

## Caracterización hematológica de *Astronotus ocellatus* (Cichliformes: Cichlidae): especie de importancia económica en la Amazonía peruana

Hematological characterization of *Astronotus ocellatus* (Cichliformes: Cichlidae): species of economic importance in the Peruvian Amazonia

Anai Gonzales Flores<sup>1,4</sup>, Katty Huanuiri<sup>2</sup>, Jorge Vasquez<sup>2</sup>, Franco Guerra<sup>3</sup>, Christian Fernández-Méndez<sup>2</sup>

### RESUMEN

El estudio tuvo como objetivo caracterizar los parámetros hematológicos de *Astronotus ocellatus* y determinar posibles correlaciones entre variables. Se colectaron muestras de sangre de 15 especímenes (peso:  $109.43 \pm 22.9$  g; longitud total:  $15.43 \pm 1.28$  cm), mantenidos en tanques de concreto. Los peces recibieron una alimentación con dieta comercial extruida, que contenía 42% de proteína bruta. La extracción de sangre se realizó mediante punción de la vena caudal usando jeringas con EDTA (10%). Los valores obtenidos de la serie eritrocítica fueron: hematocrito  $24.5 \pm 1.2\%$ , hemoglobina  $8.8 \pm 2.4$  g/dl, eritrocitos totales  $1.10 \pm 0.10 \times 10^6/\mu\text{l}$ , VCM  $222.1 \pm 41.0$  fl, y CHCM  $36.7 \pm 10.4$  g/dl. En la serie leucocítica se identificaron: leucocitos totales  $7.3 \pm 2.6 \times 10^3/\mu\text{l}$ , linfocitos  $67.3 \pm 7.6\%$ , monocitos  $4.13 \pm 1.4\%$ , eosinófilos  $27.5 \pm 8.9\%$  y neutrófilos  $1.08 \pm 1.3\%$ . Para bioquímica sérica fueron: proteína total  $3.44 \pm 1.1$  g/dl, glucosa  $64.39 \pm 28.8$  mg/dl y colesterol  $253.4 \pm 91.2$  mg/dl. Se registró correlación positiva entre hemoglobina-CHCM y correlación negativa entre peso y longitud con número de eritrocitos totales. La mayoría de los valores encontrados están dentro del rango reportado para esta especie.

**Palabras clave:** acarahuazú, correlación, hematología

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical (PPGBIO), Universidade Federal do Amapá (UNIFAP), Macapá, AP, Brasil

<sup>2</sup> Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana-IIAP, Programa para el Uso y Conservación del Agua y sus Recursos-AQUAREC, Iquitos, Perú

<sup>3</sup> Centro de Investigación y Promoción Popular (CENDIPP), Iquitos, Perú

<sup>4</sup> E-mail: anaigonzalesf@gmail.com

Recibido: 3 de mayo de 2019

Aceptado para publicación: 26 de marzo de 2020

Publicado: 22 de junio de 2020

## ABSTRACT

The aim of this study was to characterize the hematological parameters of *Astronotus ocellatus* and to determine possible correlations between variables. Blood samples were collected from 15 specimens (weight:  $109.43 \pm 22.9$  g, total length:  $15.43 \pm 1.28$  cm), kept in concrete tanks and fed with a commercial diet extruded at 42% crude protein. Blood samples were collected by puncture of the caudal vein using syringes with EDTA (10%). The erythrocytic values were: haematocrit  $24.5 \pm 1.2\%$ , haemoglobin  $8.8 \pm 2.4$  g/dl; erythrocytes  $1.10 \pm 0.10 \times 10^6/\mu\text{l}$ , MCV  $222.1 \pm 41.0$  fl, MCHC  $36.7 \pm 10.4$  g/dl. Leukocyte parameters were total leukocytes  $7.3 \pm 2.6 \times 10^3/\mu\text{l}$ , lymphocytes  $67.3 \pm 7.6\%$ , monocytes  $4.13 \pm 1.4\%$ , eosinophils  $27.5 \pm 8.9\%$ , neutrophils  $1.08 \pm 1.3\%$ . In serum biochemistry: total protein  $3.44 \pm 1.1$  g/dl, glucose  $64.39 \pm 28.8$  mg/dl, cholesterol  $253.4 \pm 91.2$  mg/dl. Positive correlation was observed between haemoglobin and MCHC. Also, negative correlation between bodyweight and body length with the number of erythrocytes. The values found are within the range reported for this fish species.

