



UNIVERSIDAD PERUANA  
**CAYETANO HEREDIA**

**EVALUACIÓN DE PARÁMETROS  
HEMATOLÓGICOS DEL LENGUADO  
PERUANO (*PARALICHTHYS ADSPERSUS*)  
EN CONDICIONES DE CULTIVO EN LA  
FASE DE ENGORDE**

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRA  
EN SANIDAD ACUICOLA

DIANA CAROLINA RENDON HIJAR

LIMA-PERU

2019



**ASESORA DE TESIS**

**DRA. GALY JUANA MENDOZA TORRES**

**JURADO DE TESIS**

**DRA. CLARISA ELIZABETH HINOSTROZA MEZA**

**PRESIDENTE**

**DRA. GEMMA MARIA VERDE ZUCHETTI**

**VOCAL**

**MG. CIELO AYDELI LLERENA ZAVALA**

**SECRETARIO (A)**

## **DEDICATORIA**

*Agradezco a Dios que me da fortaleza para continuar adelante.*

*A mis padres Violeta Rodríguez y Freddy Rendón por su incondicional apoyo y brindarme siempre ánimos para cumplir mis metas.*

*A mi hermana Silvia Rendón por su paciencia y ayuda constante.*

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Dra. Galy Mendoza por darme la oportunidad de desarrollar esta propuesta de investigación y guiarme en su ejecución.

A la Dra. Cielo Llerena, por sus conocimientos y sugerencias para mejorar mi investigación.

Al Dr. Marcos Enrique Serrano, por sus consejos constantes y la revisión de la investigación.

Al Dr. Néstor Falcón por su colaboración en el desarrollo de la estadística de la investigación.

Al Señor Arce y Señora Rosa, por brindarme su ayuda en el procesamiento de las muestras.

Al Ing. Jaime Pauro, por las facilidades brindadas durante el muestreo, espacio en el centro de cultivo, e instrumentos cedidos.

Al Señor Wilmer, por el apoyo en el traslado al Centro de Cultivo en Huarney, ayuda en la toma de muestras de los lenguados.

A mi amigo el Dr. Joan Sequeiros, por el tiempo dedicado a ayudarme en la toma de muestras.

## **FUENTE DE FINANCIAMIENTO**

La realización de esta tesis para optar el grado de Maestro en Sanidad Acuícola ha sido posible gracias al apoyo financiero brindado al Programa de Maestría en Sanidad Acuícola de la Universidad Peruana Cayetano Heredia subvencionado por Cienciactiva del CONCYTEC (Convenio de Gestión N° 230-2015 FONDECYT).

<b>DECLARACION DE AUTOR</b>			
<b>FECHA</b>	11	03	2022
<b>APELLIDOS Y NOMBRES DELEGRESADO</b>	<b>Rendon Hajar Diana Carolina</b>		
<b>PROGRAMA DE POSGRADO</b>	<b>MAESTRIA EN SANIDAD ACUICOLA</b>		
<b>ANO DE INICIO DE LOSESTUDIOS</b>	<b>7-03-2017</b>		
<b>TITULO DEL TRABAJO DE INVESTIGACION DE GRADO</b>	<b>" Evaluación de parámetros hematológicos del lenguado peruano (<i>Paralichthys adspersus</i>) en condiciones de cultivo en la fase de engorde"</b>		
<b>MODALIDAD (marcar)</b>	<b>Tesis</b>	<b>X</b>	<b>Sustentación tematica</b>
<b>Declaración del Autor</b>			
La presente Tesis es un Trabajo de Investigación de Grado original y no es el resultado de un trabajo en colaboración con otros, excepto cuando así está citado explícitamente en el texto. No ha sido ni enviado ni sometido a evaluación para la obtención de otro grado o diploma que no sea el presente.			
<b>Teléfono de contacto (fijo / movil)</b>	<b>955 678 227</b>		
<b>E-mail</b>	<b>diana.rendon@upch.pe</b>		



Firma del Egresado DNI:

46146251

## TABLA DE CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN	01
II. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN	03
2.1 Planteamiento del problema	03
2.2 Marco teórico	05
2.3 Justificación del estudio	10
2.4- OBJETIVOS	12
2.4.1. General	12
2.4.2 Específicos	12
III. METODOLOGÍA	13
3.1 Diseño del estudio	13
3.2 Lugar de estudio	13
3.3 Población de estudio	13
3.4 Muestra	13
3.5 Operacionalización de las variables	17
3.6 Procedimientos y técnicas	17
3.6.1 Manejo de Ejemplares	17
3.6.2 Toma de muestras	18
3.6.3 Procesamiento de muestras	19
3.7 Consideraciones éticas	20
3.8 Plan de Análisis	21
IV. RESULTADOS	21
V. DISCUSIÓN	26
VI. CONCLUSIONES	33
VII RECOMENDACIONES	34
VIII REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

## IX ANEXOS

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Población de células granulocíticas de la etapa de pre engorde \_\_\_\_\_ 23
- Figura 2.** Células sanguíneas de la etapa intermedia \_\_\_\_\_ 24
- Figura 3.** Células sanguíneas de la etapa de engorde final \_\_\_\_\_ 24

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Operacionalización de las variables _____	17
<b>Tabla 2.</b> Valores hematológicos de la etapa de pre engorde, engorde intermedio y engorde final _____	21
<b>Tabla 3.</b> Recuento leucocitario del <i>Paralichthys adspersus</i> de la etapa de pre engorde, engorde intermedio y engorde final. _____	22

## **LISTA DE ANEXOS**

**Anexo 1.** Centro de Cultivo en Huarmey

**Anexo 2.** Flujo Productivo de la Planta de Acuicultura del *Paralichthys adspersus*

## RESUMEN

El objetivo principal fue determinar los valores hematológicos del lenguado nativo (*Paralichthys adspersus*) de cultivo en las etapas de pre-engorde, engorde intermedio y engorde final. Se trabajó con 79 muestras de sangre de un criadero ubicado en el Distrito de Culebras en Huarney. Las muestras se colectaron en tubos con EDTA, se realizó el frotis de cada muestra y se fijaron en metanol. La hematología se realizó manualmente usando los métodos de cianometahemoglobina, micro hematocrito, recuento eritrocitario, y leucocitario con el dilutor Natt Herrick y la morfología sanguínea con tinción Giemsa. Los índices hematimétricos fueron calculados con las fórmulas validadas por Wintrobe en 1934. En los resultados se encontró un mayor valor de hematocrito y de volumen corpuscular medio en la etapa de engorde intermedio con 33,23% y 110,24 fl comparado con las demás etapas de engorde. El recuento de eritrocitos fue mayor en la etapa de engorde final con  $3,18 \times 10^6/\text{ul}$  y en las etapas de pre engorde fue  $2,76 \times 10^6/\text{ul}$  y engorde intermedio de  $3,09 \times 10^6/\text{ul}$ . Se encontró un mayor recuento de leucocitos en la etapa de pre-engorde con  $27,26 \times 10^3/\text{ul}$  comparado con las demás etapas de engorde intermedio con  $15,01 \times 10^3/\text{ul}$  y final con  $16,09 \times 10^3/\text{ul}$ . En la caracterización leucocitaria se encontró un alto valor de linfocitos en la etapa de engorde final con 62,58%, y un 67,21% de segmentados en la etapa de pre engorde.

**Palabras claves:** *Paralichthys adspersus*, hematología, engorde.

## ABSTRACT

The main objective was to determine the hematological values of the native sole (*Paralichthys adspersus*) of culture in the stages of pre-fattening, intermediate fattening and final fattening. We worked with 79 blood samples from a hatchery located in the Culebras District in Huarmey. The samples were collected in tubes with EDTA, the smear of each sample was made and fixed in methanol. Hematology was performed manually using the methods of cyanometahemoglobin, micro hematocrit, erythrocyte count, and leukocyte with the Natt Herrick dilutor and blood morphology with Giemsa staining. The hematimetric indices were calculated with the formulas validated by Wintrobe in 1934. The results found a higher hematocrit value and average corpuscular volume in the intermediate fattening stage with 33.23% and 110.24 fl compared to the other stages of fattening. The erythrocyte count was higher in the final fattening stage with  $3.18 \times 10^6 / \text{ul}$  and in the pre-fattening stages it was  $2.76 \times 10^6 / \text{ul}$  and intermediate fattening of  $3.09 \times 10^6 / \text{ul}$ . A higher white blood cell count was found in the pre-fattening stage with  $27.26 \times 10^3 / \text{ul}$  compared to the other intermediate fattening stages with  $15.01 \times 10^3 / \text{ul}$  and final with  $16.09 \times 10^3 / \text{ul}$ . In the leukocyte characterization a high value of lymphocytes was found in the final fattening stage with 62.58%, and 67.21% segmented in the pre-fattening stage.

Keywords: *Paralichthys adspersus*, hematology, fattening.

## I.- INTRODUCCION

El pez lenguado se distribuye desde la localidad de Paita (Piura, Perú) hasta el golfo de Arauco (Chile) (Contreras, 2016). Además (Chirichigno y Cornejo, 2001) describen que el lenguado común *Paralichthys adspersus* es una especie bentónica que viven en fondos somero arenosos hasta los 300 m de profundidad.

