

Parámetros hematológicos y células sanguíneas de organismos juveniles del pescado blanco (*Chirostoma estor estor*) cultivados en Pátzcuaro, Michoacán, México

Haematological parameters and blood cells of juvenile pescado blanco (*Chirostoma estor estor*) grown in Pátzcuaro, Michoacán, México

Norma Alaye-Rahy y José J. Morales-Palacios

Laboratorio de Sanidad y Bioquímica. Centro Regional de Investigación Pesquera-Pátzcuaro. INAPESCA. Calzada de Ibarra N° 28. Colonia Ibarra. Pátzcuaro. Michoacán, 61600. México
e-mail: alayerahy@yahoo.com.mx.

Alaye-Rahy N. y J. J. Morales-Palacios. 2013. Parámetros hematológicos y células sanguíneas de organismos juveniles de pescado blanco (*Chirostoma estor estor*) cultivados en Pátzcuaro, Michoacán, México. *Hidrobiológica* 23 (3): 340-347.

RESUMEN

Se estudiaron los parámetros hematológicos básicos, entre ellos el hematocrito (Hto), la cantidad de hemoglobina (Hb), la cuenta de eritrocitos y la fórmula leucocitaria diferencial, en organismos juveniles de *Chirostoma estor estor*. La muestra estuvo formada por peces cultivados en un tanque y en tinas, con un sistema de recirculación cerrado del Laboratorio de Acuicultura del CRIP-Pátzcuaro y en un estanque del Centro Acuícola-Pátzcuaro. Los parámetros hematológicos obtenidos de las poblaciones naturales de *C. estor estor* (pescado blanco del lago de Pátzcuaro) se usaron como testigos. Los peces fueron anestesiados y sangrados por punción cardíaca o por corte en el pedúnculo caudal. Se obtuvieron diferencias significativas entre los valores promedios de hematocrito y hemoglobina de juveniles cultivados y los testigos. Los valores de los hematocritos ($36.2 \pm 3.1\%$) y número de eritrocitos ($2.03 \pm 0.36 \times 10^6$ células mm^3) de peces juveniles mantenidos en tinas dentro de un sistema de recirculación, estuvieron dentro de los intervalos de valores reportados para los peces del lago de Pátzcuaro. En el recuento diferencial se observaron eritrocitos inmaduros como respuesta al estrés hipóxico o anemia. Las células blancas presentaron modificaciones en número y calidad y dentro de ellas fue notoria la ausencia de granulocitos neutrófilos. Los valores hematológicos obtenidos en juveniles cultivados con buen manejo, fueron comparables a los obtenidos en peces adultos de *C. estor estor* de poblaciones silvestres. Debido a la dispersión de los parámetros hematológicos no es posible establecer diferencias entre los hemogramas de juveniles y adultos de *C. estor estor*.

Palabras clave: *Chirostoma estor estor*, hematología, hematocrito, hipoxia, juveniles.

ABSTRACT

Basic haematological parameters in young *Chirostoma estor estor* were determined. Blood parameters assessed were haematocrit (HCT), haemoglobin concentration (Hb), erythrocytes and differential cells counts. The sample was formed by juveniles from the Laboratory of aquaculture of CRIP-Pátzcuaro grown in tank and tubs in a recirculation system and by organism from a pond of the Centre-Pátzcuaro. Blood samples were collected by cardiac puncture or by cutting the caudal peduncle. Haematological parameters from natural populations of *C. estor estor* were used as controls. Significant statistical differences were found between HCT and Hb values from cultured organisms (tank and pond) in relation to control. HCT values ($36.2\% \pm 3.1$) and erythrocytes ($2.03 \pm 0.36 \times 10^6$ cell ^3mm) of young fishes in recirculation tubs were within the ranges of the reported values for fishes from Lake Pátzcuaro. The differential count of cells showed immature cells, released for circulation in response to stress, hypoxia and anemia. The cells of the leukocyte

series were altered in number and quality, mainly by the absence of granulocytic neutrophils cells. The hematological values obtained in juveniles cultivated with good management were comparable to those obtained in adult fish of *C. estor estor* in wild population. According to this study was not possible to differentiate between young and adults haemograms of *C. estor estor*.

Key words: *Chirostoma estor estor*, haematology, haematocrit, hypoxic, young fishes.

INTRODUCCIÓN

La Hematología de peces tiene importancia en el manejo sanitario de las poblaciones naturales y manejo nutricional en cautiverio, al permitir evaluar la interacción entre los nutrientes y la presencia de tóxicos. También los patógenos y sustancias contaminantes producen alteraciones que se reflejan en algún grado de inmunosupresión y cambios en la sangre de los organismos. Las variaciones de parámetros hematológicos como el hematocrito, la concentración de hemoglobina, el recuento de leucocitos y la fórmula leucocitaria, pueden ser utilizadas como indicadores de contaminación (Haider, 1975; Hontela, 1998; Wahli, 2002) y como indicadores fisiológicos de disfunción orgánica por estrés (Wedemeyer *et al.*, 1990). La concentración de O₂ tiene influencia directa en la eritropoyesis, ya que la hipoxia produce como respuesta aguda la liberación de eritrocitos por contracción del bazo, causando aumento de eritrocitos inmaduros como los policromatófilos en la circulación (Cerdeira, 1994; Valenzuela *et al.*, 2002), por otra parte el estrés crónico produce leucopenia con linfopenia y monocitopenia (Ellis, 1981; Ellis, 1989).