**Key words:** acarahuazu, correlation, hematology

## INTRODUCCIÓN

*Astronotus ocellatus* Agassiz, 1831, es un pez de la familia Cichlidae que se distribuye ampliamente en varias regiones de la Amazonía (Kullander, 2003; Santos *et al.*, 2006; Pouilly *et al.*, 2010; García-Ayala *et al.*, 2017). En el medio natural habita en aguas lénticas, poco profundas, con bajos niveles de oxígeno (Echevarria y Machado-Allison, 2005; Sloman *et al.*, 2006). Es de régimen alimenticio omnívoro con tendencia a carnívoro (Tello-Martin *et al.*, 1992). En la Amazonía peruana es conocido como óscar o acarahuazú y es una especie de alto valor comercial, debido a que es usado como pez ornamental, así como para consumo local (García *et al.*, 2009). A partir de 2015 se ha observado incrementos en el desembarque pesquero de esta especie de hasta más de 200 TM por año acumulado (García-Dávila *et al.*, 2018).

Los peces para venta como ornamental son usualmente mantenidos por largos periodos en centros de acopio, en condiciones no siempre adecuadas, las cuales pueden alterar la homeostasis del pez hasta comprometer

la salud y ser causante de mortalidad. Por lo tanto, la acuariofilia como la piscicultura tienen necesidad de información con respecto a los cambios fisiológicos de estas especies, con el propósito de mantener la salud de los animales en cautiverio (Tavares-Dias y Moraes, 2003).

En este sentido, los análisis hematológicos son una herramienta eficaz y, en algunos casos de uso rutinario, para determinar el estado de salud de los peces (Hesser, 1960; Tavares-Dias y Moraes, 2004; Ranzani-Paiva *et al.*, 2013), frente a diversos factores que pueden estar ocasionando las malas prácticas de crianza (Ranzani-Paiva y Godinho, 1988). Por otro lado, factores endógenos como peso, longitud, edad, sexo, genética, etc., pueden afectar el cuadro hemático (Ranzani-Paiva y Godinho, 1988).

Algunos parámetros hematológicos de *A. ocellatus* mantenidos en acuario ya han sido evaluados (Iannacone *et al.*, 2006). Así mismo, otros estudios evaluaron el efecto de la inclusión de probióticos en la alimentación y condiciones de hipoxia sobre los parámetros hematológicos en esta especie (Firouzbakhsh

*et al.*, 2011; Baptista *et al.*, 2016). Sin embargo, aún no existe información con respecto a los parámetros sanguíneos en *A. ocellatus* y su relación con parámetros endógenos. Por lo tanto, este estudio tuvo como objetivo caracterizar los valores de parámetros eritrocitarios, leucocitarios y bioquímicos en *A. ocellatus* en cautiverio y determinar la existencia de posibles correlaciones entre estas variables.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Condiciones de Cultivo

Quince especímenes de *A. ocellatus* ( $109.4 \pm 22.9$  g y  $15.43 \pm 1.28$  cm) se mantuvieron en tanques de concreto a densidad de 1 pez/60 L, en las instalaciones del Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana IIAP (Loreto, Perú). Los peces fueron alimentados con una dieta comercial extruida Aquatech® Naltech, Lima (Composición proximal: 42% proteína, 10% lípidos, 12% cenizas; 1.5% calcio; 1% fósforo) de 4 mm, con frecuencia de dos veces al día.

Se analizaron parámetros de agua con mediciones diarias de temperatura ( $26.16 \pm 0.36$  °C), oxígeno disuelto ( $6.31 \pm 0.71$  mg/l), pH ( $6.47 \pm 0.25$ ) y conductividad ( $0.42 \pm 0.15$  µS/cm) con un multiparámetro portátil (Hach, HQ40D). El amonio ( $0.70 \pm 0.21$  mg/l), amoníaco ( $0.66 \pm 0.2$  mg/l) y los nitritos ( $0.2 \pm 0.1$  mg/l) se evaluaron una vez por semana mediante un fotómetro colorimétrico (Hanna Instruments, HI 83203).

