



Universidad Nacional Autónoma de México

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES IZTACALA

BO 226/85
P39 Ej. 3
Biología

" Estudio hematológico de la trucha arco iris (Salmo gairdneri)
en el centro piscícola El Zarco, D. F., y la granja rural en
Guadalupe Victoria, Edo. de Méx. "

Tesis Profesional

Que para obtener el título de

B I O L O G O

Presenta

BERNARDO CUAUHTEMOC AGUIRRE CEREZERO



SAN JUAN IZTACALA

MEXICO 1985



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CON AMOR Y GRATITUD A MI MADRE

A MI PADRE CON PROFUNDA ADMIRACION

A MIS QUERIDOS HERMANOS: ALEJANDRO, ROSARIO, OLGA,
OLIVIA, EDUARDO, FELIX Y ROGELIO.

CON CARINO A LETICIA BELTRAN LOPEZ.

AGRADECIMIENTOS

UN AMPLIO RECONOCIMIENTO A TODAS LAS PERSONAS QUE INTERVINIERON E HICIERON POSIBLE LA REALIZACION DEL PRESENTE TRABAJO.

ESPECIAL AGRADECIMIENTO A: BIOL. AMALIA ARMIJO ORTIZ, M.V.Z. FRANCISCO CARACHEO REYES, DR. SALVADOR VELEZ RODRIGUEZ, BIOL. LETICIA BELTRAN LOPEZ, Q.F.B. ELISA QUINTANAR GARCIA, SR. SALOMON SANCHEZ, LIC. JONAS BARRERA MERCADO, BIOL. CARLOS HERRERA GARCIA, BIOL. PETER MICHAEL MUELLER, M.C. JAIME CURTS GARCIA, BIOL. MANUEL ELIAS GUTIERREZ, BIOL. ANGEL, BIOL. AGUSTIN, SRA. SILVIA LUGO HERNANDEZ, SRA. JOSEFINA SEGURA GONZALEZ, BIOL. SILVIA HERNANDEZ BETANCOURT, DR. PAUL O. GARCIA T., BIOL. RODOLFO CARDENAS R., DR. PABLO FUENTES S., BIOL. JOSE DEL CARMEN BENITEZ C., BIOL. OMAR MORALES ALVAREZ, BIOL. RICARDO PEREZ GARCIA, BIOL. MARCO ANTONIO RIOS MERCADO Y BIOL. SABINO IBARRA LOPEZ.

I N D I C E

	<u>PAG.</u>
RESUMEN	
INTRODUCCION	1
ANTECEDENTES	4
OBJETIVOS	14
MATERIAL Y METODO	15
RESULTADOS	25
ANALISIS DE RESULTADOS	45
CONCLUSIONES	55
RECOMENDACIONES	58
BIBLIOGRAFIA	59

RESUMEN:

Los estudios hematológicos y su aplicación en la acuicultura, han tomado un interés relevante como elementos fundamentales para el diagnóstico de problemas sanitarios en las poblaciones de peces. Hasta el momento no se tienen reportes escritos sobre la práctica de este tipo de análisis en los centros piscícolas o granjas de cultivo en México.

Lo anterior hace imperioso conocer las técnicas desarrolladas para tal efecto, y llevarlas a la práctica en los criaderos de peces de nuestro país.

Por lo tanto, en el presente trabajo se determinan los valores hematológicos en dos poblaciones clínicamente sanas de trucha arco iris (Salmo gairdneri) con dietas alimenticias diferentes.

Al concluir los estudios y las pruebas de laboratorio, se analizan los resultados y con auxilio de la prueba estadística "U de Mann - Whitney" se deduce que no existen diferencias significativas en los parámetros morfométricos (peso, longitud total y altura), entre las dos poblaciones, no siendo así en los parámetros hematológicos ya que en hemoglobina, Concentración Media Globular, Número de Leucocitos, Linfocitos y Monocitos, existe diferencia significativa y únicamente en hematócrito y neutrófilos se comportan igual. Por lo tanto, se concluye que son dos poblaciones diferentes y que esta disimilitud puede deberse al tipo de alimentación que sustentan y al medio en el que se desarrollan.

Comparado con los informes de investigaciones semejantes efectuados en otros países, se aprecia que los resultados obtenidos en este trabajo se encuentran dentro de los rangos establecidos en dichos estudios.

INTRODUCCION :

En los últimos años, se ha considerado de suma importancia el incrementar el desarrollo de la acuicultura, para contribuir a la atención de la creciente demanda de productos alimenticios de gran valor nutricional.

Para cumplir con este propósito, se han desarrollado metodologías y técnicas para varias especies, algunas de ellas muy productivas. La piscicultura representa uno de los intentos más antiguos del hombre para lograr la producción de alimentos. Esta biotécnica ha consistido en la domesticación progresiva de algunas especies.

A pesar de siglos de interés, en la actualidad hay apenas un limitado número de especies de peces que se encuentran prácticamente domesticadas. Se trata de: los Bagres (americanos y asiáticos), las Carpas (euroasiáticas), las Tilapias (de raigambre africano) y los Salmónidos (salmones y truchas). (Depto. de Pesca, 1981).

Considerando que las últimas administraciones fijan entre sus prioridades el mejoramiento de la dieta de las masas populares, se ha planteado que el desarrollo de la acuicultura se apoye en la producción de aquellas especies cuyo cultivo se basa en el conocimiento y manejo de criterios biológicos plenamente probados.

Por esta razón, las especies seleccionadas para apoyar un desarrollo acuícola con fines de producción masiva de alimentos son: bagre, carpa, tilapia y trucha, ya que la biología de estas especies es bien conocida.

En el presente estudio se elige trabajar con la trucha arco iris (Salmo gairdneri) de acuerdo con lo anotado anteriormente y por ser un pez que se puede mantener con cierta facilidad dada su gran adaptabilidad ya que es capaz de desarrollarse a una talla comercial en

un tiempo relativamente corto y con un mínimo de inversión. Todo esto, aunado al gran potencial alimenticio que de esta especie se puede obtener, hacen a la trucha arco iris un pez que brinda un recurso de alta calidad en la dieta de la población humana.

La investigación en la acuicultura recientemente incorpora a la genética como un elemento para mejorar las especies que se cultivan, incrementarlas en las condiciones mas favorables, y determinar las causas que afectan en alguna forma su desarrollo.

Las investigaciones en el campo de la fisiología de la reproducción, han logrado hacer mas eficientes las actividades de desove obteniendo un número mayor de peces que logran completar el ciclo de vida. Otras áreas de estudio que también se manejan, son la nutrición y la patología las cuales contribuyen a incrementar el desarrollo de la acuicultura.

Uno de los aspectos que escasamente se maneja en la investigación de nuestras poblaciones de peces, es el estudio hematológico, el que sin duda puede contribuir al conocimiento de las características y constantes fisiológicas de los peces, hecho que se refleja en los trabajos realizados en otros países y que cuentan con un avanzado desarrollo en el área de acuicultura, dando como resultado un creciente beneficio en la mejora y expansión de sus poblaciones de peces, aprovechando al máximo posible y en todas sus etapas este recurso.

La hematología es, entre otros, el análisis que más aportaciones nos puede brindar para conocer el estado de salud de los peces. En los países mas desarrollados en materia de acuicultura, estos estudios son ampliamente manejados conociendo las particularidades de cada caso en sus distintas poblaciones, ampliando y modificando las técnicas, según se requiera en el suceso, lo cual les permite decidir los tratamientos de control sanitario a seguir de acuerdo a los resultados que se obtienen.

En nuestro país no se han reportado por escrito estudios hematológicos en peces. Existen algunos trabajos realizados sobre la hematología de la carpa espejo que aún no han sido publicados (A. Armijo com. pers.) Por lo general, los reportes bibliográficos son trabajos realizados en el extranjero cuyos resultados no se pueden aplicar en nuestras poblaciones piscícolas, ya que las características entre los distintos lugares, mantienen diferencias de gran consideración.

Por lo tanto, se hace necesario que en nuestro país se practiquen análisis sanguíneos a las poblaciones de peces que nos permitan conocer sus constantes hemáticas y efectuar valoraciones que nos ayuden a comprender y resolver problemas de carácter genético nutricional o patológico.

El presente trabajo se encuentra encaminado a conocer algunos parámetros hematológicos de gran interés en el análisis sanguíneo de la trucha arco iris (Salmo gairdneri).

ANTECEDENTES :

La trucha arco iris (Salmo gairdneri), es un pez teleósteo de agua dulce característico de regiones húmedas, en donde la temperatura del agua oscila entre 10 y 18°C, propios de lugares a gran altura sobre el nivel del mar. Particularmente, se encuentra en ríos de agua corriente y poca profundidad, pero invariablemente con fondo de grava y arena. Aunque poseen una gran capacidad de adaptación, su desarrollo se ve favorecido en las condiciones antes mencionadas.

La trucha arco iris, puede mantenerse con cierta facilidad en cautiverio, ya que los índices de producción son elevados. En la época de apareamiento (invierno), la hembra arroja en promedio de 1500 a 2000 huevos por kilogramo de peso, dependiendo de la edad y el tamaño. La inseminación artificial en condiciones prácticas y de explotación intensiva, se lleva a cabo en una proporción del producto seminal de dos machos para los óvulos de tres hembras. (Secretaría de Pesca, 1982).

El ciclo biológico de esta especie tiene varias etapas de desarrollo: huevos, alevines, crías, juveniles y adultos. En las dos primeras se requieren cuidados esmerados por su elevada mortalidad. Alcanzan la madurez sexual aproximadamente en dos años y tienen un rango de vida de cinco años. Algunos ejemplares llegan a medir hasta 70 cms. En la siguiente tabla se presentan tallas y pesos estimados para cada fase, los que están sujetos a las condiciones del medio ambiente, disponibilidad de alimento, sanidad, etc., por lo que pueden alcanzarse en mayor o menor tiempo.

Las figuras 1 y 2, representan la anatomía externa e interna respectivamente de la trucha arco iris. (Diseño elaborado por Carlos Martínez, Dirección de Acuicultura, Secretaría de Pesca).