La hematología del género *Chirostoma* del lago de Pátzcuaro, México, fue estudiada por el Laboratorio de Sanidad del CRIP-Pátzcuaro, seleccionando organismos con una longitud total mayor a 18 cm, para tener la certeza de trabajar con la especie *Chirostoma estor estor* Jordan, 1879 (Alaye, 1993a).

Durante 2008 en los sistemas de cultivo del *C. estor estor* en el Centro Regional de Investigación Pesquera-Pátzcuaro ocurrieron enfermedades que se favorecieron por estrés de origen multifactorial y la escasa tolerancia de los organismos a los tratamientos preventivos y que se reflejaron en el aumento de mortandad tanto de juveniles como de reproductores. (Alaye & Morales, 2007a, 2007b; Alaye *et al.*, 2008; Alaye *et al.*, 2009). El presente trabajo tuvo como objetivo conocer los parámetros hematológicos básicos de organismos juveniles del género *Chirostoma* del CRIP-Pátzcuaro en condiciones semicontroladas y controladas en un sistema de recirculación cerrado y forma parte de los compromisos de investigación sobre marcadores de estrés en el control sanitario, para favorecer el desarrollo de la acuicultura de esta especie.

MATERIAL Y MÉTODOS

Todas las muestras de sangre se obtuvieron de lotes organismos juveniles de *Chirostoma estor estor* pertenecientes al Laborato-

rio de Acuicultura del CRIP-Pátzcuaro, producidos mediante el desove de reproductores de la especie, certificada por técnicas moleculares (Mares *et al.*, 2009) y estuvieron formadas por:

a) Sangre de 13 organismos de *C. estor estor* mantenidos en un tanque del Laboratorio de Acuicultura del CRIP-Pátzcuaro, con control de T °C, O₂ y pH del agua, alimentados con alimento balanceado para trucha 4 veces al día. Al tanque se le practicaron recambios periódico de 1/3 del volumen de agua. Tales peces habían sido segregados para un estudio del sistema inmunológico por presentar afecciones bacterianas, lesiones y deformidades.

b) Sangre de 12 organismos obtenidos de un estanque del Centro Acuícola Pátzcuaro sin un manejo regular del control de los parámetros ambientales, calidad del agua, alimentación de los peces y limpieza del estanque.

c) Sangre de 10 organismos juveniles de *C. estor estor*, cultivados en tinas dentro de un sistema de recirculación cerrado del Laboratorio de Acuicultura del CRIP-Pátzcuaro, parámetros ambientales controlados y uso de filtros físicos y biológicos para mantenimiento de la calidad del agua y eliminación de sedimentos, entre los meses de junio de 2010 hasta marzo de 2011. En este caso los organismos se observaron aparentemente sanos, con nado en línea horizontal equilibrada, color de piel normal, aletas caudal y anal normales y branquias de color rojo brillante.

Para atenuar el estrés generado por la manipulación y cambio de ambiente, los peces fueron anestesiados con una solución de benzocaína al 1% en alcohol etílico (10 ml/l de agua). El tiempo de sedación con este anestésico fue entre 1-1.30 min. Para obtener muestras de sangre se realizó una punción cardíaca con una jeringa de 1 ml y aguja de 23 G, introduciendo la aguja a una distancia media entre las bases anteriores de las aletas pectorales. La sangre se mezcló con el anticoagulante de Wintrobe, 0.1 ml/ml de sangre (Alaye, 1993b). Inmediatamente se realizó el frotis para realizar la cuenta diferencial de células en una gota de sangre colocada sobre un portaobjeto. Debido a la escasa longitud de los juveniles provenientes del sistema de tinas con recirculación, la sangre fue obtenida con una incisión con bisturí realizada a la altura de las branquias o el pedúnculo caudal.

Los recuentos de eritrocitos y leucocitos se realizaron diluyendo la muestra con soluciones comerciales: para el recuento de eritrocitos se utilizó la solución isotónica de Hayem y para leucocitos el líquido de Turck, realizando diluciones de 1:200 en pipetas de Thomas y contando las células en una cámara de Neu-

bauer de 0.0025 mm² usando un microscopio Carl Zeiss (100x). El hematocrito (Hto) fue determinado usando tubos capilares heparinizados y centrifugados por 5 minutos en una microcentrífuga a 3,000 g. Cuando hubo dificultad para la obtención de la sangre estos se llenaron directamente desde el sitio de la punción; la hemoglobina (Hb) fue determinada mediante una técnica espectrofotométrica por formación de la cianometahemoglobina con reactivo diluyente de Drabkin y se leyó en un espectrofotómetro a 546 nm. Se calcularon los índices hematimétricos de Wintrobe: la hemoglobina corpuscular media (CHCM), que indica el peso medio de la hemoglobina por 100 ml de eritrocitos y se expresa en % = (Hemoglobina g%/Hematocrito%) × 100 y el volumen corpuscular medio (VCM) que es el volumen promedio de cada eritrocito = (Hematocrito% / Eritrocitos × 10⁶) × 10 (Levinson & Mc Fate, 1962). Para realizar el recuento diferencial de leucocitos los frotis sanguíneos fueron teñidos con la tinción tipo Romanowsky (Wright). Se tomaron fotografía de cada tipo celular con un microscopio óptico Olympus al que se incorporó una cámara fotográfica digital Panasonic Lumix DMC-FSS de 10 MP con lente marca Leica. Debido a la dificultad para obtener organismos de *Chiostoma estor estor* de poblaciones naturales para ser usados como testigos, se usaron los parámetros hematológicos obtenidos del *Chiostoma estor estor* del lago de Pátzcuaro (Alaye *op cit.*, 1993b).

