

**Centro de Investigación Científica y de Educación
Superior de Ensenada, Baja California**



**Programa de Posgrado en Ciencias
en Acuicultura**

**Carga parasitaria e índices biológicos y hematológicos en
híbridos de tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis
mossambicus*) cultivada en agua de mar**

Tesis

para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de
Maestro en Ciencias

Presenta:

Luis Fernando Meza Escatel

Ensenada, Baja California, México
2015

Tesis defendida por

Luis Fernando Meza Escatel

y aprobada por el siguiente Comité

Dra. Mónica Hernández Rodríguez
Codirector de tesis

Dr. Oscar Basilio Del Rio Zaragoza
Codirector de tesis

Dr. Jorge Abelardo Cáceres Martínez

Dra. Ma. Elena Solana Arellano



Dra. Beatriz Cordero Esquivel
Coordinador del Posgrado en Acuicultura

Dra. Rufina Hernández Martínez
Director de Estudios de Posgrado

Luis Fernando Meza Escatel © 2015

Queda prohibida la reproducción parcial o total de esta obra sin el permiso del autor

Resumen de la tesis que presenta **Luis Fernando Meza Escatel** como requisito parcial para la obtención del grado de Maestro en Ciencias en Acuicultura.

Carga parasitaria e índices biológicos y hematológicos en híbridos de tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis mossambicus*) cultivada en agua de mar

Resumen aprobado por:

Dra. Mónica Hernández Rodríguez
Codirectora de tesis

Dr. Oscar Basilio Del Rio Zaragoza
Codirector de tesis

Por su volumen de producción, la tilapia, que agrupa diferentes especies de los géneros, *Sarotherodon*, *Oreochromis*, *Tilapia* y sus híbridos, constituye la segunda producción acuícola más importante en agua dulce a nivel mundial; sin embargo, la disponibilidad de agua dulce ha disminuido en las últimas décadas, por lo que una alternativa es su cultivo en agua de mar ya que este grupo de peces son considerados eurihalinos. Recientemente en México, específicamente en Nayarit, el híbrido de tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis mossambicus*) se ha cultivado en jaulas flotantes en el mar. Al introducir una especie a un hábitat diferente es importante conocer la fauna parasitaria que la podría afectar ya que, en las nuevas condiciones, podría incrementar su efecto negativo en el hospedero, representando un peligro potencial que se reflejaría en pérdidas económicas. Por lo anterior, es necesario conocer la fauna parasitaria que afecta a la especie en cuestión y determinar cuál o cuáles parásitos deben ser controlados en el nuevo ambiente. El objetivo del trabajo tuvo tres componentes: a) conocer la carga parasitaria en el híbrido de tilapia (*O. niloticus* x *O. mossambicus*) cultivado en agua de mar; b) evaluar el efecto de los parásitos sobre las variables hemáticas y la química sanguínea, y c) determinar si la carga parasitaria podría afectar los índices biológicos en estos organismos. Se examinaron 123 peces cultivados en jaulas flotantes en la Bahía de Santa Cruz de Miramar, Nayarit, México. El peso y longitud promedio de los organismos fue de 176.5 ± 56.21 g y 21.2 ± 2.2 cm respectivamente. Se encontraron tres especies de ectoparásitos: *Neobenedenia* sp. (P= 95.05 % e IP= 17.2 parásitos / pez), *Caligus* sp. (P= 8.9 % e IP= 1.09 parásitos / pez) y *Lernaeernicus* sp. (P= 0.81 % e IP= 1 parásito / pez), este último es el primer reporte en tilapia en agua de mar en México. La mayor intensidad parasitaria se encontró en los peces de mayor peso y talla. El hematocrito fue de 30.09 ± 6.7 %, con diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los peces no parasitados y el nivel 1 de infestación con el nivel 2 y 3 de infestación. El WBC mostró diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los peces parasitados y no parasitados. El RBC, monocitos, granulocitos (eosinófilos, basófilos y neutrófilos), trombocitos y proteínas totales no presentaron diferencias significativas entre los peces parasitados y no parasitados, al igual que los índices de condición, hepatosomático y esplenosomático. Es probable que las corrientes que se presentan en el sitio de cultivo y la baja densidad de siembra ($10 \text{ kg} / \text{m}^3$), favorecieron que las tilapias tuvieran bajas intensidades parasitarias. Las variables hematológicas e índices biológicos en el cultivo de tilapia en agua de mar, proporcionaron información básica de la condición fisiológica de los peces, y se proponen como una herramienta para establecer el potencial efecto negativo de los parásitos en la producción de este recurso.

Palabras clave: Parásitos, hematología, índices biológicos, Tilapia.

Abstract of the thesis presented by **Luis Fernando Meza Escatel** as a partial requirement to obtain the Master of Science in Aquaculture

Parasite load and biological and haematological indices in hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis mossambicus*) cultured in seawater

Abstract by:

Dra. Mónica Hernández Rodríguez
Codirector thesis

Dr. Oscar Basilio Del Rio Zaragoza
Codirector thesis

For its volume production, tilapia, which includes different species of the genus, *Sarotherodon*, *Oreochromis*, *Tilapia* and their hybrids, is the second largest fresh water aquaculture production worldwide; however, the availability of fresh water has decreased in recent decades, so an alternative is its cultivation in seawater as this group of fish are considered euryhaline. Recently in Mexico, specifically in Nayarit, hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis mossambicus*) has been grown in floating cages in the sea. When introducing a species to a different habitat is important to know the parasitic fauna that could affect because in the new conditions, which could increase its negative effect on the host, representing a potential hazard that would be reflected in economic losses. Therefore, it is necessary to know the parasitic fauna that affects the species in question and determine which parasite or parasites must be controlled in the new environment. The objective of this study had three components: a) learn the parasite load in the hybrid tilapia (*O. niloticus* x *O. mossambicus*) grown in seawater; b) evaluate the effect of parasites on hematological and blood chemistry variables, and c) establish if the parasite load could affect biological indices in these organisms. 123 farmed fish in floating cages in the Bay of Santa Cruz de Miramar, Nayarit, Mexico were examined. The average weight and length of the bodies was 176.5 ± 56.21 g and 21.2 ± 2.2 cm respectively. Three species of ectoparasites were found: *Neobenedenia* sp. (P = 95.05% and IP = 17.2 parasites / fish), *Caligus* sp. (P = 8.9% and IP = 1.09 parasites / fish) and *Lernaeernicus* sp. (P = 0.81% and IP = 1 parasite / fish), the latter is the first report on tilapia cultured in sea water in Mexico. The biggest parasitic intensity is found in fish of greater weight and size. The hematocrit was $30.09 \pm 6.7\%$, with significant differences ($p < 0.05$) among non parasitized fish and infestation level 1 to level 2 and 3 of infestation. The WBC showed significant differences ($p < 0.05$) between parasitized and non parasitized fish. The RBC, monocytes, granulocytes (eosinophils, basophils and neutrophils), thrombocytes and total protein did not differ significantly between parasitized and non parasitized fish, as well as condition, hepatosomatic and splenosomatic indices. It is likely that the currents that occur at the site of cultivation and low stocking density ($10 \text{ kg} / \text{m}^3$), had favored the low parasitic currents in tilapia. Hematological and biological variables in growing tilapia in sea water rates, provided basic information on the physiological condition of the fish, and are proposed as a tool to establish the potential negative effect of parasites in the production of this resource.

