

# RELACIÓN ENTRE LA CARGA PARASITARIA TOTAL Y ALGUNOS PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS DE *Rhamdia sapo* Val. (PISCES) EN CONDICIONES NATURALES

M. D. VANOTTI; R. D. TANZOLA

Laboratorio de Patología de Organismos Acuáticos. Universidad Nacional del Sur  
San Juan 670 (8000), Bahía Blanca, Argentina. danielavanotti@hotmail.com

## ABSTRACT

The purpose of the present research is to evaluate the degree of the statistical association between the total burden of parasites in the South American Catfish, *Rhamdia sapo*, and hematological variables studied under natural conditions. The following 12 parasite species were identified: 2 ciliate protozoans, 1 flagellate, 1 monogenean, 3 digeneans, 1 cestode, 2 nematodes, and 2 crustaceans. Of the parasite species collected from the tegument, branchias, body cavity, and digestive tube, some of them (namely, *Argulus violaceus*, *Urocleidoides mastigatus*, *Hysterothylacium rhamdiae*, *Acanthostomun gnerii*, *Proteocephalus jamdiae*, *Trichodina* sp. and *Cucullanus* sp.) have been previously cited. However, *Ichthyophthirius multifiliis*, *Spironucleus* sp., *Lernaea cyprinacea*, and *Thometrema* sp. are cited for the first time in Argentina as a parasite of this fish. The non-parametrical Spearman's rank correlation test indicated that the total burden of parasites in the South American Catfish, *Rhamdia sapo*, exerts no significant action under the hematological variables studied in this research, namely, red blood cell count, white blood cell count, thrombocyte count, hemoglobin concentration, hematocrit, mean corpuscular volume, mean corpuscular hemoglobin, and mean corpuscular hemoglobin concentration.

## INTRODUCCIÓN

En las poblaciones naturales de peces teleósteos, tanto marinos como de agua dulce, las variables hematólogicas se ven afectadas por múltiples factores, extrínsecos, como la época del año, calidad del agua, dieta, presencia de agentes infecciosos y/o parasitarios, e intrínsecos, por ejemplo el sexo, la edad, el peso, los antecedentes genéticos y el estrés, así como las características fisiológicas particulares de los distintos grupos de peces (Filho *et al.*, 1992; Tavares-Dias *et al.*, 1999 b, c; Pérez *et al.*, 1984). El «bagre sapo», *Rhamdia sapo*, es uno de los peces

típicos de la ictiofauna parano-platenense, constituyendo las sierras del sudoeste de la provincia de Buenos Aires su límite austral de dispersión (Ringuelet, 1975). A pesar de su importancia económica potencial y del interés que reviste su status de predador no-selectivo en niveles altos de las redes tróficas, su fauna parasitaria ha sido estudiada en forma parcial y hasta el presente no se conocen estudios acerca de su efecto probable sobre ciertos parámetros hemáticos. El presente trabajo tiene como objetivo evaluar si existe alguna relación entre la carga parasitaria del bagre sapo y las variables hematólogicas estudiadas en con-

diciones naturales y en qué grado se manifiesta.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La muestra estudiada consistió en 35 ejemplares de bagre sapo, *Rhamdia sapo* Valenciennes, 1840 (Siluriformes: Pimelodidae), capturados en cuatro cuerpos de aguas ubicados en el partido de Bahía Blanca, Provincia de Buenos Aires (38°64' S 62°16' O). El período de muestreo abarcó los meses de febrero a junio de 2003. Los bagres fueron mantenidos en acuarios hasta el momento de su procesamiento. La extracción de sangre y toma de muestras parasitológicas se llevaron a cabo en animales previamente anestesiados con benzocaína (solución de 1 g de benzocaína en 30 ml de alcohol etílico 96°, disueltos en 5 l de agua declorinada). Los peces fueron sexados y medidos en su longitud total (LT), peso total (PT) y peso eviscerado (PE). La extracción de sangre se realizó con ayuda de jeringas plásticas de 5 ml de volumen empleando EDTA como anticoagulante. El sitio elegido para la colecta sanguínea fue el vaso dorsal posterior del pedúnculo caudal. Las mediciones y descripciones celulares se realizaron a partir de extendidos sanguíneos coloreados con Giemsa. La fórmula leucocitaria se llevó a cabo en frotis sanguíneos a los que se les practicó la prueba de bencidina-peroxidasa (Dacie & Lewis, 2001). La determinación del hematocrito (Hto) se realizó en tubos capilares heparinizados centrifugados durante 5 minutos a 10.000 rpm. Para el recuento de eritrocitos, leucocitos y trombocitos se utilizó una cámara de Neubauer y la sangre se diluyó 1:100 en pipeta de Thoma para glóbulos rojos, con el líquido de dilución de Natt & Herrick (Campbell & Murru, 1990). La estimación de la concentración de hemoglobina (Hb) se llevó a cabo mediante el método fotocolorimétrico de la cian-

metahemoglobina utilizando el reactivo de Drabkin y como testigo la solución patrón de concentración 15,4 g/dl. El volumen corpuscular medio (VCM), la hemoglobina corpuscular media (HCM) y la concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM), se estimaron según las siguientes fórmulas:  $VCM (fl) = \text{hematocrito (l/l)} / \text{eritrocitos} (x10^{12} / l)$ ;  $HCM (pg) = \text{hemoglobina (g / l)} / \text{eritrocitos} (x10^{12} / l)$  y  $CHCM (g/l) = \text{hemoglobina (g/l)} / \text{hematocrito (l / l)}$ .

