

Parámetros hematológicos de *Tilapia nilótica* (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1757) con peso entre 250 g y 350 g, en el Centro Experimental Piscícola de la Universidad de Caldas

ARTÍCULO DE
INVESTIGACIÓN



Christine M. Hahn-Von-Hessberg¹, Alberto Grajales-Quintero¹, Ana Verónica Gutiérrez-Jaramillo²

¹Departamento Sistemas de Producción, Universidad de Caldas, Manizales, Caldas, Colombia.

²Programa de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de Caldas, Manizales, Caldas, Colombia.

christine.hahn@ucaldas.edu.co

(Recibido: febrero 2, 2011; aprobado: abril 9, 2011)

RESUMEN: La *Tilapia nilótica* (*Oreochromis niloticus*) es el segundo pez de cultivo más importante en todo el mundo por su excelente rendimiento productivo, resistencia a condiciones adversas y aceptación en el mercado. Los reportes de valores hemáticos de esta especie, en las condiciones ecológicas y productivas de nuestro país, son limitados, de ahí que se buscará determinar los parámetros hematológicos a partir de la especie cultivada en la Estación Piscícola, de la Universidad de Caldas en Santágueda (Caldas, Colombia), para corroborar cuadros hemáticos. En esta investigación, los recuentos diferenciales condujeron a identificar ocho tipos celulares: eritrocitos, policromatocitos, trombocitos, linfocitos, neutrófilos, monocitos/macrófagos, basófilos y eosinófilos. Así, los valores para las variables hematológicas fueron: concentración promedio de eritrocitos $1,78 \pm 0,056 \times 10^6/\text{mm}^3$, promedio del VSE $2,10 \pm 0,14 \text{ mm/h}$, Htc $33,63 \pm 0,58\%$, concentración de Hb $8,56 \pm 0,21 \text{ g/dl}$, VCM y HCM promedio $200,47 \pm 7,90 \mu^3$ y $50,50 \pm 1,85 \mu\text{g}^3$, y concentración promedio de leucocitos $1,21 \pm 0,07 \times 10^5/\text{mm}^3$. En la fórmula leucocitaria total los grupos celulares representaron: linfocitos $76,78 \pm 1,67\%$, neutrófilos $7,07 \pm 0,93\%$, monocitos/macrófagos $1,20 \pm 0,23\%$, basófilos $0,35 \pm 0,11\%$ y eosinófilos $0,07 \pm 0,05\%$, mientras que los trombocitos alcanzaron el $14,53 \pm 1,27\%$. Se concluyó que, en consideración con los valores arrojados de las variables, estos son semejantes a los reportados por otros autores para *O. niloticus* en condiciones similares en otros países.

Palabras clave: Ciclidae, eritrocitos, hemogramas, peces, sangre

Hematological parameters of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1757) between 250 g and 350 g bodyweight, in the Experimental Fish Center of Caldas University

ABSTRACT: *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*) is the second largest most important fish farming around the world because of its excellent production yield, resistance to adverse conditions and marketing acceptance. The hematic values report of this species, in the ecological and productive conditions of our country are unknown, reason why the hematologic parameters will be determined from the Fish Farming Experimental Station of Universidad de Caldas, located in Santágueda (Caldas, Colombia) in order to corroborate hemographs. In this research differential counts led to the identification of eight cell types: erythrocytes, policromatocythes, thrombocythes, lymphocytes, neutrophyles, monocytes/macrophages, basophils and eosinophils. The obtained values for the hematological variables were: erythrocytes mean concentration $1.78 \pm 0.056 \times 10^6/\text{mm}^3$, VSE mean $2.10 \pm 0.14 \text{ mm/h}$, Htc $33.63 \pm 0.58\%$, Hb concentration $8.56 \pm 0.21 \text{ g/dl}$, VCM and HCM mean $200.47 \pm 7.90 \mu^3$ y $50.50 \pm 1.85 \mu\text{g}^3$ and leukocytes concentration mean $1.21 \pm 0.07 \times 10^5/\text{mm}^3$. In the total leukocytes formula the cell groups had the following distribution: lymphocytes $76.78 \pm 1.67\%$, neutrophyles $7.07 \pm 0.93\%$, monocytes/macrophages $1.20 \pm 0.23\%$, basophils $0.35 \pm 0.11\%$ and eosinophils $0.07 \pm 0.05\%$, while thrombocythes reached $14.53 \pm 1.27\%$. The values of the hemoatologic parameters are similar to those reported for *O. niloticus* by other researchers under similar conditions.

Key words: Ciclidae, erythrocytes, hemographs, fish, blood

Introducción

Como ya es bien admitido, el desconocimiento y la escasez de investigaciones disponibles en áreas como la ictiofisiología y la ictiopatología de especies de importancia productiva y económica en las condiciones del trópico, han puesto en desventaja productiva al sector piscícola nacional. De ahí que se hace necesario, en una primera instancia, determinar parámetros hematológicos normales que sustenten el examen de especies, como la Tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*), en la búsqueda de una mejor calidad y producción de especies nativas de nuestra región.

En 2006, a excepción de los datos correspondientes a China, el abastecimiento *per cápita* de productos pesqueros se estimó en 13,6 kg. En total, los productos pesqueros proporcionaron a más de 2.900 millones de personas, al menos un 15% del aporte medio de proteínas animales. La contribución de las proteínas del pescado al suministro mundial total de proteínas animales, se incrementó desde el 14,9% en 1992 hasta un máximo del 16,0% en 1996. En 2005, a pesar del consumo relativamente bajo de pescado en peso, 13,8 kg *per cápita*, en los países de bajos ingresos y con déficit de alimentos (PBIDA, 2009), la contribución del pescado al aporte total de proteínas animales fue notable (18,5%), y es probable que sea superior a la indicada por las estadísticas oficiales en vista de la contribución insuficientemente registrada de la pesca en pequeña escala y de subsistencia (FAO, 2009). La producción mundial de pescado durante los últimos 50 años, ha tenido un crecimiento del 3,84% promedio anual: en 1950 la producción fue de 19 millones de toneladas métricas, mientras que en 2001 aumentó a 130 millones de toneladas métricas (Wiefels, 2003). El rápido desarrollo que ha tenido la acuicultura entre 1950 y 2001, con un crecimiento de producción del 684% (Wiefels, 2003), demuestra que cada vez son más los consumidores y productores de pescado a nivel continental, cuyos países en desarrollo cuentan con mayor capacidad de ampliación en sus sistemas productivos.

La demanda de productos pesqueros provenientes de la acuicultura, pasó de 15,3 millones de toneladas en 1993 (del total de la demanda pesquera mundial de 72,3 millones de toneladas) a 31 millones de toneladas en 2010 (de una demanda total de 91 millones de toneladas), reafirmando el panorama favorable para la acuicultura en los próximos años. Estas cifras apuntan al desarrollo y diseño de estrategias tecnológicas, comerciales y productivas, cuyo objetivo será aumentar la competitividad del sector (Caballero et al., 1998). Sin embargo, son pocas las investigaciones realizadas que ofrezcan herramientas diagnósticas disponibles, lo cual pone en desventaja la producción piscícola.

Para autores como Hylander et al. (*apud* Ranzani-Paiva et al., 2005), un indicador real del estado de un ecosistema acuático y de la calidad del agua, lo constituyen los peces. De ahí que un cuerpo de agua se considere contaminado si los peces no viven o proliferan en él, ya que la mayoría de los agentes causales de enfermedades en los peces se encuentran en el agua y están relacionados directamente con la calidad de la misma (Boyd, 1990). De igual manera, los análisis de sangre de estas especies constituyen un procedimiento de rutina en muchos laboratorios de diagnóstico por ser un proceso relativamente rápido (Conroy, 1989, 1998; Anderson & Barney *apud* Conroy, 1998), por lo que la hematología se presenta como un valioso instrumento para el diagnóstico y pronóstico de enfermedades infecciosas, deficiencias y cambios medio ambientales, en poblaciones de peces que viven en un ambiente natural o en confinamiento (Ainsworth, 1992; Stoskopf, 1993, 1998; Klontz, 1994).