Keywords: Parasites, haematology, biological indices, Tilapia

Dedicatoria

Este triunfo es para Ustedes.

Mis Padres:

Ezequiel Meza Delgado y Yesenia Escatel Melendrez

Y Hermanos:

Cesar Alberto, Claudia y Yesenia Ruby Meza Escatel

Gracias por todos sus consejos y su gran apoyo,
por haber hecho de mí lo que soy.

Los quiero con toda mi Alma.

Con todo mi amor y cariño comparto este logro
Contigo, me has hecho sentir la persona
más afortunada del planeta por tenerte a mi lado.
Gracias a todos los momentos gratos e
inolvidables que me hiciste pasar
Para ti con todo mi Corazón.

“Vive como si fueras a morir mañana. Aprende como si fueras a vivir siempre”

Mahatma Gandhi

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico (beca) otorgado, ya que sin este no hubiera sido posible la realización de este trabajo.

Al Posgrado en Acuicultura del Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE), por darme la oportunidad de realizar mis estudios de maestría.

A mis directores de tesis: Dra. Mónica Hernández Rodríguez y Dr. Oscar Basilio del Rio Zaragoza, gracias por sus consejos, apoyo y comentarios, y sobre todo agradezco su paciencia y esfuerzo para la realización de este trabajo.

A mi comité de tesis: Dra. Elena Solana Arellano y Dr. Jorge Abelardo Cáceres Martínez. Por sus acertados comentarios, recomendaciones y opiniones, que ayudaron a la conclusión de este trabajo.

A la Sociedad Cooperativa “Blakis en Progreso”, por permitir realizar mis experimentos en sus instalaciones, en especial al presidente Leonardo Ibarra Rojas y al técnico German Rodríguez Ramírez, por brindarme su apoyo durante los muestreos en la zona de cultivo.

Al Dr. Oscar Iram Zavala Leal, responsable del Laboratorio de Histología de la Escuela Nacional de Ingeniería Pesquera (ENIP), por permitirme realizar los experimentos requeridos para este trabajo.

Al Dr. Manuel Iván Girón Pérez, responsable del Laboratorio de Inmunotoxicología de la Universidad Autónoma de Nayarit (UAN). Por brindarme su apoyo y permitirme realizar los experimentos complementarios de mi trabajo de tesis. De igual forma agradezco el apoyo de su equipo: Lic. Gladys A. Toledo Ibarra, M en C. Karina J. Díaz Reséndiz, Ramón A. Felix, Neil X. Fonseca Torres, Rocío G. Barcelos y M en C. Carlos E. Covantes, muchas gracias por su amistad.

A todos los doctores que ayudaron en mi formación académica: Dr. Miguel Ángel del Rio Portilla, Dr. Manuel Segovia Quintero, Dra. Fabiola Lafarga, Dra. Mary Isabel Baez Hidalgo, M. en C. José Espinoza, Dr. Juan Pablo Lazo Corvera y Dra. Beatriz Cordero Esquivel.

Al personal técnico, en especial a Yanet Guerrero Rentería y Luis Murillo Valenzuela, personal administrativo y de seguridad del Departamento de Acuicultura y del CICESE, que me apoyaron en algún momento durante mi maestría.

A mis compañeros de generación: Candy Armuelles, Lucia Suarez, Denisse Chávez, Sara Enciso, Humberto Madero, Yessica Hernández, Romy Martínez, Héctor Ávila, Constanza Ochoa, Stefanny Córdova, Ingrid Bautista y Carolina Romero. Gracias por todos los momentos y experiencias que pase a su lado.

A todos mis amigos que todo el tiempo estuvieron a mi lado brindándome su amistad y apoyo. Por alentarme a nunca rendirme y seguir adelante ante todo. Muchas gracias, comparto con todos ustedes este logro.

A todas las personas que me apoyaron en algún momento de mi formación académica.

Tabla de contenido

Resumen en español.....	ii
Resumen en inglés.....	iii
Dedicatoria.....	iv
Agradecimientos	v
Tabla de contenido.....	vii
Lista de figuras.....	viii
Lista de tablas	x
Capítulo 1. Introducción	1
Capítulo 2. Justificación	11
Capítulo 3. Hipótesis	13
Capítulo 4. Objetivos.....	14
Capítulo 5. Materiales y métodos.....	15
5.1 Área de estudio	15
5.2 Colecta y toma de muestras.....	16
5.3 Carga parasitaria e índices biológicos	17
5.4 Análisis sanguíneos	20
5.5 Análisis estadístico.....	23
Capítulo 6. Resultados.....	24
6.1 Carga parasitaria	24
6.2 Análisis sanguíneos.....	31
6.3 Índices biológicos.....	40
Capítulo 7. Discusiones	44
7.1 Variables hematológicas	50
7.2 Índices biológicos.....	62
Capítulo 8. Conclusiones.....	66
Lista de referencias bibliográficas	68
Anexos	87

Lista de figuras

	Página
Figura 1. Vista ventral del adulto de <i>Neobenedenia melleni</i> (MacCallum, 1927) Yamaguti, 1963 modificado por MacCallum's. Escala de la barra = 500µm. aa, órgano de fijación anterior en forma de disco; p, faringe; pe, pene; u, útero; oo, ootype; vr, reservorio vitelino; vd, bazo deferente; g, germarium; ic, cámara de fertilización interna; t, testículos; vf, folículo vitelino; m, valva marginal; as, esclerita accesoria; ho, ganchos marginales; te, tendón; h, haptor; ph, hamuli posterior; ah, hamuli anterior; (b) esclerita accesoria; (c) hamuli anterior; (d) hamuli posterior; (e) gancho marginal. Escala de la barra = 100 µm. (f) huevo. Escala de la barra = 100 µm. Imagen tomada de Whittington y Horton, 1996.	6
Figura 2. Ciclo de vida de <i>Caligus rogercresseyi</i> . Imagen tomada de González y Carvajal, 2003. n1) nauplio 1; n2) nauplio 2; cop) copepodito; ch1) calimus 1; ch2) calimus 2; ch3) calimus 3; ch4) calimus 4; ya) pre-adulto; am) macho adulto; af) hembra adulto con cadena de huevos.....	7
Figura 3. Ubicación geográfica del sitio de estudio en la Bahía de Santa Cruz de Miramar, Nayarit, México (Fuente INEGI, 2010).	15
Figura 4. Red tipo cuchara con la que se capturaron a las tilapias dentro de la jaula.....	17
Figura 5. Branquias de tilapias que fueron cultivadas en agua de mar.	18
Figura 6. Vista ventral del adulto de <i>Neobenedenia</i> sp. of, órgano de fijación anterior; f, faringe; pe, pene; rv, reservorio vitelino; cf, cámara de fertilización interna; t, testículos; vf, folículo vitelino; vm, valva marginal; ae, accesorio escleritas; gm, ganchos marginales; h, haptor; hp, hamuli posterior.....	26
Figura 7. <i>Neobenedenia</i> sp. A) Testículos (t) y cámara de fertilización (cf); B) Órganos de fijación anteriores (of) y faringe (f); C) Haptor (h); D) Cadena de huevos (ch).	27
Figura 8. <i>Caligus</i> sp. A) Macho adulto; B) Hembra adulto. CG= Complejo genital.....	28
Figura 9. <i>Lernaeenicus</i> sp. A) Vista dorsal de una hembra del estadio “hembra en el ojo”; B) segmento genital; C) Bandas dorsolaterales abdominales; D) Lamelas de la proyección bucal.	30
Figura 10. Frecuencia de parásitos distribuidos en el cuerpo del híbrido de tilapia (<i>O. niloticus</i> x <i>O. mossambicus</i>) cultivada en agua de mar.	32