### Colecta y Análisis de Sangre

Se extrajo sangre de los peces mediante punción de la vena caudal utilizando jeringas desechables de 1 ml con aguja (0.5 x 16 mm) conteniendo EDTA (10%). Una parte de sangre fue transferida a tubos de 1 ml y conservada a 4 °C. Para la determinación de eritrocitos y leucocitos se usó la solución Natt-Herrick (Natt y Herrick, 1952) en la

cámara de Neubauer. La hemoglobina se determinó por el método de la cianometahemoglobina (Laboratorios Diagtest®) a 540 nm, y el hematocrito por el método del microhe-matocrito (Goldenfarb *et al.*, 1971). La determinación de los índices hematimétricos: volumen corpuscular medio (VCM) y concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) se realizó según el método de Wintrobe (1934). Para el recuento diferencial de leucocitos se confeccionaron extensiones sanguíneas teñidas con reactivo Rosenfeld modificado (Tavares-Dias y Moraes, 2003) por un periodo de 10 minutos y la identificación de las células se realizó siguiendo el criterio de Tavares-Dias y Moraes (2004).

La segunda porción de la muestra de sangre fue transferida a tubos de 0.5 ml para ser centrifugados a 75 g por cinco minutos para obtención de plasma. Se determinaron parámetros bioquímicos como proteína, glucosa y colesterol. La concentración de proteínas totales se determinó por el método colorimétrico de Biuret a 540 nm, glucosa por el método fotométrico enzimático GOP-PAP y el colesterol por el método enzimático fotométrico CHOD-PAP a 500 nm, utilizando kits de los Laboratorios DiaSys®. Las lecturas fueron realizadas en un espectrofotómetro UV visible (Thermo Scientific, Genesys 6, USA).

### Análisis de Datos

Se determinó el promedio, la desviación estándar y los valores mínimo y máximo. Para determinar la correlación entre las variables se usó el coeficiente de Pearson (r) con el software estadístico Sigma Plot 11.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores hematológicos de *A. ocellatus* se muestran en el Cuadro 1. Resultados de hematocrito, hemoglobina, eritrocitos y CHCM son similares a los re-

Cuadro 1. Valores de la serie eritrocítica y bioquímica de *Astronotus ocellatus* cultivado en la Amazonía peruana

Parámetros	Promedio $\pm$ DE	Mínimo – Máximo
Peso (g)	109.43 $\pm$ 22.9	80.1 – 145.52
Longitud (cm)	15.43 $\pm$ 1.28	7.0 – 20.5
Hematocrito (%)	24.47 $\pm$ 1.2	18.8 – 29.1
Hemoglobina (g/dl)	8.83 $\pm$ 2.4	6.4 – 14.4
Eritrocitos ( $10^6/\mu\text{l}$ )	1.10 $\pm$ 0.10	1.00 – 1.30
VCM (fl)	222.12 $\pm$ 41.0	150.8 – 278.7
CHCM (g/dl)	36.7 $\pm$ 10.4	23.1 – 57.9
Proteína (g/dl)	3.44 $\pm$ 1.1	1.84 – 5.0
Glucosa (mg/dl)	64.39 $\pm$ 28.8	11.2 – 106.6
Colesterol (mg/dl)	253.4 $\pm$ 91.2	78.0 – 397.0

VCM = volumen corpuscular medio, CHCM = concentración de hemoglobina corpuscular media, DE: desviación estándar

portados por otros estudios con este mismo pez. Sin embargo, al comparar con ejemplares de *A. ocellatus* de menor porte se observaron valores más elevados (Cuadro 2). Este mismo comportamiento fue registrado en *Salmo trutta* para los valores de hematocrito (Navarro *et al.*, 1991) y en *Micropterus salmonoides* con CHCM (Clark *et al.*, 1979), lo que demostraría que existe una tendencia a disminuir los valores de algunos parámetros del eritrograma a medida que los peces aumentan de tamaño y edad (Tavares-Dias y Moraes, 2004).

Los valores de VCM mostraron variaciones en comparación con otros estudios (Cuadro 2), debido a que este parámetro es dependiente de los valores de eritrocitos y del hematocrito (McCarthy *et al.*, 1973; Gonzales *et al.*, 2019). Sin embargo, en el estudio de Seriani *et al.* (2012) para determinar la toxicidad de selenio en *Oreochromis niloticus* se observó un aumento de VCM,

posiblemente debido a la liberación de eritroblastos de gran tamaño, lo cual no necesariamente indica que contengan grandes cantidades de hemoglobina.