Cuando la cantidad de sangre fue insuficiente para la determinación de la totalidad de los parámetros hematológicos (especialmente el recuento de eritrocitos, y la concentración de Hb), se optó por realizar el hematocrito y la fórmula leucocitaria diferencial, por ser parámetros que nos aportan datos hematimétricos importantes de las series roja y blanca respectivamente. En estos casos los leucocitos y trombocitos fueron determinados por métodos indirectos contando en el frotis la cantidad observada por 500 a 1000 eritrocitos.

A las variables longitud total (LT), hematocrito (Hto) y hemoglobina (Hb) se les aplicó estadística descriptiva. Los valores obtenidos fueron expresados como promedios ± desviación estándar (Med ± DS); la comparación de las significancias de las diferencias de las medias se realizó por el estadístico t usando el software estadístico JMP (Statsoft, Tulsa, OK, USA). En todos los análisis realizados se utilizó un nivel de significancia de ($p \leq 0.05$)

RESULTADOS

Análisis estadístico de los parámetros entre diferentes grupos. Se obtuvo una diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre las tallas medias de las longitudes totales (LT) de los organismos del tanque del laboratorio (14.2 cm LT ± 0.84; $n = 18$) con respecto a la de los peces del estanque del Centro Acuícola (11.9 cm LT ± 2.85; $n = 12$). Los peces cultivados en tinas tuvieron longitudes totales significativamente menores (6.46 cm LT ± 1.13; $n = 45$) tanto en relación a la de los organismos cultivados en el tanque como en el estanque.

Comparando los valores medios del hematocrito y la hemoglobina obtenidos de los organismos usados como testigo (Alaye, *op cit.* 1993b), con los valores de los organismos cultivados, es decir comparando la media del valor del Hto de organismos del lago de Pátzcuaro (39.2%; $n = 19$) con la media del valor del Hto de organismos cultivados en tanque + estanque (30.2%; $n = 25$), se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0.05$). En el caso de la hemoglobina, debido al escaso tamaño de muestra no se obtuvieron datos de la Hb de los peces en estanque y por ello se hizo la comparación con el valor de la Hb de los peces en el tanque. Por medio del estadístico t para dos muestras con varianzas desiguales entre testigo: (5.65 g/100 ml; $n = 14$) y el lote del tanque: (4.18 g/100 ml; $n = 13$), comprobando que la diferencia es estadísticamente significativa ($p \leq 0.05$).

Para los valores del hematocrito de organismos en dos sistemas de cultivos diferentes, comparando las medias de los valores del Hto de organismos del tanque (30.7% ± 15.4; $n = 13$) con los confinados en el estanque (29.7% ± 8.41; $n = 12$) no se obtuvieron diferencia significativas para dos muestras de varianzas desiguales.

Cuando se tuvieron datos del número de eritrocitos, de la concentración de Hb y del porcentaje del Hto, se calcularon los valores promedio de la CHCM y del VCM, resultando ambos índices con una gran dispersión. El valor medio porcentual de la CHCM de los organismos cultivados en el tanque del Laboratorio de Acuicultura (13.6%), fue ligeramente menor que el valor obtenido en el grupo testigo del lago de Pátzcuaro (14.9%); asimismo el VCM de los glóbulos rojos de los juveniles cultivados en tinas con sistema de recirculación (178 μ^3) también fue ligeramente menor que el valor medio obtenido en el lago de Pátzcuaro (188 μ^3).

En la Tabla 1 se dan los números y valores de los parámetros hematológicos obtenidos en los organismos silvestres (lago de Pátzcuaro) y en los diferentes sistemas de cultivos.

En la Tabla 2 se resumen los parámetros hematológicos que presentaron valores con diferencias significativas en sus medias.

Morfología de las células sanguíneas. Serie roja o eritrocitaria. Observada en los extendidos sanguíneos de los organismos en cultivo del Laboratorio de Acuicultura y del Centro Acuícola, un 45% de los frotis mostraron alteración de la serie eritrocítica presentándose alteraciones en el tamaño celular: microcitosis vacuolada, alteraciones en la distribución de la hemoglobina: hipocromía, anisocromía y células vacías de hemoglobina y alteraciones en la diferenciación celular: células inmaduras proeritroblásticas y blásticas que se presentaron como células con núcleos redondos, con la cromatina del núcleo compactada semejantes a los policromatófilos ortocromáticos de sangre humana, y células con la cromatina del núcleo semejante a eritrocitos maduros y citoplasma azul oscuro, con relación citoplasma/núcleo a favor del

Tabla 1. Comparación de parámetros hematológicos de *Chirostoma estor estor* en condiciones naturales (Lago de Pátzcuaro) y en diferentes sistemas de cultivos.