El inicio de la ictiohematología –disciplina que estudia la sangre de los peces– se remonta a finales del siglo XIX y se desarrolló principalmente en salmónidos. La diferenciación e identificación celular durante muchos años, se basó en la morfología celular y su comparación con las células de aves y mamíferos; teorías reevaluadas que propusieron estandarizar reglas consistentes en nomenclaturas y procedimientos solo para peces (Stoskopf, 1993; Hrubec, 1995).

Así, los estudios realizados por Oria (*apud* Ueda et al., 2001) y Phillips (*apud* Ueda et al., 2001) son pioneros en esta rama de la ciencia, al llevar a cabo estudios comparativos de los aspectos hematológicos de teleósteos brasileros y salmónidos, respectivamente. Sin embargo, para otros autores como Stoskopf (1993), la hematología en peces no se ha desarrollado debido al desconocimiento en áreas básicas de la biología de estos individuos.

Pero, ¿cuál es, entonces, la ventaja e importancia del estudio hematológico? Los parámetros sanguíneos en los peces indican su estado fisiológico, que a su vez sirve para evaluar el control de enfermedades infecciosas, desbalance nutricional, efectos tóxicos, condiciones anóxicas, cambios ambientales y otros agentes estresantes que se presentan durante los cultivos (Hrubec et al., 2000; Aydin et al. *apud* Silveira-Coffigny et al., 2005). Así, las técnicas hematológicas se convierten en una herramienta diagnóstica y un apoyo en el estudio de diferentes aspectos de cultivo y la biología de las diferentes especies de peces, proveen información acerca de valores ya establecidos, así como cambios en las características del agua y estados de polución a los que son sometidos (Conroy, 1989, 1998; Hrubec et al., 2000).

Pero antes de que los parámetros sanguíneos de una especie sean empleados para evaluar sus variaciones fisiológicas, deben establecerse los índices de referencia y realizar estudios paralelos en poblaciones impactadas y no impactadas de la misma especie (Leatherland et al., 1998), de ahí la importancia en realizar análisis hematológicos detallados de las condiciones de cultivo propias de cada explotación.

Así, un examen hematológico comprendería: la determinación de la concentración de hemoglobina, el porcentaje de hematocrito, el cálculo de los índices hematológicos (VCM y HCM), los conteos totales y diferenciales de los diferentes grupos celulares y la morfología de estos. Sin embargo, la identificación de células en los peces presenta dificultades dadas las

características propias de cada grupo celular, por esta razón las técnicas de frotis y tinción sanguíneos deben ser adaptadas a estas, dado que los peces carecen de cavidad medular dentro de sus huesos, en la que no se encuentran separadas las células precursoras y las maduras (Zapata et al. *apud* Witten et al., 1998).

La *O. niloticus*, eje de estudio en la presente investigación, es la más importante de las especies de aguas continentales en acuicultura del trópico y subtropical del mundo (Oberts et al. *apud* Witten et al., 1998; Pullin *apud* Witten et al., 1998). Como especie rústica, de rápido crecimiento y omnívora, tolera límites de temperatura entre 26 a 28°C y oxígeno 1 ppm, así como la presencia de patógenos. Representa el tercer grupo de peces de cultivo después de las carpas y los salmónidos, con una tasa de crecimiento anual del 11,5%. Así mismo, es el segundo pez de cultivo más importante en el mundo y alimento básico en muchas partes de Asia, África y Sur América (Centers for Epidemiology and Animal Health, APHIS1995 *apud* Hrubec et al., 2000, Status of the world Aquaculture, 1995; FAO, 2003), especie muy apetecida por los consumidores (Boyd, 1990; Ranzani-Paiva et al., 2005).

A pesar de ser cultivada en todo el mundo, en Latinoamérica son pocos los reportes acerca de sus parámetros hematológicos normales, en condiciones ecológicas y de manejo propias de cada explotación, con salvedad de Brasil, país donde se han desarrollado estudios hematológicos, no solo en tilapias, sino también en peces nativos a los que se les investiga con fines productivos.

Es así que la falta de diagnóstico y pronóstico de alteraciones fisiológicas y/o patológicas causadas por los cambios ambientales y las prácticas realizadas, alteran los parámetros productivos y económicos, tablas de referencia inexistentes que permitan indicar variaciones y establecer medidas profilácticas o tratamientos acordes con cada situación dentro de una explotación piscícola. Es por ello que la investigación se orientó a determinar parámetros hematológicos en animales adultos de *O. niloticus* con peso entre 250 g y 350

g, en la Estación Piscícola de la Universidad de Caldas. De acuerdo a ello, a partir del sangrado de 50 machos de *Tilapia nilótica* se realizó un frotis sanguíneo de las muestras tomadas, se determinó el contenido de hemoglobina, se hizo un recuento de eritrocitos y leucocitos en cámara de Neubauer, VSE en microhematocrito, se halló el valor del hematocrito en microhematocrito después de centrifugados y los índices hematológicos V.C.M. y H.C.M. para concluir que en condiciones medioambientales y de cultivo de la Estación Piscícola, los parámetros son similares a los reportados para esta especie.

Materiales y Métodos

El estudio se realizó en la Estación Piscícola - Granja Montelindo de la Universidad de Caldas, en Santágueda (Caldas, Colombia), ubicada a 1050 msnm, con una humedad relativa de 75% y precipitación de 2377 mm/año, temperatura media ambiental de 22,5°C, luminocidad 2049 h, bosque húmedo tropical. Coordenadas: W 75° 45' - N 5° 04'. Temperatura promedio del agua de 27°C, oxígeno 5 ppm y pH 5,5-7,9.

Se emplearon 50 machos de *Tilapia nilótica* (*O. niloticus*) con peso entre 250-350 g, tomándose variables de longitud total, peso total y altura, obtenidos por reversión sexual (Figura 1).



Figura 1. Selección de machos de *O. niloticus*, Estación Piscícola, Universidad de Caldas.

Los animales se alimentaron tres veces al día con alimento balanceado de 24% de proteína para tilapias. Se tranquilizaron con solución de sulfato de quinaldine a una concentración de 1:100.000 agua (Stoskopf, 1993; Yanar & Kumlu, 2001; Carvalho, 2006). La toma de muestras se realizó por punción intracardiaca, teniendo como referencia el opérculo y la aleta pectoral. En la extracción de sangre se utilizaron jeringas previamente impregnadas con EDTA, que se depositó en tubos con la misma solución para su posterior procesamiento en el laboratorio. Se utilizó coloración de Wright. El recuento diferencial se realizó sobre 200 células en forma lineal, contando el número de leucocitos en 10 campos microscópicos en diferentes áreas del extendido (Universidad de Caldas, 2005). La hemoglobina se determinó por medio de una reacción colorimétrica en un fotolorímetro (Roberts, 1989; Conroy, 1998).

Se obtuvieron 20 ml de sangre por animal, que se depositaron en un tubo de vidrio con 5 ml de solución Drabkin como diluyente, hasta homogenizar. Se realizó la lectura en un fotolorímetro a 540 nm.

Velocidad de sedimentación eritrocitaria (VSE): se llenó un tubo de microhematocrito hasta una altura de 50 mm. Se selló uno de los extremos colocándose en posición vertical por una hora a temperatura ambiente. Con papel milimetrado se determinó el descenso de los eritrocitos en la columna de sangre. El resultado se expresó como VSE en mm/hora.

El recuento de eritrocitos y leucocitos en solución de Natt y Herricks, en cámara de Neubauer, se realizó según Roberts (1989) y Conroy (1998) garantizando una dilución 1:200 sangre:solución. Agitando suavemente la mezcla, se depositó una gota en uno de los compartimientos extendiéndose por capilaridad entre la cámara y el cubreobjetos, realizando el recuento de eritrocitos en 80 cuadrados pequeños. Se aplicó la siguiente fórmula: No. de eritrocitos/mm³ de sangre = No. de eritrocitos contados x (4000/80) x 200. El procedimiento fue el mismo para los

leucocitos pero expresándose como número de leucocitos por milímetro cúbico (mm^3).

Para el hematocrito se llenó un tubo de microhematocrito por capilaridad, procurando obtener una columna de sangre homogénea, con altura aproximada de 3 cm. Para evitar burbujas de aire se selló uno de los extremos. Se colocó en centrífuga por 5 minutos. La lectura se realizó en regla destinada para este fin y el resultado se expresó como porcentaje de hematocrito.