Los parásitos externos así como los endoparásitos fueron contados e identificados hasta el nivel taxonómico más preciso posible (género, especie). Todo el material parasitario obtenido fue fijado en formaldehído 10%. A cada pez se le calculó la carga parasitaria total y la riqueza específica, así mismo para cada especie parásita, la prevalencia, la intensidad de infección y la abundancia (Margolis *et al.*, 1982). Para evaluar las posibles diferencias biométricas y hematológicas debidas al sexo, se utilizó el test estadístico de Student, con un nivel de significación  $\alpha = 0,05$ . La carga parasitaria total del bagre sapo fue correlacionada con las variables biométricas (PT, LT, PE) y hematológicas: recuento de eritrocitos (RE), recuento de leucocitos (RL), recuento de trombocitos (RT), (Hb), (Hto), (VCM), (HCM) y (CHCM) usando el test no paramétrico de correlación por rangos de Spearman.

## RESULTADOS

Los peces estudiados fueron 12 hembras adultas, 17 machos adultos y 6 juveniles de *Rhamdia sapo* Valenciennes, 1840 (Siluriformes: Pimelodidae), de longitud total 28,6 (12,8-41) cm. El peso total y peso eviscerado fueron de 288,3 (15,3-652) g y 250,9 (12,8-559) g respectivamente. El bagre sapo presentó 12 especies parásitas de acuerdo al siguiente detalle: dos protozoos ciliados, un flagelado, un monogoneo, tres digeneos, un cestode, dos

**Tabla I.** Lista de especies parásitas de *Rhamdia sapo* según su localización, estado del desarrollo ontogénico e índices parasitológicos.

Especies	Localización	Estado de desarrollo	Nºtotal	Prevalencia (%)	Intensidad media de infección	Abundancia
<b>CILIOPHORA</b>						
<b>Peritrichia</b>						
<i>Trichodina</i> sp.	Branquias	Trofozoito	5	5.7 (5.88/0) <sup>1</sup>	2.5 (1.0/0)	0.14 (5.88/0)
<i>Hymenostomata Ichthyophthirius multifiliis</i>	Branquias y Tegumento	Trofonte	180	31.4 <sup>2</sup> (47.06/16.67)	16.36 <sup>2</sup> (20.0/20.0)	5.14 <sup>2</sup> (9.41/3.33)
<b>ZOOMASTIGOPHORA</b>						
<b>Hexamitidae</b>						
<i>Spironucleus</i> sp.	Vesícula biliar	Trofozoito	- <sup>3</sup>	- <sup>3</sup>	- <sup>3</sup>	- <sup>3</sup>
<b>MONOGENEA</b>						
<b>Ancyrocephalidae</b>						
<i>Urocleidoides mastigatus</i>	Branquias	Adultos	503	97.1 <sup>2</sup> (100/100)	14.79 <sup>2</sup> (17.82/12.92)	14.37 <sup>2</sup> (17.82/12.92)
<b>DIGENEA</b>						
<b>Acanthostomidae</b>						
<i>Acanthostomum gnerii</i>	Tubo digestivo	Adultos	13	14.3 (17.65/16.67)	2.6 (3.67/1.0)	0.37 (0.65/0.17)
<b>Derogenidae</b>						
<i>Thometrema</i> sp.	Tubo digestivo	Adultos y juveniles	133	31.4 <sup>2</sup> (35.29/41.67)	12.09 <sup>2</sup> (9.5/15.2)	3.8 <sup>2</sup> (3.35/6.33)
Digenea indeterminada.	Cavidad celómica	Metacercaria	640	68.6 <sup>2</sup> (70.58/83.33)	26.66 <sup>2</sup> (23.33/30.0)	18.29 <sup>2</sup> (16.47/25.0)
<b>CESTODA</b>						
<b>Preteocephalidae</b>						
<i>Proteocephalus jamdiae</i>	Tubo digestivo	Adultos y juveniles	229	62.9 <sup>2</sup> (52.94/75)	10.41 <sup>2</sup> (11.44/13.33)	6.54 <sup>2</sup> (6.06/10.0)
<b>NEMATODA</b>						
<b>Cucullanidae</b>						
<i>Cucullanus</i> sp.	Tubo digestivo	Adultos	10	14.3 (0/8.33)	2.0 (0/1.0)	0.29 (0/8.33)
<b>Anisakidae</b>						
<i>Hysterothylacium rhamdiae</i>	T. digestivo y cavidad celómica	Adultos y L3	166	68.6 (52.94/83.33)	6.92 (4.66/9.5)	4.74 (2.47/7.92)
<b>CRUSTACEA</b>						
<b>Branchiura</b>						
<i>Argulus violaceus</i>	Tegumento	Adultos	15	5.7 (0/16.67)	7.5 (0/7.5)	0.28 (0/1.25)
<b>Copepoda</b>						
<i>Lernaea cyprinacea</i>	Tegumento	Adultos (hembra)	2	5.7 (0/16.67)	1.0 (0/1.0)	0.06 (0/0.17)