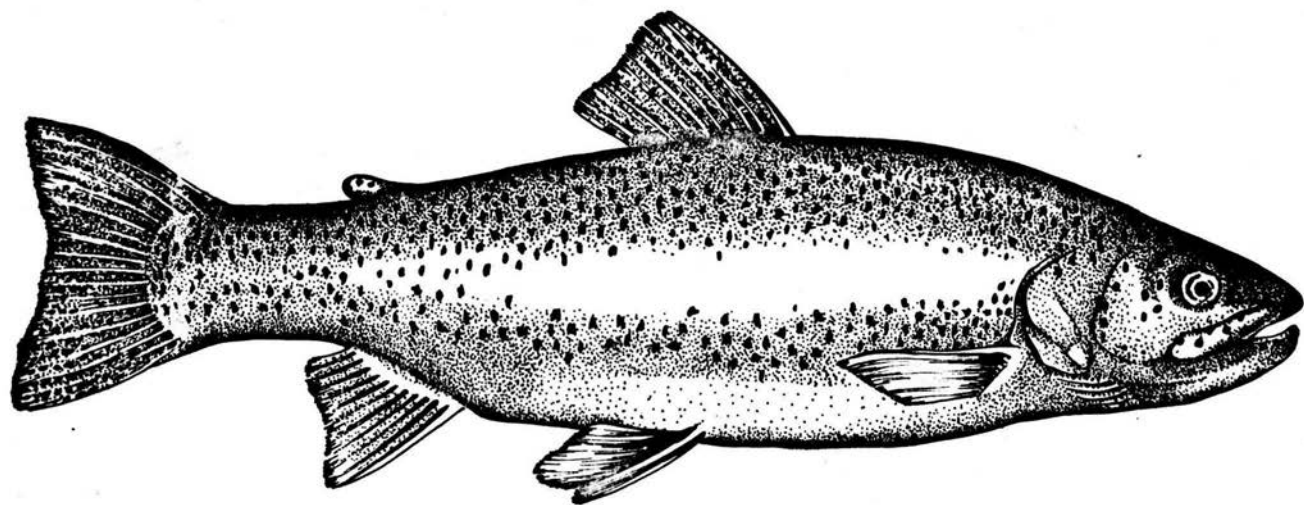


Fig. 1 Anatomía externa de la trucha arco iris

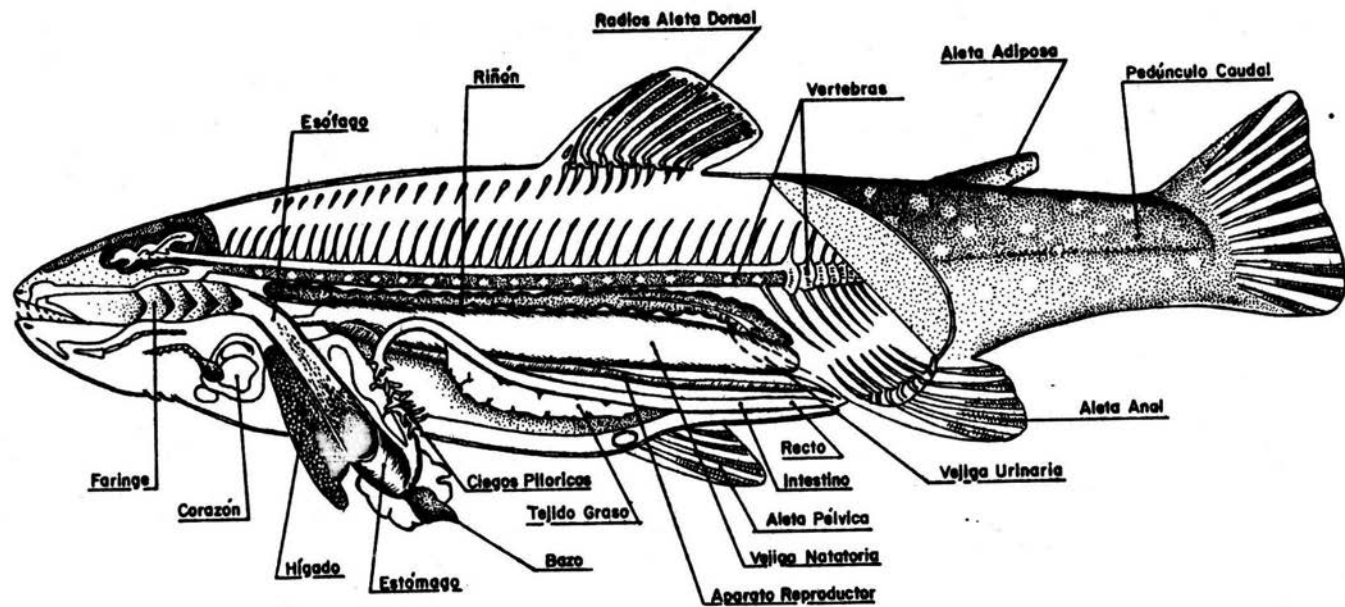


Fig. 2 Anatomía interna de la trucha arco iris

ESTADIO	TALLA	PESO	TIEMPO
Huevo	3.5 - 5.0 mm.		30 días
Alevín	15 - 20 mm.		60 días
Cría	2 - 4 cm.	0.7 - 2.5 gr.	
Cría	10 - 15 cm.	11 - 40 gr.	120 días
Juvenil	15 - 20 cm.	40 - 90 gr.	300 días
Adulto	20 - 25 cm.	90 - 200 gr.	365 días
Adulto	30 cm.	300 gr.	720 días

(Secretaría de Pesca, 1982)

En condiciones naturales, la trucha arco iris se alimenta de una gran diversidad de organismos acuáticos, variando el volumen de éstos de acuerdo al tamaño y edad de la trucha, así como a la estación y la cantidad que de estos organismos haya en el habitat. Por lo general, las truchas pequeñas se alimentan de residuos de plantas acuáticas, insectos acuáticos, insectos terrestres, almejas, gusanos y caracoles, mientras que en las truchas de mayor tamaño son estrictamente carnívoras, alimentándose básicamente por peces y crustáceos pequeños.

Para el cultivo de la trucha, las dietas alimenticias son relativamente caras y difíciles de formular, requiriéndose para su composición 40% de proteínas, 5% de grasas, 4% de minerales, 5% de fibra cruda y 4% de vitaminas. (Lall y Bishop, 1976) (Reinnitz y Hitzel, 1979).

Durante su ciclo de vida, la trucha arco iris presenta un dimorfismo sexual con las características que a continuación se presentan:

CARACTERISTICAS	HEMBRAS	MACHOS
Papila urogenital	2 Poros	1 Poro
Vientre	Abultado, prominente, redondeado y rojizo.	No abultado, pequeño, alargado y pálido.
Línea lateral	No acentuada.	Acentuada y de color rojo.
Mandíbula inferior	Redondeada	Ligeramente aguda y sobresaliendo a la mandíbula superior.
Coloración		Acentuada
Ano	Rojo	

(Secretaría de Pesca, 1982)

Como en anfibios y reptiles, los peces son organismos de sangre fría que no soportan cambios bruscos en la temperatura y especialmente los salmónidos como la trucha de agua fría que nos ocupa en este trabajo.

La trucha arco iris es un pez que presenta un sistema circulatorio cerrado, (figura 3) con un volumen sanguíneo que equivale de 1.5 a 3% del peso del cuerpo (Korzhuev, 1964). En los peces el plasma sanguíneo y los elementos figurados son renovados por diversos órganos (Hematopoyesis), difiriéndose en esto de los mamíferos. (Roberts, 1981).

La sangre de los peces está constituida por un fluido plasmático, células sanguíneas y otros restos de la linfa.

Las células rojas aparecen con mayor frecuencia en linfa de peces como en la linfa de vertebrados superiores (Lagler y colaboradores, 1977).

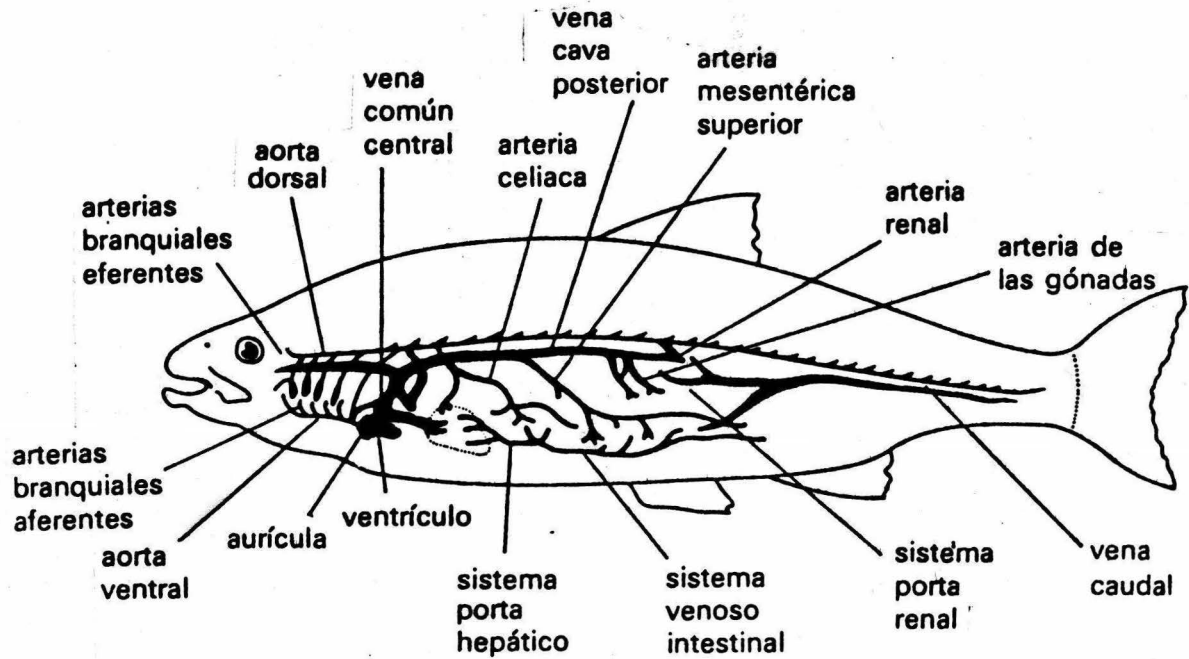


Fig. 3 Representación esquemática de la circulación de un teleosteo típico

El plasma es un líquido claro en el cual se pueden encontrar minerales disueltos, producto de absorción de la digestión, secreciones especiales, proteínas, gases disueltos y anticuerpos. Los peces tienen bajos niveles de proteína en la sangre comparado con los vertebrados superiores. Lagler, (op.cit.)

Las principales proteínas en el plasma de los peces son: la albúmina (para el control de la presión osmótica), lipo-proteína (transporte de lípidos), globulina (unión hem) fibrinógeno (elemento de coagulación); cabe mencionar que los peces poseen un tiempo de coagulación muy corto.

El suero de algunos teleosteos como la carpa (Ciprinus carpio), se ha probado que es capaz de producir cierta toxicidad al ser inyectado en el sistema circulatorio de mamíferos. Lagler, (op.cit.)

Las células rojas o eritrocitos de los peces son nucleadas; éstas en estado de madurez tienen una forma ovalada, en promedio el diámetro es de 7 micras (como referencia, podemos mencionar que en humanos el diámetro del eritrocito es de 7.9 micras). En algunos casos como el gran pez pulmonado de Africa (Protopterus) alcanzan 36 micras. El pez ganso (Lophius) de habitat muy restringido y poca actividad, tiene un promedio de 850,000 eritrocitos por milímetro cúbico, mientras que el pez escombro (Scomber) de habitat muy amplio y de gran actividad, alcanza un promedio de 3,000,000 de eritrocitos por milímetro cúbico (Grodzinski, 1938). En la trucha arco iris (Salmo gairdneri), el número de eritrocitos reportados es de 1,300,000 por milímetro cúbico (Klontz y Smith, 1968). Las células rojas no nucleadas, raramente son encontradas en la sangre de peces, pero cuando existen, se reportan como un caso de inmadurez.

Las células blancas o leucocitos son de forma oval a esferoide, tienen un promedio de 10 micras de diámetro y varían en número de acuerdo al tipo de pez, por lo general de 20,000 a 150,000 por milímetro cúbico de sangre. Lagler, (op.cit.)

En los vertebrados de sangre caliente la formación de las células sanguíneas está restringida a la médula ósea, bazo y nódulos linfáticos. En peces y anfibios muchos más órganos toman parte en la producción de células sanguíneas (Hematopoyesis). (Roberts, 1981).

Los eritrocitos y granulocitos se forman en los arcos dorsales protovertebrales a la notocorda (Lagler, op.cit.). En *Gnathostomados* existe un bazo diferenciado que produce eritrocitos y trombocitos en la zona cortical y linfocitos junto con granulocitos en la región medular. En los Agnata y Elasmobranchios, el riñón, la submucosa del tracto digestivo y el mesonefros del riñón producen formas celulares sanguíneas. En Dipnoi, la válvula espinal del intestino produce algunos tipos de células blancas (Bogner y Ellis, 1977). El corazón, hígado, los cartílagos craneanos y los huesos de la cabeza son formadores de células sanguíneas en peces. En lampreas y ciclóstomos, todos los tipos de células sanguíneas se forman en un bazo difuso localizado en la submucosa del tracto digestivo. En humanos y otros vertebrados el sistema hematopoyético juega un papel importante en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades infecciosas y parasitarias, razón por la cual se considera que los peces no quedan exentos de este fenómeno. Lagler, (op.cit.)

La variación en la concentración de hemoglobina y la diferencia en el número de células blancas y rojas, son constantes que se alteran significativamente cuando los animales padecen enfermedades infecciosas, parasitarias y neoplásicas incluyendo deficiencias nutricionales. Lagler, (op.cit.)