El lenguado nativo (*Paralichthys adspersus*) es un teleósteo que presenta apéndices especializados para su desplazamiento, las aletas están constituidas por lóbulos que se extienden sobre su esqueleto representadas por radios articulados en su base y se mueven por acción muscular (Solano, 2009). Es un recurso valorado comercialmente, debido a la calidad de su carne, alto valor nutritivo y a los altos precios que alcanza a nivel nacional e internacional (Cota, 2012). Sin embargo, su disponibilidad para la captura ha disminuido debido a los cambios climáticos y elevación de la temperatura, alejándolo de la costa a zonas más profundas (Castañeda y Samáme, 1999). Por esta razón se ha despertado el interés en desarrollar investigaciones sobre su acondicionamiento, producción y reproducción en cautiverio (Cota, 2012).

En el Perú los estudios preliminares de factibilidad de cultivo de *Paralichthys adspersus* se realizaron en el año 1996, en las instalaciones del Instituto del Mar del Perú – Callao (IMARPE), mientras que, el Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero, en el año 1998 inició los trabajos de adaptación al cautiverio del lenguado nativo (*Paralichthys adspersus*) paralelo a los trabajos de adaptación, de una especie exógena, el “turbot” (*Scophthalmus maximus*) (Solano, 2009).

Carrera y Santos (2007); reportaron los trabajos de la Unidad de Investigaciones en Acuicultura del IMARPE, que se orientaron en desarrollar una técnica de producción de semillas de lenguado nativo *Paralichthys adspersus*, logrando avances relacionados a la reproducción, desarrollo larvario y obtención de juveniles a partir de un plantel de reproductores mantenidos en cautiverio.

El estudio de la hematología genera información sobre diferentes aspectos del metabolismo, órganos y sistemas del organismo, desbalance nutricional, efectos tóxicos, condiciones anóxicas y presencia de enfermedades, constituyéndose una herramienta útil en la determinación del estado de salud en los peces. La evaluación de estos parámetros se ha acrecentado desde los años 70 (Blaxhall y Daisley, 1973). Desde entonces se ha originado información al respecto, sin embargo ha sido en los últimos 15 años que se ha ampliado los conocimientos hematológicos (Soldatov, 2005). La aplicación de la biometría hemática ha permitido comprobar que variaciones en la temperatura, salinidad y oxígeno pueden provocar cambios fisiológicos en los niveles de algunos parámetros sanguíneos (Valenzuela *et al.*, 2007).

La hematología de peces ha adquirido mayor importancia, en especies con relevancia económica, principalmente en salmónidos, llegando a ser una disciplina coparticipante en el diagnóstico y control de enfermedades. No obstante la mayor parte de los estudios giran en torno a especies dulceacuícolas existiendo poca información hematológica sobre especies marinas (Valenzuela *et al.*; 1999).

## II- PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACION

### 2.1 Planteamiento del problema

Existen pocos estudios sobre parámetros hemáticos en peces de igual manera se ha determinado que estos pueden estar influenciados por diversos factores como especie, la edad, el fotoperiodo, el estado nutricional y la metodología usada para su valoración (De Pedro *et al*, 2004). Se debe realizar el monitoreo de variables hematológicas para medir el estado fisiológico de los peces y evaluar si no se encuentran ante un estado disfuncional que produzca alteraciones en los mismos patrones bioquímicos y en el eritrograma (Tavares, 2004). El incremento de la acuicultura y el poco conocimiento de la fisiología de los peces de cultivo como el lenguado pueden conllevar a un mal manejo de la producción que incluso provoca una sobrecarga en los individuos de acabado - de una carga máxima de 20 kg/m<sup>2</sup> sobrepasan los valores de 25 kg/m<sup>2</sup>- provocando que haya bajos rendimientos productivos y alto riesgo a sufrir enfermedades por estrés.

Existen diversos estudios realizados en esta especie que utilizan valores referenciales para luego enfrentar a la especie a diversos agentes patógenos y situaciones de estrés. Hoon Jee *et al.*(2004), realizó estudio acerca del efecto del fenantreno sobre el crecimiento y las concentraciones de hemoglobina y hematocrito en la platija de olivo (*Paralichthys olivaceus*), obteniendo una disminución de la hemoglobina de 5.66 a 4.71 g/dl y hematocrito de 26.29% a 23.93%. Kim *et al.* (2018), llevaron a cabo una investigación en una granja en Corea, donde se obtuvo sesenta peces y fueron cultivados en biofloc y en agua de mar, luego se separaron en cinco tanques siendo expuestos a diferentes

concentraciones de nitrito, después de siete días, se recogió la sangre y los tejidos resultando en una disminución del hematocrito de 45% a 31% con una concentración de 100 mg mientras que la hemoglobina bajo de 9,1 g/dl a 6,8 g/dl.

No se cuenta con información más amplia acerca de los valores hematológicos del lenguado bajo condiciones de cultivo, que permitan discriminar situaciones de enfermedad y estrés.

## 2.2 MARCO TEORICO

La sangre está compuesta por elementos formes que conforman el 45% del total, suspendidos en el plasma sanguíneo que representa el 55% y ocupan un volumen que va del 2 al 4% del peso corporal de los peces, además conduce los productos de la actividad metabólica, transporta mensajes químicos y defiende al individuo de infecciones gracias a la presencia de células especializadas para ello (Burgos, 2011).

El hematocrito describe el porcentaje de células transportadoras de oxígeno con respecto al volumen total de sangre y su lectura se hace en una tabla de microescala para hematocrito, su valor se expresa en porcentaje. Un hematocrito reducido va a ser indicativo de anemia y un valor elevado a 65% nos indicaría deshidratación (Pereyra, 2017)|

La hemoglobina se expresa en gramos por cien mililitros de sangre y se va a determinar por el método de cianometahemoglobina y las muestras son leídas en el espectrofotómetro (Garay, 2010), además representa el 32% de la masa total del glóbulo rojo, también va a transportar el oxígeno desde los pulmones a los diferentes tejidos corporales, donde será utilizado en el metabolismo energético y retira de ellos el CO<sub>2</sub> producido por ese metabolismo (Álvarez, 2014).

El recuento total de eritrocitos se expresa en células por mm<sup>3</sup> de sangre, además se menciona que la cantidad de eritrocitos varía según la especie y su concentración está afectada por el estrés y la temperatura (Centeno, 2007). El recuento total de leucocitos se expresa en cel x 10<sup>3</sup>/ul en disolución de 1:200 de sangre con la solución de Natt Herrick para luego observar en la Cámara de Neubaer a través

del microscopio, así estas células van a estar involucradas en el sistema inmune , pueden encontrarse en la sangre circulante o tejidos y puede formar complejos celulares (Noga, 2000).

El volumen corpuscular medio expresa el volumen medio individual de los hematíes, sus unidades son en fentolitros, y permite detectar el tipo de anemia, así como también el valor de la concentración de hemoglobina corpuscular media que indica la cantidad de hemoglobina contenida en 100 ml de eritrocitos , se mide en gramos por fentolitros (Navarrete, 2017).

Los eritrocitos maduros normales de los peces son de forma oval a elipsoidal con abundante citoplasma eosinofílico y los núcleos son ovaes a elipsoidales y se ubican centralmente, pueden ocupar hasta un cuarto del volumen celular (Campbell y Ellis, 2007) Los eritrocitos inmaduros pueden encontrarse en la sangre normal de los peces por que la eritropoyesis se produce en la sangre periférica (Roberts y Ellis, 2001).

Los leucocitos se dividen en granulocitos que son los eosinófilos, neutrófilos y basófilos, y los agranulocitos representados por monocitos y linfocitos (Grant, 2015). Los neutrófilos presentan una morfología generalmente redonda, con núcleo excéntrico y basofílico, el citoplasma tiene un color azul claro y gránulos que son débilmente visibles (Grant, 2015)

Los neutrófilos generalmente constituyen del 6 al 8% de la población de leucocitos (Roberts and Ellis, 2001) .Son células generalmente ovaladas o redondas con núcleos excéntricos , siendo que los núcleos de los neutrófilos maduros tienden a hacer no segmentados pero puede variar de forma de redondo a

ovalado con hendiduras (Campbell y Ellis, 2007), mientras que el citoplasma del neutrófilo maduro es típicamente abundante e incoloro o ligeramente acidófilo , mientras que los neutrófilos inmaduros se tiñen de gris o azul grisáceo , además pequeños granulo pueden estar presentes en el citoplasma (Zinkl *et al.*, 1991).

Los eosinófilos son granulocitos redondos y se van a diferenciar de los neutrófilos por la presencia de numerosos gránulos citoplasmáticos de tinción eosinofílica de forma redonda con tinción de Romanowsky, y el citoplasma es azul pálido y el núcleo varia de redondo a lobulado con cromatina densa, es excéntrico (Campbell y Ellis, 2007).

Los basófilos son células que se encuentran en un bajo número en la circulación periférica de los peces (Saunders, 1966; Ellis, 1977), son células redondas de apariencia similar a los mastocitos que contienen gránulos citoplasmáticos basófilos que se tiñen de azul y van a oscurecer el núcleo celular. El núcleo es grande y redondo y está ubicado excéntricamente y contiene cromatina nuclear homogénea (Campbell y Ellis, 2007).

Los monocitos son células grandes, su núcleo es reniforme y la cromatina es irregular y laxa de color violeta, ocupando el 50% de la célula, además su citoplasma puede contener vacuolas y su color es grisáceo (Campbell y Ellis, 2007).