Volumen corpuscular medio (VCM): se expresó en micrones cúbicos, teniendo en cuenta los valores obtenidos en el recuento de eritrocitos y el hematocrito de acuerdo a la siguiente fórmula: $\text{VCM} = (\text{Hematocrito } \% \times 10) / \text{Recuento eritrocitario } (10^6/\text{mm}^3)$. *Hemoglobina*

corpuscular media (HCM): se expresó en micro-microgramos, teniendo en cuenta los valores obtenidos en el recuento de eritrocitos y el hematocrito, de acuerdo a la siguiente fórmula: $\text{HCM} = (\text{Hb g/dl} \times 10) / \text{Recuento eritrocitario } (10^6/\text{mm}^3)$. Los datos obtenidos se estandarizaron en tablas, y se aplicó el análisis estadístico (SAS) con significancia del 95%.

Los valores obtenidos se expresan en la Tabla 1, exponiendo valores promedio, mínimos y máximos, error estándar de las variables peso, altura, longitud de los animales, valores de hemoglobina, hematocrito, volumen corpuscular medio, hemoglobina corpuscular media, recuento de eritrocitos, y recuento y conteo diferencial de leucocitos.

Tabla 1. Resultados de las variables hematológicas de *O. niloticus* en la Estación Piscícola, Universidad de Caldas, Colombia.

VARIABLE	UNIDADES	VALORES MÍNIMOS Y MÁXIMOS	PROMEDIO ± ERROR ESTÁNDAR
Peso	g	250-350	300,82±4,53
Longitud	cm	23,0-27,5	25,52±0,18
Altura	cm	7,0-9,0	8,28±0,07
VSE	mm/h	1-5	2,10±0,14
Htc	%	27-43	33,63±0,58
Hb	g/dl	5,59-11,61	8,56±0,21
VCM	m^3	97,82-357,79	200,47±7,90
HCM	μg^3	23,36-88,84	50,50±1,85
Eritrocitos	$10^6/\text{mm}^3$	1,09-2,76	1,78±0,056
Leucocitos	$10^5/\text{mm}^3$	0,18-2,17	1,21±0,07
Trombocitos	%	3,50-41,0	14,53±1,27
Linfocitos	%	49,00-94,00	76,78±1,67
Neutrófilos	%	0-27,00	7,07±0,93
Monocitos y Macrófagos	%	0-8,00	1,20±0,23
Eosinófilos	%	0-2,50	0,07±0,05
Basófilos	%	0-4,00	0,35±0,11

Resultados y Discusión

Las diferentes variables hematológicas de machos de *O. niloticus*, bajo las condiciones de cultivo semi-intensivo de la Estación Piscícola de la Universidad de Caldas, coinciden con los descritos por Bittencourt et al. (2003), Martins et

al. (2004b) y Ranzani-Paiva et al. (2005), para esta especie. Así, valores de $2,10 \pm 0,14$ mm/h para el VSE resultan normales al compararlos con 1-6 mm/h reportados por Blaxhall & Daisley (1973), para especies como *Cyprinus Carpio* y *Salmo trutta*. Las variaciones se presentan por presencia e intensidad de enfermedades, lesiones de tejidos,

infecciones agudas e intoxicación por metales pesados. Durante la evaluación de los resultados se observó una tendencia a la significancia entre el VSE, la altura y la longitud.

Así mismo, en los machos de *O. niloticus*, se halló un hematocrito entre 27%-43%, valores confrontables con los expuestos por Feldman et al. (apud Barros et al., 2004) y Bittencourt et al. (2003), quienes obtuvieron un hematocrito de 27%-47% y 15%-45%, respectivamente.

La variedad en los valores obtenidos en la investigación respecto a los autores referenciados, se explica al considerar que el estrés por manipulación, las diferencias sexuales, la disponibilidad del oxígeno y patologías como las infecciones bacterianas y parasitarias, pueden afectar los resultados (Martins et al., 2004a; Ranzani-Paiva & Silva-Souza, 2004). Es así como Ranzani-Paiva et al. (1987, 2004, 2005), Carvalho (2006) y Azevedo et al. (2006), muestran el hematocrito como un indicador de las alteraciones fisiológicas y/o del medio acuático. Sin embargo Azevedo et al. (2006), sostienen que no existe disminución significativa del valor del hematocrito entre tilapias parasitadas (33±9%) y tilapias no parasitadas (42±15%).

Las variables con algún tipo de patología no fueron incluidas, dado que se garantizó la salud de los ejemplares, manipulación y tranquilización adecuada. Modificaciones superiores o inferiores de este valor sugieren estados patológicos como anemias o hemoconcentración, según Martins et al. (2004a). Ranzani-Paiva et al. (2005) demostraron que el hematocrito puede variar su valor en los machos cuando están maduros sexualmente. Los valores propuestos por estos autores (29,8%-39%), concuerdan con los determinados para los machos de la Estación Piscícola. Los valores correspondientes al porcentaje de hematocrito hallados son comparables con Klontz (1994), con valores entre 13% y 42% para especies como *Oncorhynchus mykiss*, *Ictalurus punctatus* y *Carassius auratus*.

El método de la cianometahemoglobina, por el cual se evaluó la concentración de hemoglobina,

determinó valores de 8,56±0,21 g/dl (valores mínimos y máximos: 5,59 y 11,61 g/dl) que en la Estación concuerdan con los propuestos por Tavares-Dias & Faustino (apud Razani-Paiva et al., 2005) (rangos de 5,4-12,7 g/dl, promedio de 8,35±2,67) y Bittencourt et al. (2003) (rangos de 6,58-15,98 g/dl, promedio de 10,52±3,09 g/dl) para *O. niloticus* en cultivos semi-intensivos. Bittencourt et al. (2003), proponen valores similares de hemoglobina a los reportados en la investigación para especies como: *Colossoma bidens* (10,40 g/dl), *Prochilodus scrofa* (9,70 g/dl) y *C. macropomum* x *C. bidens* (12,7 g/dl).

El promedio encontrado para el VCM fue de 200,47±7,90 μ^3 . Bittencourt et al. (2003), observaron que existe una correlación positiva entre el peso, longitud, VCM y HCM. En concordancia con lo anterior, los resultados mostraron tendencia a la significancia entre el VCM y el peso, sin embargo, las cifras reportadas por estos autores (148,80±153,19 μ^3) superan ampliamente los reportados en esta investigación. Galvão (2005) reportó un VCM de 182,50 μ^3 para Tilapia, similares a los encontrados en los machos de la Estación Piscícola que resultaron ser normales para la especie, descartando anemias, estrés por manipulación, fenómenos de hipoxia por punción o liberación de células inmaduras como respuesta a estímulos microbianos.

Se hallaron valores mínimos y máximos de 23,36-88,84 μg para el HCM, superando los descritos por Hrubec et al. (2000) para el híbrido *O. niloticus* x *O. mossambicus* x *O. aureus* con rangos de HCM de 28,3-42,3 μg , pero se encuentran entre los reportados por Bittencourt et al. (2003) y Galvão (2005), quienes encontraron valores de 5,07-120,86 μg y 42,38-52,2 μg , respectivamente, para la *O. niloticus*, expresando normalidad en la variable.

La concentración de eritrocitos en *O. niloticus* de la Estación Piscícola fue de 1,78±0,056 x 10⁶/mm³. La correlación de las variables (peso, longitud y altura) determinó que el peso tiene significancia (0,05) sobre la concentración de eritrocitos con tendencia a la significancia (0,10) entre este valor

y la altura, mientras la variable longitud no afecta de manera significativa (0,15) este parámetro. De ahí que pueda llegarse a concluir que la variable peso influncia la concentración de eritrocitos, la variable altura puede llegar a influenciar este valor, y la variable longitud no guarda relación con el valor de eritrocitos.