Los principales estudios en el diagnóstico hematológico son: La cuantificación de hemoglobina, la determinación del volumen del paquete celular (Hematocrito), la concentración media globular (CMG), el conteo de células blancas y la cuenta diferencial de células blancas. A continuación se describen las técnicas empleadas en estos estudios:

Concentración de Hemoglobina.

Existen diferentes opiniones en cuanto a la técnica que proporciona mejores resultados en la cuantificación de la concentración de hemoglobina. Hesser (1960), sugiere que la concentración de hemoglobina puede ser determinada con mayor precisión por el método de Sahli Hellige, usando ácido clorhídrico (HCl) 0.1 N coincidiendo con C.G. Smith (1952).

Por otro lado, Larsen y Sniesko (1961) comparan la hematina ácida, la cianometahemoglobina y la oxihemoglobina con el contenido de hierro en la sangre de varias especies de trucha. Ellos afirman que los valores de la cianometahemoglobina y oxihemoglobina, son de mayor confiabilidad.

Larsen en 1964, también comparó los métodos de hematina ácida, oxihemoglobina y cianometahemoglobina en muestras de pez bagre, y en conclusión él recomienda el uso del método de la cianometahemoglobina y oxihemoglobina, quedando el primero como el de más fácil acceso y mayor seguridad (Garbery, 1970), (Braman y colaboradores, 1980)

Volúmen del Paquete Celular.

La técnica de microhematocrito ha sido usada ampliamente en muchas especies de animales incluyendo a los peces. Además el microhematocrito ha sido reportado como un índice en cuanto al estado de sanidad relacionado con la nutrición y enfermedades infecciosas. También se le ha empleado como una técnica para determinar el sexo, pero los resultados obtenidos no son muy representativos (Klontz y Smith, 1968).

Conteo de Leucocitos.

Para el conteo leucocitario se tienen cuidados especiales en la téc-

nica empleada, ya que la naturaleza nucleada de las células rojas y su cantidad no permiten emplear el método más comunmente usado en mamíferos y otras especies. En la técnica de Lucas y Jamroz (1981), se emplea una pipeta dilutora de células rojas para tener una dilución más alta y el líquido diluyente es el denominado Rees Ecker que tiene la función de destruir las células rojas logrando diferenciar en mejor forma los eritrocitos de los leucocitos (Lucas y Jamroz, 1981).

Los cuadros que se cuentan en la placa cuenta globulos o hemacitómetro son los mismos para el conteo leucocitario en mamíferos, por lo tanto el factor de cálculo es de 500 en lugar de 50 (Klonts y Smith, 1968). Estas consideraciones son tomadas ya que el número normal de leucocitos en la sangre de peces excede considerablemente a los que se cuentan en la sangre de mamíferos; en algunas especies de peces es de más de 100 mil por milímetro cúbico de sangre. El número de leucocitos en varias especies de peces depende generalmente de la edad, la temperatura del medio y la etapa de madurez gonadal (Puchkov, 1964).

Conteo Diferencial de Leucocitos.

Las células blancas en los peces varían entre sí por su forma y afinidad en la tinción. Los peces teleosteos presentan cinco tipos principales de leucocitos, tres de ellos sin granulación en el citoplasma y dos con granulación en el protoplasma. (Josef Deufel y colaboradores, 1977).

Los leucocitos agranulares en peces incluyen los linfocitos y monocitos. Los linfocitos son pequeñas células cuyo citoplasma forma un pequeño margen alrededor del núcleo circular, los monocitos son células largas cuyo citoplasma ocupa la mayor parte de la célula, el núcleo de los monocitos tiene una forma semejante a un frijol o ligeramente lobulada y generalmente se encuentra cercano al margen de la célula.

El segundo grupo, los leucocitos granulares o polimorfo-celulares son un poco mas pequeños que los monocitos, su núcleo es lobulado o multisegmentado y ocupa una parte considerable de la célula, incluye dos tipos de células: los neutrófilos y eosinófilos. Los neutrófilos son de talla mediana con el núcleo de forma oval, localizado normalmente el margen de la célula.

El citoplasma de los neutrófilos contiene numerosos granos pequeños que se tiñen de un color violeta oscuro con la tinción de Giemsa Romanowsky. Los eosinófilos son células también de tamaño mediano con el núcleo lobulado o en forma de frijol, en su citoplasma se presentan numerosos granos que tiñen de rosa con la coloración antes mencionada, excepto durante el período de desove. Los linfocitos son la forma predominante de los leucocitos en la sangre de todos los peces óseos.

Durante el desove (de Octubre a Febrero), los leucocitos varían marcadamente, el número de los linfocitos decrece mientras que la cantidad de monocitos y polimorfonucleares se incrementa considerablemente (Puchkov, 1964). La fórmula leucocitaria puede cambiar por varias enfermedades de los peces, el número de neutrófilos se incrementa (Puchkov, 1964).

La técnica en la lectura diferencial de leucocitos ha sido usada cada vez más en peces, debido al creciente interés en conocer su variación a causa de la formación de anticuerpos (Klontz, 1950), en los cambios hematopoyéticos en relación a la variación nutricional (Ashley y Smith, 1963), y a los agentes infecciosos (Klontz y colaboradores, 1965).

Para la lectura diferencial de leucocitos se emplea un frotis de sangre, que se deja secar al aire libre y se tiñe con algún colorante policromo para sangre (Wright, Leishman o Giemsa), la lectura se efectúa con el objetivo de inmersión al microscopio.

Las principales diferencias en el estudio hematológico en los peces se refieren a la cantidad de componentes en su sangre en comparación con la de otros vertebrados y en particular con la de algunos mamíferos. Por otro lado, la naturaleza nucleada de los eritrocitos implica un cuidado especial en el manejo de las técnicas, puesto que los resultados pueden variar y ocasionar errores en algunas lecturas, según el método utilizado.

La carencia de estudios sanguíneos en las piscifactorías y granjas de cultivo en nuestro país, hacen imperiosa la necesidad de iniciar estos análisis y poder conocer las constantes hematológicas en nuestras poblaciones de peces, que sin duda nos brindará un apoyo y conocimiento de base para poder efectuar otros estudios que nos permitan esclarecer su comportamiento ante eventos provocados el incrementar su producción, en cambios nutricionales o medio ambientales, a los efectos causados por agentes extraños y de carácter nocivo como son las infecciones, enfermedades y contaminación.

O B J E T I V O S :

Determinar los valores hemáticos fundamentales en dos poblaciones clínicamente sanas de trucha arco iris (Salmo gairdneri).

- a) Piscifactoría El Zarco
- b) Granja Rural de Guadalupe Victoria.

Comparar los valores hemáticos obtenidos entre las dos poblaciones en relación a su dieta alimenticia.

Aplicar la metodología que se reporta en forma bibliográfica y hacer las modificaciones que fuesen necesarias para establecer la más adecuada a las especies de cultivo de nuestro país.

M A T E R I A L Y M E T O D O :

Se trabajó con dos poblaciones de trucha arco iris de la misma especie; una de la piscifactoría "El Zarco" (D.F.) ubicada en el Km. 32.5 de la carretera México-Toluca, cercano el poblado de La Marquesa, Edo. de México (fig.4). El otro grupo de peces corresponde a la granja de cultivo localizada en el pueblo de Guadalupe Victoria, Edo. de México.

La diferencia de mayor importancia entre las dos poblaciones radica en el tipo de alimentación que sustentan; en la piscifactoría El Zarco, se proporciona alimento balanceado de tipo comercial de los laboratorios Albamex en forma de croquetas y cuyo análisis bromatológico nos indica que en un 100% de materia seca se obtiene el 41.15% de proteína, las cenizas aportan 10.02%, se obtuvo también 1.23% de extracto etéreo y 3.56% de fibra cruda (Martínez, G.M. y Audifred, M.R., 1984, com.pers.) Por otro lado, los peces en Guadalupe Victoria mantienen una alimentación más variada, ya que los estanques en donde se encuentran, se desarrollan también pequeños Crustáceos del tipo de los acocfiles, Género Procambarus y otros de los Subordenes Gnathidea, Oniscoidea y Gammaridea; Moluscos de las familias Zymeidae, Physidae, Planorbidae y Unionidae; además algunos insectos de las familias Fulgoridae, Chironomidae, Guerridae y Libelulidae; así como sus larvas que forman una abundante variedad de plancton, junto con las puestas de anfibios como ranas; además desperdicios vegetales y otros que les son proporcionados.

Los peces fueron seleccionados conforme a su edad, siendo ésta de dos años, promedio en la cual han alcanzado la madurez sexual. En el criterio de selección se contemplaron la talla, el peso y las características de desarrollo normal. Los factores ambientales se consideraron constantes, puesto que en el tiempo en que se realizaron los estudios y muestreos no hubo variaciones drásticas en las condiciones ambientales.

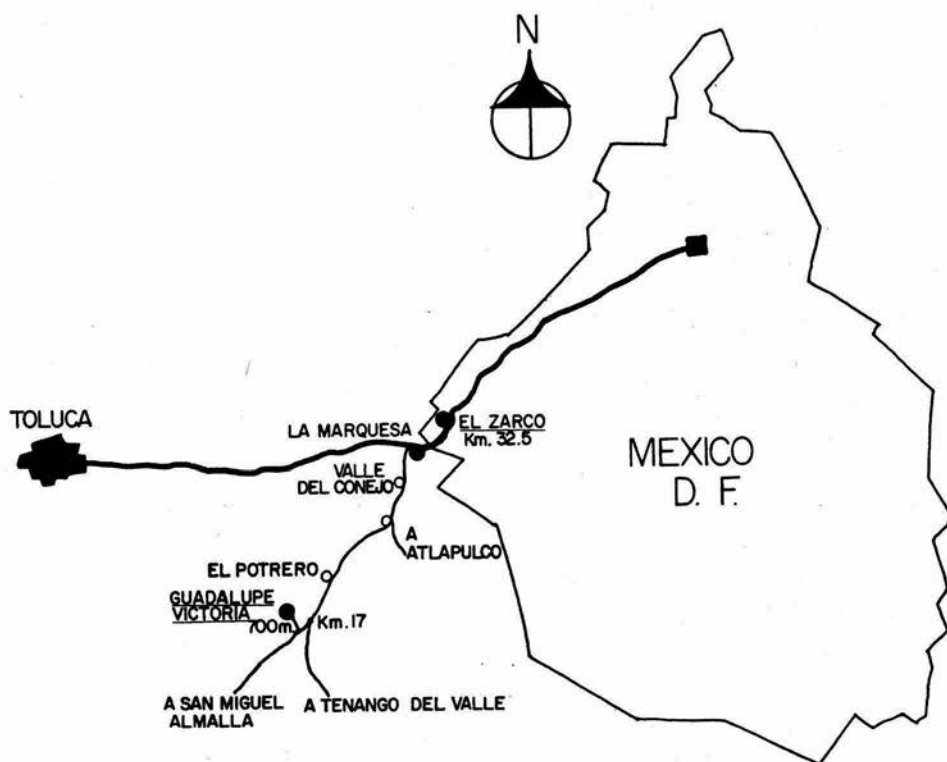


Fig. 4 Mapa de localización

El estudio contiene tres fases de operación: a) Pruebas de campo, b) Exámenes de laboratorio y c) Análisis estadístico.

a) Pruebas de Campo:

Tanto en El Zarco como en la Granja Guadalupe Victoria, se seleccionaron cuarenta peces de la misma edad, con pesos y tallas similares de ambos sexos, sintomáticamente sanos, separándolos en estanques por población. Siguiendo las observaciones de Hattingh y Van Pletzen, (1974), dichos lotes se mantuvieron en período de "aclimatación durante 7 días, para evitar la alteración de los parámetros sanguíneos que provoca la tensión nerviosa (stress) en los peces.

Para llevar a cabo el muestreo sanguíneo de cada lote, se tomaron 10 ejemplares, los peces se anestesiaron con MS 222 (Metano Sulfonato de Tricaína) a una concentración de 1:40,000 en solución acuosa para facilitar el manejo y minimizar la tensión nerviosa, ya que ésta puede provocar alteraciones en algunos valores hematológicos (Klontz y Smith, 1968), (Hattingh y Van Pletzen, 1974), (Stunkard y Miller, 1974).