Figura 11. Valores del hematocrito del híbrido de tilapia (<i>O. niloticus</i> x <i>O. mossambicus</i>), con diferentes niveles de infestación parasitaria. Las letras diferentes en el gráfico indican diferencias estadísticas entre medias ($p < 0.05$).	33
Figura 12. Dendograma de la variable hematocrito del híbrido de tilapia (<i>O. niloticus</i> x <i>O. mossambicus</i>), con diferentes niveles de infestación parasitaria utilizando la distancia euclidiana.....	34
Figura 13. Valores de los leucocitos (WBC) del híbrido de tilapia (<i>O. niloticus</i> x <i>O. mossambicus</i>), con diferentes niveles de infestación parasitaria. Las letras diferentes indican diferencias significativas entre medias ($p < 0.05$).	34
Figura 14. Eritrocitos inmaduros (EI), eritrocitos maduros (EM) y Monocitos (M), del híbrido de tilapia (<i>O. niloticus</i> x <i>O. mossambicus</i>) cultivada en agua de mar.	36
Figura 15. Linfocitos (L) del híbrido de tilapia (<i>O. niloticus</i> x <i>O. mossambicus</i>) cultivada en agua de mar.	37
Figura 16. Monocitos normales (MN), monocitos irregulares (MI) y linfocitos (L) del híbrido de tilapia (<i>O. niloticus</i> x <i>O. mossambicus</i>) cultivada en agua de mar.	37
Figura 17. Trombocitos (T) y linfocitos (L) del híbrido de tilapia (<i>O. niloticus</i> x <i>O. mossambicus</i>) cultivada en agua de mar.	38
Figura 18. Basófilo (B) y linfocitos (L) del híbrido de tilapia (<i>O. niloticus</i> x <i>O. mossambicus</i>) cultivada en agua de mar.	39
Figura 19. Neutrófilo (N) del híbrido de tilapia (<i>O. niloticus</i> x <i>O. mossambicus</i>) cultivada en agua de mar.	39
Figura 20. Peso (g) del híbrido de tilapia (<i>O. niloticus</i> x <i>O. mossambicus</i>), a diferentes niveles de infestación parasitaria. Las letras diferentes representan diferencias significativas entre medias ($p < 0.05$).	41
Figura 21. Longitud (cm) del híbrido de tilapia (<i>O. niloticus</i> x <i>O. mossambicus</i>), a diferentes niveles de infestación parasitaria. Las letras diferentes indican diferencias significativas entre medias ($p < 0.05$).	42
Figura 22. Dendograma de la variable longitud del híbrido de tilapia (<i>O. niloticus</i> x <i>O. mossambicus</i>); a diferentes niveles de infestación parasitaria utilizando la distancia euclidiana.....	42

Lista de tablas

Página

- Tabla 1.** Caracterización de las infestaciones causadas por los ectoparásitos en el híbrido de tilapia (*O. niloticus* x *O. mossambicus*) cultivada en agua de mar. HP= Hospederos parasitados, P= Prevalencia, IP= Intensidad promedio, AM= Abundancia media, Ip= Intervalo de parásitos.....**31**
- Tabla 2.** Parámetros hematológicos del híbrido de tilapia (*O. niloticus* x *O. mossambicus*) entre 56-300 g cultivada en agua de mar. Htc= Hematocrito, RBC= Recuento de eritrocitos, WBC= Recuento de leucocitos, PT= Proteínas totales. n = 123**32**
- Tabla 3.** Parámetros hematológicos del híbrido de tilapia (*O. niloticus* x *O. mossambicus*) infestada con el monogéneo *Neobenedenia* sp. Htc= Hematocrito, RBC= Recuento de eritrocitos, WBC= Recuento de leucocitos, PT= Proteínas totales. Las letras diferentes indican diferencias significativas entre medias ($p < 0.05$).....**35**
- Tabla 4.** Biometría e índices biológicos del híbrido de tilapia (*O. niloticus* x *O. mossambicus*) cultivada en agua de mar. IC= Índice de condición, IH= Índice hepatosomático, IE= Índice esplenosomático.....**40**
- Tabla 5.** Biometría e índices biológicos del híbrido de tilapia (*O. niloticus* x *O. mossambicus*) infestada con el monogéneo *Neobenedenia* sp. IC= Índice de condición, IH= Índice hepatosomático, IE=Índice esplenosomático.....**43**

Capítulo 1. Introducción

La acuicultura es una de las actividades con mayor potencial y desarrollo, en las últimas tres décadas ha alcanzado un mayor crecimiento, debido a que los productos acuícolas (peces, crustáceos y moluscos) representan una fuente proteica y de nutrientes esenciales para la nutrición humana (Campos *et al.*, 2012). En 2009, el pescado representó el 16 % del aporte de proteína animal a nivel mundial y el 6.5 % de toda la proteína consumida (SOFIA, 2012). No obstante, este desarrollo ha sido insuficiente debido al aumento en la población y por ende en la demanda de pescado (Alvarez *et al.*, 2012).

En México aproximadamente el 80 % de la acuicultura se desarrolla de forma extensiva, principalmente en agua dulce y en menor cantidad en agua de mar y salobre (Carta Nacional Acuícola, 2012). La producción acuícola tuvo un crecimiento significativo de 6.2 % del 2004 al 2009, al pasar de una producción de 41.9 a 55.1 millones de toneladas (Carta Nacional Acuícola, 2012). En el año 2011, la acuicultura aportó el 15.83 % de la producción pesquera, representada principalmente por tres especies: camarón, tilapia y ostión (Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca, 2013).

La producción anual de tilapia cultivada en agua dulce a nivel nacional es de 71,135 toneladas (Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca, 2013), de las cuales la acuicultura aporta el 91 % de la producción y actualmente, la tilapia se cultiva en los 31 estados de la República Mexicana (Carta Nacional Acuícola, 2012).

La tilapia pertenece a la familia Cichlidae y comprende tres géneros: *Sarotherodon*, *Oreochromis* y *Tilapia* (Chebaani *et al.*, 2014). La tilapia es una especie endémica de África y del cercano oriente que a través de los años ha sido introducida en varios ecosistemas, y actualmente se cultiva en 85 países (Gonzales-Fernández, 2012). La tilapia se introdujo en México en 1964, importando reproductores procedentes de la Universidad de Auburn, Alabama, E.U.A. (Arredondo y Lozano, 1996). En 1981 se comenzó a reproducir de forma controlada con la importación del híbrido conocido como tilapia red Florida, obtenido de la cruce de dos especies *Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis urolepis hornorum* (Martínez, 2003), y en 1987 se

introdujo la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) procedente de Panamá. En México el cultivo de *Tilapia rendalli*, *O. mossambicus* y *O. aureus* inicio en 1964 en el Estado de Oaxaca (Arredondo *et al.*, 1994).