(<sup>1</sup>)-Paréntesis: (Macho/Hembra); (<sup>2</sup>)- estimados por cobertura; (<sup>3</sup>) no estimados

nematodos y dos crustáceos. Todos los peces muestreados se encontraron parasitados por un promedio de 4,13 especies por hospedador, variando el rango entre 1 y 7. La menor carga parasitaria fue de 8 especímenes,

siendo la mayor carga de 123 parásitos por hospedador, con una abundancia parasitaria de 61,24 parásitos por hospedador. Todas las especies parasitarias fueron obtenidas de 5 compartimientos anatómicos, a saber: tegu-

**Tabla II.** Características morfométricas de las células sanguíneas de la sangre periférica de *Rhombia sapo*. Las medidas son indicadas en  $\mu\text{m}$ . N: número total de células medidas.

	Media $\pm$ D.S.	Rango
<b>Eritrocitos</b>	(N = 175)	
Eje mayor	13,2 $\pm$ 1,7	(8,4 - 18,2)
Eje menor	9,7 $\pm$ 1,6	(5,6 - 15,4)
<b>Núcleo de Eritrocitos</b>	(N = 175)	
Eje mayor	4,6 $\pm$ 0,9	(2,8 - 7)
Eje menor	3,2 $\pm$ 0,7	(2,8 - 5,6)
<b>Linfocitos</b>	(N = 175)	
Diámetro	5,6 $\pm$ 1,5	(2,8 - 11,2)
<b>Neutrófilos</b>	(N = 175)	
Diámetro	9,1 $\pm$ 1,9	(5,6 - 14)
<b>C.G.E.</b>	(N = 165)	
Diámetro	9,9 $\pm$ 1,8	(5,6 - 15,4)
<b>Trombocitos Tipo 1</b>	(N = 129)	
Eje mayor	12,1 $\pm$ 2,03	(7 - 18,2)
Eje menor	3,7 $\pm$ 0,9	(2,8 - 7)
<b>Trombocito Tipo 2</b>	(N = 170)	
Eje mayor	8,9 $\pm$ 1,8	(5,6 - 15,4)
Eje menor	4,3 $\pm$ 1,0	(2,8 - 7)

mento, branquias, cavidad celómica, vesícula biliar y lumen de tubo digestivo. En la Tabla I se resume la información acerca de la localización, estado ontogénico e índices poblacionales de cada una de las especies parásitas.

Se reconocieron en la sangre periférica de *R. sapo* seis morfotipos celulares: eritrocitos, linfocitos, neutrófilos, células granulocíticas especiales, mo-

nocitos y trombocitos tipo 1 y 2. De ellos, los eritrocitos son las células más abundantes y de mayor tamaño, en tanto los linfocitos son las células más pequeñas. La fórmula leucocitaria muestra un mayor porcentaje de linfocitos (56,06%), seguido de los neutrófilos (40,55%) y células granulocíticas especiales (3,37%). La Tabla II sintetiza las características morfométricas de todos los tipos celulares identificados

**Tabla III.** Valores determinados en 11 parámetros hematológicos de *R. sapo* (N=35) y de la correlación no paramétrica (Spearman) de cada uno de ellos versus la carga parasitaria total ( $p$ = probabilidad).

Parámetros	Media $\pm$ D.S.	Rango	Coefficiente ( $r_s$ ) de Spearman ( $\alpha$ = 0,05)
<b>RE</b> ( $\times 10^6$ cél/mm <sup>3</sup> )	1,24 $\pm$ 0,58	0,57 - 2,9	-0,04 (p= 0,83)
<b>RL</b> (cél/mm <sup>3</sup> )	6.986 $\pm$ 3.989	1000 - 15.500	-0,02 (p= 0,48)
<b>Linfocitos</b> (%)	56.06 $\pm$ 23.12	14 - 96	No estimado
<b>Neutrófilos</b> (%)	40.55 $\pm$ 21.63	4 - 84	No estimado
<b>CGE</b> (%)	3.37 $\pm$ 2.93	0 - 10	No estimado
<b>RT</b> (cél/mm <sup>3</sup> )	69.654 $\pm$ 48.814	15.000 - 210.000	-0,23 (p= 0,25)
<b>Hto</b> (%)	32,2 $\pm$ 6,1	21,5 - 49	-0,09 (p= 0,64)
<b>Hb</b> (g/dl)	7,1 $\pm$ 2,5	3,5 - 16,9	-0,12 (p= 0,53)
<b>VCM</b> (fl)	0,29 $\pm$ 0,09	0,13 - 0,53	0,25 (p= 0,24)
<b>HCM</b> (pg)	57,9 $\pm$ 18,1	24,2 - 98,8	0,09 (p= 0,66)
<b>CHCM</b> (g/l)	225,5 $\pm$ 70,8	108 - 381,3	0,05 (p= 0,81)

en la sangre periférica, en tanto la Tabla III resume los valores hematológicos de 11 parámetros estudiados.