La extracción de la muestra de sangre se hizo mediante la punción de la aorta dorsal anterior con jeringa hipodérmica y aguja de calibre 22, insertándola en sentido anteroposterior a lo largo de la línea media dorsal en el primer par de arcos branquiales de la boca (Lucky 1977), (fig.5). Para el análisis de la muestra se requieren aproximadamente de 3 a 5 ml. de sangre, la muestra se deposita en tubos que contienen 0.2 ml. de anticoagulante Etilen Diamino Tetraacetato Dipotásico (EDTA) y se agitan hasta lograr una mezcla perfecta.

Este anticoagulante se seleccionó por tres razones: i) No alterar la morfología de las células blancas (Klontz y Smith, 1968), (Hesser, 1960), ii) mantener su estabilidad, iii) Evitar que cambie su concentración porque puede provocar alguna variación en los parámetros hematológicos, (Smith, Hattingh y Schoombee, 1977).

Ya recolectada la muestra sanguínea, se guardó en cajas de poliuretano, con refrigerantes para mantenerla a baja temperatura mientras era transportada al laboratorio para su procesamiento; terminado el muestreo se pesaron y se midieron los peces, anotando todas sus características morfométricas; la utilización de una mesilla adaptada para tal efecto facilitó mucho la operación (fig.6). Por último, se les colocó en la aleta dorsal una marca de identificación (Klontz y Smith, 1968) (fig.7).



Fig. 5
Punción de la aorta dorsal

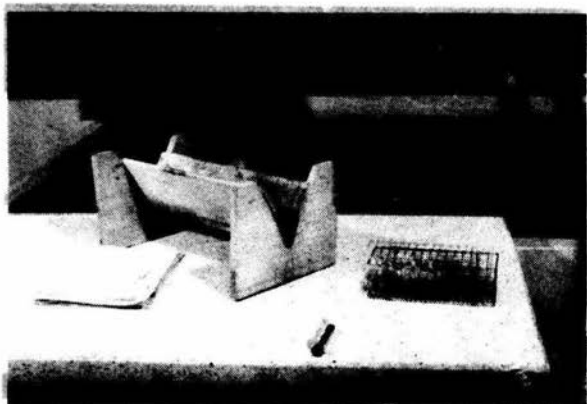


Fig. 6
**Mesilla adaptada para fa-
cilitar el manejo**



Fig. 7
Marcado de las truchas

b) Exámenes de Laboratorio:

Esta fase corresponde propiamente al análisis de los parámetros hematológicos de mayor importancia para un estudio sanguíneo.

Concentración de hemoglobina.

La técnica empleada es la que normalmente se usa en los estudios rutinarios en vertebrados superiores. Esta se basa en la reacción de la hemoglobina con el ferricianuro formando metahemoglobina, la cual con el cianuro de potasio forma la cianometahemoglobina; las soluciones de este compuesto son relativamente estables, en refrigeración pueden mantenerse hasta tres años.

La sangre en éste y todos los demás estudios hematológicos debe estar bien homogenizada. Para determinar la concentración de hemoglobina, se toman 0.020 ml. de sangre los cuales se mezclan perfectamente con 5.0 ml. de cianometa, se espera 10 minutos y se procede a leer de acuerdo con los métodos colorimétricos a una longitud de onda de 540 nanómetros (Larsen y Sniezko, 1961), (Instituto Mexicano del Seguro Social, 1974), (Roberts, 1981).

Volúmen del paquete celular (Hematocrito).

Se define como hematocrito, al volúmen que representa el conjunto de células sanguíneas que se separan del plasma formando un "paquete celular". La separación se obtiene mediante la centrifugación de un volúmen de sangre. El paquete de eritrocitos en 100 ml. es el resultado que se informa.

De acuerdo con las características del presente trabajo, consideramos más conveniente la técnica "micro", para lo cual se emplearon tu

bos para microhematocrito (capilares), llenando las dos terceras partes del tubo y centrifugando durante 5 minutos a 12,000 r.p.m. en centrífuga para capilares. Al cabo del tiempo se lee el tubo en el lector para microhematocrito, Klontz y Smith (op.cit.), Roberts (op.cit.)

Cuenta de leucocitos.

Para la cuenta de células blancas, la muestra de sangre debe diluirse con un líquido que destruya los eritrocitos para facilitar la observación y conteo de los leucocitos. En peces los líquidos dilutores recomendados son los siguientes:

a) Diluyente de Rees Ecker

Citrato de sodio	3.8 gr.
Formalina neutra	0.2 ml.
Azul crecyl brillante	0.5 gr.
Agua destilada	100.0 ml.

Este diluyente lo recomiendan Klontz y Smith (1977) y Ronald, J. R. (1981).

b) Solución de Shaw

I

Rojo Neutro	2.5 mg.
Cloruro de sodio	0.9 mg.
Agua destilada	100.0 ml.

II

Cristal violeta	12.0 mg.
Citrato de sodio	3.8 mg.
Formalina	0.4 ml.
Agua destilada	100.0 ml.

Las soluciones I y II se preparan 5 días antes de usarse y se filtran justamente antes de su uso. La solución de Shaw la recomiendan Puchkov (1968) y Klontz y Smith (1977).

c) Líquido de células blancas de Yokoyama

I

Cloruro de sodio	4.0 gr.
Cloruro de potasio	200.0 mg.
Bicarbonato de sodio	250.0 mg.
Formalina neutra al 40%	50.0 ml.
Agua destilada	200.0 ml.

II

Violeta de metilo	75.0 mg.
Pironina b	75.0 mg.
Agua destilada	250.0 ml.

Recomendada por Amlacher (1970).

d) Líquido de Turk

Acido acético glacial	1.0 ml.
Agua destilada	100.0 ml.

Este diluyente es recomendado por Amlacher (1970) y Ronald (1981), cabe mencionar que este diluyente es el que normalmente se usa para la cuenta de leucocitos en mamíferos.

e) Dilución de Natt Herring

Cloruro de sodio	8.88 gr.
Sulfato de sodio	2.5 gr.

Fosfato de sodio hidratado	2.91 gr.
Acido fosfórico de potasio	0.25 ml.
Formalina al 37 %	0.1 ml.
Violeta de metilo	0.1 gr.

Todas estas substancias se disuelven individualmente en agua destilada y posteriormente se afora a 1 litro de agua destilada. Este diluyente lo recomienda Zdeneck (1977).

La sangre bien mezclada, se aspira con una pipeta dilutora de células rojas o eritrocitos, llenándose hasta las marcas 0.5; con la misma pipeta evitando hacer burbujas, se aspira el líquido dilutor hasta la marca 101 (debe rotarse la pipeta mientras se aspira el diluyente). Esta técnica se utiliza para facilitar el conteo de las células blancas que son muy abundantes. La pipeta debe agitarse durante 3 minutos aproximadamente para conseguir una suspensión uniforme. Se tiran 3 ó 4 gotas del contenido de la pipeta; se seca la punta y se llena el hematómetro de manera que la introducción sea uniforme. Los cuadros leídos son los mismos que en la técnica para mamíferos, pero las células contadas se multiplican por 500, que es el factor de cálculo en vez de 50, (Klontz y Smith, 1968), (Instituto Mexicano del Seguro Social, 1974), (Roberts, 1981).

Cuenta diferencial de leucocitos.

A fin de determinar los diferentes tipos de células blancas, se procede a elaborar un "frotis" sanguíneo, extendiendo la muestra con un portaobjetos y dejándolo secar durante 3 minutos aproximadamente. A continuación se tiñe con el colorante de Wright durante otros 3 minutos; al cabo del tiempo se añade una solución de pH 6.4 como amortiguador y se deja durante 6 minutos; se lava con agua corriente, se deja secar y se observa al microscopio con el objetivo de inmersión, (Klontz y Smith, 1968).

Concentración media globular.

La concentración media globular (CMG), es un parámetro que nos permite hacer la relación entre la concentración de hemoglobina y la cantidad de células rojas. Se obtiene de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{Hb (100)}}{\text{VPC (100)}} = \text{CMG}$$

Sus componentes son: Hemoglobina (Hb) y el Volumen del Paquete Celular (VPC).

c) Análisis Estadístico:

El tratamiento bioestadístico que se seleccionó fue la prueba "U de Mann-Whitney" (Conover, 1980), efectuado en una computadora PDP 11, dentro del Sistema Interactivo de Análisis Bioestadístico (SIAB) en la unidad de cómputo de la Facultad de Medicina U.N.A.M., con un nivel de significancia de 0.05, en la que se comparan uno a uno los parámetros morfométricos y hematológicos de la población de Guadalupe Victoria (GV) contra la población de El Zarco (Z).

Posteriormente, se hizo la comparación de las dos poblaciones por sexos, formándose 4 grupos en total (2 de hembras y 2 de machos). De éstos se analizaron únicamente los parámetros de peso, hemoglobina y hematócrito, para los mismos sexos.

Hipótesis:

Hipótesis nula: Los parámetros en las poblaciones de Guadalupe Victoria y el Zarco son iguales.

$$H_0: \text{GV (x)} = \text{Z (x)}$$

Hipótesis alterna: Los parámetros en las poblaciones de Guadalupe Victoria y El Zarco, son diferentes.

$$H_1: \text{GV (x)} \neq \text{Z (x)}$$

RESULTADOS :

Los resultados de los parámetros morfométricos y de los análisis sanguíneos se agrupan en una sola tabla para cada población siendo la I para Guadalupe Victoria y la II para El Zarco.

Para la comparación entre las dos poblaciones por sexo se presentan las tablas III y IV.

Los parámetros morfométricos y hematológicos se grafican por el método de tallo y hoja (Tukey, 1977) (Hoaglin y colaboradores, 1983).

Por último, se presentan las figuras 8, 9, 10, y 11, representando la forma de las células sanguíneas de eritrocitos como los diferentes tipos de leucocitos.

TABLA I: DATOS DE LA POBLACION EN LA GRANJA RURAL DE GUADALUPE VICTORIA.