La tilapia se encuentra en ambientes tropicales y subtropicales, todas las especies son euritéricas y pueden sobrevivir desde los 12 °C hasta los 42 °C (Arredondo y Lozano, 1996). Algunas de sus características principales es que son de rápido crecimiento, amplia tolerancia a las variaciones en los parámetros fisicoquímicos (oxígeno, temperatura y salinidad) del agua, son resistentes a enfermedades y soportan hasta 40 ups (Stickney, 1986). Estas particularidades la convierten en una especie apta para la piscicultura, ya que puede ser cultivada en agua dulce, salobre y marina en distintos sistemas de cultivo (Stickney, 1993). En años recientes, la tilapia (*Oreochromis* spp.) se ha convertido en uno de los peces de agua dulce comercialmente más importantes en la acuicultura a nivel mundial (Aguirre, 2009). Actualmente, diez especies de tilapia se cultivan con éxito en agua dulce de las cuales las más cultivadas son *O. aureus*, *O. niloticus* y *O. mossambicus*, así como varios híbridos de estas especies (Alamilla, 2004).

En la actualidad la disponibilidad de agua dulce es un factor limitante para la acuicultura de especies dulceacuícolas, ya que este recurso es destinado principalmente para usos agrícolas, industriales y consumo humano. La creciente popularidad de la tilapia y las necesidades de producción de alimentos (Mena-Herrera *et al.*, 2002), ha llevado a generar nuevas tecnologías y selección de sitios para el cultivo de la tilapia en aguas salobres y marinas (Martínez, 2003). En el proceso de aclimatación de las tilapias al agua de mar es importante considerar la concentración de sales en el agua, la especie y línea genética, la edad y talla de los peces, ya que estos influyen en la supervivencia de los organismos (Martínez, 2003).

Los primeros experimentos del cultivo de tilapia en agua de mar comenzaron en Hawaii en 1950, el objetivo era garantizar la disponibilidad de carnada viva para la pesquería de túnidos (Hida *et al.*, 1962). Al mismo tiempo, en Israel se iniciaron los estudios a pequeña escala con las especies de *O. aureus* y *Tilapia zillii*; los resultados fueron satisfactorios, por lo que abrió la posibilidad de utilizarse en sistemas acuícolas (Chervinski y Zorn, 1974).

A pesar de que en estudios previos se comprobó la factibilidad de cultivar la tilapia en agua de mar, fue hasta la década de los 80's que tomó auge en la industria acuícola (Martínez, 2003). Actualmente la tilapia se cultiva en forma comercial en países como Hawaii (Kaneko *et al.*, 1988), Jamaica (Robinson *et al.*, 1989), Kuwait (Hopkins *et al.*, 1989), Bahamas (Ernest *et al.*, 1989) y Puerto Rico (Bunkley-Williams y Williams, 1995).

La aclimatación de los juveniles de tilapia al agua de mar se puede hacer de forma directa de 0 ups a 18-23 ups (Watanabe *et al.*, 1985), de 0 ups a 25.2 ups (Al-Almoudi, 1987) y de 0 ups a 15-20 ups (Villegas, 1990). Otro método es la aclimatación gradual, para lo cual se requiere de dos a cinco días, llevando a los organismos de 0 ups a 35 ups. En este proceso, el gasto de agua es mayor, además del aumento en mano de obra (Martínez, 2003).

La producción de peces en jaulas en ambientes marinos se está practicando en varios países. El éxito del cultivo de tilapia en agua de mar y la creciente demanda ha propiciado un aumento en las densidades de cultivo, lo que ocasiona estrés y por ende se rompe el equilibrio entre parásitos y huéspedes, propiciando que diferentes estresores promuevan el desarrollo de enfermedades infecciosas (Subashinge *et al.*, 1996 y Crespo y Crespo, 2003).

El cultivo de peces en jaulas en ambientes marinos, en sus inicios no tenían problemas con parásitos ya que la biomasa de siembra era baja (10-40 peces / m³). A medida que se incrementó el nivel de producción, también aumentó el problema del parasitismo en los peces (González y Carvajal, 1994). Ante esta situación, los resultados fueron pérdidas económicas causadas por mortalidades, impacto negativo en el crecimiento de los peces y susceptibilidad a la depredación (Crowden y Broom, 1980).

Entre las enfermedades infecciosas, las parasitosis que más afectan los cultivos de peces en agua de mar están las causadas por monogéneos y algunas especies de crustáceos (Feist y Longshaw, 2008); su presencia aumenta en altas densidades de siembra y por las condiciones ecológicas (Vidal-Martínez *et al.*, 2002), especialmente en los cultivos realizados en aguas tropicales y semitropicales, donde

la intensidad parasitaria aumenta significativamente (Flores-Crespo *et al.*, 1992 y Flores-Crespo y Flores, 1993). En los peces se ha documentado que la presencia de parásitos monogéneos causan heridas en el tegumento de las zonas afectadas, inflamación y necrosis, dando pauta a la entrada de protozoarios, hongos y bacterias patógenas oportunistas (Harris *et al.*, 1998 y Paperna, 1991).

Los parásitos monogéneos son platelmintos en su mayoría ectoparásitos de la piel y de las branquias de los peces marinos y de agua dulce (Pereira Bueno y Ferre Pérez, 1997) que afectan preferencialmente a los organismos jóvenes (Crespo y Crespo, 2003); estos se alimentan de mucus, células epiteliales y sangre (Reed *et al.*, 2012). Actualmente se encuentran distribuidos a nivel mundial y se han descrito entre 4,000 y 5,000 especies (Reed *et al.*, 2012). En México se han reportado en más de 100 especies de peces en el Mar Caribe, Golfo de México, Golfo de California y Océano Pacífico (Whittington y Horton, 1996 y Bullard *et al.*, 2000). Los monogéneos se dividen en dos grandes Subclases, Polyopisthocotylea que se encuentran en branquias y se alimentan exclusivamente de sangre, y la Subclase Monopisthocotylea que se encuentran en las aletas, piel, branquias, ojos y cavidad bucal (Feist y Longshaw, 2008).

El cuerpo de los monogéneos monopistocotiloideos tienen un tamaño que va de 30 μm a 2 cm de largo, son transparentes, rosados o de color crema. Tienen un órgano de fijación llamado haptor, habilitado con ganchos que reciben el nombre de hamulis con los que perforan el tejido epitelial de los peces (Figura 1) (Bunkley-Williams y Williams, 1995). Los monogéneos son de ciclo directo, es decir, solo necesitan a un huésped para completar su ciclo de vida. El desarrollo de los monogéneos es directo, la larva ciliada (oncomiracidio) que eclosiona del huevo es libre y constituye la forma infectante. Cuando el oncomiracidio se ha fijado al hospedero, pierde su revestimiento ciliado y crece hasta desarrollarse en adulto (Pereira Bueno y Ferre Pérez, 1997). La familia Capsalidae es una de las más representativas de los monogéneos marinos, la cual está constituida por 45 géneros (Whittington *et al.*, 2004).

Los monogéneos como *Benedenia* sp. y *Neobenedenia* sp. (Capsalidae) son parásitos obligados y representan un problema en los sistemas de cultivo en jaulas

marinas (Quispe Maica, 2005), donde sus huevos se adhieren a la red con un filamento alargado y pegajoso, lo que facilita la infestación de los peces (Whittington y Kearns, 1993).