Los linfocitos es un leucocito predominante que representa un 50% en peces sanos (Campbell y Ellis, 2007). El tamaño de esta célula varía entre 4 y 8 um de diámetro. Los linfocitos pequeños tienen una alta proporción de núcleo: citoplasma, una escasa cantidad de citoplasma azul pálido homogéneo y

cromatina nuclear profundamente basófilo aglomerada de forma gruesa (Houston, 1990)

Finalmente los trombocitos son células típicamente alargadas y tienen un citoplasma muy claro, y van tener un núcleo condensado y gránulos citoplasmáticos eosinofilicos, los trombocitos en forma de huso son las formas reactivas y se encuentran en grupos (Rozas y Walker, 2015).

Silveira (2005), realizó un estudio hematológico en la tilapia cuya finalidad fue establecer los indicadores hematológicos que permitan identificar el índice de condiciones de estrés en la especie, fueron obtenidos de un sistema de cultivo semi- intensivo , presentaron un peso que va de 75- 275 g, además fueron cultivados bajo óptimas condiciones de pH, temperatura , se les anestesió con metanosulfonato de triclaína, obteniéndose un hematocrito de 26% y una hemoglobina de 6,2 g. Péres *et al.*, (2014), realizaron una investigación con la finalidad de establecer valores hematológicos normales del lenguado senegalés de más de un año de edad como referencia para monitorear el estado de salud de los peces, obteniendo valores para el hematocrito de 20,4%, hemoglobina de 4,23 g/dL, VCM de 121.1 fl, HCM de 25,3 pg, MCHC de 21,0 g/Dl. Park *et al.*, (2012), realizo un trabajo con el *Paralichthys olivaceus* de un peso de 22g con la finalidad de examinar las reacciones bioquímicas y los cambios que ocurren en la platija bajo el estrés de hambre a largo plazo dividiéndolos en dos grupos uno alimentado recibiendo alimento ad libitum , estuvieron alojados veinte peces en cada estanque con sistema de recirculación, encontrándose que a las cuatro semanas el hematocrito disminuyo de 29,2% a 19,3% en el grupo alimentado y

de 29,2% a 19,6% en el grupo hambriento , mientras que la hemoglobina aumento de 11,6 g/dl a 12,7 g/dl en el alimentado y de 11,6 a 14,4 g/dl en el hambriento.

Un estudio realizado por Falcon *et al.*, (2006), donde trabajo con tres ejemplares de acarahuazú *Astronotus Ocellatus* , sometidos a cambio de temperatura y se les anestesio con lidocaína ,teniendo como resultado un hematocrito de 56,33% y una hemoglobina de 18,66 g/dl y un recuento de eritrocitos de  $6,06 \times 10^6 \text{ ul}^{-1}$ . Dye *et al.*,(2001 ), realzaron una investigación cuyo objetivo proporcionar un perfil completo en la platija de invierno que sirvan como valores de referencia , donde primero aclimataron a los 30 ejemplares en tanques de fibra durante tres semanas en agua de mar recirculada y se monitoreo la calidad de agua encontrándose los valores altos de hematocrito lo que se pudo deber a que eran individuos que no estaban anestesiados , además los valores de hemoglobina estaban altos, además se encontró los tipos de células presentes en este estudio fueron los trombocitos , eritrocitos y leucocitos.

Los estudios hematológicos en peces resultan ahora más útiles, debido al desarrollo creciente en acuicultura, tales estudios se han utilizado como indicadores eficaces y sensibles en los cambios fisiológicos y patológicos en peces. Es por eso que para poder emplearlos como herramienta de diagnóstico es necesario analizar dichos indicadores en peces saludables y en óptimas condiciones ambientales para establecer los valores referenciales de la especie. El estudio de la sangre en peces va a permitir clarificar la relación entre la fisiología, la filogenia, la actividad física, el hábitat, y la adaptabilidad de los peces, además estas variables pueden ser afectadas por factores intrínsecos como extrínsecos así

como las características particulares de los distintos grupos de peces, por lo que adquieren interés fisiológico.

### **2.3 JUSTIFICACION DEL ESTUDIO**

La creciente presión de la producción del área acuícola ha generado la aparición de enfermedades no antes vistas en las especies acuáticas, estas enfermedades generan cambios en los valores hematológicos normales de cada especie, los cuales aún no son del todo conocidos más aún bajo condiciones de cultivo. Los sistemas productivos, incluso los relacionados a acuicultura buscan la prevención de enfermedades antes que la curación de las mismas, es por ello que se requiere de herramientas que permitan al acuicultor la identificación anticipada de una amenaza sanitaria. Una de las pruebas utilizadas para evaluar el estado de salud de las especies animales es la hematología, la cual puede incluso evidenciar enfermedades que aún no se ha manifestado. Los parámetros sanguíneos de los peces indican su estado fisiológico y se emplean para valorar la efectividad del control de las enfermedades, desbalances nutricionales, cambios ambientales y otros estresantes que se presentan durante los cultivos.

Bridges *et al.* (2011), llevaron a cabo una investigación que evaluó los efectos de los cambios estacionales sobre los parámetros hematológicos en la platija de invierno *Pseudopeluronectes americanus* en estadio adulto, encontrando que estos cambios influyeron sobre los valores hematológicos sobre todo en el mes de Marzo donde el hematocrito tuvo un valor de 25% mientras que la hemoglobina el valor más elevado con 6,05 g/dl fue en Diciembre. La dieta influye de manera positiva en la hemoglobina de peces como el *Yamu Brycon* tal como lo

evidenciaron Castellanos y colaboradores en el 2003. El estudio en la cachama hecho por Centeno y colaboradores en el 2007 evidencio que en las etapas de crecimiento los valores del hematocrito y hemoglobina varían.

En un estudio realizado por Gonzales *et al.*, (2016), cuyo objetivo fue determinar los parámetros hematológicos de reproductores de *Brycon amazonicus* en condiciones de cautiverio, para eso se utilizaron doce ejemplares adultos cultivados en estanques de tierra y mantenido con una dieta comercial, se analizaron los parámetros de agua, y se les extrajo sangre por punción de la arteria caudal y se les anestesió con eugenol, encontrándose mayor variación en los índices hematimétricos como VCM que fue 194,5 fl, y el HCM que fue de 72,6 pg. Se han encontrado estudios recientes con el *Solea senegalenses* que mostraron que el estado nutricional y el estrés agudo o crónico modulan los niveles de metabolitos plasmáticos, como aminoácidos libres, glucosa y cortisol, lo que confirmaría que los cambios en la condición fisiológica de esta especie afectan los valores hematológicos, es por eso que la hematología podría monitorear el estado de salud, aunque no se ha utilizado siempre debido a la dificultad de obtener muestras y a la falta de rangos referenciales en peces incluyendo al Lengudo nativo (Costas *et al.*, 2012).

La necesidad de establecer parámetros hematológicos de peces surge de utilidad como referencia para el diagnóstico de cuadros patológicos, aunque la composición sanguínea está determinada genéticamente también se encuentra bajo la influencia de diferentes factores en el que habitan los organismos (Guevara y Torres, 2018). En este sentido y dado el creciente aumento de la producción controlada del lengudo peruano (*Paralichthys adspersus*), se planteó el presente

trabajo para identificar valores hematológicos de las etapas de engorde bajo condiciones de cultivo.

## **2.4 OBJETIVOS**

### **2.4.1 GENERAL**

Determinar los valores hematológicos del lenguado peruano (*Paralichthys adspersus*) en las etapas de pre engorde, engorde intermedio y engorde final bajo condiciones controladas de su cultivo.

### **2.4.2 ESPECIFICOS**

- Cuantificar el porcentaje de hematocrito para las etapas de pre engorde, engorde intermedio y engorde final.
- Determinar la concentración de hemoglobina e índices hematimétricos en las etapas de pre engorde, engorde intermedio y engorde final.
- Determinar el recuento total de leucocitos y de eritrocitos en las etapas de pre engorde, engorde intermedio y engorde final.
- Describir la caracterización leucocitaria en las etapas de pre-engorde, engorde intermedio y engorde final.

### **III. METODOLOGIA**

#### **3.1 DISEÑO DEL ESTUDIO**

El presente trabajo corresponde a un estudio de tipo observacional y descriptivo.

#### **3.2 LUGAR DE ESTUDIO**

Las muestras sanguíneas se obtuvieron de lenguados procedentes de un Centro de Cultivo ubicado en Huarney. El procesamiento de las muestras fue realizado en el Laboratorio de Patología Clínica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Peruana Cayetano Heredia

#### **3.3 POBLACION OBJETIVO**

Muestras de sangre obtenidas de lenguados de cultivo de las etapas de pre engorde, engorde intermedio y engorde final.

#### **3.4 MUESTRA**

Se trabajó con un total de 81 muestras sanguíneas distribuidas de la siguiente manera:

24 muestras de ejemplares de pre engorde, conformados por lenguados con un rango de peso promedio de 50- 200 g y cultivados bajo una densidad de 8 a 14 kg/m<sup>2</sup>. La conversión alimenticia del grupo era de 0,9 a 1.

26 muestras de ejemplares de engorde intermedio, conformados por lenguados con un rango de peso promedio de 200- 500 g y cultivados bajo una densidad de 14 a 18 kg/m<sup>2</sup>. La conversión alimenticia del grupo era de 1 a 1,4.

29 muestras de ejemplares de engorde final, conformados por lenguados con un rango de peso promedio de 500 – 1500 g y cultivados bajo una densidad de 20 a 30 kg/m<sup>2</sup>. La conversión alimenticia del grupo era de 1 a 1,4.