Parámetros	L. de Pátzcuaro			Tanque			Estanque			Tinas		
	n	Med.	SD	n	Med	SD	n	Med	SD	n	Med	SD
Long. Total (cm)	19	21.8	±2.23	18	14.2	±0.84	12	11.9	±2.85	45	6.46	±1.13
Eritrocitos												
(cel x 10 ⁶ mm ³)	26	2.01	±0.35	NA	—	—	NA	—	—	10	2.03	±0.36
Hb (g/100 ml)	14	5.6	±1.06	13	4.1	± 2.84	NA	—	—	NA	—	—
Hematocrito (%)	19	39.2	±6.7	13	30.7	± 15.4	12	29.7	±8.41	7	36.2	±3.13
CHCM (%)	14	14.9	±4.66	8	13.6	±8.26						
VCM (μ ³)	14	188	±20.7							7	178	±33.8

CHCM= Hemoglobina corpuscular media

VCM= Volumen corpuscular medio

NA = No hay datos

Tabla 2. Datos de parámetros hematológicos que presentaron diferencias significativas entre sus medias.

Parámetros	L. de Pátzcuaro			Tanque			Estanque			Tinas		
	n	Med	SD	n	Med	SD	n	Med	SD	n	Med	SD
Hto (%)	19	39.2 ^a	±6.7	13	30.7 ^b	± 15.4	12	29.7 ^b	±8.41	7	36.2 ^a	±3.1
Hb (g/100 ml)	14	5.6 ^a	±1.06	13	4.1 ^b	± 2.84		NA			NA	

Los datos en una misma fila con diferentes letras presentan diferencias significativas entre las medias $p \leq 0.05$.

NA = No hay datos

citoplasma y un aumento de formas premitóticas: eritrocitos con núcleos alargados a punto de segmentarse en una proporción entre el 2-25%.

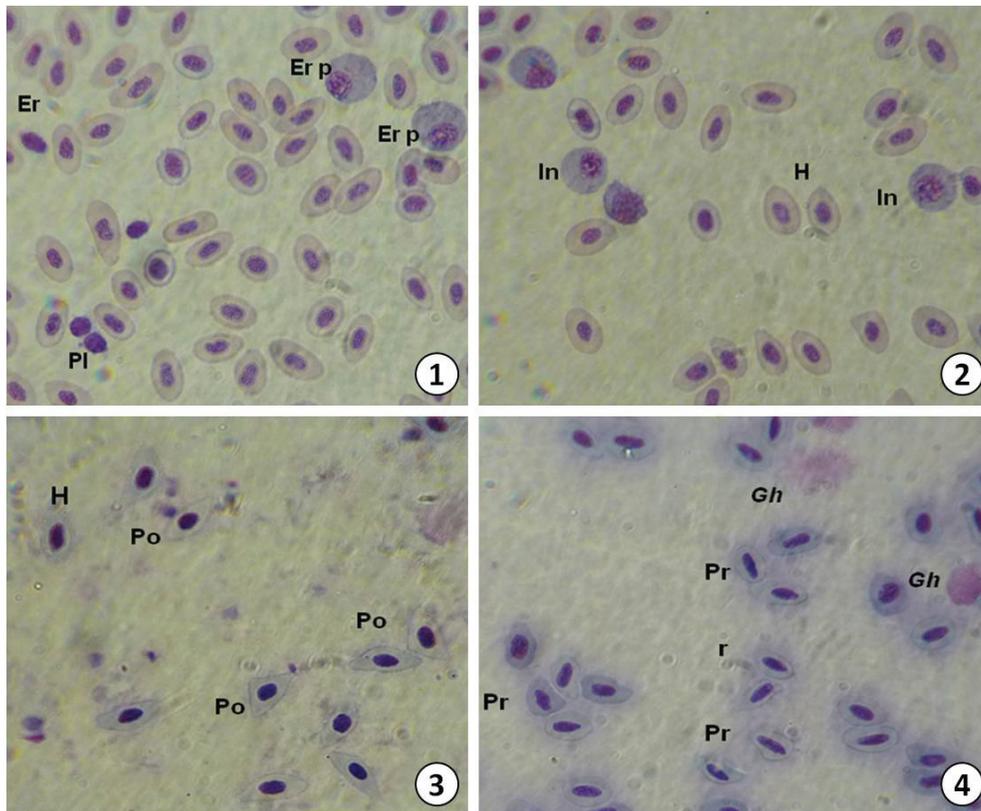
En organismos cultivados en las tinas con sistema de recirculación se observó la presencia de células *ghost* o fantasmas que son nucleos destruidos y de eritrocitos deformados (poiquilocitos), asociados con cambios en la salinidad del agua (Figs. 1-4) y también un aumento de las células inmaduras proeritroblásticas y blásticas de origen eritrocitario. Las diferencias en el tamaño de los eritrocitos y en la distribución de la hemoglobina observadas en la fórmula diferencial, se reflejó en sus valores y en la dispersión de los índices hematimétricos, como fue el VCM y la CHCM, entre los testigos y los juveniles del tanque y tinas con sistema de recirculación (Tabla 1).

Serie blanca o leucocitaria: Durante 2008, coincidente con la aparición de enfermedades en los peces cultivados en los tanques, los organismos presentaron leucopenia, es decir un número de leucocitos menor a 20,000 células por mm³. En los organismos cultivados en tinas (2010-2011), aparentemente sanos, los leucocitos determinados por métodos indirectos representaron el 1.77% de los eritrocitos totales, lo cual significó un valor absoluto promedio de leucocitos de 35,931 células por mm³, cercano al valor promedio de leucocitos de *C. estor estor* en condiciones naturales.