Los monogéneos capsálidos han ocasionado mortalidades en peces marinos (Nigrelli, 1943). Las parasitosis por este grupo han incrementado con el aumento de los cultivos, como en el caso del jurel cola amarilla *Seriola quinqueradiata* en Japón (Hoshina, 1968). En Puerto Rico, la especie *Neobenedenia melleni* (MacCallun, 1927) ha devastado cultivos de tilapia en agua de mar (Bunkley-Williams y Williams, 1995). En Hawaii, Kaneko *et al.* (1988) reportaron *N. melleni* en cultivos de tilapia *Oreochromis mossambicus*. Robinson *et al.* (1989) documentaron para Jamaica, la presencia de *N. melleni* en híbridos de tilapia (*Oreochromis* spp.) cultivada en agua de mar. En la tilapia red florida (*O. urolepis hornorum* x *O. mossambicus*) cultivada en las Bahamas, también se observó la presencia de *N. melleni* (Mueller *et al.*, 2007). En el caso de México Rubio-Godoy (2011), comparó la susceptibilidad de dos especies de tilapia, *O. mossambicus* y el denominado pargo UNAM (híbrido compuesto de 50 % tilapia red florida, 25 % tilapia rocky mountain y 25 % *O. niloticus*) a *Neobenedenia* sp., donde registró una supervivencia del 13 % en el pargo UNAM y 66 % en *O. mossambicus*.

Los crustáceos parásitos como los isópodos, braquiuros y copépodos abundan en el cultivo de peces marinos (Feist y Longshaw, 2008). Las pérdidas económicas que ocasionan estos parásitos son significativas, debido a que retardan el crecimiento de los peces infestados, afectan la fecundidad y la supervivencia de sus hospederos, además generan altos costos para la prevención y el tratamiento de estos parásitos (Piasecki y Mackinnon, 1995 y Pike y Wadsworth, 1999).

Las especies de la familia Caligidae (copépodos) como *Lepeophtheirus salmonis* y *Caligus elongatus*, se han convertido en las principales especies de parásitos que prevalecen en los salmónidos en cultivo (Mackinnon, 1997).

Las especies del género *Caligus* son ectoparásitos que afectan a los peces en cultivo, ocasionan daños en la epidermis y grandes mortalidades debido a que la piel, es uno de los tejidos que participan en los procesos de osmorregulación de

estos organismos (Suárez-Núñez, 2010), además de que la erosión en el tejido aumenta la probabilidad de infecciones secundarias (Boxhall y Dafaye, 1993 y Berland, 1997). Lin (1994), reportó la presencia de *Caligus acanthopagri* en cultivos de tilapia *O. mossambicus* en Taiwán y el parásito *Caligus epidemicus* en la tilapia *Oreochromis aurea* en Filipinas (Lin, 1996).

El ciclo de vida de los copépodos del genero *Caligus* consiste en cinco fases y 10 estadios. Dos estadios de nauplio de vida libre, un estadio de copepodito infectivo, cuatro estadios de calimus, un estadio pre-adulto de vida libre y el adulto (González y Carvajal, 2003) (Figura 2).

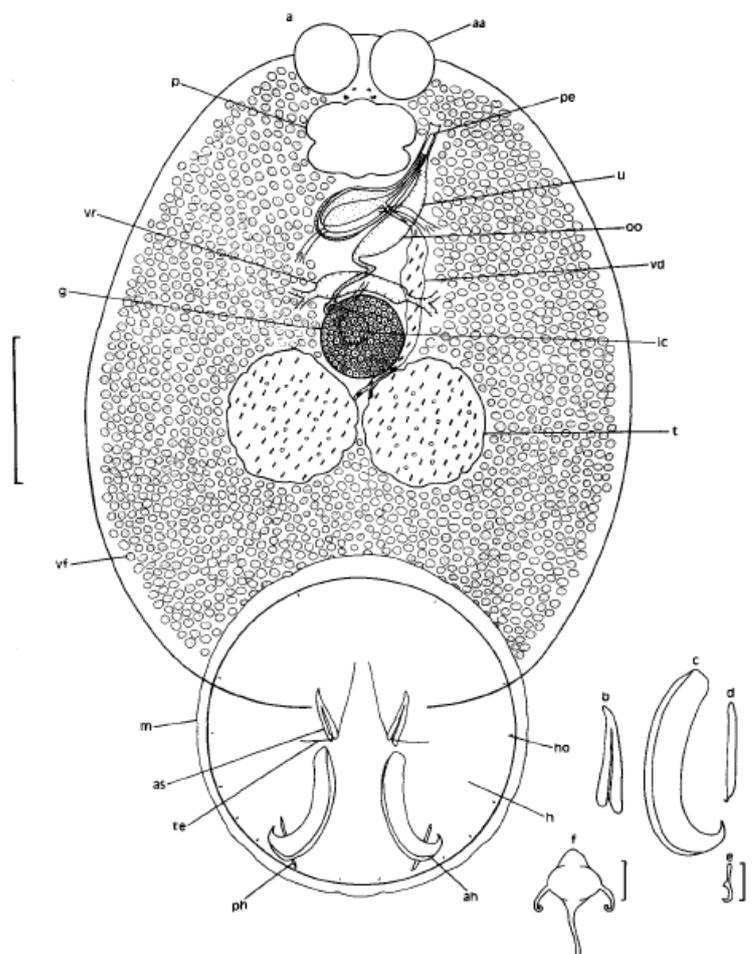


Figura 1. Vista ventral del adulto de *Neobenedenia melleni* (MacCallum, 1927) Yamaguti, 1963 modificado por MacCallum's. Escala de la barra = 500µm. aa, órgano de fijación anterior en forma de disco; p, faringe; pe, pene; u, útero; oo, ootipo; vr, reservorio vitelino; vd, bazo deferente; g, germarium; ic, cámara de fertilización interna; t, testículos; vf, folículo vitelino; m, valva marginal; as, esclerita accesoria; ho, ganchos marginales; te, tendón; h, haptor; ph, hamuli posterior; ah, hamuli anterior; (b) esclerita accesoria; (c) hamuli anterior; (d) hamuli posterior; (e) gancho marginal. Escala de la barra = 100 µm. (f) huevo. Escala de la barra = 100 µm. Imagen tomada de Whittington y Horton, 1996.

El impacto de los parásitos en los cultivos de peces marinos de importancia económica ha aumentado la necesidad de investigar la relación parásito-hospedero, con énfasis en la respuesta inmune (Alvarez-Pellitero, 2008). En los últimos años se han incrementado los estudios sobre la fisiología, filogenia y ontogenia del sistema inmune de los peces (Fernández *et al.*, 2002), y se ha llegado a una mejor comprensión de los mecanismos de defensa y reconocimiento inmune en la respuesta a los patógenos (Alvarez-Pellitero, 2008).