Los criterios de inclusión de los ejemplares seleccionados para la toma de muestra fueron:

- Individuos aparentemente sanos.
- No presentar variaciones de color
- Mantener las características de mimetismo

La dieta de los individuos de pre engorde es a base de alimento tipo extruido mientras que la de los individuos de engorde intermedio y engorde final es a base de una ración tipo semihumeda. La composición fue la siguiente:

Composición de la dieta (%)	Etapa		
	Pre engorde	Engorde intermedio	Engorde final
Proteína	45,50	43,37	42,67
Humedad	35,34	38,84	38,95
Grasa	10,91	10,46	11,30
Cenizas	8,25	7,33	7,08

Los parámetros de calidad de agua fueron 0,05 mg.L<sup>-1</sup> de nitrito para los ejemplares de pre engorde y de nitrato fue de 0,15 mg.L<sup>-1</sup>, mientras que para los

ejemplares de engorde intermedio el nitrito fue de 0,12 mg.L<sup>-1</sup> nitrato de 1,25 mg.L<sup>-1</sup> finalmente el agua de los peces de engorde final tuvo nitrito de 0,14 mg.L<sup>-1</sup> y nitrato de 1,50 mg.L<sup>-1</sup>.

Las condiciones de manejo de las tres etapas de engorde en el centro de cultivo se ejecutan en tanques de 600 m<sup>3</sup> y se destinan 240 m<sup>3</sup>/h para el recambio equivalente al 40% del volumen total de agua por hora (rango óptimo de recambio de 30 a 80%) lo que está en función de la densidad de carga, la edad y la etapa de los peces. El agua ingresa a los tanques de forma tangencial generando un flujo centrípeto hacia el desagüe central arrastrando las excretas, alimento no consumido y sedimentos. El afluyente está ubicado en una zona con protección rocosa natural donde está instalada la caseta de bombeo. El sistema de bombeo cuenta con dos electrobombas de 10 hp (25 m<sup>3</sup>/h) y dos electrobombas de 50 hp (200 m<sup>3</sup>/h) de las cuales una se alterna cada quince días. El agua que sale de los tanques es colectada hacia una tubería de 450 mm la cual se direcciona hacia el mar en un punto distante al norte en el sentido de la corriente costera marina. Además para mantener los niveles óptimos de oxígeno y mejorar el movimiento centrípeto y auto limpieza de los tanques, estos tienen instalados bombas pequeñas de 1 hp que recirculan el agua de los tanques formando gotas de alta presión que golpean la superficie del agua generando micro burbujas que incrementan los niveles de oxígeno.

Las condiciones de temperatura y oxígeno de los ejemplares de la etapa de pre- engorde, fueron de 16 a 20 °C y 6-8mg/L y un pH de 7.8 – 7.9, mientras que para los ejemplares de engorde intermedio y engorde final fueron de 16- 20° C, y de

oxígeno 5-7 mg/L y un pH de 7.8- 7.9. La salinidad de 35 ppm para todas las etapas.

Para el cálculo del tamaño de muestra se utilizó el método de comprobación de una media para poblaciones infinitas, se consideró la desviación estándar de la hemoglobina y un nivel de confianza de 95%. Para ello se tomaron 10 valores de hemoglobina de cada etapa de manera aleatoria, dando como resultado un valor mínimo de 18 muestras para la etapa de pre engorde, 29 para el engorde intermedio y 24 para la etapa final. Se contó con mayor disponibilidad de muestras por lo que el tamaño de muestra final fue de 24, 26 y 29 respectivamente.

La fórmula utilizada fue la siguiente:

$$N = Z^2 S^2 / d^2 \quad (\text{Barojas, 2005) donde,}$$

$$N = 18$$

$$S = 1,58 \text{ .- Desviación estándar a partir de la muestra piloto}$$

$$d = 0,723 \text{ es el error máximo admisible que es el 10\% de la variable}$$

$$Z = 1,96 \text{ utilizando un nivel de confianza con un 95\%}$$

### 3.5 OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES

**Tabla 1.** Operacionalización de las variables.

VARIABLE	CLASIFICACION DE LAS VARIABLES	ESCALA DE MEDICIÓN	TIPO DE VARIABLE	UNIDAD DE MEDIDA
Hemoglobina(Hb)	Cuantitativa continua	De razón	Independiente	g/dL
Hematocrito (Ht)	Cuantitativa continua	De razón	Independiente	%
Recuento de eritrocitos	Cuantitativa continua	De razón	Independiente	$\times 10^6$ /ul
Recuento de leucocitos	Cuantitativa continua	De razón	Independiente	$\times 10^3$ /ul
Diferencial leucocitario	Cuantitativa continua	De razón	Independiente	%
Volumen corpuscular medio (VCM)	Cuantitativa continua	De razón	Independiente	fL
Hemoglobina corpuscular media (HCM)	Cuantitativa continua	De razón	Independiente	pg
Concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM)	Cuantitativa continua	De razón	Independiente	g/dL

### 3.6 PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS

#### 3.6.1 Manejo de los ejemplares

Las muestras de los peces de la etapa de engorde final se obtuvieron en el centro de cultivo al momento que estos fueron sacrificados para su comercialización.

Las muestras de los ejemplares de pre engorde y engorde intermedio se obtuvieron en los ambientes de la FAVEZ de la UPCH, para ello fueron

transportados en bolsas que contenían 15 litros de agua y 40 litros de oxígeno según la metodología de Kubitza, (2009). Además, se transportó agua de mar para su posterior recambio a su llegada a la FAVEZ de la UPCH.

Los peces llevaron un ayuno de 24 horas antes de la toma de muestras.

### **3.6.2 Toma de muestra**

Los ejemplares de las etapas de pre engorde y engorde intermedio fueron anestesiados con metanosulfonato de triclaína a una dosis de 80 ppm para procedimiento de manipulación (Ayala, 2014), además con ayuda de una balanza electrónica y un centímetro se les midió el peso y la longitud. Cada espécimen se colocó en una superficie estable sobre un paño húmedo y se le cubrió la cabeza (Weber, 2009). Luego se procedió a la extracción de sangre por punción intracardiaca a nivel del ventrículo entre las aletas pectorales levantando el opérculo. Luego del procedimiento se realizó la eutanasia, sometiendo a los peces a un baño con sobredosis de metanosulfonato de triclaína (250 mg/litro) durante 10 minutos aproximadamente verificando el cese de movimientos operculares (Close *et al.*, 1995). Para el caso de los ejemplares de engorde final la muestra fue tomada luego de la insensibilización de los peces por ruptura de la médula espinal con un objeto punzante, luego la toma de muestra sanguínea se hizo de forma intracardiaca similar a las etapas anteriores.

Tomando como referencia los estudios previos realizado por Serrano Martínez, *et al.*, en el 2013, el volumen de la muestra extraída fue de 2,5 ml la que se almacenó en tubos con anticoagulante. El tiempo de fijación de las muestras con metanol fue de cinco minutos según la técnica reportada de Walsh y Luer (2004).

### 3.6.3 Procesamiento de la muestra

Los valores del porcentaje de hematocrito (Ht) se determinaron por el método de microhematocrito, para lo cual se usaron capilares no heparinizados para absorber la muestra, luego se selló en la placa de cera y se centrifugó durante cinco minutos a 10 500 rev/min. La lectura se realizó utilizando una cartilla para microhematocrito.

El cálculo de la concentración de hemoglobina (Hb) se realizó mediante la técnica de cianometahemoglobina, reportado por Blaxhall y Daisley (1973), se utilizó el reactivo de Drabkin, y preparó dos tubos, uno blanco conteniendo 5ml de reactivo y el tubo muestra a razón de 10 ul de sangre y 5ml de reactivo para luego realizar la lectura con un espectrofotómetro calibrado a una absorbancia de 540nm.

Los índices hematimétricos: volumen corpuscular medio (VCM), concentración de hemoglobina corpuscular media (HCM) y hemoglobina corpuscular media (CHCM), se calcularon usando las siguientes fórmulas validadas por Wintrobe en 1934.

$$\text{Para el VCM} = \frac{\text{Ht} \times 10}{(\text{RBC} \times 10^6)}$$

$$\text{HCM} = \frac{\text{Hb} \times 10}{(\text{RBC} \times 10^6)}$$

$$\text{CHCM} = \frac{\text{Hb} \times 100}{\text{Ht}} \text{ dónde,}$$

Ht: Hematocrito

Hb: Hemoglobina

RBC: Recuento de eritrocitos

El conteo total de eritrocitos y leucocitos se determinó usando una cámara de Neubauer y el dilutor de Natt Herrick, se colocó 0.5 µl de sangre en la pipeta de toma y se completó hasta la mitad del bulbo con el dilutor, luego se dejó reposar durante cinco minutos y se procedió a echar una gota en la cámara de Neubauer para la observación microscópica a 400x.

Para el conteo de leucocitos se diluyó la sangre en 1:200 de solución Natt Herrick y se observó por el microscopio.

La fórmula utilizada para calcular el número de eritrocitos fue de:

Recuento de eritrocitos= el total de células de los 5 cuadrantes x 10 000

Y para el total del número de leucocitos fue de:

Recuento de leucocitos = el total de las células de los 9 cuadrantes + 10% x 200

### **3.7 CONSIDERACIONES ETICAS**

El proyecto de investigación de la presente tesis titulado “Evaluación de parámetros hematológicos del Lenguado Peruano (*Paralichthys adspersus*) en condiciones de cultivo en la etapa de engorde”, con código de inscripción de SIDISI 102731, fue aprobado en la sesión CIEA (Comité Institucional de Ética para el uso de animales) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, el día 10 de Abril del 2019.