En la diferenciación leucocitaria se encontró 67.3% de linfocitos, 4.13% de monocitos, 27.5% de células granulocíticas eosinófilos y 1.08% de neutrófilos, no encontrándose basófilos (Cuadro 3). Otros estudios también determinaron que los linfocitos son las células con mayor porcentaje en la sangre de ejemplares de *A. ocellatus* de cautiverio (Pitombeira, 1972; Iannacone *et al.*, 2006; Maciel *et al.*, 2016). Por otro lado, Tavares-Dias y Moraes (2004), al caracterizar los leucocitos de especies de las familias Anostomidae, Pimelodidae, Erythrinidae, Ictaluridae, Characidae, Prochilodontidae, Cichlidae, Mugilidae y Cyprinidae observaron una mayor frecuencia de estas células leucocitarias. Según Ranzani-Paiva *et al.* (2013), la abundancia de linfocitos está ligado a la respuesta inmune en peces. Es im-

Cuadro 2. Valores promedio y desviación estándar de la serie eritrocítica de *Astronotus ocellatus* en diferentes condiciones de cultivo, según reportes de la literatura científica

Parámetros	Iannacone <i>et al.</i> (2006)	Firouzbakhsh <i>et al.</i> (2011)	Baptista <i>et al.</i> (2016)	Presente estudio
Peso (g)	1.50 ± 0.2	23.0 ± 0.1	-	109.4 ± 22.9
Longitud (cm)	4.3 ± 1.53	-	-	15.4 ± 1.3
Hematocrito (%)	56.3 ± 12.1	24.0 ± 0	23.9 ± 0.9	24.5 ± 4.9
Hemoglobina (g/dl)	18.7 ± 4.0	8.40 ± 0.	5.6 ± 0.2	8.8 ± 3.3
Eritrocitos (10 <sup>6</sup> /μl)	6.07 ± 1.30	0.91 ± 0.	1.26 ± 0.08	1.17 ± 0.10
VCM (fl)	93.9 ± 0.82	263.7 ± 1.4	193.8 ± 14.6	222.1 ± 54.5
CHCM (g/dl)	33.1 ± 0.35	35.0 ± 0	23.1 ± 1.1	36.7 ± 4.9
Glucosa (mg/dl)	-	-	96.7 ± 10.5	64.4 ± 28.8

VCM = volumen corpuscular medio, CHCM = concentración de hemoglobina corpuscular media

Cuadro 3. Valores la serie leucocítica de *Astronotus ocellatus* cultivado en la Amazonía peruana

Parámetros	Promedio ± DE	Mínimo – Máximo
Leucocitos (10 <sup>3</sup> /μl)	7.3 ± 2.6	5 - 15
Linfocitos (10 <sup>3</sup> /μl)	4.9 ± 0.5	4.33 - 5.82
Linfocitos (%)	67.3 ± 7.6	59.4 - 79.9
Monocitos (10 <sup>3</sup> /μl)	0.3 ± 0.1	0.14 - 0.42
Monocitos (%)	4.13 ± 1.4	1.9 - 5.7
Eosinófilos (10 <sup>3</sup> /μl)	2.0 ± 0.65	1.02 - 2.67
Eosinófilos (%)	27.5 ± 8.9	14.1 - 36.6
Neutrófilos (10 <sup>3</sup> /μl)	0.08 ± 0.09	0.0 - 0.26
Neutrófilos (%)	1.08 ± 1.3	0.0 - 3.57

DE: desviación estándar

portante indicar, asimismo, que los porcentajes de eosinófilos y neutrófilos encontrados en el presente estudio difieren de los hallazgos reportados por Pitombeira (1972) y Iannacone *et al.* (2006).