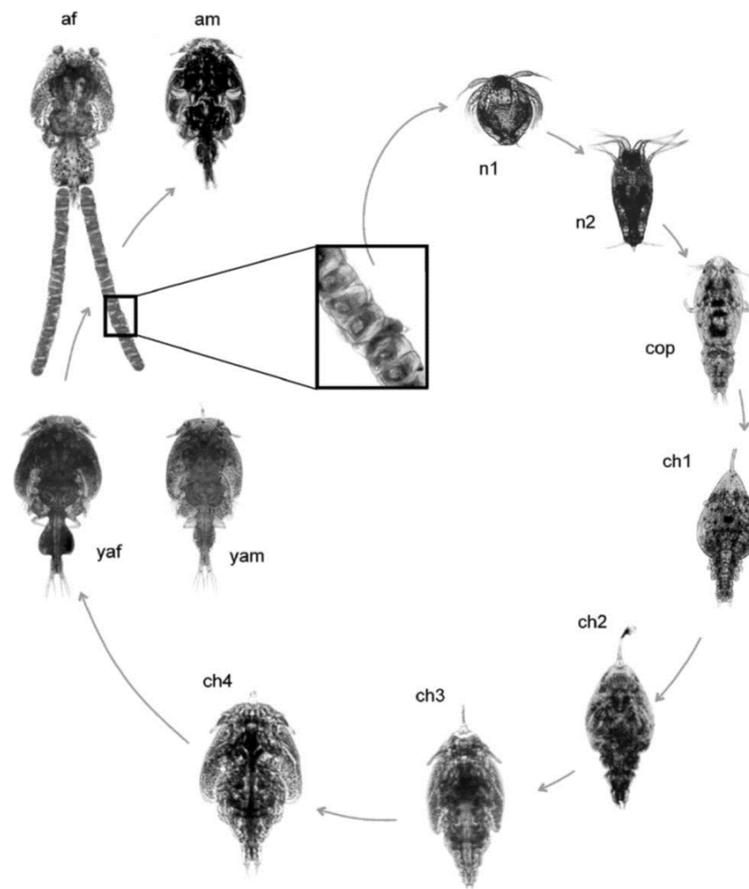


Figura 2. Ciclo de vida de *Caligus rogercresseyi*. Imagen tomada de González y Carvajal, 2003. n1) nauplio 1; n2) nauplio 2; cop) copepodito; ch1) calimus 1; ch2) calimus 2; ch3) calimus 3; ch4) calimus 4; ya) pre-adulto; am) macho adulto; af) hembra adulta con cadena de huevos.

El sistema inmune de los peces es afectado constantemente por procesos que dependen del huésped, medio ambiente y agente patógeno (Ruiz *et al.*, 2003 y Dominguez *et al.*, 2004). La estrecha relación entre hospedero-patógeno-ambiente, marca un equilibrio que cuando se ve afectado sobreviene la enfermedad (Kinkelin *et al.*, 1991). Roberts y Bullock (1980), indicaron que normalmente sobre la

superficie del cuerpo de los peces existen parásitos que en condiciones favorables proliferan, causando daño a su huésped.

Los peces tienen dos mecanismos de defensa contra los parásitos, la respuesta inmune innata o inespecífica y la respuesta adquirida o específica (Alvarez-Pellitero, 2008). El sistema inmune inespecífico es la defensa primaria que reconoce a los patógenos sin haber estado previamente en contacto con estos (Rubio-Godoy, 2010), este comprende una serie de mecanismos donde están implicados factores humorales, tisulares y celulares (Fernández *et al.*, 2002); la piel y el mucus constituyen la primera barrera contra los parásitos (Laird y Needman, 1988 y Rubio-Godoy, 2010). La mayoría de estos mecanismos de defensa son constituyentes naturales del cuerpo del pez y la capacidad de respuesta puede variar en el transcurso de la infección (Fernández *et al.*, 2002). El sistema inmune específico engloba mecanismos más complejos y específicos, basado en la capacidad de memoria (Ruíz *et al.*, 2003); sin embargo, en los peces la memoria es de corta duración (Zapata, 1985) e involucra cambios adaptativos en la respuesta humoral (anticuerpos) y celular, esta última mediada por los linfocitos (Ruíz *et al.*, 2003).

La presencia, número y proporción de las células circulantes en la sangre reflejan el estado fisiológico de los peces (Sado *et al.*, 2008). Las células que constituyen el sistema inmune son los leucocitos que por su morfología se dividen en linfocitos, granulocitos (neutrófilos, eosinófilos y basófilos), monocitos/macrófagos y trombocitos (Paperna, 1963, Ellis, 1997 y Fernández *et al.*, 2002). Los linfocitos son los responsables de la respuesta inmune específica, mediante la producción de anticuerpos (Campbell y Murru, 1990). Los neutrófilos son los encargados de la fagocitosis y la actividad microbicida por el proceso llamado explosión o estallido respiratorio y se encuentran en los tejidos inflamados (O'Neill, 1985 y Campbell, 1988). Los eosinófilos intervienen en procesos de inflamación y defensa celular por medio de la degranulación (Fernández *et al.*, 2002). En basófilos se conoce poco de las funciones que desempeñan y se encuentran en pequeñas cantidades o ausentes en la mayoría de las especies (Ellis, 1977), estos participan en la respuesta inmune alérgica (Tavares-Dias y Moraes, 2004). Los monocitos/macrófagos son las principales células fagocíticas y participan en la respuesta inflamatoria, al igual que los neutrófilos (MacArthur y Fletcher, 1985, Kumar *et al.*, 2009 y Rubio-Godoy, 2010). Finn y Nielsen (1971), reportaron en la trucha, la presencia de neutrófilos y

macrófagos en procesos de inflamación ocasionados por estafilococos. Los trombocitos son los encargados de controlar la pérdida de fluidos de las heridas de los peces, evitando hemorragias sanguíneas e interactúan en procesos de fagocitosis (Tavares-Dias y Moraes, 2004).

Los principales órganos hematopoyéticos (órganos encargados de la formación de células sanguíneas) en los peces son el riñón y el bazo (Pérez, 2012). La producción y concentración de células sanguíneas se alteran fácilmente por factores ambientales, nutricionales y patológicos (Ainsworth, 1992). Algunos peces parasitados presentan cambios en las variables hematológicas (Ruane *et al.*, 2000) y la química sanguínea (Chen *et al.*, 2003). Pegado *et al.* (2006), realizaron un estudio en tilapias parasitadas por *Cichlydogyrus sclerosus*, donde no encontraron diferencias hematológicas entre los peces parasitados y no parasitados; sin embargo, hubo una disminución en el número de eritrocitos y en el porcentaje de hematocrito. En un estudio similar elaborado por Vásquez-Piñero *et al.* (2010) en tilapia *Oreochromis* sp. no encontraron valores bajos de hematocrito en los animales infectados con *Aeromonas hydrophila* y *Edwardsiella tarda*.

Los análisis hematológicos y de la química sanguínea, son utilizados para evaluar la condición de salud de los peces y son usados de forma rutinaria en muchos laboratorios de diagnóstico por su rapidez (Conroy, 1989 y Docan *et al.*, 2012), por lo que puede ser una herramienta para detectar la presencia de enfermedades, desbalance nutricional, efectos tóxicos, cambios ambientales y cualquier agente estresor presente en ambientes de confinamiento (Ainsworth, 1992 y Hrubec *et al.*, 2000). Las proteínas totales en el suero de los peces es un indicador que ha sido considerado por los zoólogos, toxicólogos e inmunólogos para evaluar el estado nutricional y de salud de los organismos (Fazio *et al.*, 2013). La concentración de proteínas dependen de la especie, maduración sexual y temperatura (Yang y Chen, 2003 y Patriche *et al.*, 2009). Aydin *et al.* (2001), encontraron una disminución en los niveles de proteínas totales y un aumento significativo en los niveles de albumina en *Oncorhynchus mykiss* infectadas con la bacteria *Serratia liquefaciens*. En la carpa *Cyprinus carpio*, los niveles de proteínas totales disminuyeron significativamente cuando fueron infectadas con *Aeromonas hydrophila* (Maqsood *et al.*, 2009). En general los parásitos estimulan cambios en las características hematológicas y

fisiológicas de los peces (Ruane *et al.*, 2000), lo que depende del tipo y número de parásitos y del estado de salud del hospedero (Tavares-Dias *et al.*, 1999).