No.	Marca	Sexo	Peso (gr.)	Longitud Total (cm.)	Altura (cm.)	Hemoglobina (gr/100)	Hematocrito (%)	Concentración Media Globular (%)	No. de Leucocitos por mm	Cuento Diferencial en % de leucocitos		
									Linfocitos	Monocitos	Neutrofilos	
1	N	H	300	32.0	8.0	6.4	32	20	721 000	97	2	1
2	X	M	550	36.0	9.0	6.0	32	18	954 000	97	2	0
3	.	M	450	33.0	8.0	6.0	32	18	1 218 000	99	1	0
4	P	H	450	31.0	7.5	7.8	37	21	1 142 000	93	5	2
5	I	M	500	34.5	8.5	7.5	37	20	946 000	95	3	2
6	H	H	525	35.5	8.5	9.8	44	22	1 311 000	98	2	0
7	4	M	300	28.0	7.0	9.8	46	21	643 000	98	1	1
8	R	M	225	29.0	6.0	9.4	44	21	1 008 000	94	0	6
9	R	M	525	33.0	8.5	10.0	54	18	923 000	97	2	1
10	A	H	550	35.5	8.5	11.4	55	20	697 000	98	0	2
11	D	H	250	27.5	6.0	8.0	42	19	943 000	100	0	0
12	+	H	200	26.0	6.5	9.4	47	20	641 000	99	1	0
13	Q	H	175	26.0	5.5	7.5	38	19	478 000	97	0	3
14	2	H	200	27.5	5.5	7.8	39	20	657 000	98	1	1
15	E	H	175	27.0	5.5	8.0	39	20	827 000	95	5	0
16	7	H	675	38.5	8.5	9.2	42	21	1 124 000	98	1	1
17	B	H	450	33.5	8.0	8.8	42	20	1 587 000	98	0	2
18	6	H	200	29.6	6.0	11.8	51	23	950 000	96	3	1
19	8	H	790	40.0	10.0	9.6	45	21	1 350 000	100	0	0
20	Y	M	625	38.5	9.0	11.0	55	20	1 683 000	99	1	0
21	S	M	675	37.5	9.0	11.0	51	21	1 211 000	95	1	4
22	U	H	705	39.0	9.5	9.4	47	20	1 448 000	95	5	0
23	T	H	300	31.0	7.0	10.0	48	20	1 017 000	97	3	0
24	C	H	600	38.0	8.0	9.4	47	20	922 000	97	1	2
25	=	H	300	31.0	6.5	12.0	56	21	649 000	98	2	0
26	M	H	225	29.0	6.0	10.2	35	29	829 000	99	1	0
27	5	H	225	27.5	6.0	8.2	41	20	495 000	96	3	1
28	X	M	175	26.0	5.5	9.8	46	21	1 109 000	96	2	2
29	L	H	175	24.0	5.0	12.0	47	25	739 000	97	2	1
30	O	H	175	26.0	5.5	10.4	48	21	750 000	95	4	1
31	P	M	500	36.0	8.0	6.4	32	20	915 000	95	2	3
32	V	H	535	36.0	8.0	8.2	38	21	1 376 000	96	4	0
33	&	M	475	37.0	7.0	8.6	35	24	853 000	97	1	1
34	#	H	575	38.0	8.0	11.8	38	31	891 000	95	5	0
35	-	M	750	41.0	10.0	8.6	39	22	1 077 000	96	2	2
36	3	H	500	35.0	8.0	9.2	40	23	1 189 000	97	0	3
37	:	H	575	38.0	8.0	8.8	39	22	879 000	94	3	3
38	1	H	225	28.0	6.0	8.0	38	21	1 056 000	98	1	1
39	/	H	140	25.0	5.0	10.0	45	22	1 167 000	97	3	0
40	o	H	230	28.0	6.0	9.4	45	20	817 000	96	2	2
41	=	H	235	28.0	6.0	9.4	48	19	772 000	94	5	1
X			400.2	32.2	7.2	9.1	43	21	981 317	97	2	1

TABLA II: DATOS DE LA POBLACION EN EL CENTRO PISCICOLA EL ZARCO.

No.	Marca	Sexo	Peso (gr)	Longitud Total (cm)	Altura (cm.)	Hemoglobina (gr/100)	Hematocrito (%)	Concentración Glóbular (%)	Media Glóbular (%)	No. de Leucocitos por mm ³	Conteo Diferencial en % de leucocitos	Linfocitos	Monocitos	Neutrofilos
1	A	H	500	33.0	8.0	10.1	42	24	24	1 070 000	91	2	7	
2	N	H	350	29.0	7.0	9.5	36	26	26	918 000	98	2	0	
3	C	H	400	33.0	8.0	12.9	56	23	23	816 000	94	5	1	
4	S	M	370	33.5	7.0	10.1	45	22	22	1 395 000	97	3	0	
5	R	H	350	31.5	7.5	11.1	47	23	23	1 203 000	96	3	1	
6	B	H	400	35.0	8.0	10.5	45	23	23	1 141 000	96	3	1	
7	H	H	310	29.5	7.0	9.8	45	21	21	1 288 000	97	3	0	
8	E	M	450	32.5	7.5	9.8	48	20	20	1 044 000	94	5	1	
9	O	M	375	31.0	7.0	11.5	52	22	22	1 031 000	98	2	0	
10	O	H	325	30.5	6.5	10.1	41	24	24	1 067 000	98	1	1	
11	B	H	400	33.5	7.0	10.1	42	24	24	1 085 000	97	3	0	
12	H	H	300	32.0	7.0	9.5	44	21	21	634 000	96	2	2	
13	H	H	400	33.0	7.0	9.2	37	24	24	1 073 000	97	3	0	
14	P	H	400	34.5	8.0	10.8	38	28	28	1 049 000	95	2	3	
15	L	H	450	32.0	7.0	8.3	35	23	23	1 067 000	93	7	0	
16	K	M	600	30.0	6.5	11.1	50	22	22	1 324 000	96	4	0	
17	T	M	350	32.0	7.0	9.2	43	21	21	1 026 000	94	3	3	
18	Z	M	450	33.0	7.5	9.5	44	21	21	1 082 000	97	2	1	
19	Q	H	500	35.0	9.5	10.1	49	20	20	1 304 000	93	4	3	
20	**	M	300	31.0	7.0	10.5	45	23	23	1 146 000	99	1	0	
21	D	M	350	32.0	7.5	10.5	42	25	25	1 085 000	99	1	0	
22	D	H	300	32.5	7.5	9.2	43	21	21	1 288 000	94	3	3	
23	4	H	295	32.5	6.0	8.9	37	24	24	1 224 000	97	2	1	
24	J	H	435	33.5	7.5	9.2	45	20	20	1 036 000	91	1	8	
25	X	M	385	32.0	7.0	8.5	33	24	24	1 078 000	97	1	2	
26	1	M	250	31.0	6.0	9.5	46	20	20	1 771 000	95	2	3	
27	G	H	350	34.0	7.5	10.1	48	21	21	1 369 000	92	0	8	
28	V	M	450	35.5	8.0	9.2	35	26	26	759 000	99	1	0	
29	O	M	260	30.0	6.5	10.8	50	21	21	1 803 000	93	2	5	
30	F	M	420	35.5	7.5	10.5	51	20	20	938 000	96	1	3	
31	/	H	340	32.0	7.0	9.2	45	20	20	774 000	96	1	3	
32	U	H	350	33.0	8.0	10.1	47	21	21	684 000	97	3	0	
33	W	H	145	29.0	5.0	9.5	46	20	20	1 673 000	97	1	2	
34	*	H	305	31.0	7.5	9.2	41	22	22	1 644 000	98	2	0	
35	o	M	410	35.0	7.5	9.2	41	22	22	834 000	98	2	0	
X			372.1	32.3	7.2	9.9	44	22	22	1 135 114	96	2	2	

TABLA III: Población de hembras en Guadalupe Victoria y El Zarco

G.V.				Z.			
No.	Peso (gr.)	Hb. (gr./100)	Ht. (%)	No.	Peso (gr.)	Hb. (gr./100)	Ht. (%)
1	140 ^x	10.0	45	1	145	9.5	46
2	175 ^x	10.4	48	2	295	8.9	37
3	175 ^x	12	47	3	300	9.5	44
4	175 ^x	7.5	38	4	300	9.2	43
5	175 ^x	8.0	39	5	305	9.2	41
6	200 ^x	7.8	39	6	310	9.8	45
7	200 ^x	9.4	47	7	325	10.1	41
8	200 ^x	11.8	51	8	340	9.2	45
9	225 ^x	8.0	38	9	350	9.5	36
10	225 ^x	8.2	41	10	350	11.1	47
11	225 ^x	10.2	35	11	350	10.1	48
12	225 ^x	9.4	44	12	350	10.1	47
13	230 ^x	9.4	45	13	400	12.9	56
14	235 ^x	9.4	48	14	400	10.5	45
15	250 ^x	8.0	42	15	400	10.1	42
16	300 ^x	6.4	32	16	400	9.2	37
17	300 ^x	10.0	48	17	400	10.8	38
18	300 [✓]	12.0	56	18	435	9.2	45
19	450 ^x	7.8	37	19	450	8.3	35
20	450 ^x	8.8	42	20	500	10.1	42
21	500 ^x	9.2	40	21	500	10.1	49
22	525 [✓]	9.8	44				
23	535 [✓]	8.2	38	\bar{X}	362.14	9.87	43.28
24	550 [✓]	11.4	55				
25	575 [✓]	11.8	38				
26	575 [✓]	8.8	39				
27	600 [✓]	9.4	47				
28	675 [✓]	9.2	42				
29	705 [✓]	9.4	47				
30	790 [✓]	9.6	45				
\bar{X}	362.83	9.37	43.23				

TABLA IV: Población de Machos en Guadalupe Victoria y El Zarco

G.V.				Z.			
No.	Peso (gr.)	Hb. (gr/100)	Ht. (%)	No.	Peso (gr)	Hb. (gr/100)	Ht. (%)
1	175	9.8	46	1	250	9.5	46
2	300	8.0	46	2	260	10.8	50
3	450	6.0	32	3	300	10.5	45
4	475	8.6	35	4	350	9.2	43
5	500	7.5	37	5	350	10.5	42
6	500	6.4	32	6	370	10.1	45
7	525	10.0	54	7	375	11.5	52
8	550	6.0	32	8	383	8.0	33
9	625	11.0	55	9	410	9.2	41
10	675	11.0	51	10	420	10.5	51
11	750	8.6	39	11	450	9.8	48
\bar{X}	502.27	8.44	41.72	12	450	9.5	44
				13	450	9.2	35
				14	600	11.1	50
				\bar{X}	387.14	9.95	44.64

Unidad 10
1 2 rep. 12

Z		GV
	1 *	
	T	
4	F	4
	S	77777
	.	
	2 *	000
	T	222233
5	F	5
6	S	
9	.	
10000	3 *	0000
2	T	
5555554	F	
77	S	
8	.	
100000	4 *	
32	T	
5555	F	555
	S	7
	.	
00	5 *	000
	T	223
	F	55
	S	77
	.	
0	6 *	0
	T	2
	F	
	S	77
	.	
	7 *	0
	T	
	F	5
	S	
	.	9

LONGITUD TOTAL

Unidad .1

1 2 rep. 1.2

Z		GV
	24 *	0
	.	
	25 *	0
	.	
	26 *	0000
	.	
	27 *	0
	.	555
	28 *	0000
	.	
00	29 *	00
5	.	6
00	30 *	
5	.	
0000	31 *	000
5	.	
000000	32 *	0
555	.	
00000	33 *	00
555	.	
0	34 *	
5	.	5
000	35 *	0
55	.	55
	36 *	000
	.	
	37 *	0
	.	5
	38 *	000
	.	55
	39 *	0
	.	
	40 *	0
	.	
	41 *	0
	.	

A L T U R A

Unidad .1

1 2 rep. 1.2

Z		GV
0	5 *	00
	.	55555
00	6 *	00000000
555	.	55
000000000000	7 *	000
55555555555	.	5
000000	8 *	0000000000
	.	55555
	9 *	000
5	.	5
	10 *	00
	.	

H E M O G L O B I N A

Unidad .1
1 2 rep. 1.2

Z		GV
	6 * 00	
	T	
	F 44	
	S	
	.	
	7 * 55	
	T	
	F	
	S	
	.	88
0 8 * 000		
3 T 22		
	F	
	S	66
9 . 88		
	9 * 22	
22222222 T		
55555 F 444444		
	S	6
88 . 888		
1111111 10 * 000		
	T	2
5555 F 4		
	S	
88 .		
11 11 * 00		
	T	
5 F 4		
	S	
	.	88
	12 * 00	
	T	
	F	
	S	
9 .		

H E M A T O C R I T O

Unidad 1

1 2 rep. 12

Z		GV
	3 *	
3	T	2222
55	F	55
776	S	77
8	.	88889999
111	4 *	01
33222	T	222
55555544	F	44555
7766	S	227777
988	.	888
100	5 *	11
2	T	
	F	455
6	S	6

CONCENTRACION MEDIA GLOBULAR

Unidad 1
1 2 rep. 12

Z		GV
	1 *	
	T	
	F	
	S	
	.	888999
1111111100000000	2 *	00000000000000111111111111
3333322222	T	222233
5444444	F	45
8	.	9
	3 *	1
	T	
	F	
	S	
	.	

NUMERO DE LEUCOCITOS

Unidad 10 000

1 2 rep. 12

Z		GV
	4 * T F S	7 9
	5 * T F S	
3	6 * T F S	4445
8	7 * T F S	9 23 5 7
5 7	8 * T F S	1 22 5 7 9
1 3	9 * T F S	1 22 4455
	10 * T F S	01 5 7
332 44 77766 888	11 * T F S	0 2 4 6 8 11
44	12 * T F S	
1 2	13 * T F S	1 5 7
88 0 2	14 * T F S	4
6	15 * T F S	
9	16 * T F S	8
	17 * T F S	8
4 7	18 * T	

L I N F O C I T O S

Unidad 1

1 2 rep.