Los parámetros bioquímicos se encuentran relacionados con el tipo de alimentación que reciben los peces en la crianza (Groff y Zinkl, 1999). En el presente estudio (Cuadro 1) se observó que el nivel de glucosa fue in-

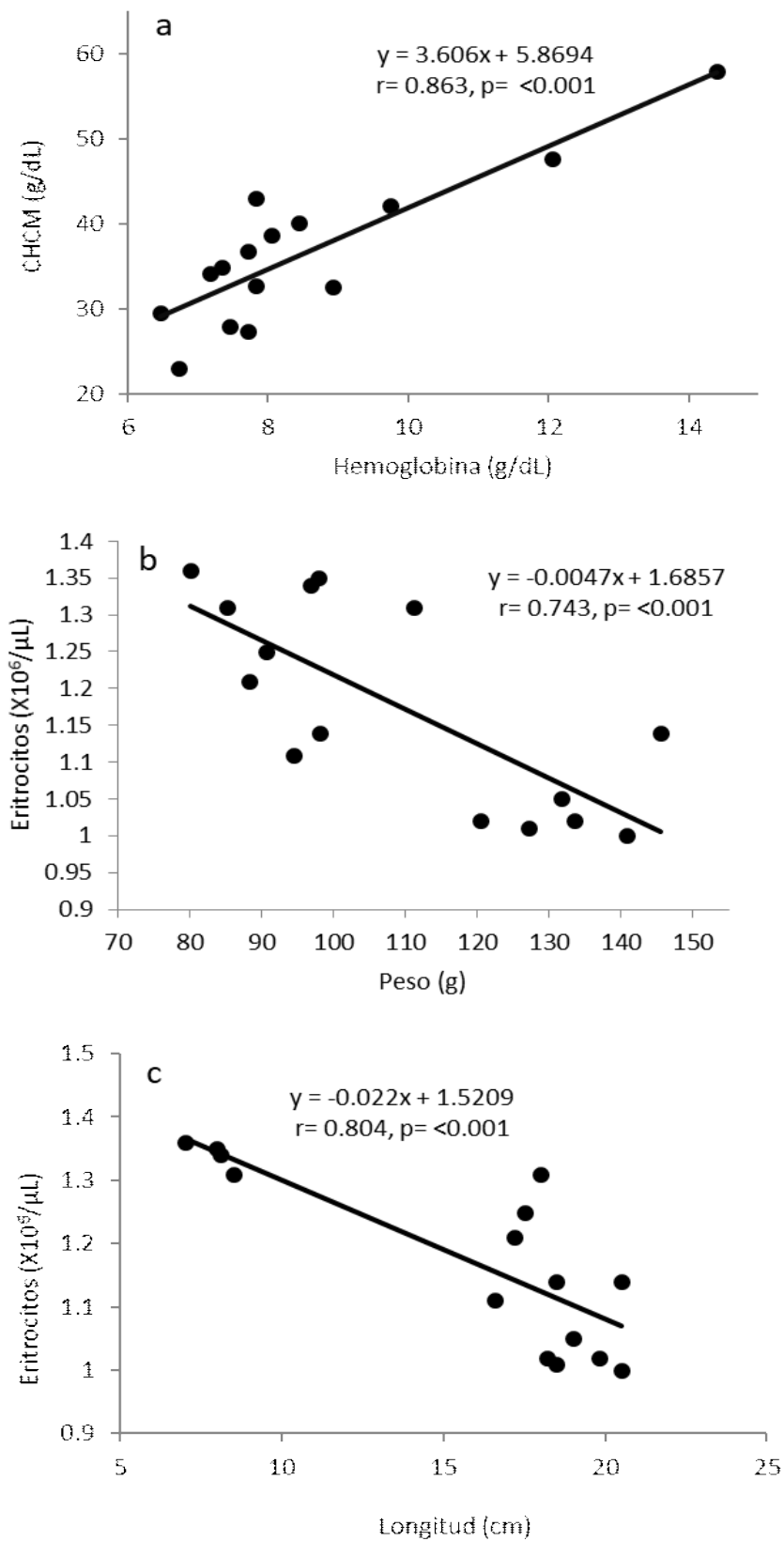


Figura 1. Correlaciones lineales. (a) entre concentración de hemoglobina corpuscular media (CHcM) y hemoglobina, (b), el número de eritrocitos y el peso, y (c), entre el número de eritrocitos y la longitud en *Astronotus ocellatus*

ferior a lo reportado por Baptista *et al.* (2016), donde evaluaron niveles de glucosa en condiciones de normoxia, hipoxia y de recuperación. Así mismo, los niveles fueron superiores al reporte de Crivelenti *et al.* (2011) en individuos de la familia Cichlidae como *O. niloticus*. Es ampliamente conocido que la glucosa en plasma refleja condiciones de estrés en peces (Zaragoza *et al.*, 2008; Sánchez *et al.*, 2017). Por lo tanto, esta variación de valores de glucosa puede estar influenciado por factores como calidad de agua, densidad y hasta tipo de alimentación (Hrubec *et al.*, 2000; Gonzales *et al.*, 2016; Sánchez *et al.*, 2017).