En relación al grado de asociación estadística entre la carga parasitaria total del bagre sapo y sus parámetros hematológicos (Tabla III), el test no paramétrico de correlación por rangos de Spearman reveló que la misma no ejerce efectos significativos frente a ninguna de las variables estudiadas: recuento de eritrocitos (RE), recuento de leucocitos (RL), recuento de trombocitos (RT), concentración de hemoglobina (Hb), hematocrito (Hto), volumen corpuscular media (VCM), hemoglobina corpuscular media (HCM) y concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM).

## DISCUSIÓN

Las células identificadas en los frotis sanguíneos de *R. sapo*, presentaron características morfológicas similares a las descritas en *Piaractus mesopotamicus* Holmberg (*Characidae*) (Tavares-Dias *et al.*, 1999c) y en *Colossoma macropomum* Cuvier (*Characidae*) (Tavares-Dias *et al.*, 1999b). Moura *et al.* (1994) distinguieron tres tipos de granulocitos (neutrófilos, eosinófilos y células reticulares) y tres agranulocitos (linfocitos, trombocitos y monocitos) en *Colossoma macropomum* y en *Hoplosternum littorale* Hancock. Al igual que en *R. sapo*, estos autores observaron que los pseudopodios de los linfocitos estaban presentes en pocas células. Los eosinófilos y las células reticulares presentes en *C. macropomum* y en *H. littorale* no fueron hallados en el presente trabajo, así como tampoco el núcleo trilobulado de los neutrófilos. Guitang (1998) reconoció en *Takifugu rubripes* Temminck & Schlegel cinco clases de leucocitos. Entre ellos dos tipos de basófilos, no hallados en el *R. sapo*. Ellis (1976) describió en *Pleuronectes platessa* L. cuatro tipos de trombocitos (designados como «*spiked*

*form*», «*spindle cell*», «*ovoid form*» y «*lone-nucleus*»). Además reconoció linfocitos, monocitos y sólo una clase de leucocito granular tentativamente denominado «neutrófilo». Adoptó esta denominación debido a la similitud con los neutrófilos humanos respecto a su ultraestructura y propiedades histoquímicas. En *R. sapo* se encontraron dos subtipos de trombocitos, designados de acuerdo a Ellis (1976) como tipos 1 y 2, cuyas características morfológicas son asimilables a las «células en forma de clava» (*spiked cells*) y «células fusiformes» (*spindle cells*) de *P. platessa*. Los eritrocitos de *R. sapo* presentan similitudes morfológicas y tintoriales con los estudiados en *Rhamdia hilarii* Val. por Kavamoto *et al.* (1983). Los trombocitos de éste último pez presentan sólo formato ovoide y se los encuentra casi siempre agrupados. En cuanto a la serie celular blanca, Kavamoto *et al.* (*op. cit.*), identificó además de los linfocitos, a los neutrófilos, monocitos y células basófilas. A diferencia de *Rhamdia hilarii*, *R. sapo* presenta células granulocíticas especiales (CGE), pero no células basófilas.

Tavares-Dias *et al.* (1999a) encontraron que juveniles de *Piaractus mesopotamicus* de un centro acuícola de Brasil, parasitados naturalmente con *Argulus* sp., presentaban disminuido el número de trombocitos y aumentado el número de monocitos y de CGE, respecto de peces no parasitados. En el presente trabajo se encontraron dos hembras parasitadas con *Argulus violaceus*, las cuales no evidenciaron los efectos anteriormente señalados. En tal sentido, por ejemplo los trombocitos en ambos especímenes muestran valores ligeramente superiores al promedio, en tanto las CGE no muestran desvíos marcados del promedio y los monocitos constituyeron un tipo celular esporádico.

La información basada en el recuento de eritrocitos varía dentro de amplios márgenes, siendo afectada por

la edad, sexo, estacionalidad y determinantes ambientales (Glomski *et al.*, 1992). El número de eritrocitos en los peces, es relativamente bajo cuando se lo compara con los mamíferos. Según Wintrobe (1934) el tamaño y número de eritrocitos refleja la posición de la especie en la escala evolutiva. Los vertebrados inferiores presentan eritrocitos de mayor tamaño pero en menor número (Kavamoto *et al.*, 1983). *Piaractus mesopotamicus* tiene un valor medio de  $1,7 \times 10^6$  cél./mm<sup>3</sup> (Tavares-Dias *et al.* 1999c); para *Cyprinus carpio* L. se han determinado valores de  $1,4-2 \times 10^6$  cél./mm<sup>3</sup> y para *Salmo gairdneri* Richardson  $1,02-1,37 \times 10^6$  cél./mm<sup>3</sup> (Reichenbach-Klinke, 1982); para *Astyanax bimaculatus* L.  $1,7 \times 10^6$  cél./mm<sup>3</sup>, para *Petenia kraussii* Steindachner  $2,43 \times 10^6$  cél./mm<sup>3</sup>, *Hoplias malabaricus* Bloch  $1,76 \times 10^6$  cél./mm<sup>3</sup>, *Hemicetopsis minutus* Eigenmann  $1,50 \times 10^6$  cél./mm<sup>3</sup> y *Hoplosternum littoral*  $1,17 \times 10^6$  cél./mm<sup>3</sup> (Pérez *et al.*, 1984). El número de eritrocitos hallados en *Rhamdia sapo*  $1,24 \times 10^6$  cél./mm<sup>3</sup>, es apenas inferior al reportado para *Rhamdia hilarii*,  $1,58 \times 10^6$  cél./mm<sup>3</sup> (Kavamoto *et al.*, 1983).