Z

GV

11	9 *	
3332	T	3
554444	F	4445555555
777777777666666	S	666666777777777
999888888	.	8888888889999
	10 *	00
	T	
	F	
	S	
	.	

M O N O C I T O S

Unidad 1

1 2 rep. 1

Z

1111111110

333333332222222222

5544

7

GV

000000011111111111

222222222233333333

4455555

*

T

F

S

.

NEUTROFILOS

Unidad 1

1 2 rep. 1

Z

GV

11111110000000000000	*	0000000000000000111111111111
3333333222	T	222222223333
5	F	4
7	S	6
88	.	

P E S O

HEMBRAS		
Z		GV
4	1 *	4
	.	7777
	2 *	000222233
9	.	5
42100	3 *	000
5555	.	
300000	4 *	
5	.	55
00	5 *	23
	.	577
	6 *	0
	.	7
	7 *	0
	.	9

MACHOS		
Z		GV
	1 *	
	.	7
	2 *	
65	.	
0	3 *	0
87755	.	
21	4 *	
555	.	57
	5 *	002
	.	5
0	6 *	2
	.	7
	7 *	
	.	5

Unidad 1
1 2 rep. 12

HEMOGLOBINA

Z	HEMBRAS	GV
	6 *	4
	.	
	7 *	
	.	588
3	8 *	00022
9	.	88
22222	9 *	22444444
8555	.	68
111111	10 *	0024
85	.	
1	11 *	4
	.	88
	12 *	00
9	.	

Z	MACHOS	GV
	6 *	004
	.	
	7 *	
	.	5
0	8 *	0
	.	66
222	9 *	
855	.	8
1	10 *	
8555	.	
1	11 *	00
5	.	

Unidad .1
1 2 rep. 1. 2

HEMATOCRITO

HEMBRAS			MACHOS		
Z		GV	Z		GV
	3*	2	3	3 *	222
87765	.	578888999	5	.	579
432211	4*	0122244	4321	4 *	
987765555	.	555777888	8655	.	66
	5*	1	2100	5 *	4
6	.	56		.	5

Unidad 1
1 2 rep. 12

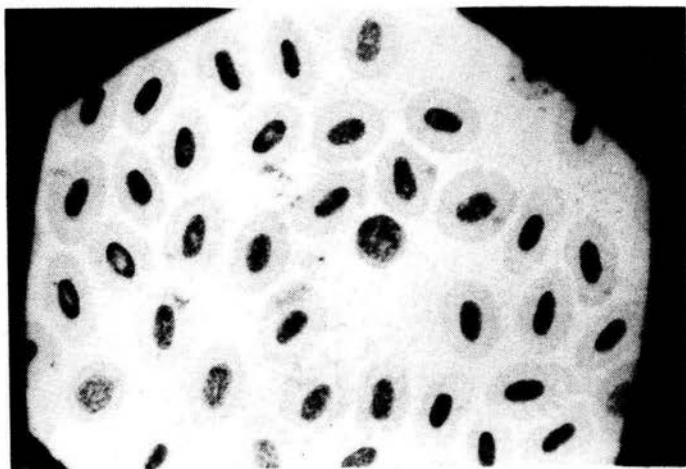


Fig.8 Fotografía de un linfocito (al centro) y varios eritrocitos.

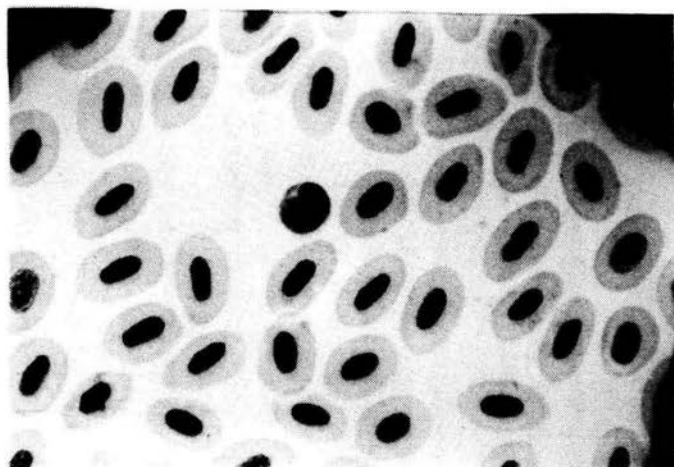


Fig. 9 Aparece un leucocito del tipo de los monocitos y varios eritrocitos.

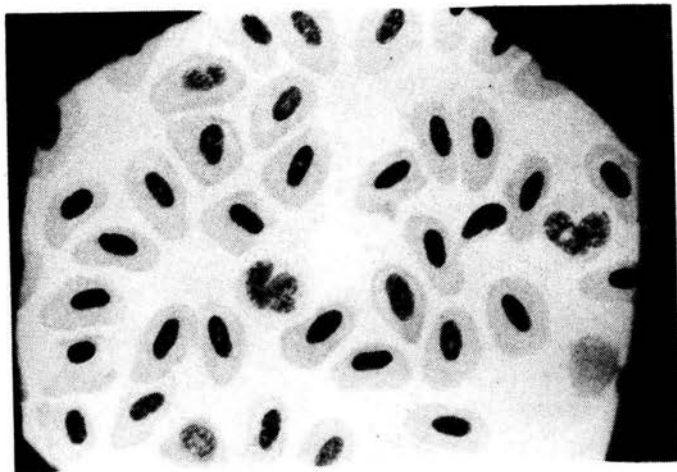


Fig. 10 Se pueden observar dos neutrofilos y varios eritrocitos, algunos de estos deformados.

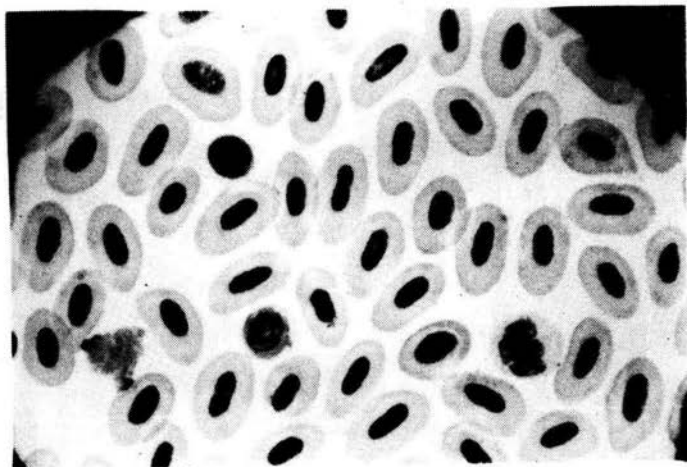


Fig. 11 Aparece un linfocito (abajo, izquierda) un neutrofilo (abajo, derecha), un monocito (arriba) y varios eritrocitos.

ANALISIS DE RESULTADOS :

a) Pruebas de Campo .

El trabajo se inició con la fase "a" pruebas de campo, existiendo características medioambientales en forma constante. El estudio se desarrolló entre los meses de julio y agosto aunque esta época corresponde a la estación de verano, la más calurosa, el clima fue húmedo, templado, SW y con precipitaciones pluviales típicas de la región; la temperatura promedio en el agua de los estanques correspondió a 12°C en El Zarco y 13°C en Guadalupe Victoria. El oxígeno disuelto en los estanques de El Zarco fue de 6.99 p.p.m. y en Guadalupe Victoria 6.28 p.p.m.

El período de aclimatación al reunir las truchas seleccionadas en un solo estanque fue de siete días, aunque Hatting y Van Pletzen (1974) mencionan que en la mayoría de los peces de agua dulce esta aclimatación se alcanza en 14 días, lo cual parece estar en proporción al tiempo y tipo de manejo.

En este trabajo, la concentración de anestésico empleada fue de 1:40,000 en lugar de 1:10,000 como lo indican Hattingh y Van Pletzen en 1974 y Stunkard y Miller en el mismo año. Con esta modificación en la concentración, se logró el nivel de narcosis necesario para el manejo de los peces.

Los resultados obtenidos en los parámetros morfométricos nos revelan que en la población de Guadalupe Victoria los peces muestreados tienen un rango más amplio dada la heterogeneidad de la selección debido a que la población es más pequeña y se encuentra constituida por organismos de diferentes edades. En el centro piscícola de El Zarco, la población de truchas por ser mas grande permitió hacer una selección mas homogénea en los parámetros de peso, longitud total y altura, algunos investigadores señalan a este evento como muy importante

para la comparación y extrapolación de los resultados con otras poblaciones, ya que la disimilitud de edad y por consiguiente de los parámetros morfométricos en los peces, produce diferencias en los parámetros hematológicos, (Korzhev, 1962), (Klontz y Smith, 1968).

Peso.

Se determinó que en la población de El Zarco el peso de las truchas fué de 372.1 grs. en promedio, encontrándose el mayor número de peces (14), en el rango de 350 a 400 grs., los valores extremos en este renglón fueron un pez de 600 grs. y otro de 145 grs. En la población de Guadalupe Victoria, el peso promedio fué de 400.2 grs. donde el mayor número de peces (16) se encontró en el rango de 300 a 550 grs. que es mucho más amplio que en El Zarco. En Guadalupe Victoria los pesos extremos de los organismos estudiados corresponden el mayor a 790 grs. y el menor a 140 grs. En cuanto al análisis estadístico, el resultado de la prueba "U de Mann-Whitney" para esta variable no fue significativo. Al hacer la diferenciación por sexo, se comprobó estadísticamente que el peso se comporta de manera similar en las dos poblaciones tanto en hembras como en machos, es decir no existen diferencias significativas.

Longitud total.

Respecto a la longitud total, en la población de El Zarco se obtuvo una media de 32.3 cms., con el mayor número de peces (17) en el rango de 32.0 a 33.0 cms., con una longitud total máxima de 35.5 cms. y mínima de 29.0; mientras que para la población de Guadalupe Victoria la media fue de 32.2 con una longitud total máxima de 41.0 cms. y una mínima de 24.0 cms., el mayor número de peces (18) se encontró en el rango de 28.0 a 35.0 cms. en los parámetros morfométricos. De acuerdo al resultado obtenido en la prueba de "U" la diferencia entre las dos poblaciones no es significativa.

Altura.

Respecto a la altura, se consideró que las dos muestras pertenecen a la misma población, ya que en la prueba estadística la diferencia en contrada entre Guadalupe Victoria y El Zarco no fue significativa; los valores obtenidos en El Zarco fueron en promedio de 7.2 cms. el mayor número de peces dentro del rango de 7.0 a 7.5 cms. (22 peces), y los valores máximo y mínimo, de 9.5 cms. y 5.0 cms. respectivamente. En la muestra de Guadalupe Victoria, el valor medio de altura fue de 7.2 cms., con un mayor número de peces en el rango de 6.0 a 8.0 cms. (23 ejemplares) y las medidas extremas fueron de 10.0 cms. la máxima y la mínima de 5.0 cms.

Por otro lado, dentro de la misma fase "a" en lo que se refiere a la obtención de muestras sanguíneas, se observó que en los dos primeros lotes de truchas la extracción de sangre no fué del todo satisfactoria, ya que se empleó más tiempo de lo programado en la localización de la aorta dorsal, acarreando como consecuencia la coagulación de algunas muestras y el traumatismo respectivo al pez. En los demás lotes todo el procedimiento fue más sencillo, pues la experiencia de los primeros intentos permitió conocer y afianzar bien el método de punción y localización precisa de la aorta dorsal. En realidad como lo exponen Klontz (1968) y William (1975), este método resulta de fácil acceso y dá buen resultado.

Dentro de la fase operativa correspondiente a las pruebas de campo, el método de marcaje de los peces muestreados fué muy útil, ya que permitió identificar perfectamente a cada pez y observar su comportamiento después de la punción; sin embargo, este método resulta adecuado para períodos cortos, pues se observó que después de 30 días la marca se puede desprender o bien provocar irritación dérmica.