Dentro de los leucocitos los linfocitos constituyeron el mayor porcentaje, aproximadamente un 80% (70-88%), cuando fueron excluidos los trombocitos. Se observaron como células de tamaño y formas variables, pequeñas, grandes, redondas ó ligeramente redondas; citoplasma escaso sin gránulos, frecuentemente irregular y basófilo y fueron frecuentes las prolongaciones del citoplasma. El núcleo es grande y ocupa gran parte de la célula. Los monocitos fueron las células que siguieron en abundancia y representaron el 9% de las células blancas con una amplia dispersión (1-11%); fue frecuente observar en ellos una ligera invaginación en forma de riñón y también prolongaciones del citoplasma. Pueden ser confundidos con las células inmaduras de la serie blanca (leucoblastos) que se encontraron en una proporción media de 11% y un intervalo de 5-18%. (Figs. 5-7)

En el estudio no se observaron células blancas granulocíticas del tipo de los neutrófilos los cuales fueron encontrados en poblaciones naturales de *C. estor estor*.

Los trombocitos o plaquetas se determinaron en función del recuento de eritrocitos, con base a 1000 eritrocitos, variando en un intervalo de 0.7 a 3.1%. Con un valor promedio de eritrocitos de 2.03×10^6 células/mm³, se obtienen valores absolutos de trombocitos entre 14,210 - 62,930 células/mm³ predominando las formas fusiformes, sobre las ovaladas y redondas (Fig. 8).



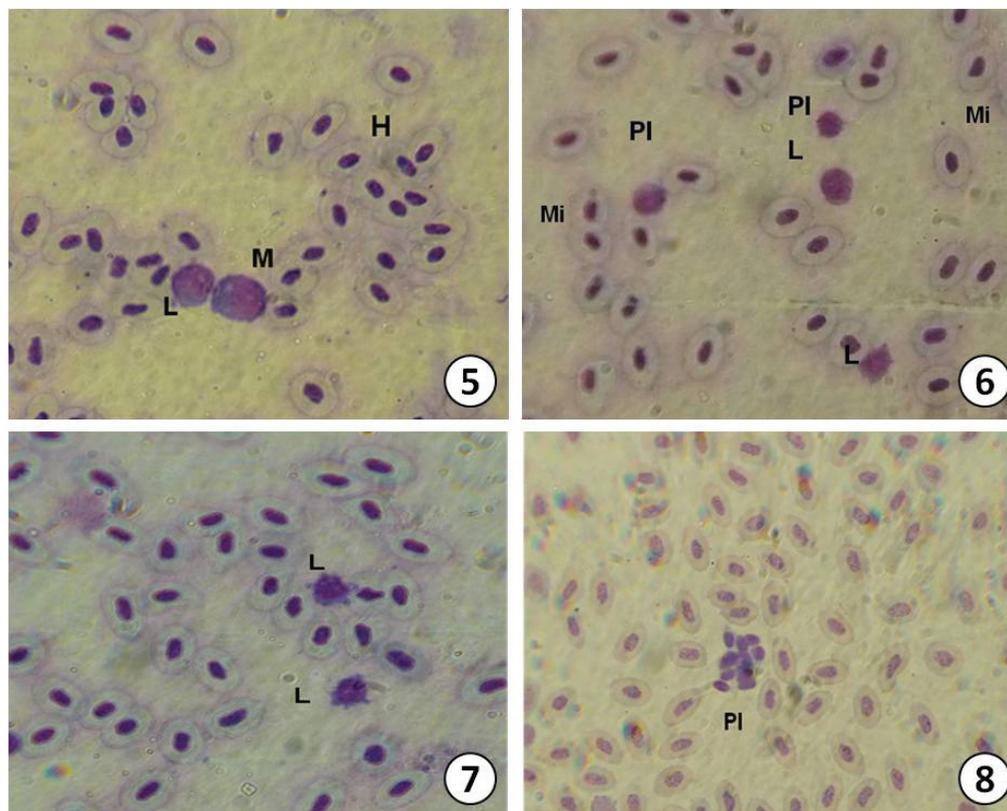
Figuras 1-4. Componentes celulares de juveniles de *Chirostoma estor estor* cultivados en el Laboratorio de Acuicultura del CRIP-Pátzcuaro. Fig 1. Eritrocitos normales (Er). Eritrocitos policromatófilos (Er p): núcleos excéntricos y citoplasma azul intenso. Plaquetas (Pl). Fig. 2. Anemia: hipocromía y anisocromía (H) y células blásticas inmaduras de la serie eritrocítica (In) con la cromatina del núcleo laxa y nucléolos. Fig. 3. Alteraciones serie roja: marcada hipocromía (H) y alteraciones en la forma de los eritrocitos: anisocitosis y poiquilocitosis (Po). Fig. 4. Células de la serie roja destruidas: células ghost (Gh), formas premitóticas (Pr): eritrocitos con núcleos elongados a punto de dividirse.

En la Tabla 3 se comparan los diferentes tipos celulares de los organismos mantenidos en diferentes sistemas de cultivos.