### 3.8 PLAN DE ANALISIS

Los valores obtenidos fueron registrados en una base de datos utilizando el programa Microsoft Excel 2010. Los resultados fueron expresados según su unidad de medida. Se utilizó la estadística descriptiva para resumir la información, empleando la media aritmética como medida de tendencia central y la desviación estándar con valores extremos como medidas de dispersión, asimismo se calculó el coeficiente variación para determinar la confiabilidad de los resultados.

## IV. RESULTADOS

Los valores obtenidos de hematocrito, concentración de hemoglobina e índices hematimétricos, recuento total de leucocitos y de eritrocitos para las etapas de pre-engorde, engorde intermedio y engorde final se muestran en la Tabla 2

*Tabla 2.- Valores hematológicos de las etapas de pre engorde (n=24), engorde intermedio(n=26) y engorde final (n=29) del *Paralichthys adspersus**

<b>ETAPA</b>	<b>Parámetros</b>	<b>Min</b>	<b>Max</b>	<b>Media</b>	<b>DE</b>
Pre engorde	Hematocrito %	9,00	32,00	18,58	5,76
	Hemoglobina (g/dl)	3,20	9,10	5,96	1,70
	VCM (fl)	41,13	106,67	68,13	17,25
	HCM (pg)	11,68	28,44	21,90	4,65
	CHCM (g/dl)	20,31	45,50	32,79	4,60
	Leucocitos ( $\times 10^3/\text{ul}$ )	8,36	60,06	27,26	12,54
	Eritrocitos ( $\times 10^6/\text{ul}$ )	1,60	4,15	2,76	0,72

Engorde intermedio	Hematocrito %	18,00	44,00	33,23	6,19
	Hemoglobina (g/dl)	3,70	9,44	7,37	1,33
	VCM (fl)	68,97	154,17	110,24	26,37
	HCM(pg)	14,18	32,34	24,41	5,58
	CHCM (g/dl)	15,00	40,00	22,55	4,59
	Leucocitos (x 10 <sup>3</sup> /ul)	1,12	34,18	15,01	6,76
	Eritrocitos (x 10 <sup>6</sup> /ul)	2,40	4,61	3,09	0,60
Engorde final	Hematocrito%	23,00	41,00	31,52	4,22
	Hemoglobina (g/dl)	4,6	9,1	6,99	1,28
	VCM (fl)	59,27	127,78	101,59	17,65
	HCM (pg)	13,69	31,64	22,56	5,12
	CHCM (g/dl)	13,24	31,25	22,45	21,66
	Leucocitos( x10 <sup>3</sup> /l)	1,58	35,48	16,09	7,66
	Eritrocitos (x 10 <sup>6</sup> /ul)	1,92	5,23	3,18	0,63

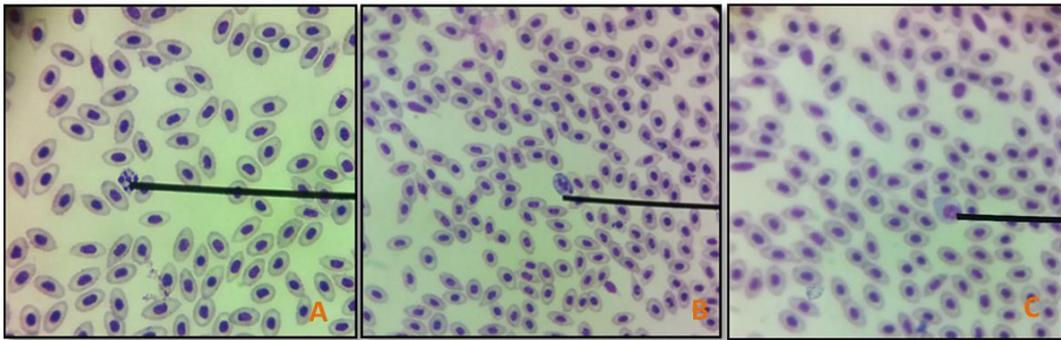
El recuento leucocitario de las tres etapas estudiadas se observa en la Tabla 3.

**Tabla 3.-** Recuento leucocitario del *Paralichthys adspersus* de las etapas de pre-engorde (n=24), engorde intermedio(n=26) y engorde final (n=29) del *Paralichthys adspersus*

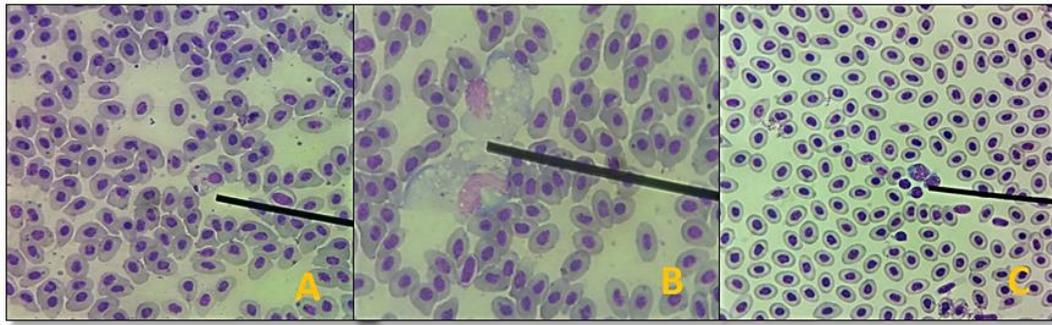
<b>Etapas</b>	<b>Tipo de leucocito</b>	<b>Media</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>
Pre engorde	Abastoados (%)	0,46	0,93	0	3
	Segmentados (%)	67,21	12,69	32	86
	Linfocitos (%)	29,00	14,36	6	68
	Monocitos (%)	0,21	0,51	0	2
	Eosinófilos (%)	2,92	4,49	0	18
	Basófilos (%)	0,17	0,82	0	4
Engorde intermedio	Abastoados (%)	1,62	5,58	0	30
	Segmentados (%)	47,04	16,38	12	77
	Linfocitos (%)	49,31	14,49	17	74
	Monocitos (%)	0,77	1,63	0	8
	Eosinófilos (%)	1,85	1,67	0	5
	Basófilos (%)	0,15	0,37	0	1

Engorde final	Abastondados (%)	1,00	1,39	0	6
	Segmentados (%)	35,85	10,01	18	50
	Linfocitos (%)	62,58	10,67	45	82
	Monocitos (%)	0,08	0,27	0	1
	Eosinófilos (%)	0,39	0,64	0	2
	Basófilos (%)	0,04	0,19	0	1

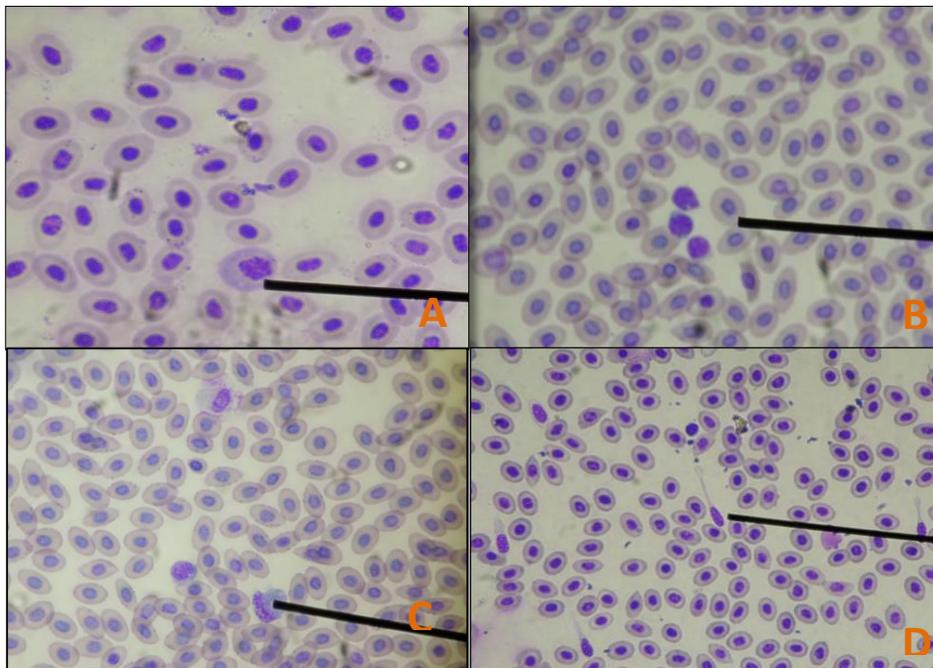
La morfología de estas células se observa en las figuras 1, 2 y 3 para las etapas de etapas de pre engorde, engorde intermedio y engorde final respectivamente.



**Figura 1.** Población de células granulocíticas de la etapa de pre engorde. Tinción Giemsa. Vista a 100 X. A.- Basófilo.- Célula que va a presentar granulaciones más gruesas, el citoplasma va a ser más grande, y el núcleo va a estar excéntrico. B.- Eosinófilo.- La célula va a tener un citoplasma más oscuro y el núcleo va a tener granulaciones gruesas.- Neutrófilo.- célula con granulaciones más finas y el núcleo va a estar excéntrico



**Figura 2.** Células sanguíneas de la etapa intermedia. Tinción Giemsa. Vista a 100 X. A.- Eosinófilo.- Son células con granulaciones más gruesas que son excéntricas. B.- Monocitos de diferentes edades: Son células más grandes, núcleo es excéntrico y el citoplasma es más amplio. C.- Linfocitos de diferentes edades.- La célula va a tener un citoplasma más tenue, el núcleo es compacto con granulaciones, y el citoplasma es grande.