Los valores de proteína (Cuadro 1) estuvieron dentro de los rangos reportados para *O. niloticus* cultivados en sistema intensivo (Crivelenti *et al.*, 2011) y para híbrido de *Oreochromis* cultivados (Hrubec *et al.*, 2000). Sin embargo, los valores de colesterol se mostraron elevados en comparación con otros estudios (Hrubec *et al.*, 2000).

En el análisis de las correlaciones, se encontró que a medida que se incrementa la hemoglobina aumentan los valores de CHCM (Figura 1a), tal y como ha sido observado en el híbrido de *Salminus maxillosus*, en *Piaractus mesopotamicus* y en el híbrido de tambacu *Piaractus mesopotamicus* x *Colossoma macropomum* (Tavares-Dias *et al.*, 1999, 2000; Ranzani-Paiva *et al.*, 2001). Este resultado es esperado, dado que cuanto más concentración y cantidad de hemoglobina se encuentra en los eritrocitos, mayor es su concentración en la sangre (Ranzani-Paiva *et al.*, 2001). Así mismo, se encontraron correlaciones negativas ( $p < 0.05$ ) entre el peso y la longitud del pez con el número de eritrocitos (Figuras 1b, c). Esto mismo ha sido observado en otros estudios (Martínez *et al.*, 1994; Ranzani-Paiva *et al.*, 2001), aunque a veces con valores de correlación bajos (Ranzani-Paiva *et al.*, 2001).

## CONCLUSIONES

La mayoría de los valores hematológicos encontrados están dentro del rango reportado para *A. Ocellatus* en cautiverio.

## Agradecimientos

Los autores manifiestan su agradecimiento al Dr. Marcos Tavares Días, responsable del Laboratorio de Patología y Sanidad de Organismos Acuáticos del EMBRAPA Amapá (Brasil), por sus valiosos aportes, revisiones y sugerencias del documento. También a la Meta 58-2015 (Estudio reproductivo y nutricional para incrementar el rendimiento de la producción acuícola en Loreto), por el financiamiento para la ejecución del estudio.

## LITERATURA CITADA

1. **Baptista RB, Souza-Castro N, Almeida-Val VMF. 2016.** Acute hypoxia up-regulates HIF-1 $\alpha$  and VEGF mRNA levels in Amazon hypoxia-tolerant Oscar (*Astronotus ocellatus*). *Fish Physiol Biochem* 42: 1307-1318. doi: 10.1007/s10695-016-0219-1
2. **Clark S, Whitmore DH, McMahon, RF. 1979.** Considerations of blood parameters of largemouth bass, *Micropterus salmoides*. *J Fish Biol* 14: 147-158. doi: 10.1111/j.10958649.1979.tb03504.x
3. **Crivelenti LZ, Borín S, Socha M, Javier J, Mundim AV. 2011.** Valores bioquímicos séricos de tilapia del nilo (*Oreochromis niloticus*) en cultivo intensivo. *Ver Inv Vet Perú* 22: 318-323. doi: 10.15381/rivep.v22i4.331
4. **Echevarría G, Machado-Allison A. 2015.** La ictiofauna de los esteros de camaguán (Río Portuguesa), Estado Guárico, Venezuela. *Acta Biol Venez* 35: 75-87.