Otros indicadores de la condición de los peces son los índices biológicos, estos indicadores puntuales se utilizan para evaluar el estado de salud de los organismos, tales como el índice de condición K de Fulton, el índice hepatosomático (IHS) y el índice esplenosomático (IBS), ya que estos permiten inferir sobre el posible estado nutricional y por consiguiente de salud de los peces (Ranzani-Paiva y Tavares-Dias, 2002, Balboni *et al.*, 2009 y Rojo, 2009).

El estudio de la parasitología es importante debido a que los parásitos causan pérdidas económicas en la acuicultura. Actualmente el cultivo de tilapias en agua de mar está en aumento debido a la escases de agua dulce, por lo que es fundamental conocer a los parásitos marinos que afectan a la tilapia y cuáles de ellos representan un riesgo para el cultivo. Motivo por el cual en el presente estudio se evaluó la carga parasitaria en un cultivo del híbrido de tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis mossambicus*) en jaulas colocadas en el mar, y su efecto sobre las variables hematológicas, química sanguínea e índices biológicos.

Capítulo 2. Justificación

Las tilapias son uno de los grupos de peces de agua dulce que aportan más proteína animal para consumo humano a nivel mundial, por lo que su cultivo es considerado uno de los más importantes de la acuicultura (Carta Nacional Acuícola, 2012). Adicionalmente, por la tolerancia de estas especies a elevadas salinidades, su cultivo se ha extendido a aguas marinas (Kaneko *et al.*, 1988, Robinson *et al.*, 1989 y Hopkins *et al.*, 1989). Dado que, la escasez de agua dulce a nivel mundial se ha convertido en un serio problema, y México no está exento de ello, el desarrollo del cultivo de tilapia en agua de mar surge como una oportunidad para incrementar la producción de estas especies y atender la demanda comercial.

El desarrollo de estos cultivos como el de peces marinos, son vulnerables a los efectos adversos de las condiciones ambientales y de las enfermedades infecciosas, que se reflejan en pérdidas económicas para los productores acuícolas. Aunado a esto, el aumento en la demanda ha propiciado un incremento en las densidades de cultivo, lo que ha acentuado los problemas ocasionados por enfermedades infecciosas tales como las parasitosis en los sistemas acuícolas, que en ocasiones han acabado con los cultivos de tilapia como sucedió en Puerto Rico, donde las mortalidades se atribuyeron al parásito *N. melleni* (Bunkley-Williams y Williams, 1995). Los estudios referentes a los parásitos que afectan a la tilapia cultivada en agua de mar son escasos, y en su mayoría se enfocan al parásito *N. melleni* por la importancia que este representa; sin embargo, no se ha estudiado si la tilapia en agua de mar es afectada por otros parásitos.

Actualmente el cultivo de tilapia en agua de mar se lleva a cabo en las costas mexicanas, por lo que es fundamental conocer a los parásitos marinos que representen un peligro potencial para el bienestar de los organismos en cultivo. Por lo anterior es necesario conocer los efectos de dichos parásitos en los parámetros sanguíneos, que permitan evaluar el estado fisiológico de los peces (Hrubec y Smith, 1999). Las respuestas sanguíneas son utilizadas como indicadores de la presencia de enfermedades y del efecto de estresores diversos (Hrubec *et al.*, 2000). De igual forma los índices biológicos son indicadores puntuales que se utilizan para evaluar el estado de salud de los peces, tales como el índice de condición K de Fulton, el

índice hepatoesomático (IHS) y el índice espleoesomático (IBS), ya que estos permiten inferir sobre el posible estado nutricional de los organismos (Balboni *et. al.*, 2009 y Rojo, 2009). Por lo descrito anteriormente, en el presente trabajo se evaluó la carga parasitaria y las respuestas hematológicas e índices biológicos asociados a dicha carga, que permitan establecer el potencial efecto negativo en la producción de este recurso.

Capítulo 3. Hipótesis

El híbrido de tilapia (*O. niloticus* x *O. mossambicus*) al ser introducido en ambientes marinos para su cultivo, estará expuesto a la invasión de una carga parasitaria similar a la reportada en peces marinos en cultivo.

El aumento en la intensidad de parásitos tiene un efecto negativo en la condición de salud del híbrido de tilapia (*O. niloticus* x *O. mossambicus*) cultivada en agua de mar al afectar los parámetros hemáticos, proteínas totales y los indicadores biológicos.

Capítulo 4. Objetivos

Objetivo general

- Determinar la carga parasitaria y evaluar el efecto de los parásitos sobre las variables hematológicas, química sanguínea e índices biológicos en el híbrido de tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis mossambicus*) cultivada en jaulas en agua de mar.

Objetivos particulares

- Determinar la carga parasitaria del híbrido de tilapia (*O. niloticus* x *O. mossambicus*) cultivada en agua de mar.
- Evaluar el efecto de los parásitos sobre las variables hematológicas (conteo de leucocitos y eritrocitos y diferenciación de leucocitos, hematocrito) y proteínas totales en la tilapia cultivada en agua de mar.
- Evaluar el estado fisiológico de la tilapia cultivada en agua de mar por medio de los índices de condición, hepatosomático y esplenosomático.

Capítulo 5. Materiales y métodos

5.1 Área de estudio

El estudio fue realizado en un cultivo de un híbrido de tilapia (*O. niloticus* x *O. mossambicus*) en agua de mar en jaulas flotantes, en las instalaciones de la Sociedad Cooperativa “Blakis en Progreso” S.C de R.L. ubicada en la Bahía de Santa Cruz de Miramar, Nayarit, México (21.43° latitud N y 105.19° longitud O), localizada al sureste del Municipio de San Blas que limita al noroeste con Playa Los Cocos y por el sureste con Punta Razo; en esta Bahía desemboca el Río Santa Cruz (Figura 3).