**Figura 3.-** Células sanguíneas de la etapa de engorde final Tinción Giemsa .Vista a 100x.

A. Neutrófilo.- son células con granulaciones finas. B.- Linfocitos: Las células tienen núcleos picnóticos y son excéntricos, no se observaron granulaciones. C.- Abastonado.- Son células más jóvenes, con núcleo excéntrico y con vacuolas.

Se observó presencia de escasos trombocitos en la etapa de engorde final, a manera de células alargadas con cromatina densa, núcleo ovalado grande con presencia de gránulos en su interior, el citoplasma era escaso. Por la poca presencia de estas células no se lograron contabilizar.

## V. DISCUSION

El presente trabajo evaluó los parámetros hematológicos del lenguado peruano (*Paralichthys adspersus*), especie de cultivo reciente en nuestro país, la cual se ha logrado reproducir en cautiverio y producir para comercialización y consumo humano. Los resultados obtenidos conforman una base inicial de datos acerca de lo que ocurre bajo las condiciones antes mencionadas en animales que se observaron aparentemente sanos y con parámetros productivos adecuados en términos de rentabilidad para el centro de cultivo de procedencia. Tomando en cuenta que en los peces la capacidad del transporte de oxígeno, el contenido del hierro y el número de eritrocitos se relacionan entre si y que además varían según la etapa de desarrollo, hábitos y las condiciones ambientales (Boyaca y Azula, 2008) los resultados obtenidos en el presente trabajo demuestran que la especie objeto de estudio responde a un comportamiento similar a la de otros peces producidos en centros de cultivo.

### **HEMATOCRITO, HEMOGLOBINA E ÍNDICES HEMATIMÉTRICOS**

En términos generales los valores hematológicos obtenidos en el presente estudio, evidencian lo mencionado por estudios similares (Navarrete, 2017; Atencio *et al*, 2007; Bridges *et al*, 2011; Rahy y Palacios, 2013; Aquino, 2019), las diferentes especies de peces presentan variaciones y estas se relacionan a las condiciones donde habitan, como la calidad de agua y tipo de medio acuático (marinos y dulces), tamaño y etapa del animal, tipo de alimentación, densidades e incluso

medio natural y medio de cultivo, en este sentido no podemos afirmar que los valores encontrados sean normales para la especie, pero sí que responden a estados de no presencia de enfermedad en los animales del centro de cultivo. Sin embargo al considerar diversos estudios en el *Paralichthys adspersus* se encuentran valores y rangos similares a los encontrados en este estudio, incluso en aquellos donde se someten los peces a diferentes tipos de alimentación y de estrés (Park *et al*,2012). En nuestro estudio los valores de hematocrito fueron menores en la etapa de pre engorde y aunque la densidad era favorable para el pez, en esta etapa el tipo de alimento era distinto al de las dos etapas posteriores.

Al observar los resultados del porcentaje del hematocrito se encontró un menor valor para el grupo de la etapa de pre engorde en relación a las etapas posteriores, Filho *et al* en 1992 identificaron una situación similar en especies marinas de etapa adulta, relacionando este hallazgo con la capacidad de movimiento de los peces, donde aquellos que tienen menor actividad motora presentan menor hematocrito. El lenguado es una especie que suele permanecer mucho tiempo en posición de descanso tanto en el medio natural cómo en los tanques de cultivo, en nuestro estudio los ejemplares de pre engorde presentaron menor porcentaje de hematocrito que los del engorde intermedio y engorde final, si consideramos los parámetros de densidad, esta fue menor en la etapa del pre engorde lo cual favorece que el pez tenga mayor espacio para el descanso, situación diferente a los de la etapa de engorde intermedio y engorde final cuyas densidades eran mayores y había competencia por el espacio reflejándose en mayor movimiento en los peces..

Por otro lado, el valor promedio del hematocrito en la etapa de pre- engorde fue de 18.58%, luego en la etapa de engorde intermedio fue de 33,23% y finalmente en la etapa de engorde final fue de 31,26%, esta podría compararse con situaciones similares en el paiche reportadas por Delgado *et al.* en el 2013, quienes relacionaron el aumento de estos valores con la presencia de mayor número de glóbulos rojos requeridos por la especie para lograr adaptarse a un nuevo medio, para el caso del lenguado los procesos de adaptación son aún recientes por lo que este comportamiento podría ser similar.

Garay (2010) realizó una investigación con tres etapas de paco encontrando que a medida que el pez aumentaba de tamaño los valores de hematocrito y hemoglobina también lo hacían, explicando este hecho a que las demandas de oxígeno aumentan en medida a que aumenta el tamaño del pez, por lo que el número de glóbulos rojos se hace mayor, en nuestro estudio este comportamiento se mantiene entre las etapas del pre engorde al engorde intermedio, sin embargo existe una ligera disminución hacia el engorde final, si consideramos el valor de la densidad bajo la cual los animales fueron mantenidos en el engorde final podríamos relacionar este hecho a condiciones de competencia por el alimento y estrés sin que ello implique necesariamente presencia de enfermedad.

Sáez *et al.*, (2018) evaluó un estudio sobre valores medios de hematocrito en diez teleósteos marinos colectados por pesquería artesanal en la bahía del callao , encontrándose en la especie *Stromateus stellatus* un hematocrito de 20,9% similar al resultado de pre-engorde que fue de 18,58% ,mientras que otro ejemplar como *Isacia conceptionis* presenta un hematocrito de 56,3% , esto se debería a que posee una mayor demanda en su metabolismo.

En la etapa de pre engorde la hemoglobina se encontró en un valor promedio de 5,96 g/dl, luego en la etapa de engorde intermedio se incrementó a 7,37 g/dl y disminuye a 6,89 g/dl en la etapa del engorde final, es similar a lo reportado por Serrano *et al.*( 2013) explicándose esto con el aumento del tejido hematopoyético en peces jóvenes (Dye *et al.*, 2001)

## **CELULAS SANGUÍNEAS**

En el presente estudio el recuento leucocitario incluyó a células abastionadas, segmentadas, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos, las cuales se observaron en todas las muestras de las tres etapas, sin embargo solo se encontraron trombocitos en número escaso en la etapa del engorde final (menos al 1%) por lo que no se les ha considerado dentro del recuento total, no siempre los conteos incluyen estas células dentro del recuento diferencial de leucocitos, sin embargo su evaluación debería hacerse en estudios hematológicos de individuos sospechosos de enfermedad tratándose de células que además de participar en los mecanismos de la coagulación lo hacen en mecanismos de defensa para el animal.

Valenzuela y colaboradores en el 2003 encontraron en su estudio aspectos morfológicos de los leucocitos de la pintarroja, encontrando seis tipos celulares entre ellas los trombocitos que se visualizan como células alargadas, con poco citoplasma, sin gránulos y con un núcleo ovalado, mientras que en nuestro estudio se encontraron trombocitos en dos ejemplares de la etapa final con una morfología distinta: apariencia alargada, cromatina densa, núcleo que ocupa todo el citoplasma y gránulos.

Salgado (2017), menciona que las variación intraespecífica de los leucocitos van a ser influenciadas por características propias de cada individuo relacionado con el carácter migratorio de los leucocitos entre la circulación y los órganos hematopoyéticos en respuesta los estímulos ambientales en los que cada individuo está expuesto, de ser así es así esto explicaría la variación del porcentaje de linfocitos en cada etapa de engorde de nuestro estudio.

Las observaciones hechas en nuestro estudio en relación a los neutrófilos y linfocitos, que muestran a estos últimos de forma redonda y el citoplasma escaso, así también los neutrófilos con núcleo excéntrico y con granulaciones muy finas muestran resultados similares a los de otras especies, como los realizados por Galeano *et al.* (2010), en el *P. Porissisimus*, encontrando seis tipos morfológicos de células como linfocitos que presentaban forma redondeada, citoplasma escaso y basófilo y el núcleo redondeado y reniforme, así también los neutrófilos como células redondeadas de citoplasma basófilo y con núcleo excéntrico.

Según los resultados, la etapa de pre-engorde presenta una leucocitosis así como una gran elevación de segmentados ,ya que los valores casi duplican a aquellos de la etapa de engorde intermedio y engorde final, podría deberse a algún proceso subclínico que no evidencia afección aparente en lo individuos y que además no afectan los parámetros de producción como ganancia de peso y conversión alimenticia, este comportamiento sucedería también en el engorde final que presenta una linfocitosis . Así mismo, se encontró , en la etapa de pre-engorde un valor medio de 2,92% de eosinofilos y 0,17% de basófilos debido a que son células que en individuos sanos están en bajas cantidades (Rozas y Walker, 2015). Además se encontró una media de 29% de linfocitos que es un valor que está

dentro del rango normal según lo reportado por Péres y colaboradores en el 2014, donde el valor mínimo es de 27% hasta 63,5%, así también se encontró un valor medio mayor de monocitos en la etapa de engorde intermedio comparado con las dos etapas, pero que se encuentra dentro del rango según el estudio presentado por Péres y colaboradores en el 2014, donde el valor mínimo es 0,55% hasta 8%.