El transporte de las muestras al laboratorio se hizo con la mayor rapidez posible y teniendo cuidado de que éstas se conservaran a una temperatura baja, lo cual se logró colocando las muestras en una

caja de paredes adiabáticas (para evitar el intercambio de temperatura con el medio exterior) conteniendo bolsas de hielo o refrigerante.

b) Exámenes de laboratorio.

Las muestras de sangre dentro de los tubos, debidamente etiquetadas y conservadas, al momento de llegar al laboratorio se encontraron en buenas condiciones con excepción de tres muestras del primer lote y dos en el segundo que aparecieron coaguladas debido a la dificultad durante la punción de las truchas (estas muestras se desecharon).

Aunque las muestras sanguíneas pueden refrigerarse para su posterior procesamiento, es conveniente analizarlas lo más pronto posible para evitar la variación de los niveles reales. En la práctica, se comprobó que una sola persona puede trabajar un número de 10 a 15 muestras en un día desde su recolección hasta su estudio final, desde luego, contando con los materiales y equipos necesarios, además de tener cierta experiencia.

Hemoglobina.

Respecto a la cuantificación de hemoglobina por el método colorimétrico con cianometá, se encontró que para la población de El Zarco el promedio de hemoglobina es de 9.9 grs. % y los valores extremos en este renglón son de 8.0 y 12.9 grs. %, por otro lado para las truchas de Guadalupe Victoria el promedio fue de 9.0, con un valor mínimo de 6.0 grs. % y máximo de 12.0 grs. %, indicándonos estadísticamente conforme a la prueba de "U", que existen diferencias significativas entre las truchas de El Zarco y Guadalupe Victoria, teniendo el rango de hemoglobina más amplio este último, al efectuar el análisis estadístico por sexo, se comprobó que la diferencia es significativa entre las dos poblaciones y en ambos sexos.

Las siguientes tablas nos permiten comparar los resultados obtenidos con los de otros investigadores.

TABLA III

Determinación cuantitativa de hemoglobina en sangre de Trucha y Bagre por cuatro métodos.

E S P E C I E		Hematina-ácida		Ciano- meta hemo globina	Oxi- hemo glo- bina	Total de hierro
		centri- fugar	centri fugada			
<u>Salmo gairdneri</u> (trucha arco iris)	*	13.9 "	7.6	9.6	10.5	10.2
<u>Salmo trutta</u> (trucha café)	*	12.7	6.5	8.8	9.3	8.9
<u>Salvelinus fontinalis</u> (trucha de arroyo)	*	15.0	6.1	9.8	10.9	10.4
<u>Ictalurus sp.</u> (bagre)	**	10.8	-0-	8.8	9.8	9.5

" Los valores son expresados en gramos por 100 ml. de sangre.

(*) Larsen y Snieszko (1961).

(**) Larsen (1964).

Tomado de Klontz y Smith (1968).

TABLA IV

Valores sanguíneos de peces normales de acuerdo con Halifax.

ESPECIE	No. DE PECES	HEMOGLOBINA GR/100	VOLUMEN DEL PAQUE CELULAR	CONCENTRA CION ME - DIA GLOBU LAR.
Bacalao	7	6.2	33	18
Arenque	14	12.4	42	30
Trucha	31	10.9	53	22

Tomado de P.H. Odense y colaboradores (1972).

Como se puede apreciar en la tabla III, los promedios de hemoglobina por el método de cianometa son muy similares a los resultados en El Zarco y Guadalupe Victoria, (tablas I y II). También podemos observar en dicha tabla que se comparan tres métodos diferentes para la cuantificación de hemoglobina y el total de hierro, en la que se aprecia que el método más acertado es el de la cianometahemoglobina. Por otro lado, en la tabla IV se presenta la determinación de hemo - globina en tres especies diferentes y comparando esta tabla con los resultados de El Zarco y Guadalupe Victoria para el caso de la tru - cha arco iris, podemos notar que los valores encontrados son aproxima - dos a los obtenidos con nuestros ejemplares.

Hematócrito.

La determinación del volumen del paquete celular, se realizó por el método de microhematócrito y los resultados para la población de El Zarco corresponden, como se aprecia en la tabla II, a un promedio de

44ml. % y valores extremos de 33 y 56 ml.%. En la tabla I notamos que la media aritmética queda representada por el valor de 43 ml.% y para las partes extremas las cantidades de 32 y 56 ml. %; aunque hay una leve diferencia entre los resultados obtenidos en El Zarco y en Guadalupe Victoria, el análisis estadístico de la prueba de "U" nos indica que esta diferencia no es significativa y se les puede considerar como muestras de una misma población. En la prueba estadística comparando el hematocrito por sexo, se observó que tampoco existen diferencias significativas. Comparando los resultados de los estudios que se presentan en las tablas IV y V con los obtenidos en El Zarco y Guadalupe Victoria, vemos que se encuentran en niveles muy similares y que las diferencias existentes son mínimas.

TABLA V

Volúmen del paquete celular en porciento de varias especies de Salmónidos.

ESPECIES	VOLUMEN %	REFERENCIA
<u>Salmo gairdneri</u>	38.5 a 50.2	(a)
(trucha arco iris)	43.8 a 53.0	(b)
	26.0 a 37.0	(c)
<u>Salmo trutta</u>	33.8 a 45.4	(b)
(trucha café)		
<u>Salvelinus fontinalis</u>	34.5 a 53.2	(a)
(trucha de arroyo)	46.7 a 56.0	(b)
<u>Salvelinus namaycush</u>	20.5 a 43.0	(d)
(trucha de lago)		

(a) Normandeau (1962)

(c) Klontz y colaboradores (1966)

(b) Snieszko (1961)

(d) Piper y Stephens (1962).

Citados por Klontz y Smith (1968)

Concentración Media Globular .

En las tablas de resultados I y II se presenta la concentración media globular (CMG). En El Zarco, la CMG promedio fué de 22% y los valores extremos 20% el mínimo y 26% el máximo; por otro lado, en Guadalupe Victoria tenemos una cantidad promedio de 21% y los extremos mínimo y máximo de 18% y 31% respectivamente. De acuerdo con el análisis estadístico en la prueba de "U de Mann-Whitney", la diferencia entre El Zarco y Guadalupe Victoria es significativa, aunque es preciso señalar que los resultados de Guadalupe Victoria abarcan un rango más amplio. En comparación con los resultados de la tabla IV, estos valores son muy similares a los del presente trabajo.

Leucocitos.

El siguiente estudio hemático, que corresponde al conteo de células blancas, se establece en un principio la dificultad para poder realizar el conteo con precisión, ya que el gran número de eritrocitos y su naturaleza nucleada no facilita este exámen, puesto que a pesar de que se probó con varios diluyentes de distintas fórmulas, no se logró eliminar los eritrocitos por completo. Las referencias bibliográficas no detallan este exámen e incluso su información es muy superficial, limitándose a describir las fórmulas de los diluyentes, sin mencionar las cifras encontradas en sus estudios.

Después de probar en repetidas ocasiones con los diluyentes, se obtuvieron los mejores resultados con la solución I de Shaw (a) sin mezclarse con la II. Esta solución I fué empleada para el conteo de leucocitos durante todo el trabajo.

Los resultados obtenidos para la población de El Zarco dan un promedio de leucocitos de 1 135 114 por mm^3 y sus cifras mínimas y máximas de 634 000 y de 1 803 000 mm^3 respectivamente. Para la población de Guadalupe Victoria la cantidad promedio fué de 981 317 leucocitos.

citios por mm^3 y los valores extremos de 478 000 el mínimo y 686 000 el máximo.

El resultado del análisis estadístico indica que existe una diferencia significativa entre las muestras de las poblaciones de El Zarco y Guadalupe Victoria.

Es importante hacer notar la diferencia que existe entre los resultados en el número de leucocitos de este estudio, y los anotados por otros investigadores en trabajos similares, en donde ellos reportan un número menor de leucocitos. Lucky en 1977 encontró en la carpa (Ciprinus carpio) que los valores fluctúan entre 9000 y 58500 leucocitos por mm^3 , aunque se trata de una especie diferente, se cita como punto de referencia. Deufel y Pöllnitz en 1977, en un estudio de la trucha arco iris determinaron que el número normal de células blancas es de 27 410 por mm^3 , Como se puede observar, los rangos son muy amplios y la diferencia es notoria.

Cuenta diferencial de leucocitos.

En lo que se refiere a la cuenta diferencial de leucocitos, en el presente trabajo se encontraron células blancas del tipo de los linfocitos, monocitos y neutrófilos. Para la población de Guadalupe Victoria, se determinó un promedio de 97% de linfocitos fluctuando entre 93 y 100%; para los monocitos se obtuvo un promedio de 2% fluctuando entre 0 y 5%, para los neutrófilos se obtuvo un promedio de 1% con un rango de 0 a 3%. Por otro lado, en la población de El Zarco se determinó un promedio de linfocitos del 96% y 99% en su valor mínimo y máximo respectivamente; para los monocitos, los valores extremos están en 0 y 7% con un promedio de 2%, mientras que para los neutrófilos sus valores extremos fueron de 0 y 8% con un promedio de 2%.

Aparentemente no se observa una diferencia notoria entre las dos poblaciones, ya que en ambas el porcentaje mayor está dado en los linfocitos con 97% en los peces de Guadalupe Victoria y 96% para los de El Zarco. Por otra parte, las células blancas de más abundancia en el conteo diferencial parecen ser los monocitos, con un promedio de 2% en Guadalupe Victoria y en El Zarco; las células menos frecuentes son los neutrófilos, con promedios de 1 y 2% en las poblaciones de Guadalupe Victoria y El Zarco respectivamente.

Haciendo la prueba estadística de "U de Mann-Whitney", se observa que en el conteo diferencial de leucocitos existen diferencias significativas entre las muestras de Guadalupe Victoria y El Zarco, para linfocitos y monocitos. En los neutrófilos la diferencia encontrada no fué significativa.

Al hacer la comparación con otras investigaciones sobre el parámetro de la cuenta diferencial de leucocitos, se encontró gran similitud entre los resultados que refiere la bibliografía y los resultados del presente estudio, como en el trabajo del Dr. Josef Deufel y sus colaboradores (1977), quienes reportan 75% de linfocitos, 6% de neutrófilos y 4% de monocitos, además un 15% de granulocitos no especificados en la trucha arco iris. Por otro lado, Lucky Zdenek (1977), en un estudio realizado en Ciprinus carpio, encontró 97 % de linfocitos, 2% de monocitos, 1 % de neutrófilos. Aunque esta investigación se lleva a cabo en carpas, puede ser un punto importante de comparación entre peces de agua dulce. Como puede observarse, los linfocitos son la forma predominante de los leucocitos siguiendo los monocitos y por último los neutrófilos.

CONCLUSIONES :

De acuerdo con el desarrollo y los resultados obtenidos en este trabajo, se presentan las siguientes conclusiones:

- Los parámetros hematológicos en este estudio son parecidos a los reportados por distintos investigadores en trabajos similares efectuados en países altamente tecnificados, implicando ésto que los tratamientos para decrementar las enfermedades en los peces y asegurar un sano desarrollo pueden aplicarse en forma análoga en nuestros centros piscícolas.
- A partir del análisis estadístico empleado para comparar las poblaciones de truchas en la granja rural de Guadalupe Victoria y en el centro piscícola El Zarco, se detecta que en los parámetros morfo-métricos de peso, longitud total y altura no existen diferencias significativas, concluyendo que las muestras de las poblaciones son similares en este punto; sin dejar de observar que la población de Guadalupe Victoria tuvo rangos más amplios en su peso y talla.
- Respecto a los parámetros hematológicos y basándose en el tratamiento estadístico, se deduce que las diferencias de los resultados entre las dos poblaciones son significativas excepto en el hematócrito y los neutrófilos. Este hecho nos permite aceptar la hipótesis alterna y concluir que son poblaciones diferentes.
- La diferencia hematológica entre los dos grupos de peces podría estar dada por la diferencia en sus hábitos alimenticios y por el medio en donde se desarrollan descartando la posibilidad de que la temperatura o la disponibilidad de oxígeno influyan en esta discrepancia ya que éstos se comportan de manera similar.