Las concentraciones eritrocitarias en los peces están limitadas a las condiciones medioambientales y del cultivo, a respuestas fisiológicas por estímulos externos, a microorganismos patógenos y a características genéticas. Tavares-Dias & Faustino (*apud* Ranzani-Paiva et al., 2005), describieron valores de $1,73-4,83 \times 10^6/\text{mm}^3$, comparable con los valores dados por Feldman et al. (*apud* Barros et al., 2004) de $1,91-2,83 \times 10^6/\text{mm}^3$ y Hrubec et al. (2000) de $2,31 \times 10^6/\text{mm}^3$ para *O. niloticus*. Los valores obtenidos en la Estación Piscícola concuerdan con lo reportado, descartando así alteraciones hematológicas.

La concentración de eritrocitos para el género *Tilapia* no es uniforme, pero Tavares-Dias et al. (*apud* Bittencourt et al., 2003) determinaron valores de $256,7 \times 10^6/\text{mm}^3$ para el híbrido *O. urolepishormnorum* x *Oreochromis mossambicus* y Bittencourt et al. (2003) hallaron en *O. niloticus* concentraciones de $6,93 \pm 8,28 \times 10^6/\text{mm}^3$, superando los resultados obtenidos en este trabajo ($1,78 \pm 0,056 \times 10^6/\text{mm}^3$). Sin embargo, los valores encontrados son similares a Barros et al. (2004) y Tavares-Dias & Faustino (*apud* Ranzani-Paiva et al., 2005), con valores entre $1,80 \pm 0,28 \times 10^6/\text{mm}^3$ para esta especie. La extracción de sangre y la manipulación excesiva son, entre otras, posibles causas del aumento de este parámetro tal como lo manifiestan Martins et al. (2004b).

En esta investigación se tomaron medidas preventivas usando anestésico (sulfato de quinaldine) y mínima manipulación de los ejemplares. En el recuento de leucocitos en cámara de Neubauer se usó el diluyente de Natt y Herricks, permitiendo la diferenciación entre glóbulos rojos y leucocitos (incluyendo trombocitos, por dificultad en la diferenciación de estos grupos celulares).

La población de leucocitos puede variar sus concentraciones debido a factores externos, factores fisiológicos como altas densidades, estrés por manipulación, infecciones bacterianas y parasitarias, dietas bajas en proteínas o limitadas en cobre y hierro. En los ejemplares seleccionados de *O. niloticus* de la Estación Piscícola, las variables anteriores no se tuvieron en cuenta, dada la estricta selección de los mismos.

El promedio leucocitario para machos adultos de *O. niloticus* fue de $1,21 \pm 0,074 \times 10^5/\text{mm}^3$, similares a Hrubec et al. (2000) entre $0,21-1,54 \times 10^5/\text{mm}^3$, con tendencia a la baja en los machos de la Estación. Esto, sin embargo, no es indicativo de una leucocitosis ya que estos valores son propuestos por Feldman et al. (*apud* Barros et al., 2004).

Barros et al. (2004) hallaron valores entre 21,600 y 154,700 leucocitos/ μl , que comparados con los obtenidos en la Estación Piscícola (18,000-217,000), se observó un aumento en la concentración leucocitaria, aumentos que constituyen diferencias asociadas a las condiciones medio ambientales y metodológicas de cada investigación.

El análisis de los valores leucocitarios es una herramienta diagnóstica en la ictiohematología. La interpretación de los valores descubiertos debe ser especificada en función de la apariencia de los tipos leucocitarios, las particularidades de los peces y el cultivo. Para la determinación del hemoleucograma de *O. niloticus* en la Estación Piscícola, solo se seleccionaron individuos sanos. Sin embargo, la variación en la fórmula leucocitaria es discutida por varios autores, por ejemplo Martins et al. (2004a) observaron que al tener individuos de *Tilapia* bajo condiciones estresantes, la concentración leucocitaria se modifica con la intensidad del estímulo. Así, las poblaciones leucocitarias responden según los estímulos positivos o negativos a los que son expuestos los peces. Cualquier sistema de cultivo presenta condiciones medioambientales y de manejos propios, por consiguiente, valores reportados (superiores o inferiores) para los

sistemas de cultivo diferentes, no sugieren estados patológicos. La interpretación de los valores leucocitarios indica el estado de salud de la población y de los individuos. Esta variable es condicionada por múltiples factores, los cuales deben ser considerados antes de interpretarlos (Tavares-Dias et al. *apud* Bittencourt et al., 2003; Barros et al., 2004; Feldman et al. *apud* Barros et al., 2004). Por ejemplo, Azevedo et al. (2006) presentan valores normales de $0,082 \pm 0,075$ leucocitos $\times 10^5/\text{mm}^3$ para *O. niloticus*, valores que al compararlos con los reportados por los autores antes mencionados y los hallados en la investigación, sugerirían la enfermedad de los especímenes evaluados en la Estación Piscícola.

Los eritrocitos de *O. niloticus*, provenientes de la Estación Piscícola, fueron células ovales, tanto el núcleo como el citoplasma. Con la tinción de Wright, se observó núcleo centrado con cromatina teñida de color púrpura oscuro y citoplasma acidófilo. Las características de estas células están en concordancia con lo descrito por autores como Campbell (1988) y Roberts (1989) para diferentes especies de peces, Hrubec et al. (2000) en *Oreochromis* híbrido y UEDA et al. (2001) en *O. niloticus*. (Figura 2).

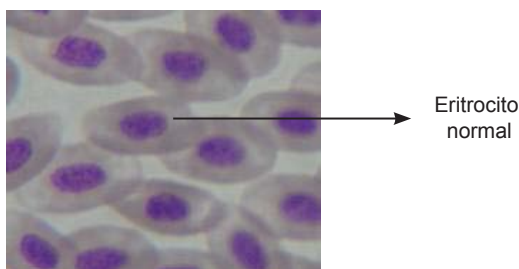


Figura 2. Eritrocito de macho *O. niloticus*, Estación Piscícola, Universidad de Caldas.

La evaluación microscópica de los frotis sanguíneos evidenció la presencia de células similares a eritrocitos, sin embargo, estas se diferenciaban por un citoplasma más redondo y un núcleo con cromatina poco condensada que constituyen los policromatocitos o eritrocitos inmaduros. Este grupo celular representa el 0,5% de la fórmula eritrocitaria total y se encuentra descrito por Campbell (1988), Roberts (1989),

Witten et al. (1998) y Hrubec et al. (2000). (Figura 3).

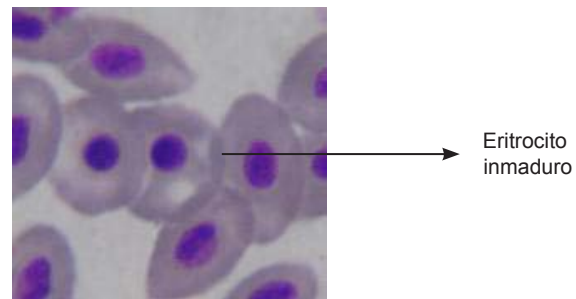


Figura 3. Eritrocito inmaduro de macho *O. niloticus*, Estación Piscícola, Universidad de Caldas

Se encontraron neutrófilos caracterizados por presentar un gran citoplasma basófilo, con pocos gránulos, núcleo excéntrico, irregular y, en algunos casos, multilobulado. La cromatina se presentó agrupada dentro de él y de color púrpura oscuro. Tavares-Dias & Faustino (*apud* Ranzani-Paiva et al., 2005), determinaron que el valor mínimo de los neutrófilos en *O. niloticus* es del 3%, mientras que Silveira-Coffigny & Rigores (*apud* Martins et al., 2004) reportan valores entre 1,6% y 7,8%. El recuento diferencial de neutrófilos realizado para *O. niloticus* de la Estación Piscícola arrojó un promedio de 7%, que se considera dentro de los parámetros normales. El análisis de la correlación entre variables fue positivo, demostrando significancia entre el porcentaje y el total de neutrófilos con la altura. El valor máximo encontrado en este estudio alcanzó el 27%, valor que supera lo obtenido para *O. niloticus*. Sin embargo, este valor es similar a un 24,5% reportado para *Tilapia zilli* (Ezzat et al., 1974 *apud* Martins et al., 2004). Martins et al. (2004a) demostraron que las concentraciones de neutrófilos para *O. niloticus* sometidos a estrés tienen relación inversa con las concentraciones de linfocitos, asociación que no tuvo lugar en este trabajo. Martins et al. (2004b) justificaron que los neutrófilos son el tipo leucocitario con mayor tendencia a la variación, al demostrar su aumento durante estímulos de estrés, únicos o repetidos en *O. niloticus*. Azevedo et al. (2006) reportaron que los neutrófilos aparecen con valor de $1,5 \pm 1,6\%$ de la fórmula absoluta, después de los linfocitos y los monocitos. (Figuras 4 y 5).