El conteo diferencial de los leucocitos tiene gran aplicación en los estudios clínicos de los animales, dando indicación de anormalidades metabólicas, condiciones de enfermedad, estado de adaptación, cambios inmunológicos o procesos de defensa fisiológicas. Sin embargo, en los peces, el significado de este grupo de células y su función biológica no están claramente comprendidas (Kavamoto *et al.*, 1983). Los linfocitos son el tipo de leucocitos más comunmente observados en la sangre de peces y podrían constituir casi el 85% del total de la población de leucocitos (Rowley *et al.*, 1988). De los leucocitos hallados en *Rhamdia sapo*, los linfocitos fueron las células más abundantes, al igual que para *R. hilarii* (Kavamoto *et al.*, 1983), *Colossoma macropomum* y *Hoplosternum littorale* (Moura *et al.*, 1994). En

relación al número de leucocitos, los rangos establecidos para *R. hilarii* y *R. sapo* se encuentran solapados, aunque éste último manifiesta una amplitud mucho mayor ( $1.000-15.500$  cél./mm<sup>3</sup> en *R. sapo* y  $3.600-8.800$  cél./mm<sup>3</sup> en *R. hilarii*).

Los trombocitos de los animales superiores están involucrados en varios procesos fisiológicos y patológicos, como la homeostasis, el taponamiento y bloqueo de los vasos sanguíneos, funcionando como células del sistema inmune. Sin embargo en los peces, su participación en procesos de defensa es prácticamente desconocida (Kozzińska *et al.*, 1999). Mediante un estudio experimental Kozzińska *et al.* (*op. cit.*) evaluaron el número de trombocitos, así como también algunas funciones trombocitarias en relación a la susceptibilidad de la carpa, *Cyprinus carpio*, frente a la bacteria Gram negativa *Aeromonas hydrophila*. Los peces que evidenciaron valores bajos de actividad trombocitaria fueron más sensibles a la infección y revelaron una alta tasa de mortalidad. Por otra parte el conteo de trombocitos evidenció un sensible incremento durante el período de aclimatación en acuarios a temperaturas inferiores y superiores a las de cría, cayendo luego a valores más bajos que el grupo control durante el mantenimiento en períodos prolongados a las temperaturas de ensayo. Esto demostraría que el número de trombocitos fluctúa en relación a variables térmicas y al tiempo de permanencia en acuarios a diferentes temperaturas. Estudios previos concernientes al número de trombocitos en los peces, revelaron que éste parámetro varía en amplios rangos tanto a niveles inter como intraespecíficos (Ellis, 1976; Dick & Dixon, 1985; Rijkers *et al.*, 1980; Stosik, 1993). En tal sentido, el número de trombocitos determinados para *Rhamdia sapo*,  $15.000-210.000$  cél./mm<sup>3</sup>, corrobora esta característica respecto al rango de variación intraespecífico.

Los valores obtenidos de las distintas variables hematológicas evidencian una amplia variación interindividual, en la muestra de peces estudiada. No se observaron diferencias entre peces agrupados en dos estratos, según sus tallas y pesos: **I)** inferiores a 30,5 cm LT y 258 g PE, y **II)** superiores a esos valores. No obstante se hallaron diferencias estadísticamente significativas en los siguientes valores entre hembras y machos: RE ( $t = -5,18^{**}$ ), RL ( $t = -2,95^*$ ), Hb ( $t = -2,71^*$ ), Hto ( $t = -6,12^{**}$ ) y VCM ( $t = -27,15^{**}$ ). En el resto de los parámetros (RT, HCM y CHCM) no se registraron diferencias debidas al sexo. Sin embargo en *Rhamdia hilarii*, el sexo no demostró ser un factor influyente en las diferentes medias de las variables hematológicas mencionadas (Kavamoto *et al.*, 1983).

Pérez *et al.* (1984) correlacionaron ciertos parámetros sanguíneos de peces de agua dulce venezolanos, de acuerdo al grado de actividad y tipo de respiración que llevan a cabo. Los parámetros hematológicos considerados fueron el hematocrito, el recuento de eritrocitos y la concentración de hemoglobina. Los peces de mayor actividad tienen mayor hematocrito, mayor número de eritrocitos y de tamaño más pequeño, con menor contenido de hemoglobina respecto de los peces menos activos. Los peces con algún tipo de respiración aérea tienen menor hematocrito, menor número de eritrocitos, pero más grandes y con mayor cantidad de hemoglobina que los peces que sólo respiran en forma branquial. En este contexto, *R. sapo* se aproxima a los valores estimados para las especies menos activas y con algún tipo de respiración mixta, aérea-branquial.