5. **Firouzbakhsh F, Noori F, Khalesi MK, Jani-Khalili K. 2011.** Effects of a probiotic, protexin, on the growth performance and hematological parameters in the Oscar (*Astronotus ocellatus*) fingerlings. *Fish Physiol Biochem* 37: 833-842. doi: 10.1007/s10695-011-9481-4
6. **García A, Tello S, Vargas G, Duponchelle F. 2009.** Patterns of commercial fish landings in the Loreto region (Peruvian Amazon) between 1984 and 2006. *Fish Physiol Biochem* 35: 53-67. doi: 10.1007/s10695-008-9212-7
7. **García Ayala JR, Brambilla EM, David GS, Benine RC, Sanchez, H. 2017.** Length-weight relationships for seven fish species of the Napo River, Upper Amazon, Perú. *J Appl Ichthyol* 33: 1062-1064. doi: 10.1111/jai.13428
8. **García-Dávila CR, Sánchez H, Flores M, Mejía J, Angulo C, Castro-Ruiz D, Estivals G, et al. 2018.** Peces de consumo de la Amazonía peruana. Iquitos, Perú: Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana - IIAP. 218 p.
9. **Goldenfarb PB, Bowyer FP, Hall E, Brosious E. 1971.** Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. *Am J Clin Pathol* 56: 35-39. doi: 10.1093/ajcp/56.1.35
10. **Gonzales A, Mejía F, Huanuiri K, Sánchez I, Vásquez J, Fernández-Méndez C. 2016.** Valores hematológicos y bioquímicos de juveniles de paiche *Arapaima gigas* en cultivo intensivo. *Folia Amazónica* 25: 137-144. doi: 10.24841/fa.v25i2.397
11. **Gonzales AP, Curto G, Fernández-Mendez C. 2019.** Parámetros hematológicos de reproductores de *Brycon amazonicus* (Bryconidae) en cautiverio. *Rev Inv Vet Perú* 30: 133-142. doi: 10.15381/rivep.v30i1.14935
12. **Groff JM, Zinkl JG. 1999.** Hematology and clinical chemistry of cyprinid fish: common carp and goldfish. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract* 2: 741-776. doi: 10.1016/S1094-9194(17)30120-2
13. **Hesser EF. 1960.** Methods for routine fish hematology. *Prog Fish Cult* 22: 164-171. doi: 10.1577/1548-8659(1960)-22[164:MFRFH]2.0.CO;2
14. **Hrubec TC, Cardinale JL, Smith SA. 2000.** Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured tilapia (*Oreochromis hybrid*). *Vet Clin Path* 29: 7-12. doi: 10.1111/j.1939-165x.2000.tb00389.x
15. **Iannacone J, Falcón W, Vargas R. 2006.** Parámetros hematológicos del acarahuazú *Astronotus ocellatus* (Agassiz, 1831) (Cichlidae: Perciformes). *Biologist* 4: 16-18.
16. **Kullander SO. 2003.** Family Cichlidae. In: Reis RE, Kullander SO, Ferraris Jr CJ (eds). Checklist of the freshwater fishes of South and Central America. Porto Alegre, Brasil: Edipucrs-p 605-654.
17. **Maciel PO, Silva LCCP, de Castro-Rodrigues AP, de Lima FS, do Rego-Barros RC, Almosny NRP, Bidone ED, et al. 2016.** Características hematológicas, de espécimes mantidos em laboratório, da espécie de peixe amazônica *Astronotus ocellatus* (Agassiz, 1831) (Perciformes, Cichlidae), introduzida em outras bacias hidrográficas brasileiras. *NovoEnfoque* 2016(21). [Internet]. Disponible en: <https://www.cetem.gov.br/images/periodicos/2016/CAN0030-00-16.pdf>
18. **Martinez FJ, Garcia-Riera MP, Ganteras M, De Costa J, Zamora S. 1994.** Blood parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): simultaneous influence of various factors. *Comp Biochem Phys A* 107: 95-100. doi: 10.1016/0300-9629(94)90279-8
19. **McCarthy DH, Stevenson JP, Roberts MS. 1973.** Some blood parameters of the rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *J Fish Biol* 7: 215-219. doi: 10.1111/j.1095-8649.1975.tb04592.x
20. **Natt P, Herrick A. 1952.** A new blood diluent for counting the erythrocytes and leucocytes of the chicken. *Poultry Sci* 31: 735-738. doi: 10.3382/ps.0310735