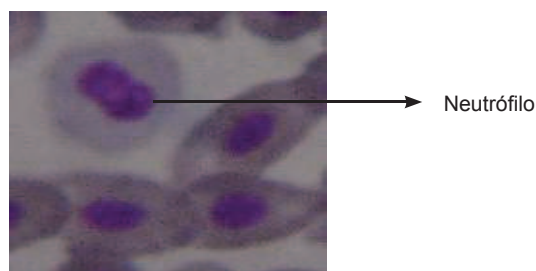


Figura 4. Neutrófilo de macho *O. niloticus*, Estación Piscícola, Universidad de Caldas

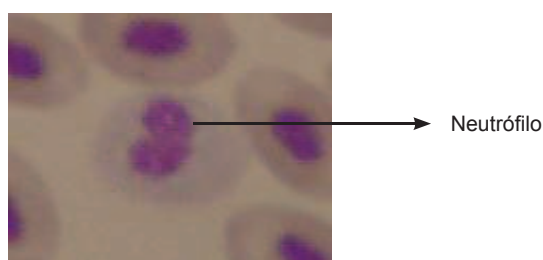


Figura 5. Neutrófilo de macho *O. niloticus*, Estación Piscícola, Universidad de Caldas.

Los trombocitos de *O. niloticus* se mostraron como células alargadas y nucleadas, con la capacidad de acumularse en grupos. Su citoplasma se caracterizó por mostrar alargamientos en uno o ambos polos y el núcleo por mostrar la cromatina condensada. En el hemoleucograma de los individuos de la Estación, los trombocitos representaron entre el 12% y el 17% de los valores absolutos. En concordancia con Roberts (1989), se presentó dificultad en la diferenciación entre los trombocitos y linfocitos. La dificultad se puede presentar por destrucción del citoplasma de los trombocitos durante la elaboración del extendido, por lo que solo queda un pequeño reborde citoplasmático, similar a los linfocitos pequeños. Además, con la coloración de Wright, el núcleo y el citoplasma se mostraron basófilos. Frente a esta situación solo se tuvieron en cuenta los trombocitos agrupados y los que mostraban alargamientos del citoplasma.

Witten et al. (1998) demostraron que no existe actividad enzimática de la peroxidasa en estas células, la cual se presenta en los linfocitos,

mientras que UEDA et al. (1997, 2001) encontraron glucógeno en el citoplasma de los trombocitos, por lo que proponen la diferenciación celular por medio de citoquímica: la confusión entre trombocitos y linfocitos no tiene lugar, dado que los linfocitos se presentan como células más ovaladas, pequeñas y con actividad enzimática diferente, características que no se tuvieron en cuenta en este trabajo. (Figuras 6 y 7).

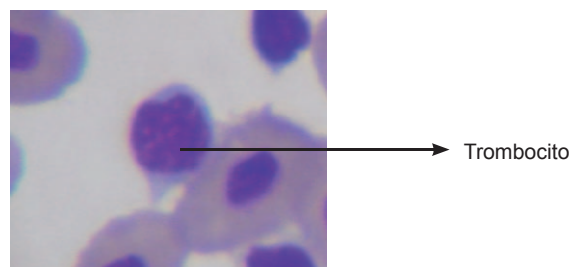


Figura 6. Trombocito de macho *O. niloticus*, Estación Piscícola, Universidad de Caldas.

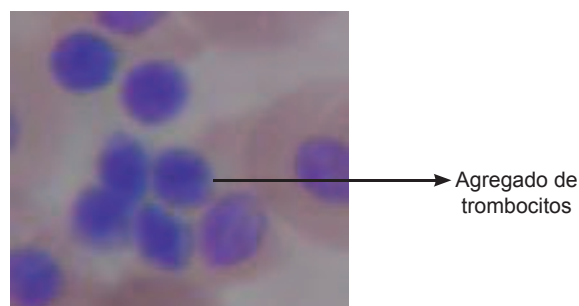


Figura 7. Agregado de Trombocitos de macho *O. niloticus*, Estación Piscícola, Universidad de Caldas.

La correlación entre variables de linfocitos solo mostró tendencia a la significancia entre el porcentaje de linfocitos y la altura, indicando que el peso y la longitud no afectan sus valores. Morfológicamente se presentan dos grupos celulares, sin embargo, para la investigación se determinaron en conjunto, ya que estos representan distintos estadios funcionales y no poblaciones celulares diferentes. Los linfocitos son células pequeñas de bordes irregulares dentro de las cuales el núcleo ocupa casi el 90% y contiene la cromatina fuertemente condensada y agrupada; el citoplasma, aunque no se diferencia fácilmente, se observó de color azul oscuro. Bittencourt et al. (2003) describen de manera similar los linfocitos

en tilapias dentro de un cultivo semi-intensivo. Los linfocitos fueron el grupo celular más amplio dentro del hemoleucograma de *O. niloticus*, así se determinó un intervalo de confianza de 73%-80% y valores absolutos de $0,93 \pm 0,6 \times 10^5/\mu\text{l}$. Al confrontar los valores absolutos con $0,71 \times 10^5/\mu\text{l}$ propuestos por Hrubec et al. (2000), estos resultarían superiores, pero Azevedo et al. (2006) hallaron como principal tipo leucocitario los linfocitos con valores hasta de $0,96 \pm 1,5\%$ sobre la fórmula absoluta. Así los resultados de este trabajo se ajustan a los descritos por otros autores, mostrando normalidad de valores bajo las condiciones productivas de la Estación Piscícola. (Figura 8).

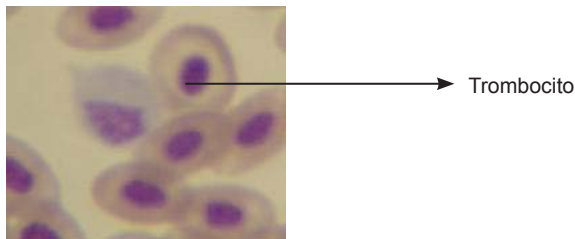


Figura 8. Monocito / Macrófago de macho *O. niloticus*, Estación Piscícola, Universidad de Caldas..

Los macrófagos y los monocitos son el mismo grupo celular y se diferencian por el estado de madurez en el que se encuentren. Para la evaluación de los extendidos de sangre de los machos de *O. niloticus* entre 250 g y 350 g, no se efectuó diferenciación; morfológicamente solo se encontraron diferencias de tamaño, pero no en las características del núcleo y el citoplasma. Son células grandes con un citoplasma azul-grisáceo, que en algunos casos mostraron pseudopodia planteado por Bittencourt et al. (2003) para el *O. niloticus*, con núcleos de forma irregular, que con la tinción Wright, se colorearon de púrpura oscuro mostrando pequeños gránulos. En contraposición a lo propuesto por Witten et al. (1998), durante la aproximación microscópica al núcleo de los monocitos/macrófagos, no se encontraron formas de riñón, sin embargo, la irregularidad del núcleo discutida por estos autores sí se evidenció en las células que se observaron en este trabajo. Para este grupo celular se determinó un intervalo de

confianza entre 0,65%-1,74%, valor que resulta similar al $1,9 \pm 1,1\%$ reportado por Azevedo et al. (2006), quienes además los presentaron como el segundo grupo celular en esta especie. Los monocitos/macrófagos alcanzaron un promedio de $0,015 \times 10^5/\mu\text{l}$, valor que coincide con los propuestos por Hrubec et al. (2000) para el híbrido *O. niloticus* x *O. mossambicus* x *O. aureus*, que relata la presencia de vacuolas y áreas claras en el citoplasma en la caracterización. Las características morfológicas relatadas por UEDA et al. (2001) son similares a las encontradas en este trabajo, no obstante, en este grupo celular no se evidenció su capacidad fagocítica (Figura 9).

