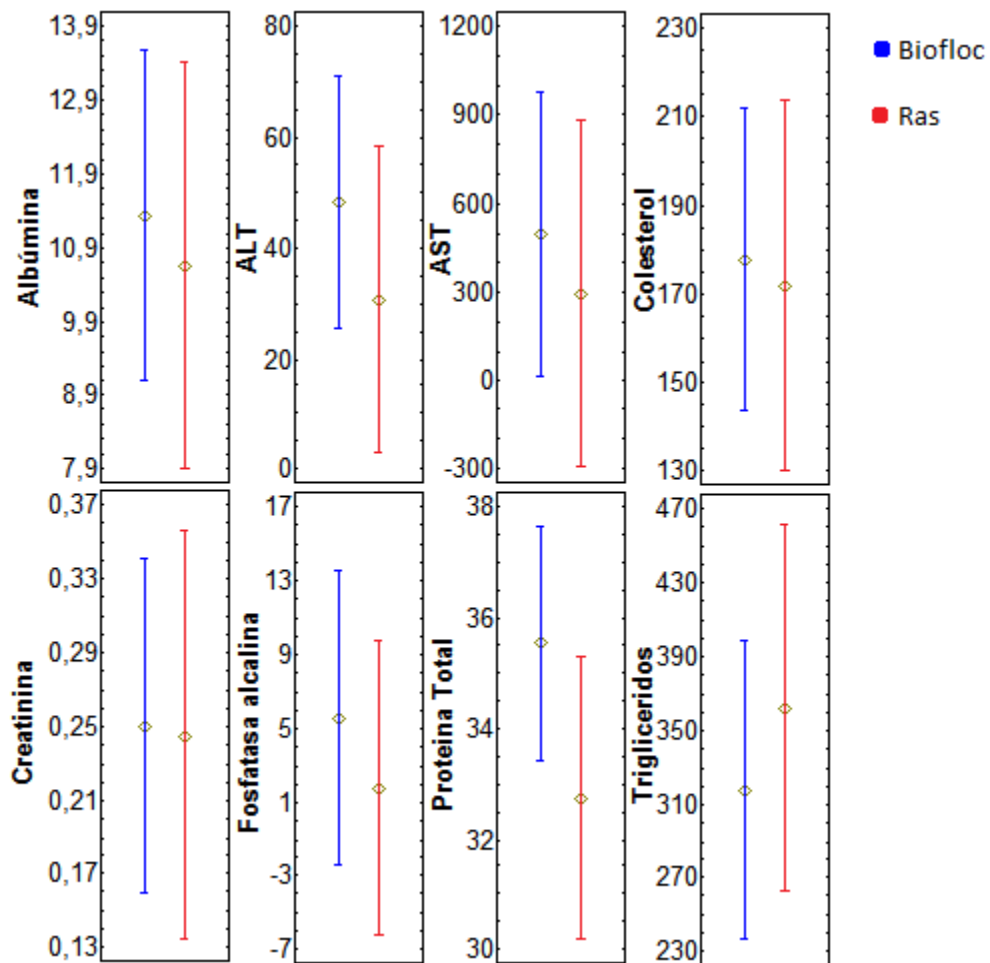
Ilustración 6. Comparación múltiple LSD, análisis de la célula de los glóbulos rojos.



Análisis de la química Sanguínea.

En la **Ilustración 7** se encuentran los valores de albumina, AST, ALT, colesterol, creatinina, fosfatasa alcalina, proteína séricas y triglicéridos, se ve que todas las líneas utilizan los mismos valores aunque todas presentan diferente comienzo y diferente final.

Ilustración 7. Comparación múltiple LSD, Química sanguínea



Conclusiones

Los peces cultivados en biofloc tuvieron mayor número y mayor tamaño de células blancas a diferencia de los peces mantenidos en RAS. Esto debido a una mayor actividad (quimiotáctica, fagocítica y microbicida) de los glóbulos blancos en el sistema de biofloc.

Las células rojas del sistema de biofloc presentaron mayor tamaño (ancho, largo y área) que el sistema RAS, esto se dio por una mayor necesidad de disponibilidad de oxígeno debido a que el agua permanece estancada y no logra captar el oxígeno requerido para los peces. El glóbulo rojo podría ser mayor por la necesidad de una mayor superficie de contacto para realizar el intercambio de gases.

La realización de este trabajo muestra la facilidad con que los parámetros hematológicos pueden variar dependiendo el medio en que se encuentre el animal. Hacer controles periódicos hematológicos en los peces de diferentes cultivos mostrara el estado sanitario de la población y permitirá hacer ajustes antes de presentar enfermedades, disminuyendo así el índice de mortalidad.

Hay muy poca información acerca de hematología de peces y esta se encuentra muy generalizada, es de importancia caracterizar las principales familias de peces y aun mas las mas cultivadas en el país.

Referencias bibliográficas

Adhikari, S., Sarkar, B., Chatterjee, A., Mahapatra., C.T., Ayyappan, S. (2004). Effects of cypermethrin and carbofuran on certain hematological parameters and prediction of their recovery in a freshwater teleost; *labeo rohita* (Hamilton). *Ecotoxicology and Environmental Safety*.58, 220-226.

Blaxhall, PC and Daisley KW (1973) Routine haematological methods for use with fish blood *J. Fish. Biol.* 5: 771-781.

Bruno, D. W. (1986).Changes in serum parameters of rainbow trout (*Salmogairdneri*) Richardson and atlantic salmon *Salmo salar* Infected with *Renibacterium salmoninarum*.Department of agriculture and fisheries for Scotland, Marine Laboratory, Aberdeen, Scotland. *Journal of fish diseases*.