21. **Navarro I, Canals P, Sánchez J, Gutiérrez J, Planas J. 1991.** Some plasma hormones and metabolites in the Pyrenean brown trout (*Salmo trutta* fario). *Comp Biochem Phys A* 100: 919-923. doi: 10.1016/0300-9629(91)90315-4
22. **Pitombeira MS. 1972.** Hematologia do apairi *Astronotus ocellatus* (Cuvier, 1829). Peixes teleósteos. Aspectos morfológicos e fisiológicos. Tese de Doutorado. São Paulo: Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. 133 p.
23. **Pouilly M, Jégu M, Terrazas JC, Palacios MQ, Chumacero GM, Zubieta JZ, Yunoki T. 2010.** Lista actualizada y distribución de los peces en las tierras bajas de la Amazonía Boliviana. *Rev Boliv Ecol Conserv Amb* 28: 73-97.
24. **Ranzani-Paiva MJT, Godinho HM. 1988.** Características do plasma sanguíneo do pacu, *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (*Colossoma mitrei* Berg, 1895) em condições experimentais de criação. *Bol Inst Pesca* 15: 169-177.
25. **Ranzani-Paiva MJT, Rodrigues EDL, Veiga MLD, Eiras ACD. 2001.** Association between the hematological characteristics and the biology of the «dourado» *Salminus maxillosus* Valenciennes, 1840 from Mogi-Guaçu River, state of São Paulo, Brazil. *Maringá* 23: 527-533.
26. **Ranzani-Paiva MJ, Pádua SB, Tavares-Dias M, Egami M. 2013.** Métodos para análise hematológica em peixes. Maringá, Paraná: Eduem. 140 p.
27. **Sánchez I, Mejía F, Huanuiri K, Vásquez J, Gonzales A, Fernández-Méndez C. 2017.** Respuesta hematológica y bioquímica en juveniles de paiche *Arapaima gigas* sometidos a diferentes concentraciones de amonio. *Folia Amazónica* 26: 51-58. doi: 10.24841/fa.v26i1.418
28. **Santos G, Ferreira E, Zuanon J. 2006.** Peixes comerciais de Manaus. Brasil: Universidade Estadual do Maranhão. 144 p.
29. **Seriani R, Tavares Ranzani-Paiva MJ, Gonçalves A, Siqueira SR, Lombardi JV. 2012.** Determination of selenium toxicity to *Oreochromis niloticus* based on hematological parameters. *Acta Sci Biol Sci* 34: 125-131. doi: 10.4025/actasci-biolsci.v34i2.8755
30. **Sloman KA, Wood CM, Scott GR, Wood S, Kajimura M, Johannsson OE, Almeida-Val VMF, et al. 2006.** Tribute to RG Boutilier: the effect of size on the physiological and behavioural responses of oscar, *Astronotus ocellatus*, to hypoxia. *J Exp Biol* 209: 1197-1205. doi: 10.1242/jeb.02090
31. **Tavares-Dias M, Tenani RA, Gioli LD, Faustino CD. 1999.** Características hematológicas de teleósteos brasileiros. II. Parâmetros sanguíneos do *Piaractus mesopotamicus* Holmberg (Osteichthyes, Characidae) em policultivo intensivo. *Rev Bras Zool* 16: 423-431.
32. **Tavares-Dias M, Schalch SH, Martins ML, Onaka EM, Moraes FR. 2000.** Haematological characteristics of Brazilian Teleosts: III. Parameters of the hybrid tambacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg x *Colossoma macropomum* Cuvier) (Osteichthyes, Characidae). *Rev Bras Zool* 17: 899-906.
33. **Tavares-Dias M, de Moraes FR. 2003.** Características hematológicas da *Tilapia rendalli* Boulenger, 1896 (Osteichthyes: Cichlidae) capturada em «Pesque-Pague» de Franca, São Paulo, Brasil. *Biosci J* 19: 107-114.
34. **Tavares-Dias M, de Moraes FR. 2004.** Hematologia de peixes teleósteos. Ribeirão Preto: Villimpress. 144 p.

35. **Tello-Martin JS, Montreuil-Frias VH, Maco-García JT, Ismiño-Orbe RA, Sánchez-Ribeiro H. 1992.** Bioecología de peces de importancia económica de la parte inferior de los ríos Ucayali y Marañón-Perú. *Folia Amazónica* 4: 87-107. doi: [org/10.24841/fa.v4i2.196](https://doi.org/10.24841/fa.v4i2.196)
36. **Wintrobe MM. 1934.** Variations in the size and hemoglobin content of-erythrocytes in the blood of various vertebrates. *Folia Hematologica* 51: 32-49.
37. **Zaragoza ODR, Rodríguez MH, Bückle-Ramirez LF. 2008.** Thermal stress effect on tilapia *Oreochromis mossambicus* (Pisces: Cichlidae) blood parameters. *Mar Freshw Behav Phy* 41: 79-89. doi: [10.1080/10236240801896223](https://doi.org/10.1080/10236240801896223)