Según Migliano (1967) la concentración de hemoglobina corpuscular media es la constante que se presenta de manera más uniforme en los vertebrados, con valores en torno a 300 g/l. Para *R. hilarii* esta constante adopta un valor medio de 247,5 g/l y para *R.*

*sapo* la misma fue de 225,5 g/l. En el bagre *Silurus glanis* L., Molnar & Tamassy (1970) indicaron que ésta constante podría relacionarse al hábito alimenticio del pez, siendo que las especies herbívoras poseen valores más elevados.

La concentración de hemoglobina, constituye uno de los métodos de rutina para la detección de anemias (Kavamoto *et al.*, 1983). Según Hall & Gray (1929) y Filho *et al.* (1992), en los peces marinos parece haber una relación directa entre la concentración de hemoglobina y la actividad del pez, siendo que las especies pelágicas y migratorias, presentan valores mayores que las especies bentónicas. En los peces de agua dulce también puede verse afectada tanto por el grado de actividad, siendo mayor en las especies migratorias, como por el estado de maduración gonadal y por la concentración de oxígeno disuelto en el agua (Kavamoto *et al.* 1983). En este contexto, los valores medios de hemoglobina hallados en *Rhamdia sapo*, 7,1 g/dl, fueron inferiores a los hallados para *R. hilarii* 11,43 g/dl (Kavamoto *et al.*, 1983), sugiriendo un comportamiento de menor actividad del bagre estudiado respecto de otras especies con hábitos migratorios.

De las siete especies de agua dulce estudiadas por Pérez *et al.* (1984), *Lasiancistrus maracaiboensis* Schultz, fue la especie menos activa y presentó el valor medio de hemoglobina más bajo (7,5 g/dl). Sin embargo, *Astyanax bimaculatus*, la especie más activa del grupo, registró un valor de 8,6 g/dl, teniendo el valor más alto, de 9,6 g/dl, la especie de actividad intermedia *Hoplosternum littorale*. El pacú, *Piaractus mesopotamicus* evidenció valores similares, 6,6 g/dl, a los hallados en el presente trabajo (Tavares-Dias *et al.*, 1999c). En ésta especie, peces sanos y parasitados por el crustáceo plasmófago *Argulus* sp. mostraron, en ambos casos, valores medios de hemoglobina, 10,4 y 9,4 g/dl, respectivamente, su-

periores a los determinados en los dos especímenes de *R. sapo* parasitados por *A. violaceus* (Tavares-Dias *et al.*, 1999a).

Höglund *et al.* (1992) registraron cambios hematológicos en la anguila europea, *Anguilla anguilla* L., infectada naturalmente por el nematode hematófago *Anguillicola crassus*. Estos cambios se refieren a la CHCM, al VCM, y a la Hb, indicativos de un tipo de anemia hipocrómica y macrocítica. Sin embargo, estos autores observaron que en las condiciones de campo puede ocurrir enmascaramiento de los efectos perjudiciales, debido a que los peces afectados en condiciones naturales, se alimentan de manera adecuada como para contrarrestar tales perjuicios.

Guitang (1998) registra que el recuento de eritrocitos y leucocitos disminuye al incrementar la intensidad de infección del monogeneo branquial, *Heterobothrium okamotoi*, en el pez *Takifugu rubripes*, tetrodontiforme marino del Japón, cultivados en jaulas flotantes. Adicionalmente los peces altamente infectados con parásitos adultos, evidenciaron anemia. Sin embargo estudios de Ogawa & Inouye (1997), en infecciones experimentales empleando el mismo sistema parásito-hospedador, demostraron un aumento de leucocitos y linfocitos, probablemente por la respuesta inmune que induce el parásito en el pez. La síntesis de anticuerpos específicos contra monogéneos, había sido demostrada previamente por Guitang *et al.* (1997). En el presente trabajo *Urocleidoides mastigatus* no evidenció correlación significativa con ningún parámetro hematológico.

Silva-Souza *et al.* (2000) llevaron a cabo conteos diferenciales de leucocitos de *Schizodon intermedius* Garavello & Britski (Anostomidae) mantenidos en cautiverio, infestados con *Lernaea cyprinacea* en una intensidad que varió entre 16 a 77 parásitos adultos por pez. En esos hospedadores fue observada una intensa neutrofilia y linfocito-

penia, así como un aumento considerable de los valores porcentuales de monocitos y leucocitos inmaduros. En el presente trabajo sólo fueron halladas dos hembras de *R. sapo* parasitadas con un solo ejemplar de *Lernaea cyprinacea* cada una. Si bien, en el presente estudio, los monocitos y los leucocitos inmaduros no se tuvieron en cuenta para el recuento, en ambos hospedadores no se registraron valores porcentuales de linfocitos (55-66 %), de neutrófilos (34-42 %) ni de CGE (0-3 %) que difieran sustancialmente del promedio muestral. Este efecto inaparente podría deberse a la escasa representatividad de ésta especie de copépodo parásito en la muestra estudiada o a algún estado fisiológico particular de las hembras. Tanto la neutrofilia como la linfocitopenia pueden presentarse frente a distintas situaciones tanto parasitarias (Nair & Nair, 1983) como en relación al período de desove (McCarthy *et al.*, 1975; Ranzani-Paiva & Godinho, 1983; Kavamoto *et al.*, 1985; Pickering, 1986) o al estrés debido a bajas temperaturas del agua (Bennet & Neville, 1975; Pickering, 1986). Por otra parte, el número de leucocitos inmaduros se incrementa con la aparición de procesos infecciosos o inflamatorios (Enomato, 1969).