Centeno, L., et al. (2007). Características hematológicas de la cachama (*Colossoma macropomum*) en tres etapas de crecimiento cultivadas en el estado Delta Amacuro, Venezuela. *Zootecnia Trop.* 25(4), 237-243.

Chena, C., Woostera, G.A., Getchella, R.G., Bowsera, P.R., Timmons, M.B. (2003). Blood chemistry of healthy, nephrocalcinosisaffected and ozone-treated tilapia in a recirculation system, with application of discriminant analysis. *Aquaculture*. 218, 89-102

Collazos-Lasso, L. F., Arias-Castellanos, J. A., (2015). Fundamentos de la tecnología biofloc (BFT). Una alternativa para la piscicultura en Colombia. Una revisión. Universidad de los Llanos. *Orinoquia*, 19() 77-86.

Farrell, P. (2011). *Encyclopedia of fish physiology from genome to environment*. Canada.

Favre, J. L., (2015). IV congreso nacional de acuicultura. Tecnología cero-recambio.

Fresneda, A., Lenis, G., Agudelo, E., Olivera, M. (2004). Espermiación inducida y crioconservación de semen de Cachama Blanca (*Piaractus brachypomus*). *Rev Col Cienc Pec.* 17, 46-52.

Galvis, G., et al. (2007). *Peces de la Amazonía colombiana con énfasis en especies de interés ornamental*. Bogotá: Instituto Colombiano de Desarrollo Rural (INCODER), Universidad Nacional de Colombia e Instituto amazónico de Investigaciones Científicas (SINCHI).

Hargreaves, J. A., (2013). *Biofloc Production Systems for Aquaculture*. Southern regional aquaculture center. SRAC Publication No. 4503.

Hernández Barraza, C A; Aguirre Guzmán, G; López Cantú, D G; (2009). Sistemas de producción de Acuicultura con recirculación de agua para la Región Norte, Noreste y Noroeste de México. *Revista Mexicana de Agronegocios*, XIII() 117-130.

Herrera-Farfán, E. A.,(2004). Perfil metabólico de salmón atlántico *salmo salar* y trucha arcoíris *oncorhynchus mykiss* de tres pisciculturas en fase de agua dulce en el sur de Chile. Universidad austral de Chile.

Lagler, K. F., J. E. Bardach, R. R. Miller y D. R. May Passino. (1990). *Ictiología*. México, D. F: AGT, S.A.

Mancera-Rodríguez, N. J., Álvarez-León, N.M. (2006). Estado del conocimiento de las concentraciones de mercurio y otros metales pesados en peces dulceacuícolas de Colombia. *Acta Biológica Colombiana*,11.1

Martins, M.L., Moraes, F.R., Moraes, J.R.E., Malheiros, E.B. (2000) Falha na resposta do cortisol estresse por captura e por carragenina em *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae). *Acta Sci Ani Sci.* 22, 545-552.

Merino, M.; Salazar, G. Gómez, D. (2006). Guía práctica de piscicultura en Colombia. Ministerio de agricultura y Desarrollo rural, Instituto Colombiano de Desarrollo Rural-INCODER. 80p.

Mesa-Granda, M; Botero-Aguirre, M; (2007). La cachama blanca (*Piaractus brachypomus*), una especie potencial para el mejoramiento genético. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 20() 79-86.

Mojica, J. I., Usma,J. S., Álvarez-León,R., Lasso, C. A.,(2012). *Libro rojo de peces dulceacuícolas de Colombia 2012*. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Bogotá, D. C.: Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia, WWF Colombia y Universidad de Manizales. 319 pp.

Nascimento, A.F., Maria, A.N., Pessoa, N.O., Carvalho, M.A., Viveiros, A.T. (2010). Outofseason sperm cryopreserved in different media of the Amazonian freshwater fish pirapitinga (*Piaractus brachypomus*). *Animal Reproduction science*.118, 324-329.

Pavlidis, M., Fütter, W.C., Katharios, P., Divanach, P. (2007). Blood cell profile of six Mediterranean mariculture fish species. *Journal of Applied Ichthyology*. 23,70-73.

Salinas-Coy, Y., Agudelo-Córdoba, E. (2000). Peces de importancia económica en la cuenca amazónica colombiana. Instituto amazónico de investigaciones científicas.

Stoskopf, M. K., (1992). *Fish medicine*. Philadelphia.WBSC

Tavares-Dias, M., Mataqueiro, M.I. (2004). Características hematológicas, bioquímicas e biométricas de *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae) oriundos de cultivo intensivo. *Acta Scient*.26(2), 157-162.

Tavares-Días, M., Moraes, F.R. (2007). Haematological and biochemical reference intervals for farmed channel catfish. *J Fish Biol*. 71, 383-388.

Valenzuela, A., Alveal, K., Tarifeño, E. (2002). Respuesta hematológica de truchas (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792) a estrés hipóxico agudo: serie roja. *Gayana*. 66(2), 255 - 261.

Valenzuela, A., Oyarzún, C., Silva, V. (2003). Células sanguíneas de *Schroederichthys chilensis* (Guichenot 1848) (Elasmobranchii, Scyliorhinidae): serie blanca. *Gayana*. 67(1), 130 – 137.

Vásquez-Torres. W., Hernandez-Arevalo. G., Gutiérrez-Espinosa., M., Yossa. (2012). Efecto del nivel de proteína dietaria sobre el crecimiento y parámetros séricos en cachama blanca (*Piaractus brachypomus*). *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 25. 450-461.

Wiley, J., Sons. (1994). *Taxonomia Sensu Nelson. J., Fishes of the World*. Tercera edición. New York. EEUU.

Reagan. W., j., Sanders. T., G., DeNicola. D., B., (1999) *Hematología veterinaria. Atlas de especies domesticas comunes*. Harcourt brace. Barcelona. España.