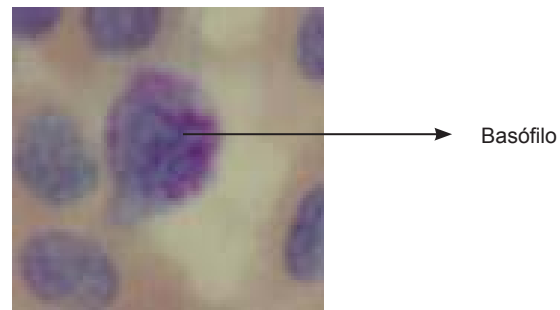


Figura 9. Basófilo de macho *O. niloticus*, Estación Piscícola, Universidad de Caldas.

El análisis de la correlación entre variables muestra que existe significancia entre la longitud y los valores absolutos y porcentuales de eosinófilos, y que hubo cierta tendencia a la significancia entre estos valores y la altura. Su representación solo alcanzó el 2,5% como máximo valor de la fórmula leucocitaria. Bittencourt et al. (2003) sostienen que la presencia de eosinófilos en los frotis de Tilapia es muy escasa. Estas son células esféricas de tamaño variable, núcleo no centrado que contiene cromatina de color morado, los gránulos contenidos en el citoplasma pueden llegar a entorpecer la visualización y el citoplasma se tiñe de azul pálido con gránulos de color rosa claro. La descripción morfológica realizada coincide con Campbell (1988), Roberts (1989), Hrubec et al. (2000) y UEDA et al. (2001).

Los basófilos son escasas en la sangre de *O. niloticus*. El citoplasma contiene gránulos basofílicos de diferentes tamaños, el núcleo se

tiñe de color azul-rojizo claro y ocupa entre 60%-70% del total de la célula. Al igual que lo expuesto para los eosinófilos, el análisis de la correlación entre variables expuso que los valores absolutos y porcentuales tienen significancia con la longitud: fue la única variable hematológica que mostró relación con el peso, puesto que ambos valores (absolutos y porcentuales de basófilos) tuvieron tendencia a la significancia (porcentaje 0,06 y totales 0,07). El intervalo de confianza para este

tipo celular estuvo entre $0,0018-0,0093 \times 10^5$, valores que resultan altos al confrontarlos con los reportados por otros autores, presuponiendo que situaciones estresantes pudiesen haber producido un aumento de este tipo celular (Martins et al., 2004). Ranzani-Paiva et al. (1986, 2004) asocian los basófilos con estados parasitarios, sin embargo, poco probable bajo las condiciones metodológicas de la presente investigación. (Tabla 2).

Tabla 2. Concentraciones hemáticas de *Oreochromis niloticus* según varios autores.

Eritrocitos	1,73-4,83 x 10 ⁶ /μl	Tavares-Dias & Faustino (1998)
	1,91-2,83 x 10 ⁶ /μl	Feldman (2000)
	6,93±8,28 x 10 ⁶ /μl	Bittencourt et al. (2003)
Eritroblastos	1-2%	Blaxhall & Daisley (1973), Ranzani-Paiva & Godinho (1986)
Trombocitos	1-2%	Blaxhall & Daisley (1973), Ranzani-Paiva & Godinho (1986)
	4%	Ellis (1977)
	30%	Hrubec et al. (2000)
Neutrófilos	1-9%	Klontz (1994)
	2,38%	Hrubec et al. (2000)
	6-8%	UEDA et al. (2001)
	5%	Martins et al. (2004)
Monocitos y Macrófagos	0,1%	Ellis (1977)
	2%	Hrubec et al. (2000)
	17%	Martins et al. (2004)
Eosinófilos	2-3%	Ellis (1977), Stoskopf (1983)
	0,44%	Hrubec et al. (2000)
Basófilos	1-2%	Ellis (1977), Stoskopf (1983)
	0,5%	Martins et al. (2004)
Linfocitos	92,5-95%	Ellis (1977), Hrubec et al. (2000)
	75-90%	Klontz (1994), Martins et al. (2004)

Conclusiones

La aproximación a los valores de los parámetros hematológicos en individuos de *O. niloticus*, cultivados en la Estación Piscícola de la Universidad de Caldas, indican normalidad en las condiciones de cultivo y coinciden con reportes realizados por otros autores en los trópicos. Para el indicio de tales resultados, fue necesario el uso de soluciones diluyentes como el líquido de Natt y Herricks para coloración de los diferentes grupos celulares que permitieron el recuento en la cámara de Neubauer. Los recuentos diferenciales se pudieron realizar con

los colorantes Romanowsky, que resaltaron las características morfológicas de los diferentes grupos celulares.

Los valores para las variables hematológicas de *O. niloticus* en la Estación fueron: Hb 8,56±0,21 (g/dl), Htc 33,63±0,58 (%), VSE 2,10±0,14 (mm/h), VCM 200,47±7,90 (μ³), HCM 50,50±1,85, total eritrocitos 1,78±0,056 (10⁶/mm³), total leucocitos 1,21±0,07 (10⁵/mm³). El orden celular que se presentó en la fórmula leucocitaria fue con un porcentaje de linfocitos: 76,78±1,67, porcentaje de neutrófilos: 7,07±0,93, porcentaje de macrófagos y monolitos: 1,20±0,23,

porcentaje de basófilos: $0,35 \pm 0,11$, porcentaje de eosinófilos: $0,07 \pm 0,05$ y trombocitos que representaron el $14,53 \pm 1,27\%$ de la fórmula total. El análisis de peso, altura y longitud indicó que no existe correlación directa entre las variables y los parámetros hematológicos. Las relaciones que se presentaron mostraron ligera significancia, de manera que las variables peso, altura y longitud no determinan los valores de los parámetros hematológicos. Los valores encontrados en este trabajo son una base de referencia para trabajos diagnósticos en *O. niloticus*, en sistemas de cultivo bajo condiciones similares a la Estación Piscícola de la Universidad de Caldas.

Referencias Bibliográficas

- Ainsworth, A.J. Fish Granulocytes. **Annual Review of Fish Diseases**, v.2, p. 123-148, 1992.
- Anderson, D.G.; Barney, P.G. The role of the diagnostic laboratory in fish disease control. **Annual Review of Fish Diseases**, v.1, p. 41-62, 1991. Citado por Conroy, David A. **Manual de métodos y técnicas de laboratorio de uso común en la hematología pisciaria**. Maracay: Universidad Central de Venezuela, 1989.
- Aydin, S.N.; Gutelpendand, H.Y. Natural and Experimental infections of *Campylobacter cryaerophila* in rainbow trout, gross pathology, bacteriology, clinical pathology and chemotherapy. **Fish pathology**, v.35, n.3, p. 117-123, 2000. Citado por Silveira, C. Raquel.; Martínez-Pérez, Mercedes; Ascencio-Calle, Felipe. Características morfológicas y histoquímicas de las células de la sangre periférica de *O. aureus* S. Cichlidae. [En línea]. **Revista electrónica de veterinaria REDVET**, v.VI, n.10, 2005. Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101005.html> Accesado en: 13/03/2006.
- Azevedo, T.M.; Martins, M.L.; Bozzo, F.R. et al. Haematological and gill responses in parasitized tilapia from valley of Tijucas River, SC. **Brazil, Scientia Agrícola**, v.63, n.2, p. 115-120, 2006.
- Barros, M.M.; Pezzato, L.E.; Hisano, H. et al. Farinha de sangue tostada em dietas práticas para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L). **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v.26, n.1, p.5-13, 2004.
- Bittencourt, N.L.; Molinari, L.M. et al. Haematological and biochemical values for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* cultured in semi-intensive system. **Biological sciences**, v.25, n.2, p. 385-389, 2003.
- Blaxhall, P.C.; Daisley, K.W. Routine haematological methods for use with fish blood. Department of chemistry and biology, Trent polytechnic, Nottingham, England. **Journal Fish Biology**, v.5, p. 771-781, 1973.
- Boyd, C.A. **Water Quality in Ponds for Aquaculture**. Birmingham: Birmingham Publishing Co., 1990. p.144-150.
- Cabal, M.F.; Soto, J.M. **Directrices para el Estudio de Competitividad del Sector de la Acuicultura en Colombia: acuerdo de Competitividad del Sector de la Acuicultura**. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Colección de documentos del Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). Serie Competitividad, n.9, 1998.
- Campbell, W.T. Fish cytology and hematology. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**. Philadelphia, v.18, n.2, p. 349-364, 1988.
- Carvalho, D.M. **Ação da Benzocaina e do Óleo de Cravo sobre parâmetros fisiológicos de Tilapia, *Oreochromis niloticus***. São Paulo, Brasil: Centro de Aquicultura da Uneps, Campus Jaboticabal, 2006, 91p. Tesis (Mestre em Aquicultura).
- Centers for Epidemiology and Animal Health. **Overview of Aquacultured in the United States**. Fort Collins, Colo: US Dept Agriculture, APHIS, 1995. Citado por Hrubec, T.C.; Cardinale, J.L.; Smith, S.A. **Hematology and Plasma Chemistry Reference Intervals for Cultured Tilapia (*Oreochromis Hybrid*)**. [En línea]. Virginia-Maryland, USA: Department of Biomedical Sciences and Patology, Virginia-Maryland Regional College of Veterinary Medicine, v.29, n.1, 2000. Disponible en: http://www.vetclinpathjournal.org/VOL29/VCP2901_7-12.pdf Accesado en: 25/06/2006.
- Conroy, D.A. **Manual de técnicas de uso común en la hematología pisciaria**. Maracay: Universidad Central de Venezuela, 1989. 25p.
- _____. **Manual de métodos y técnicas de laboratorio de uso común en la hematología pisciaria**. Maracay, Venezuela: Pharmafish, 1998. p.1-22.