DISCUSIÓN

De acuerdo a los resultados obtenidos, los parámetros hemoglobina, hematocrito y la fórmula leucocitaria diferencial así como la bioquímica sanguínea, pueden ser usados como indicativos de las condiciones fisiológicas de los juveniles y reproductores de *C. estor estor* para diagnosticar cuadros patológicos y situaciones de estrés en ésta y todas las especies de interés cultivadas comercialmente, ya que son indicadores rápidos de perturbaciones fisiológicas o ambientales (Alaye *et al.*, 2010; Alaye *et al.*, 2011). Se ha descrito que el hematocrito está relacionado con la actividad de los peces y su hábitat señalándose que el valor del hematocrito es mayor en peces dulceacuícolas que en peces de aguas marinas, presentado estos últimos mayor número de glóbulos rojos, los cuales además son más pequeños. Este aumento del número de eritrocitos pequeños tendría como función mejorar el intercambio gaseoso debido a su mayor relación superficie/volumen

mejorando con ello el transporte del oxígeno disuelto en el agua (Bastardo & Barberán, 2004). En el presente estudio se obtuvieron diferencias significativas entre el volumen globular (Hto) y la concentración de hemoglobina (Hb) de los valores de peces del lago de Pátzcuaro usados como testigo y los de los juveniles de *C. estor estor* cultivados, posiblemente por las afecciones bacterianas y el estrés causado por su manejo, en el proceso de selección de los peces del tanque, y por déficit en su nutrición (menor suministro de alimento y menos regularidad entre las raciones) en el caso de los peces del estanque. A pesar de las diferencias en la longitud total (LT) de los organismos, los valores de eritrocitos y de Hto obtenidos en los juveniles cultivados en tinas con sistema de recirculación cerrado, coincidieron con los de los organismos en condiciones naturales, en una media de $2.03 \times 10^6 \pm 0.36$ células por mm^3 y $36.2 \pm 3.13\%$ respectivamente. Los datos obtenidos sugieren que el volumen globular o hematocrito es independiente de la etapa de crecimiento de los peces y está en relación con la cantidad y tipo de células de la serie roja y por tanto es un buen indicador del estado de salud de los peces.



Figuras 5-8. Componentes celulares de juveniles de *Chirostoma estor estor* cultivados en el Laboratorio de Acuicultura del CRIP-Pátzcuaro. Fig. 5. Linfocito y monocito. Hipocromía (H). Formas premitóticas de eritrocitos. Fig. 6. Marcada hipocromía y formas premitóticas de eritrocitos. Linfocitos con prolongaciones citoplasmáticas (L). Plaquetas o trombocitos (PI). Fig. 7. Linfocitos con prolongaciones citoplasmáticas (L) y formas premitóticas de eritrocitos. Fig. 8. Acúmulos de plaquetas o trombocitos (PI).

Los índices hematimétricos que derivan del número de eritrocitos, la concentración de hemoglobina y del hematocrito varían de una especie a otra e incluso en la misma especie según la concentración de oxígeno disuelto, actividad, etapa gonadal y estado fisiológico del pez (Alaye, *op cit.*, 1993b). En el presente estudio se comprobó una gran dispersión de los valores del VCM, que está relacionado con el tamaño celular de los eritrocitos y que se utiliza para clasificarlos como normocíticos, microcíticos o macrocíticos, indicando en los organismos cultivados en tinas con recirculación anisocitosis con microcitosis y liberación a la circulación de células inmaduras tempranas de la serie roja. El valor porcentual de la CHCM, relacionado con la distribución de la hemoglobina dentro del eritrocito, nos indica, en el caso de organismos cultivados en el tanque del Laboratorio de Acuicultura, una concentración ligeramente menor o la distribución irregular de la Hb (hipocromía y anisocromía).

La estimulación de la eritropoyesis con la presencia en sangre periférica de eritrocitos liberados en etapas tempranas de madurez, junto con el aumento de las formas premitóticas y aumento de células proeritroblásticas y blásticas de la serie roja, se da como respuesta fisiológica para aumentar el número

de células rojas en la circulación, en casos de anemia, ó como una respuesta al estrés hipóxico en peces expuestos a cortos periodos de hipoxia o anoxia por errores en el manejo rutinario del cultivo. En *Chirostoma lucius* Boulenger, 1900 y *Chirostoma consocium* Jordan *et* Hubbs, 1919 la presencia de eritrocitos micronucleados y policromatófilos (EPC) son considerados como bioindicadores de genotoxicidad (Torres-Bugarín *et al.*, 2007) o de discrasias eritrocitarias por déficit de ácido fólico o cianocobalamina que interviene en la síntesis de la hemoglobina (Monroy, 2005).

En truchas sometidas a diferentes grados de hipoxia (Valenzuela *et al.*, 2002) el aumento del número de eritrocitos, por una gran salida a la circulación por contracción del bazo de eritrocitos inmaduros, de menor tamaño, como respuesta al estrés inmediato a la hipoxia aguda (Pickering, 1989), no siempre está relacionado con un aumento en la concentración de la hemoglobina, ya que estos eritrocitos inmaduros son poco funcionales y requieren de un tiempo de maduración para la síntesis de hemoglobina.

En situaciones de anoxias severas o crónicas, en casos de que el oxígeno disuelto llegue a niveles muy bajos, el estrés indu-

Tabla 3. Valores absolutos y porcentuales de células de la serie leucocitaria y plaquetas.

Formula leucocitaria	Lago de Pátzcuaro		Tanque+ estanque		Tinas	
	Media	Intervalo	Media	Intervalo	Media	Intervalo
Leucocitos (cel $\times 10^3$ mm ³)	31.6	11.2 -68.0	18.8	13.1-28.2	35.9	32-38.8
Tipo celular (%)						
Linfocitos	83	75 - 92	99.5		80	70-88
Gran. Neutrófilos	10.3	3-19	0.5	0-1	0	
Gran. Eosinófilos	0	0	0		0	
Gran. Basófilos	0	0	0		0	
Monocitos	5.3	1-10	0.5	0-1	9	1 - 11
Cél. inmaduras					11.5*	5-18
Trombocitos (cel $\times 10^3$ mm ³)	47.5	27-63	62	43.4-93.0	31.6	14.2-69.2

* Promedio de células inmaduras de la serie blanca o leucocitaria en frotis.

cido usualmente conduce a infecciones bacterianas y la acción permanente del agente estresante debilita la resistencia de los peces y la aparición de mortandades (Alaye *et al.*, 2007a, 2007b, 2008, 2009).