- El sexo parece no influir en los resultados obtenidos, ya que de acuerdo al análisis estadístico de las dos poblaciones, éstas se comportan en forma similar tanto por sexo como en la comparación general.
- La edad de los organismos seleccionados así como su peso y talla son factores determinantes en los valores hematológicos. Esto seguramente influye en los resultados obtenidos dando una diferencia significativa.
- Independientemente de los resultados estadísticos, se debe considerar que los organismos estudiados nos aportan información de las propiedades hematológicas en peces normales y los resultados son comparables como lo indica el primer inciso.
- En la cuenta de células blancas, se trabajó con varios diluyentes sin lograr una buena diferenciación entre leucocitos y eritrocitos o la destrucción de estos últimos. Por lo tanto, se debe seguir investigando para adecuar la técnica que mejor resultado proporcione.
- Las técnicas reportadas en la bibliografía consultada y que fueron empleadas en este trabajo, son accesibles y no necesitan de instrumentación sofisticada; su desarrollo es sencillo, lo cual permite su manejo sin dejar de pensar en la necesidad de una capacitación previa.
- Se observó que reduciendo la concentración del anestésico, se alcanzó el nivel de narcosis deseado. Por otro lado, el reestablecimiento de las condiciones normales de los peces se dió en un lapso de tiempo más corto.
- La técnica de marcado en los organismos estudiados es imprescindible en este tipo de investigaciones, ya que permite la observación posterior del comportamiento de los peces.

- El tiempo de aclimatación de los peces seleccionados en los estanques de reclutamiento, parece estar en proporción al tiempo y al tipo de manejo que se les proporcione.
- Los resultados de este trabajo deben considerarse como preliminares para estudios posteriores en poblaciones bajo cultivo en México.

RECOMENDACIONES :

Se considera necesario ampliar los exámenes sanguíneos para corroborar si hay efectos en los peces de acuerdo a sus hábitos alimenticios.

Hay que remarcar la importancia de realizar estudios entre poblaciones de peces sanos y enfermos, con el objeto de determinar las diferencias existentes entre los valores hematológicos. Además esto nos permitirá disponer de mayores elementos técnicos para determinar la condición sanitaria de individuos o lotes de peces ya sea con fines de investigación, de cultivo o de cualquier otro.

Este tipo de investigaciones deben incrementarse con un sentido de aplicación práctica para el diagnóstico sanitario y nutricional de los peces.

Se propone efectuar estos análisis sanguíneos en peces de diferentes edades y en diferentes épocas del año para obtener el máximo de información posible en este aspecto.

NOTA: Para una mayor comprensión respecto a la metodología empleada en este trabajo, se recomienda ver el video "Hematología de trucha arco iris". Sección de Didáctica de los Medio de Enseñanza. E.N.E.P. Iztacala. U.N.A.M.

BIBLIOGRAFIA

- Amlacher, E. Translated by Conroy, D.A. and Herman, R.L. (1970). Textbook of Diseases; T.F.H. Publications, Inc. Hong Kong. 17-26 p.p.
- Amlacher Erwin, translated by Conroy, D.A. and Herman, R.L. (1970). Hematological and serological techniques textbook of fish diseases, T.F.H. Publications, Inc. Hong Kong. 37-42 p.p.
- Ashley, L.M. y Smith, C.E. (1963). Blood cells on freshwater fish. Progr. Fish Cult., 25 (2): 93-113.
- Begeman, H., Rastetter, J. y Kaboth, W. (1970). Klinische H. Hematologie G. - Thieme Verlag, Stuttgart. 525 p.p.
- Black, C.E. (1940). The transport of oxygen by the blood of freshwater fish. Biol. Bull., 79: 215-228
- Bogner, K.H. y Ellis, A.E. (1977). Propiedades y funciones de los linfocitos y tejidos linfoides de los peces teleosteos. En Reichenback Kinke H.H. (Ed). Trabajos sobre histopatología de los peces. Ed. Acribia. Zaragoza, España. 71-85 p.p.
- Braman, J.C., Stalmaker, C.B., Klar, G.T. y Farley, T.M. (1980). Hemoglobin polymorphism in adult Cutthroat Trout (Salmo clarkii), J. Exp. Zool., 211: 411-413.
- Buhler, R.D. (1963). Studies on fish hemoglobins Chinook Salmo and Rainbow Trout, J. Biol. Chem., 238 (5): 1187-1191
- Carbery, J.T. (1970). Observations on blood parameters of Brown Trout with ulcerative dermal necrosis. Rev. Vet. Sci., 2: 491-493.

Conover, W. (1980). *Practic non parametric stadistic*. Ed. John Wiley and Sons. New York. 217-221 p.p.

Daufel, J. y Pöllnitz, C.V. (1977), Diagnóstico citohematológico de algunas enfermedades en la trucha arco iris (Salmo gairdneri Richarson) En Reichenback Kinke H.H. (Ed). *Trabajos sobre histopatología de los peces*. Ed. Acribia. Zaragoza, España. 25-35 p.p.

Fourie, F. Le and Van Vuren, J.H.J. (1976). A seasonal study on the hemoglobins of Carp (Cyprinus carpio) and Yellowfish (Barbus holubi) in South Africa. Comp. Biochem Physiol., 55 B: 523-525

Haidor, G. (1977). Modificaciones hematológicas en peces tratados con diferentes metales pesados. En Reichenback Kinke H.H. (Ed) *trabajos sobre histopatología de los peces*. Ed. Acribia. Zaragoza, España. 36-48 p.p.

Hattingh, J. Van Pletzen, A.J.J. (1974), The influence of capture and transportation on some blood parameters of freshwater fish, Comp. Biochem Physiol. 49A: 607-609

Hillam, R.S. Finch, C.A., Boggs, D.R., Winkelstein, A. y Harker, L.A. (1977). Ed. *El Manual Moderno*, S.A. México.

Hozglin, D.C., Mosteller, F. y Tukey, J.W. (1983). (Edf.) *Understanding robust and exploratory data analysis*. Ed. John Wiley and Sons. Inc. New York.

Hoar, W.S. y Hickman, C.P. (1975). *Manual de laboratorio para fisiología general y comparada*. Ed. Omega, S.A. Barcelona 267-276 p.p.

Hesser, E.F. (1960). *Methods for fish hematology*. Progr. Fish. Cult., 22: 164-171

Instituto Mexicano del Seguro Social (1974). Laboratorio clínico. Procedimientos, Talleres gráficos de la nación, México, D.F. 407-413 p.p.

Klontz, G.W. (1950). Hematological techniques and the immune response in Rainbow Trout in diseases of fish. (Mawdesley-Thomas, L.E. Ed.). Symp. Zool. Soc. Lond. No. 30, Academic Press. New York.

Klontz, G.W. y Smith, L. S. (1981). Methods of using fish as biological research subjects. In methods of animal experimentation. Vol. III. Gay WN. I, Ed. Academic Press. New York. 324-379 p.p.

Klontz, G.W., Yasutake W.T. y Parisot, T.J. (1965). Leucocytes morphology and function, in freshwater fish. Anm. N.Y. Acad. Sci., 126 (1): 531-544.

Korzhev, P.A. (1962). En "Techniques for the investigation of fish physiology" (E.N. Paulouskii, Ed.). 2-10 p.p. Akad Nauk SSSR. Ikhtiologicheskaya Komissiya (Israel Progr. Sci. transl. No. 1130, 1964).

Lagler, F.K., Bardach, E.J., Miller, R.R. y Passino, M.R. (1977). Ichthyology. 2° Ed. John Wiley and Sons. New York. 196-197 p.p.

Lall, S.P. y Bishop, F.J. Studies on the nutrient requirements of Rainbow Trout (Salmo gairdneri) grown in sea water and fresh water. FAO technical conference on aquaculture Kyoto, Japan 26 May-2 June 1976. FIR: AQ/Conf/76/E.12.

Larsen, H.N. (1964). Separation and characterization of menhaden hemoglobin, Progr. Fish Cult., 26 (1): 11-21

Larsen, H.H. y Snieszko, S.F. (1961). The hetological assessment of the healt of freshwater fish. Progr. Fish Cult., 23 (1): 8-16

Lucas, A.S. y Jamroz, C. (1961). White blood cells in Rainbow Trout (Salmo gairdneri). U.S. D.A. 25: 51-64

Lucky, Z. (1977). Hematological investigation of fish. En "Methods for the diagnosis of fish diseases". Edit. Hoffman Glenn L. Dr.

Published for the Fish and Wildlife Service, United States Department of the Interior and the National Science Fundation, Washington, D.C. by Amerind Publishing Co. put. LTD New Delhy. 129-140 p.p.

Matsumoto, J., Ishikawa, T., Masahito, P. y Takayama, S. (1980). Permanent cell lines from erythrophaemas in Goldfish (Carassius auratus) JNCI, 64 (4): 879-890.

Odense, P.H., Mac. Dougall, Y.M., Leug, T.C. y Logan, V.H. (1972). Hematological and histological studies resulting from the pollution at Long Harbour, Placetia Bay, Nwfoundland. Fish. Res. Bd. Can., 2: 195-207.

Puchkov, N.V. (1962). En "Techniques for the investigation of fish physiology" (E.N. Paulovskii Ed.). 11-15 p.p. Akad Nauk SSSR Ikhtioligicheskaya Komissiya - Israel Progr. Sci. Transl. No. 1130, (1964).

Reinitz, G.L. (1976). Comparison of techniques for stabilizing hemoglobins of Rainbow Trout (Salmo gairdneri) during frozen storage. Comp. Biochem. Physiol., 55B: 357-358.

Reinitz, G.L y Hitael, F. (1980). Formulation of practical diets for Rainbow Trout based on desired performance and body composition. Aquaculture, 19: 243-252.

Roberts, R.J. (1981). Patología de los peces. Ed. Mundi Prensa Madrid, 27-37, 80-86 y 307-313 p.p.

Rodríguez, M.G. (1975). Efectos de algunos alimentos sobre el crecimiento de crías y juveniles de trucha arco iris (Salmo gairderi). Fideicomiso para el desarrollo de la fauna acuática. Secretaría de Industria y Comercio. México, D.F. 1-87 p.p.

Schulz, D. (1977). Alteraciones patológicas producidas por deficiencia de oxígeno (hipoxidosis) en los órganos de la carpa. En Reichenback Kinke H.H. (Ed). Trabajos sobre histopatología de los peces. Ed. Acribia. Zaragoza, España. 61-70 p.p.

Secretaría de Pesca. (1982). Manual técnico para el cultivo de la trucha arco iris. Dirección. Gral. de Acuacultura. Dirección Gral. de Planeación. México, D.F. 13-133 p.p.

Silbergeld, E.K. (1972). Blood glucose: A sensitive indicator of environmental stress in fish. Prod. Acad. Nat. Scr. Phila., 129: 20-25.

Smith, G.L., Hattingh, J. y Schoombee, H. J. (1977). Observations on some effects of Disodim Ethylene Diamine Tetra-Acetate and Heparine on fish blood. Comp. Biochem. Physiol., 57C: 35-38.

Smith, C.G., Lewis, W.M. y Kaplan, H.M. (1952). Studies in the blood characteristics. Progr. Fish. Cult. 14 (4): 169-175.

Smith, L.S. y Bell, G.R. (1964). Practical hematology. J. Fisheries Res. Bd. Can., 21 (4): 711-720.

Stunkard, J. A. y Miller, J.C. (1974). An outline guide to general anesthesia in exotic species. VM/SAM. 69: 1181-1185.

Williams, J.W., Beutler, E., Erslev A.J. y Rundles, R.W. (1975). Hematología. Edit. Salvat, S.A. Barcelona, España II.