La presencia de células inmaduras como las abastionadas en las etapas de engorde intermedio va a ser mayor con 1,62% que con las demás etapas de pre-engorde con 0,64% y engorde final con 1%, esto se podría explicar como una respuesta fisiológica para aumentar el número de células en la circulación en caso los peces estén expuestos a periodos cortos de anoxia por errores en el manejo rutinario en el cultivo y que no va a afectar sus parámetros hematológicos ni tampoco va a hacer que afecte su desempeño productivo en el centro de cultivo ( Rahy y Palacios, 2013).

En los resultados del frotis sanguíneo se encontró que había presencia de linfocitos con diferentes grados de maduración, lo cual según Ranzani Paiva (1995) es un hallazgo común en la sangre periférica. En la etapa de pre-engorde también se hallaron células inmaduras, que según Tavares (2009), en cantidad baja no se relacionan con cambios patológicos.

Burrows *et al.* (2001) identificaron la morfología de la población de leucocitos de la especie *Psetta Maxima*, mencionando que los linfocitos tienen un núcleo grande de redondo a ovalado, con un citoplasma agranular con cromatina densa, los monocitos tienen un citoplasma basófilo relativamente abundante con vacuolas,

estas dos últimas células van a ser similares a las células sanguíneas que encontramos en el *Paralichthys adspersus*.

En nuestro estudio se ha observado la presencia de células granulocíticas que según Clauss *et al.* (2008), son comunes en los elasmobranquios, siendo células con un citoplasma incoloro y el núcleo lobulado a redondo, mientras que los gránulos de los eosinófilos son más grandes y los gránulos de los basófilos van a teñir de manera más oscura el núcleo.

En relación a la presencia de células inmaduras en este estudio, estas no necesariamente se podrían relacionar con presencia de enfermedad en los animales, si bien Smith (2000), menciona que los cambios morfológicos en los leucocitos ayudan a determinar la patogénesis de enfermedades y sirven para interpretar los leucogramas, los neutrófilos inmaduros no van a tener un valor pronostico en los peces, además la aparición de cambios tóxicos en los neutrófilos estan relacionadas con la liberación de neutrófilos inmaduros en la circulación (Paiva ,2004).

De manera general los resultados de este estudio identifican cambios en la dinámica hematológica de los peces en el estudio, los cuales en la mayoría de los casos guardan relación con el sistema de cultivo, estos hallazgos evidencian un proceso de adaptación de la especie la cual es de cultivo reciente y que servirán de herramienta para realizar los ajustes necesarios en el sistema de cultivo a futuro.

## VI. CONCLUSIONES

- Los valores de hematocrito y hemoglobina en la etapa de pre engorde fueron de 18,58% y 5,96 g/dl respectivamente, en la etapa de engorde intermedio fueron de 33,23% y 7,37 g/dl y en la etapa de engorde final fue de 31,26% y 6,86 g/dl, estos resultados evidencian que cada etapa va a tener su fórmula alimenticia, así como sus propias condiciones de crianza lo que hace que manifiesten valores de hematocrito y hemoglobina distintos.
- Los valores del volumen corpuscular medio fue mayor en la etapa de engorde intermedio con 110,24 fl mientras que la etapa de pre engorde fue de 68,13 fl y para engorde final fue de 101,59 fl.
- Los valores de leucocitos fueron mayor en la etapa de pre engorde  $27,26 \times 10^3/\text{ul}$  así como el porcentaje de segmentados que fue 67,21% debido a que pueden haber presencia de una enfermedad subclínica que no presenta afecciones aparentes ya que no afecta los parámetros de producción de los ejemplares.
- El recuento total de eritrocitos fue mayor en la etapa del engorde final ( $3,18 \times 10^6/\text{ul}$ ).
- Se encontró un mayor porcentaje de linfocitos en la etapa de engorde final con 62,3 %.

## **VII. RECOMENDACIONES**

- Se recomienda llevar a cabo el trabajo de investigación con un tamaño de muestra más alto para poder discutir los resultados de manera más amplia y confiable y con condiciones experimentales
- Se recomendaría realizar un diseño experimental en condiciones controladas para así descartar enfermedad y establecer parámetros normales.

## VIII.- REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Aquino R. (2019). Influencia de la densidad de cultivo sobre el estrés en juveniles de *Oeochromis niloticus* cultivados en sistemas con tecnología biofloc. (tesis de posgrado). Universidad Nacional Agraria la Molina. Lima.
2. Álvarez D. 2014. Suplementación de diferentes niveles de prebiótico (*Lactobacillus sp.*) en la ración, sobre los parámetros hematológicos bioquímicos sanguíneos y zootécnicos de alevinos de paiche (*Arapaima gigas*, Cuvier), en Pucallpa (tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria de la Selva. Tingo María.
3. Atencio García V; Genes F, Madariaga D; Pardo S. 2007. Hematología y química sanguínea de juveniles de Rubio (*Salminus affinis* Pisces: *Characidae*) del Rio Sinú .Universidad de Córdoba. Act biol.Colom. Vol 12, 27-40 .
4. Ayala N. 2014.Estudio comparativo de los efectos de los anestésicos metanosulfonato de tricaina (MS-222) y eugenol, para su uso en el Pez cebrá *Danio rerio* como modelo experimental. Tesis Doctoral. Córdoba : Universidad de Córdoba.243p.
5. Blaxhall, PC, y Daisley, KW 1973. Métodos hematológicos de rutina para uso con sangre de peces. Journal of Fish Biology, 5 , 771-781.
6. Barojas S. 2005. Fórmulas para el cálculo de la muestra en salud. Secretaria de Salud del Estado de Tabasco.11(1-2), 333-338.

7. Boyaca M, Azula G. 2008. Estandarización de valores hematológicos de la trucha arcoíris ( *Oncorhynchus mykiss*) en condiciones de altitud. *Cultura Científica*. (6) 25- 29.
8. Burgos M.2011. Estudios hormonales, bioquímicos y hemáticos durante la maduración gonádica en la cabrilla sardinera *Mycteroperca rosácea* (Streets, 1877)( tesis de postgrado). Centro de Investigaciones Biologicas de Noroeste. La Paz.
9. Burrows By A, Fletcher T.C, Manning M.G. 2001. Haematology of the turbot, *Psetta Maxima* (L.): ultrastructural, cytochemical and morphological properties of pheripheral blood leucocytes.
10. Campbell T, Ellis C.2007. Hematology of Fish. Avian and Exotic animal Hematology and Cytology. Primera Edicion. Colorado.: Editorial Blackwell. .93- 111p.
11. Clauss T, Alistair D.M, Jill A. 2008. Hematologic disorders of fish. *Rev. Vet Clinic Exot Anim* 11 445 -462.
12. Castañeda J; Samamé M. 1999. Biología y Pesquería del Lenguado *Paralichthys Adspersus*, con especial referencia al área Norte del Litoral Peruano, Departamento de Lambayeque. *Bol.Inst. Mar Perú* 18(1-2): 15-48 .
13. Castellanos A, Bustos B, Hernández A, Mocha E, 2003. Valoración hematológica y química sanguínea del *Yamu Brycon Siebenthalae*, en tres etapas de cultivo. Instituto de Acuicultura de la Universidad de Llanos. *Rev. Orinoquia* Vol 7: 34-41.
14. Carrera, L; Santos, C.2007. Informe Técnico Anual 2007, Unidad de Investigaciones en Acuicultura, Dirección General de Investigaciones en

- Acuicultura, Gestión Costera y Aguas Continentales. Inst. Mar Perú, Callao-Perú.
15. Centeno L, Silva – Acuña R, Barrios R, Salazar R, Matute C, Perez J. 2007. Características hematológicas de la cachama (*Colossoma macropomum*) en tres etapas de crecimiento cultivadas en el estado Delta Amacuro, Venezuela. *Rev. Zootecnia Trop* 25(4):237-243.
  16. Chirichigno, N.Y.M. Cornejo. 2001. Catalogo comentado de los peces marinos del Perú. Instituto del Mar del Perú. Callao. Perú. 314.
  17. Close B, Banister K, Baumans V, Bernoth E.M, Bromage N, Bunyan J, Erhardt W, Flecknell P, Gregory N, Hackbarth H, Morton D, Warwick C. 1995. Recomendaciones para la Eutanasia de los Animales de Experimentación: Parte 2. Informe de la Unión Europea. Vol 30: 293- 316.
  18. Contreras Z. 2016. Evaluación del efecto de la densidad de carga ( $\text{kg/m}^2$ ) en la tasa de crecimiento en el cultivo de juveniles de lenguado (*Paralichthys adspersus*) en el centro de Acuicultura de Morro Sama de Fondepes( tesis de pregrado). Universidad Nacional de Jorge Basadre Grohmann. Tacna.114.
  19. Cota, N. (2012). “Escala de Madurez Gonadal del Lenguado *Paralichthys adspersus* (Steindachner, 1867)( tesis de pregrado). Universidad Nacional Mayor de San Marcos.Perú.
  20. Costas B, P,C,N. Rego, I, Simoes, J, F,Marques, M, Castro – Cunha, A, Afonso.2012. Cellular and humoral immune responses of *Senegaleses sole*, *Solea Senegalensis* (Kaup), following challenge with two *Photobacterium damsela* subsp.piscicida strains from different geographical origins. *Journal of Fish Diseases*. Vol. 36.543-553.