En los frotis diferenciales de células blancas de los juveniles analizados no se encontraron granulocitos del tipo de los neutrófilos, que están presentes en las fórmulas diferenciales de poblaciones naturales de *C. estor estor* del lago de Pátzcuaro (Alaye *op cit.*, 1993b), en donde la proporción de estas células fue de 10.3% con un intervalo de 3-19%.

Estas células están presentes en la sangre de los peces dulcacuicolas en números muy variables (4-60%). En los juveniles de trucha (*Onchorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) el intervalo varía entre 1-9% y en el rubio (*Salminus affinis* Steindachner, 1880) de 19-34% de las células blancas totales (Atencio *et al.*, 2007). Los granulocitos neutrófilos forman parte de los mecanismos de defensas inespecíficos respondiendo a la presencia de materiales extraños, pero no a antígenos específicos, destruyendo a las partículas extrañas por fagocitosis o respuesta citotóxica y con una respuesta inflamatoria, mientras que la presencia de granulocitos eosinófilos y basófilos, de acuerdo a Fernández *et al.* (2002) están relacionadas con enfermedades inflamatorias o parasitarias, ya que en condiciones normales en peces sanos estas células son escasas y en algunos casos ausentes.

La leucopenia junto con la linfocitosis y la neutropenia presentados en los organismos del tanques, fueron producidas tanto por estrés por déficit de oxígeno como a septicemias bacteriales (Atencio *et al.*, 2007), o por una mala nutrición en los organismos del estanque y son indicativas de una respuesta inmune deprimida (Barandica & Tort, 2008; Alaye *et al.*, 2009). En los organismos cultivados en las tinas de recirculación, con un mejor manejo en cuanto a la calidad del agua, los valores de sus leucocitos fueron cercanos al de los organismos controles en condiciones natura-

les, aunque en el transcurso de los cultivos las variaciones en los parámetros en la calidad del agua por acumulación de nutrientes tóxicos: amonio y nitritos, pudieron afectar la calidad de las células (Alaye & Morales, 2010).

La linfopenia de los organismos juveniles con alteraciones orgánicas que estuvieron segregados en tanques y estanques es indicativa de septicemias bacterianas y de respuesta inmune deprimida. Dentro de la fórmula diferencial de células blancas, los linfocitos ocuparon el mayor porcentaje seguido de los monocitos. A diferencia de las células sanguíneas encontradas en las poblaciones de *C. estor estor* del lago de Pátzcuaro (Alaye *op cit.*, 1993b), los granulocitos neutrófilos estuvieron ausentes en el recuento diferencial de leucocitos, sin que esto pudiera ser correlacionados con algún signo patológico. Patrones hematológicos de referencia como el establecido para las poblaciones silvestres del género *Chirostoma* del lago de Pátzcuaro, son necesarios para diagnosticar cuadros patológicos y situaciones de estrés en organismos pertenecientes a las especies de interés en cultivos comerciales, ya que son indicadores rápidos de perturbaciones fisiológicas o ambientales.

REFERENCIAS

- ALAYE, N. 1993a. El pescado blanco (género *Chirostoma*) del lago de Pátzcuaro. Composición de especies. Instituto Nacional de Pesca. Secretaría de Pesca. México *Ciencia Pesquera* (9):113-128.
- ALAYE, N. 1993b. Hematología de atherinidos de agua dulce: género *Chirostoma* spp del Lago de Pátzcuaro, Michoacán. Instituto Nacional de la Pesca, Secretaría de Pesca México. *Ciencia Pesquera* (10):97-109.
- ALAYE, N. & J. MORALES. 2007a. Incidencia de mortalidades en cultivo de *Chirostoma estor*. Diagnósticos Bacteriológicos y Toxicológicos. Informe interno. CRIP-Pátzcuaro. INAPESCA. 10 p.