La mayoría de las especies parásitas encontradas en el presente trabajo fueron citadas previamente por Tanzola *et al.* (1993) y Brizzola & Tanzola (1995). Sin embargo, en el material estudiado se citan por primera vez como parásitos del *R. sapo* a *Ichthyophthirius multifiliis*, *Spironucleus* sp., *Thometrema* sp. y *Lernaea cyprinacea* constituyendo una ampliación del rango de hospedadores para estas especies. En el caso del flagelado hexamítido *Spironucleus* sp. la presente constituye también la primera cita de un representante del género en peces de agua dulce sudamericanos. Así mismo, a diferencia de los antecedentes nombrados, ninguno de los especímenes presentó parasitismo por el mix-

osporidio branquial *Henneguya linearis* ni por el acantocéfalo *Pomphorhynchus patagonicus* citados previamente por Tanzola *et al.* (1993). Una explicación probable de esta discrepancia se deba a que los referidos estudios se realizaron con una muestra más numerosa de hospedadores y entre los meses de septiembre y diciembre, en tanto, el estudio actual se llevo a cabo con muestras obtenidas entre fines del verano y durante el otoño.

## BIBLIOGRAFÍA

- Bennet, M.F. & C.G. Neville.** 1975. Effects of cold shock on the distribution of leucocytes in goldfish, *Carassius auratus*. *Journal of Comparative Physiology* 98: 213-216.
- Brizzola, S.M. & R.D. Tanzola.** 1995. *Hysterothylacium rhamdiae* sp. n., (Ascariidae: Anisakidae) from a Neotropical catfish, *Rhamdia sapo* (Pisces: Pimelodidae). *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 90 (3): 349 - 352.
- Campbell, T. & F. Murru.** 1990. An Introduction to Fish Hematology. *The Compendium Small Animal* 12(4): 526-532.
- Dacie, J. V. & S. M. Lewis.** 2001. *Practical Haematology*. Ed. Churchill Livingstone, 9th ed., London. 633p.
- Dick, P. T. & D. G. Dixon.** 1985. Changes in circulating blood cell levels of rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson, following acute and chronic exposure to copper. *Journal of Fish Biology* 26: 475-481.
- Ellis, A. E.** 1976. Leucocytes and related cells in the plaice *Pleuronectes platessa*. *J. of Fish Biology* 8: 143-156.
- Enomato, Y.** 1969. On some notes about the fluctuations of the blood leucocyte numbers of the cultured fish. *Bull. of the Tokai Regional Fisheries Research Lab.* 57: 137-177.
- Filho, D. W.; G. J. Eble; G. Kassner, F. X. Caprario; A. L. Dafre & M. Ohira.** 1992. Comparative haematology in marine fish. *Comparative Biochemistry and Physiology* 102 A (2): 311-321.
- Glomski, C. A.; J. Tambuelin & M. Chainani.** 1992. The phylogenetic odyssey of the erythrocyte. III. Fish, the lower vertebrate experience. *Histology and Histopathology*, 7: 501-528.
- Guitang, W.** 1998. Changes in blood cells of tiger puffer, *Takifugu rubripes* caused by the infection with the monogenean *Heterobothrium okamotoi*. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 22: 83-88.
- Guitang, W.; K. Jeong-ho; S. Mamuro & O. Kazuo.** 1997. Detection of antibodies against the monogenean *Heterobothrium okamotoi* in tiger puffer. *Fish Pathology* 32 (3): 179-180.
- Hall, F. G. & I. E. Gray.** 1929. The hemoglobin concentration of the blood of marine fishes. *Journal of Biological Chemistry* 81: 589-94.
- Höglund, J.; J. Andersson & J. Härdig** 1992. Haematological responses in the European eel, *Anguilla anguilla* L., to sublethal infestation by *Anguillicola crassus* in a thermal effluent of the Swedish Baltic. *J. of Fish Diseases* 15: 507-514.
- Kavamoto, E. T.; M. Tavares Ranzani-Paiva & M. Tokumaru.** 1983. Estudos hematólogicos em «bagre» *Rhamdia hilarii* (Val. 1840), teleósteo, no estágio de desenvolvimento gonadal maduro. *Boletim do Instituto de Pesca*, Sao Paulo 10: 53-60.
- Kozińska, A. K.; J. Antychowicz & P. Kostrzewa.** 1999. Influence of thrombocyte activity on the susceptibility of the carp (*Cyprinus carpio* L.) to *Aeromonas hydrophila* infection at different temperatures. *Bull. of the Veterinary Inst. Pulawy* 43: 53-62.
- Margolis, L.; G. W. Esch; J. C. Holmes; A. M. Kuris & G. A. Schad.** 1982. The use of ecological terms in parasitology (Report of an ad hoc Committee of the American Society of Parasitologists). *J. of Parasitology* 61(1): 131-133.
- McCarthy, D.H.; J.P. Stevenson & M.S. Roberts.** 1975. Some blood parameters of the rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). II. The Shasta variety. *J. of Fish Biology*, 7: 215-219.
- Migliano, M. F.** 1967. Curso de hematología clínica veterinária. 179p. (mimeo.).
- Molnar, G. & E. Tamassy.** 1970. Study of haemoglobina content of a single erythrocyte (M index) in various cultured fish species. *J. of Fish Biology* 2: 167-71.
- Moura, M. A. F.; I. P. Farias & A. L. Val.** 1994. Effects of temperature on leucocytes of *Colossoma macropomum* and *Hoplosternum littorale*. *Brazilian J. of Medical and Biological Research* 27: 1589-1598.
- Nair, G. A. & N. B. Nair.** 1983. Effect of infestation with isopod *Alitropus typus* M. Edwards (Crustacea: Flabellifera: Aegidae) on the haematological parameters of the host fish *Channa striatus* (Bloch.). *Aquaculture* 30: 11-19.
- Ogawa, K. & K. Inouye.** 1997. *Heterobo-*