- Ellis, A.E. The leucocytes of fish: A review. **Journal fish biology**, v.11, p.453-491, 1977.
- Ezzat, A.A.; Shabana, M.B.; Farghaly, A.M. Studies on the blood characteristics of Tilapia Zilli (Gervais, 1848) I. Bllod celuls. **Journal Fish Biology**, v.6, n.1, p.1-12, 1974. Citado por Martins, M.L.; Nomura, D.T.; Myiazaki, D.M. et al. Physiological and haematological response of *Oreochromis niloticus* (Osteichthyes: Cichlidae) exposed to single and consecutive stress of capture. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v.26, n.4, p.449-456, 2004.
- Feldman, B.F.; Zinkl, J.G.; Jain, N.C. **Schalm's veterinary hematology**. 5ed. Philadelphia: Donna Balado, 2000. Citado por Barros, M.M.; Pezzato, L.E.; Hisano, H. et al. Farinha de sângure tostada em dietas práticas para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L). **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v.26, n.1, p.5-13, 2004.
- Galvão, J. **Efeito do selênio toxicidade do cloreto de mercúrio (HgCl₂) em Tilápia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1757)**. São Paulo, Brasil: Centro de Aqüicultura da Uneps, 2005, 51p. Tesis (Pós-graduação, Mestre em Aqüicultura).
- Hrubic, T.C. **The effects of temperature, water quality and blood chemistry of hybrid striped bass**. Virginia: s.n., 1995, p.214. Tesis (Dissertation subtimed to the faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University in Partial Fulfilment of the requeriments for the degree of Doctor of Philosophy in Veteinary Medical).
- Hrubic, T.C.; Cardinale, J.L.; Smith, S.A. **Hematology and Plasma Chemistry Reference Intervals for Cultured Tilapia (*Oreochromis Hybrid*)**. [En línea]. Virginia-Maryland, USA: Department of Biomedical Sciences and Patology, Virginia-Maryland Regional College of Veterinary Medicine, v.29, n.1, 2000. Disponible en: http://www.vetclinpathjournal.org/Vol.29/VCP2901_7-12.pdf Accesado en: 05/12/2005.
- Hylander, L.D.; Pinto, F.N.; Guimaraes, J.R.D. et al. Fish mercury concentration in the Alto Pantanal, Brazil: Influencer of season and water parameters. **SCI. Total. Environ.**, v.261, p.9-20, 2000. Citado por Ranzani-Paiva, M.J.; Felizardo, N.; Luque, J.L. Parasitological and hematological analysis of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* Linneaus, 1757 from Guarapiranga reservoir, São Paulo State, Brazil. **Acta Scientiarum. Biology Sciences**, v.27, n.3, p.231-237, 2005.
- Klontz, G.W. Fish Hematology. In: **Techniques in fish immunology**, v.3, p.121-131, 1994. USA: SOS Publications Fair Haven.
- Leatherland, J.F.; Ballantyne, J.S.; Van Der Kraak, G. Diagnostic assessment of non-infectious disorders of captive and wild fish populations and the use fish as sentinels organisms environmental studies. In: Leatherland, J.S.; Woo, P.Y. (Eds.). **Fish diseases and disorders**. Cab. International. Cambridge: Cabi International, 1998. p.335-366. Citado por Silveira-Coffigny, R.; Martínez-Pérez, M.; Ascenio-Calle, F. Características morfológicas y histoquímicas de las células de la sangre periférica de *O. aureus* S. Cichlidae. [En línea]. **Revista electrónica de veterinaria REDVET**, v.VI, n.10, 2005. Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101005.html> Accesado en: 13/03/2006.
- Martins, M.L.; Nomura, D.T.; Myiazaki, D.M. et al. Physiological and haematological response of *Oreochromis niloticus* (Osteichthyes: Cichlidae) exposed to single and consecutive stress of capture. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v.26, n.4, p.449-456, 2004a.
- Martins, M.L.; Pilarsky, F.; Onaka, E.M. et al. Hematologia e resposta inflamatória aguda em *Oreochromis niloticus* (Osteichthyes: cichlidae) submetida aos estímulos único e consecutivo de estresse de captura. **Boletim do Instituto de pesca**, v.30, n.1, p.71-80, 2004b.
- Oberts, S.; Abban, E.K.; Villwock, W. Biochemical and Immunological markers for the discrimination of three Tilapia species: *T. zilli* Gervais 1848, *T. guineensis* Bleeker and *T. dageti* Thys v. d. Audenearde (Pisces: Cichlidae) from west Africa Aquacult. **Aquaculture Reserch**, v.27, p.235-244, 1996. Citado por Witten, E.P.; Villwock, W.; Renwranz, L. Haematogram of the tilapia *Oerochromis niloticus* (Cichlidae, Teleostei) and application of putative phenoloxidase for differentiating between neutrophilic granulocytes and monocytes. **NRC Canadá**, v.76, p.310-319, 1998.
- Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación, FAO. **Acuicultura: más que una industria de exportación**. Noruega, agosto 2003. Disponible en: <http://www.fao.org./spanish/newsroom/focus/2003/aquaculture.htm> Accesado en: 15/12/2006.