- ALAYE, N. & J. MORALES. 2007b. Cultivo de *Chirostoma estor*. Monitoreo bacteriológico de agua y organismos. (Informe técnico septiembre-diciembre de 2007). Documento interno. CRIP-Pátzcuaro. INAPESCA. 12 p.
- ALAYE, N., J. MORALES & F. ESTRADA. 2008. Cultivo de *Chirostoma estor* Monitoreo sanitario de agua y organismos (enero-abril de 2008). Informe interno. CRIP-Pátzcuaro. INAPESCA. 12 p.
- ALAYE, N., J. HERNÁNDEZ, J. MORALES, F. ESTRADA & S. SABANERO. 2009. Estudio del Sistema inmune del *Chirostoma estor* y su relación con factores intrínsecos y/o ambientales. Informe final de Investigación. CRIP-Pátzcuaro. INAPESCA. 22 p.
- ALAYE, N. & J. MORALES. 2010. Evaluación de algunos parámetros de calidad del agua en el sistema cerrado de recirculación para acuicultura del *Chirostoma estor*. Informe técnico Laboratorio de Bioquímica y Sanidad Acuicola. CRIP-Pátzcuaro, INAPESCA. 10 p.
- ALAYE, N., J. HERNÁNDEZ, J. MORALES & S. SABANERO. 2011. Parámetros metabólicos del pescado blanco *Chirostoma estor estor* de Pátzcuaro, Michoacán, México. Documento interno. CRIP-Pátzcuaro. INAPESCA. 24 p.
- ATENCIO-GARCÍA, V., F. GENES-LÓPEZ, D. MADARIAGA-MENDOZA & S. PARDO-CARRASCO. 2007. Hematología y Química sanguínea de juveniles de rubio (*Salminus affinis* Pisces: Characidae) del río Sinu. *Acta Biológica Colombiana* 12(S): 27-40.
- BARANDICA, L. & L. TORT. 2008. Neuroendocrinología e inmunología de la respuesta al estrés en peces. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias* 32 (123): 267-284.
- BASTARDO, A. & R. D. BARBERÁN. 2004. Parámetros hematológicos de la paragua, *Chaetodipterus faber* (Broussonet) (Pices: Ehippidae) en condiciones de cultivo. *Zootecnia Tropical* 22 (4): 361-370.
- CENTENO, L. R., A. SILVA, R. BARRIOS, L. R. SALAZAR, C. MATUTE & J. L. PÉREZ. 2007. Características hematológicas de la cachama (*Colossoma macropomum*) en tres etapas de crecimiento cultivadas en el estado Delta Amacuro, Venezuela. *Zootecnia Tropical* 25 (4): 237-243.
- CERDA, A. 1994. Valores de referencia de la serie roja en *Oncorhynchus mykiss* en la piscicultura centro Antuco, Los Angeles. In: Valenzuela, A., C. Oyarzún & V. Silva. 2003. Células sanguíneas de *Schroederichthys chilensis* (Guichenot 1848) Elasmobranchii, scyliorhinidae: serie blanca. *Gayana* 67 (1): 130-137.
- ELLIS, A. E. 1981. Stress and the modulation of defense mechanisms in fish. In: Pickering, A. D. (Ed.). *Stress and Fish*. Acad. Press-London, pp. 147-169.
- ELLIS, A. E. 1989. The immunology of teleosts. In: Roberts, R. J. (Ed.). *Fish Pathology*, 2nd ed. London, pp.135-152.
- FERNÁNDEZ, A. B., I. DE BLAS & I. RUÍZ. 2002. El sistema inmune de los teleosteos (I): Células y órganos. *Revista AquaTIC*, n° 16, Abril 2002. [Disponible en línea en URL: <http://www.revistaaquatic.com/aquatic/art.asp?t=h&c=146>]. Consultado el 10 de noviembre de 2012).
- HAIDER, G. 1975. Modificaciones hematológicas en peces tratados con diferentes materiales pesados. En: *Trabajos sobre Histopatología de los peces*. Reinchebank-Klinke. Ed. Acribia. Zaragoza, España, 99 p.
- HONTELA, A. 1998. Interrenal disfunction in fish from contaminated sites: In vivo and in vitro assessment. *Environmental Toxicology and Chemistry* 17 (1): 44-48.
- LEVINSON, S. A. & R. P. MCFATE. 1962. Diagnóstico Clínico de Laboratorio. V edición. Editorial El Ateneo. Buenos Aires. 1274 p.
- MARES, G., S. SABANERO, G. LEÓN, J. HERNÁNDEZ, M. I. BARRIGA, C. GARNICA & I. OJEDA. 2009. Discriminación molecular por medio de marcadores mitocondriales de organismos en cautiverio del pescado blanco del lago de Pátzcuaro. Informe de Investigación. CRIP-Pátzcuaro. INAPESCA. 12 p.
- MONROY, G. 2005. Atlas básico de células sanguíneas normales y anormales de la tilapia cultivada. *Hematología: Ambiente y nutrición en la salud de los peces*. USSEC, ASA, USB. Disponible en línea en: <http://soyamex.com.mx/acuicultura2009/gina/Hematologia.pdf>. (Consultado el 11 de enero de 2010).
- PICKERING, A. D. 1989. Factors affecting the susceptibility of salmonids fish to disease. *Fresh Biological Association*. Windermere Laboratory. England. Annual Report, pp. 61-80.
- TORRES-BUGARÍN, O., J. L. ZAVALA-AGUIRRE, P. GÓMEZ-RUBIO, H. BUENA-OLSBEN, H. G. ZUÑIGA-GONZÁLEZ & M. GARCÍA-ULLOA. 2007. Especies de peces con potencial como bioindicadora de genotoxicidad en el lago "La alberca" Michoacán, México. *Hidrobiológica* 17 (1): 75-81.
- VALENZUELA, A. E., K. I. ALVEAL & E. TARIFEÑO. 2002. Respuesta hematológica de truchas (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792) a estrés hipóxico agudo: Serie roja. *Gayana* 6 (2): 255-261.
- WEDEMEYER, G. A., B. A. BARTON & D. J. MCLEAY. 1990. Stress and acclimation. In: Schreck, C. B. & P. B. Moyle (Eds.). *Methods for fish biology*, American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, pp. 451-489.
- WAHLI, T. 2002. Approaches to investigate environmental impacts on fish health. *Fish Biology* 24: 545-552.

Recibido: 14 de febrero de 2012.

Aceptado: 30 de abril de 2013.