21. Delgado J.2013. Efecto de tres densidades de crianza en condiciones de laboratorio de alevinos de paiche (*Arapaima gigas*) sobre los parámetros biométricos, hematológicos y bioquímicos sanguíneos (tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria de la Selva. Tingo Maria.
22. De Pedro N, Guijarro A, Patiño M. A., Álvarez R, Bedate A, Delgado M.J. 2004. Parametros hematológicos y bioquímicos en la Tenca ( Tinca tinca): Ritmos diarios y estacionales.Rev. Comunicación científica .173-190.
23. Dye V.A, Hrubec T.C,Dunn J.L.,Smith S.A.2001. Hematology and Serum Chemistry Values for Winter Flounder (*Pleuronectes Americanus*). International Journal of Recirculating Aquaculture. 2. 37-49.
24. Ellis A. 1977. The leukocytes of fish: A review. J Fish Biol. 11,453-491.
25. Filho D, Erle G, Kassner G, Caprario F, Dafre A, Ohira M. 1992. Comparative Ahematology in marine fish. Rev. Comp. Biochem. Physiol. Vol.102 (2). 311-321.
26. Galeano NA, Prat M, Guagliardo S.E, Schwerdt C.B, Tanzola R.D.2010. Características hematológicas de *Porichthys porisissimus* (Pisces: Batrachoidiformes) en el Estuario de la Bahía Blanca Argentina. Analecta Vet. 30(1): 5-11.
27. Garay L.2010. Constantes hematológicas del Paco (*Piaractus brachypomus Characidae*) en tres etapas de crecimiento (alevinos, juveniles y adultos) bajo condiciones de cultivo en el distrito de Jose Crespo y Castillo( tesis de pregrado).Universidad Nacional Agraria de la Selva. Tingo Maria.
28. Grant, K. R. 2015. Fish hematology and associated disorders. Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice. 18(1), 83-103.

29. Guevara N, Torres G. 2018. Influencia de dos niveles proteicos en los parámetros hematológicos y bioquímicos en juveniles de *Myleus schomburgkii* (Jardine, 1841) Palometa banda negra cultivados en peceras (tesis de pregrado). Universidad Nacional de la Amazonia Peruana. Facultad de Ciencias Biológicas. Iquitos.
30. Gonzales A, Curto G, Fernandez Mendez C. 2016. Parámetros hematológicos de reproductores de *Brycon amazonicus* (Bryconidae) en cultivo. Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana. Rev Inv. Peru Vol. 30 (1), 133-144 .
31. Hoon Jee H, Seong G, Kang Chan J. 2004. Effects of phenanthrene on growth and basic physiological functions of the olive flounder, *Paralichthys olivaceus* . Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. Vol.304. 123-136.
32. Houston, A, H. 1990. Blood and circulation. In Methods in Fish Biology. Edited by C. Shreck and P. Moyle . American Fisheries Society.
33. Falcon W, Iannacone J, Vargas R. 2006. Parámetros hematológicos del Acarahuazú *Astronotus ocellatus* (Agassiz, 1831) (Cichlidae Perciformes). Biologist. 4(2):16-18.
34. Kim H.J., Kim Y.J., Lim J.L., Kim K.S., Choi S.H., Hur B.Y. 2018. Effects of waterborne nitrite on hematological parameters and stress indicators in olive flounders, *Paralichthys olivaceus*, raised and bio-floc and seawater. Journal Chemosphere 209.28-34.
35. Kubitz F. 2009. Manejo en la Producción de Peces: Buenas Prácticas en el Transporte de Peces Vivos. Panorama de Acuicultura. 10.
36. Navarrete L. 2017. Determinación de los valores hematológicos de paiches juveniles *Arapaima gigas* mantenidos en condiciones de cautiverio en la

- Amazonia Ecuatoriana( tesis de pregrado). Universidad Central de Ecuador.  
Quito.
37. Noga, E. 2000. Fish Disease, diagnosis and treatment. Iowa state university  
press. Iowa, Estados Unidos. 367.
- 38.- Park I, S, Hur, J, W, Choi , J,W.2012. Hematological Responses,  
Survival,and Respiratory Exchange in the Olive Flounder, *Paralichthys olivaceus*,  
during Starvation. Rev. Asian- Aust. J. Anim. Sci. 25(9), 1276- 1284 .
39. Pereyra P. 2017. Caracterización de los parámetros hematológicos de arahuana  
(*Osteoglossum bicirrhosum*. Cuvier, 1829) en dos etapas de crecimiento  
(Juveniles y Adultos) criados en estanques, Iquitos- Perú (tesis de pregrado).  
Universidad Nacional de la Amazonia Peruana. Iquitos.
40. Péres H, Pérez A, Costas B, Guerreiro I, Oliva T. 2014. Reference values for  
selected hematological and serum biochemical parameters of *Senegalese sole*  
(*Solea senegalensis* Kaup, 1858) juveniles under intensive aquaculture conditions.  
Journal of Applied Ichthyology. 1-7.
41. Rahy N, Palacios J. 2013. Parámetros hematológicos y células sanguíneas de  
organismos juveniles del pescado blanco (*Chirostoma estor estor*) cultivados en  
Patzcuaro, Michoacán, México. Hidrobiológica 23(3): 340-347.
42. Ranzani Paiva, M. J. T. 1995. Células do sangue periférico e contagem  
diferencial de leucócitos de tainha *Mugil platanus* Gunther, 1880 (Osteichthyes,  
Mugilidae) da região estuarino-lagunar de Cananéia. Int. Pesca..22,23-40.

43. Paiva. 2004. Effects of an experimental challenge with *Mycobacterium marinum* on the blood parameters of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1757). *Braz. Arch. Biol. Tech.*, 47:945-953.
44. Roberts, R. J, Ellis A. 2001. The anatomy and physiology of teleosts. In *fish Pathology*, edited by Roberts. Philadelphia: WB. Saunders.
45. Rozas M, Walker R. 2015. *Manual de Patología Clínica de Peces Salmónidos*. Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura. Universidad Austral de Chile. 45p.
46. Saéz G, Chero J, Cruces C, Minaya D, Rodríguez C, Sujo B, Romero S, Guabloche A, Tuesta E, Alvaríño L, Iannacone J. 2018. Parámetros hematológicos y de bioquímica sanguínea en diez especies marinas capturados por pesquería artesanal en la Bahía del Callao, Perú. *Rev Inv Vet Perú*. 29(4).1161-1177.
47. Saunders, D.C. 1966. Differential blood cell counts of 121 species of marine fishes of Puerto Rico. *Trans Am Microsc Soc* 85: 427- 499.
48. Salgado P. 2017. Cuenta de leucocitos en frotis sanguíneo como alternativa de campo al método de hemocitometro en especímenes de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) clínicamente sanos. Tesis para optar el Título Profesional de Médico Veterinario. Santiago: Universidad de Chile. 58.
49. Serrano E., Leguía G, Quispe M, Casas G. 2013. Valores hematológicos del paiche *Arapaima gigas* de la Amazonia Peruana. *Rev. Inv Ve Peru*. Vol 24(2) .248-251.
50. Silveira . 2005. Índices hematológicos y celulares como bioindicadores de estrés en *Oerochromis aureus Steindachner* (tilapia) de cultivo. Tesis para

obtener el grado de Doctor en Ciencias. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. 132p.

51. Smith, G. S. 2000. Neutrophils. Rev. Schalm's veterinary hematology. 5. 281-296.
52. Solano L. 2009. Biología y cultivo del lenguado común, *Paralichthys adspersus* (Steindachner, 1867). Tesis para optar el título profesional de Ingeniero Pesquero Acuicultor. Lima: Universidad Nacional Federico Villareal. 95.
53. Soldatov, A. A. 2005. Peculiarities of organization and functioning of the fish red blood system. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. 41(3), 272-281.
54. Tavares M. 2004. Manejo e sanidade de peixes em cultivo. Embrapa Amapá: Editorial Macapaá. 625.
55. Valenzuela, A., Silva, V., & Oyarzún, C. 1999. Caracterización cualitativa y cuantitativa de células sanguíneas de robalo *Eleginops maclovinus* (Valenciennes, 1830) (Pisces, Eleginopsidae) en la desembocadura del río Biobío. *Rev Biol Mar Oceanogr*, 34(2), 261-267.
56. Valenzuela A, Oyarzún C, Silva V. 2003. Células sanguíneas de *Schroederichthys Chilensis* (Guichenot 1848) (Elasmobranchii, Scyliorhinidae): La serie blanca. *Gayana* 67(1), 130-136.
57. Valenzuela, A. E., Silva, V. M., & Klempau, A. E. 2007. Some changes in the haematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to three artificial photoperiod regimes. *Fish physiology and biochemistry*, 33(1), 35-48.

58. Walsh y Luer.2004. Elasmobranch Hematology: Identification of cell Types and Practical Applications.Smith M, Warmolts D, Thoney D, Hueter R. The elasmobranch Husbandry Manual: Captive careof sharks , rays and their relatives. Columbus. Ohio.307-323 .
59. Weber, R. A. 2009. Efecto del estrés y de la anestesia sobre indicadores primarios y secundarios de estrés y sobre los neurotransmisores monoaminérgicos cerebrales en el lenguado *Solea senegalensis* KAUP, 1858. Univ Santiago de Compostela.
60. Zinkl, J.G.W.T.Cox, and C.S.Kono. 1991. Morphology and cytochemistry in leucocytes and trombocytes of six species of fish. Comp Haemat Inter. 1,187-195.

## IX ANEXOS

### Anexo 1.- Centro de cultivo de Huarney