- _____. **El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2009**. Departamento de Pesca y Acuicultura, 2009.
- Oria, J. Elementos figurados do sangue de alguns Teleosteos fluviais brasileiros (Nematognathas, Characideos, Gymnotideos, Poeciliideos). I Erythrocytos: formas normaes, formas jovens e formas involuidas. **Fac Med. S. Paulo**, v.8, p.43-68, 1932. Citado por Ueda, I.; Egami, M.; Sasso, W. et al. Cytochemical aspects of peripheral blood cells of *Oreochromis* (Tilapia) *niloticus*. (Linnaeus, 1758) (Cichilidae, Teleostei) Part II. **Brazilian Journal of Veterinary Resesarch and Animal Sciences**, v.38, n.6. p.273-277, 2001.
- Phillips, A.M. The development of anemia in trout fed a synthetic diet and its cure by the feeding of fresh beef liver. **Progve Fish Cult**, v.48, p.11-13, 1940. Citado por Ueda, I.; Egami, M.; Sasso, W. et al. Cytochemical aspects of peripheral blood cells of *Oreochromis* (Tilapia) *niloticus*. (Linnaeus, 1758) (Cichilidae, Teleostei) Part II. **Brazilian Journal of Veterinary Resesarch and Animal Sciences**, v.38, n.6, p.273-277, 2001.
- Pullin, R.S.V. **Cichlids in aquaculture. Cichlids fish: behavior, ecology and evolution**. M.H.A. Keenleyside (Ed.). London: Chapman and Hall, 1991. p.280-309. Citado por Witten, E.P.; Villwock, W.; Renwrantz, L. Haematogram of the tilapia *Oerochromis niloticus* (Cichlidae, Teleostei) and application of putative phenoloxidase for differentiating between neutrophilic granulocytes and monocytes. **NRC Canadá**, v.76, p.310-319, 1998.
- Ranzani-Paiva, M.J.T. Características hematológicas de Tainha *Mugil platanus* Günther 1880 (Osteichthyes: Mugilidae) da região estuarino-lagunar de Cananéia- SP (Lat 25°00'S Long 47°55'W). **Boletim do Instituto de pesca**, v.22, n.1, p.1-22, 1995a.
- _____. Células do sangue periferico e contagem diferencial de leucocitos de *Tainha Mugil platanus* Günther 1880 (Osteichthyes: Mugilidae) da região estuarino-lagunar de Cananéia- SP (Lat 25°00'S Long 47°55'W). **Boletim do Instituto de pesca**, v.22, n.1, p.23-40, 1995b.
- Ranzani-Paiva, M.J.T.; Godinho, H. Hematological characteristics of the curimbata, *Prochilodus scrofa* Steindachner, 1881 (Osteichthyes, Characiformes, Prochilodontidae), stocked in experimental conditions. **Boletim do instituto de pesca**, v.13, n.2, p.115-120, 1986.
- Ranzani-Paiva, M.J.T.; Ishikawa, M.C.; Potella, M. et al. Hematología da Carpa *Cyprinus Carpio*, infestada por *Argulus* sp e após um tratamento com Fosfonato de 0.0-DIMETIL-OXI-2,2,2-TRICLOROETILO (Neguvon). **Boletim do Instituto de pesca**, v.14, p.83-92, 1987.
- Ranzani-Paiva, M.J.T.; Silva-Souza, A.T. Co infestation of gills by different parasite groups in the mullet *Mugil platanus* Günther, 1880 (Osteichthyes, Mugilidae): effects on relative conditions factor. **Brazil Journal Biology**, v.64, p.677-682, 2004.
- Ranzani-Paiva, M.J.T.; Felizardo, N.; Luque, J.L. Parasitological and hematological analysis of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1757 from Guarapiranga reservoir, São Paulo State, Brazil. **Acta Scientiarum. Biology Sciences**, v.27, n.3, p.231-237, 2005.
- Roberts, R.J. **Fish Patology**. 2ed. B. Tindall (Ed.). Londres: W.b. Saunder Company, 1989. 457p.
- Silveira-Coffigny, R.; Rigores, C. Características hematológicas normales de *Oreochromis aureus* en cultivo. **Revista Latinoamericana Acuicultura**, v.39, p.54-56, 1989. Citado por Martins, M.L.; Takahashi, D.; Makoto, D. et al. Physiological and haematological response of *Oreochromis niloticus* (Osteichthyes: Cichlidae) exposed to single and consecutive stress of capture. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v.26, n.4, p.449-456, 2004.
- Silveira-Coffigny, R.; Martínez-Pérez, M.; Ascencio-Calle, F. Características morfológicas y histoquímicas de las células de la sangre periférica de *O. aureus* S. Cichlidae. [En línea]. **Revista electrónica de veterinaria REDVET**, v.VI, n.10, 2005. Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101005.html> Accesado en: 13/03/2006.
- Status of the world aquaculture. *Aquaculture Magazine Buyer's Guide* 96, 1996. p. 6-27. **Hematology and Plasma Chemistry Reference Intervals for Cultured Tilapia (*Oreochromis* Hybrid)**. [En línea]. Virginia-Maryland, USA, 2000. Citado por Hrubec, T.C; Cardinale, J.L; Smith, S.A. Hematology and Plasma Chemistry Reference Intervals for Cultured Tilapia (*Oreochromis* Hybrid). [En línea]: Virginia-Maryland, USA: Department of Biomedical Sciences and Patology, Virginia-Maryland Regional College of Veterinary Medicine,

- v.29, n.1, 2000. Disponible en: http://www.vetclinpathjournal.org/Vol.29/VCP2901_7-12.pdf Accesado en: 15/12/2005.
- Stoskopf, M.K. **Clinical Pathology**. In: First Medicine W.B. USA: Saunders Company Harcourt Brace Jovanovich. Inc. USA, 1993. p.113-132.
- _____. Fish cytology. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.18, n.2, p.335-348, 1998.
- Stoskopf, M.K.; Guleva, I.B. Qualitative composition and morphology of blood cells of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* (Salmonidae), as influenced by mercury. **Journal of Ichthyology**, v.23, n.5, p.128-137, 1983. Citado por Galvão, J. **Efeito do selênio toxicidade do cloreto de mercúrio (HgCl₂) em Tilápia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1757)**. São Paulo, Brasil: Centro de Aqüicultura da Uneps, 2005, 51p. Tesis (Pós-graduação, Mestre em Aqüicultura).
- Tavares-Dias, M.; Faustino, C.D. Parâmetros hematológicos da Tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus* (Cichlidae) em cultivo extensivo. **ARS. Vet.**, v.14, n.3, p. 54-263, 1998. Citado por Ranzani-Paiva, M.J.; Felizardo, N.; Luque, J.L. Parasitological and hematological analysis of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1757 from Guarapiranga reservoir, São Paulo State, Brazil. **Acta Scientiarum. Biology Sciences**, v.27, n.3, p.231-237, 2005.
- Tavares-Dias, M.; Frasca-Scorvo, C.M.; Novato, P.F.C. et al. Haematological characteristics of hybrid Florida red Tilapia *Oreochromis niloticus* * *Oreochromis mossambicus* under intensive rearing. **Proceeding from The Fifth International Symposium on Tilapia Aquaculture**, v.2, p.533-541, 2000. Citado por Bittencourt, N.L.; Molinari, L.M. et al. Haematological and biochemical values for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* cultured in semi-intensive system. **Biological sciences**, v.25, n.2, p.385-389, 2003.
- Características Hematológicas de *Oreochromis niloticus* (Osteichthyes: Cichlidae) Cultivada Intensivamente em “Pesque-Pague” do município de Franca, São Paulo. **Brasil. Ars Veterinaria, Jabotical**, v.16, p.76-82, 2000.
- Ueda, I.; Egami, M.; Sasso, W. et al. Estudos hematológicos em *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) (Cichlidae, Teleostei) Part I. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Sciences**, v.34, n.5, p.270-275, 1997.
- Ueda, I.; Egami, M.; Sasso, W. et al. Cytochemical aspects of peripheral blood cells of *Oreochromis* (Tilapia) *niloticus*. (Linnaeus, 1758) (Cichlidae, Teleostei) Part II. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Sciences** v.38, n.6, p.273-277, 2001.
- Universidad de Caldas. **Manual de procedimientos en hematología y coagulación laboratorio de microbiología**. Manizales: Centro Editorial Universidad de Caldas, 2005. p.20-29.
- Wiefels, R. Consumo de pescado y estrategias de comercialización para los productos acuícolas. [En línea]. **Infopesca internaciona.**, n.16, 2003. Disponible en: <http://www.infopesca.org/articulos/art> Accesado en: 19/06/2006.
- Witten, E.P.; Villwock, W.; Renwranz, L. Haematogram of the tilapia *Oreochromis niloticus* (Cichlidae, Teleostei) and application of putative phenoloxidase for differentiating between neutrophilic granulocytes and monocytes. **NRC Canada**, v.76, p.310-319, 1998.
- Yanar, M.; Kumlu, M. The Anaesthetics Effects of Quinaldine Sulphate and/ or Diazepam on Sea Bass (*Dicentrarchus labras*) Juveniles. **Turk Journal Veterinary Animal Science**, n.25, p.185-189, 2001.
- Zapata, A.G.; Torroba, M.; Sacedón, R. et al. Structure of the lymphoid organs of elasmobranches. **J. Exp. Zool.**, n.275, p.25-143, 1996. Citado por Witten, E.; Villwock, W.; Renwranz, L. Haematogram of the tilapia *Oreochromis niloticus* (Cichlidae, Teleostei) and application of putative phenoloxidase for differentiating between neutrophilic granulocytes and monocytes. **NRC Canada**, v.76, p.310-319, 1998.