- thrium* infection of cultured tiger puffer, *Takifugu rubripes*- A field observation. Fish Pathology 32: 15-27.
- Pérez, J. E.; A. Boada & G. Ojeda.** 1984. Blood parameter in fishes. III. Hemoglobin concentration, hematocrit and the number of red blood cells in some freshwater fishes of eastern Venezuela. Boletín del Instituto de Oceanografía de Venezuela 23 (1-2): 43-47.
- Pickering, A. D.** 1986. Changes in blood cell composition of the brown trout, *Salmo trutta* L., during the spawning season. J. of Fish Biology 29: 335-347.
- Ranzani-Paiva, M. J. T. & H. M. Godinho.** 1983. Sobre células sanguíneas e contagem diferencial de leucócitos e eritroblastos em curimbatá, *Prochilodus scrofa* Steindachner, 1881 (Osteichthyes, Characiformes, Prochilodontidae). Revista Brasileira de Biología 43: 331-338.
- Reichenbach Klinke, H.H.** 1980. Enfermedades de los peces. Ed. Acribia, Zaragoza. 507p.
- Rijkers, G. T.; A. G. Teunissen; R. Van Oosterom. & W. B. Van Muiswinkel.** 1980. The immune system of cyprinid fish. The immunosuppressive effect of the antibiotic oxytetracycline in carp (*Cyprinus carpio* L.). Aquaculture 19: 177-189.
- Ringuelet, R. A.** 1975. Zoogeografía y ecología de los peces de aguas continentales de la Argentina y consideraciones sobre las áreas ictiológicas en América del Sur. Ecosur 2 (3): 1-122.
- Rowley, A. F.; T. C. Hunt; M. Page & G. Mainwaring.** 1988. Vertebrate blood cells. Fish.
- Silva-Souza, A. T.; S. C. Almeida & P. M. Machado.** 2000. Effect of the infestation by *Lernaea cyprinacea* Linnaeus, 1758 (Copepoda, Lernaeidae) on the leucocytes of *Schizodon intermedius* Garavello & Britski, 1990 (Osteichthyes, Anostomidae). Revista Brasileira de Biología 60 (2): 217-220.
- Stosik, M.** 1993. Morfologia i aktywność fagocytarna trombocytów karpia, *Cyprinus carpio*. L. Medycyna Weterinaria 49: 184-186.
- Tanzola, R. D.; S. M. Brizzola; M. Arias & C. M. Grassini.** 1993. Estudio preliminar de la parasitofauna de *Rhamdia sapo* (Siluriformes: Pimelodidae) en el sistema hidrográfico de Ventania. V Jornadas Pampeanas de Ciencias Naturales. Noviembre de 1993. Santa Rosa, La Pampa.
- Tavares-Dias, M.; M. Laterça Martins & S. do Nascimento Kronka.** 1999a. Evaluation of the haematological parameters in *Piaractus mesopotamicus* Holmberg (Osteichthyes, Characidae) whit *Argulus* sp. (Crustacea, Branchiura) infestation and treatment whit organophosphate. Revista Brasileira de Zoologia 16 (2): 553-555.
- Tavares-Dias, M.; E. F. Silva Sandrim & E. de Campo-Filho.** 1999b. Características hematológicas de tambaqui *Colossoma macropomum* Cuvier (Osteichthyes, Characidae) em sistema de monocultivo intensivo. II. Leucócitos. Revista Brasileira de Zoologia 16 (1): 175-184.
- Tavares-Dias, M.; R.A. Tenani; L. D. Gioli & C. D. Faustino.** 1999c. Características hematológicas de teleósteos brasileiros. II. Parâmetros sanguíneos do *Piaractus mesopotamicus* Holmberg (Osteichthyes, Characidae) em policultivo intensivo. Revista Brasileira de Zoologia 16 (2): 423-431.
- Wintrobe, M. M.** 1934. Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. Folia Haematologica 51: 32-49.