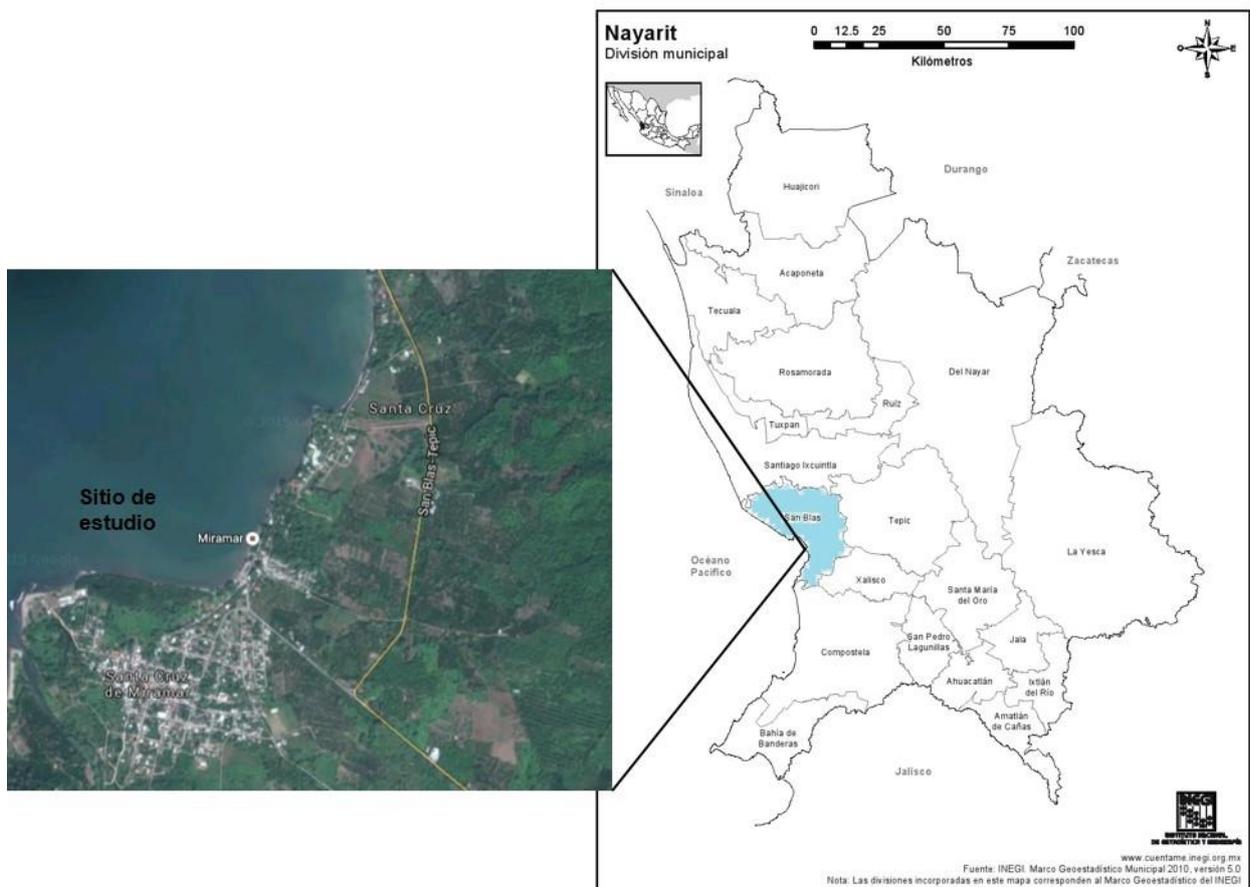


Figura 3. Ubicación geográfica del sitio de estudio en la Bahía de Santa Cruz de Miramar, Nayarit, México (Fuente INEGI, 2010).

El muestreo de los peces se realizó en una jaula flotante de 5 m de largo, 5 m de ancho y 5 m de altura, colocada en una zona de 12 m de profundidad, la jaula estaba compuesta por hilo de seda No. 12 y una luz de malla de 1^{1/2} pulgadas, la cual estaba unida a 3 líneas madre de cabo de polietileno de 1 pulgada de diámetro; cada esquina de la jaula estaba sujeta a tres costales de 50 kg cada uno, los cuales tenían la función de anclaje. Las jaulas se mantenían a flote utilizando 6 tambos de 200 L de capacidad y 8 garrafones de cristal de 18 L de capacidad.

Los peces fueron adquiridos en Zacatepec, Estado de México, con un peso inicial de 0.5 g. Las tilapias se colocaron en un tanque circular en las instalaciones de la Escuela Nacional de Ingeniería Pesquera por un periodo de 15 días. Posteriormente, los peces fueron trasladados a un laboratorio de postlarva de camarón, donde los organismos se aclimataron de forma gradual (aumentando 5 ups por día) al agua de mar. Una vez aclimatados, los peces se trasladaron a las jaulas flotantes ubicadas en la Bahía de Santa Cruz de Miramar, Nayarit.

Los peces se alimentaron una vez al día con alimento balanceado Malta Cleiton con 35 % de proteína.

5.2 Colecta y toma de muestras

Tres días a la semana, durante 5 semanas, se extrajeron de las jaulas de cultivo 10 peces por día con un peso promedio de 176.5 g (± 56.2), los cuales fueron capturados con una red tipo cuchara (Figura 4). En total se analizaron 113 organismos. Los ejemplares fueron colocados en un recipiente de 20 L de capacidad con agua del medio y transportados a la zona de embarque. Posteriormente, los peces fueron anestesiados con tricaina metanosulfonada (MS-222) de forma individual en un recipiente de 5 L de capacidad con agua de mar, una vez que la tilapia perdió el equilibrio, se retiró de la anestesia y con una aguja de 3 ml se realizó una punción en la vena caudal para extraer de 2 a 3 mL de sangre, la cual se depositó en un tubo con anticoagulante (EDTA) y en un tubo de 1.5 mL marca eppendorf. Ambos tubos fueron puestos en una gradilla dentro de una hielera con hielo. Posteriormente la tilapia fue sacrificada mediante una punción cerebral, y colocada en una bolsa ziploc dentro de una hielera.



Figura 4. Red tipo cuchara con la que se capturaron a las tilapias dentro de la jaula.

5.3 Carga parasitaria e índices biológicos

Una vez que se extrajo la sangre de los peces, se sacrificaron y fueron transportados al laboratorio de histología de la Escuela Nacional de Ingeniería Pesquera (ENIP), San Blas, Nayarit. Las muestras de sangre se depositaron en un refrigerador a 4 °C para su posterior análisis. En seguida cada pez se extrajo de la bolsa ziploc y se hizo una revisión externa de piel, escamas, cabeza, glóbulos oculares, boca, ano y aletas, llevándose un registro de la presencia de anomalías y presencia de ectoparásitos. Para la observación y cuantificación de los parásitos se utilizó un microscopio estereoscópico marca Nikon SMZ74ST. Los parásitos fueron separados con la ayuda de pinzas de disección y pinceles para ser depositados en un tubo eppendorf de 0.5 mL con formol al 4 %, después de 48 horas los parásitos fueron transferidos a tubos eppendorf de 0.5 mL con alcohol al 70 %.

Posteriormente, los peces fueron pesados en una balanza digital marca OHAUS de 1 mg de precisión y medidos con un ictiómetro convencional; inmediatamente después se extirparon las branquias y fueron colocadas en un porta objetos para su observación al estereoscopio en busca de parásitos (Figura 5).



Figura 5. Branquias de tilapias que fueron cultivadas en agua de mar.

A continuación, los peces fueron disectados con ayuda de unas tijeras de punta fina realizando un corte semicircular desde la región anal a la aleta pectoral, dejando expuestos los órganos internos (hígado y bazo) para una valoración, estos órganos fueron pesados para después calcular los índices biológicos. Posteriormente, a estos órganos se les realizó un corte y se colocaron entre dos porta objetos para realizar una compresión y después observarlos en el estereomicroscopio en busca de parásitos. Inmediatamente de que todos los órganos internos fueron retirados, las tilapias se pesaron nuevamente.

La identificación de los parásitos se realizó con ayuda de claves taxonómicas, sitio de fijación en el hospedero y zona geográfica. El monogéneo *Neobenedenia* sp. se identificó de acuerdo a Bunkley-Williams y Williams (1995), Whittington y Horton (1996), Crespo y Crespo (2003), Buchmann y Bresciani (2006) y Fuentes *et al.* (2009). Para el copépodo *Caligus* sp., la descripción se realizó con base en lo reportado por Kabata (1979, 1992), Ho (2000, 2003), González y Carvajal (2003) y Ho (2013). Para el copépodo del género *Lernaeenicus*, la descripción se fundamentó en lo descrito por Schram (1979, 1987). Los parásitos se identificaron hasta nivel de género debido a que se contó con muy pocos organismos (*Caligus* sp. y *Lernaeenicus* sp.) y por cuestiones metodológicas.

La carga parasitaria de las tilapias, se determinó con base en los indicadores cuantitativos del parasitismo (ICP) acorde a lo propuesto por Bush (1997). Este autor

considera la prevalencia (P), intensidad promedio (IP) y abundancia media (AM) de acuerdo con las siguientes formulas:

$$P = (HP/HR) * 100 \quad (1)$$

Dónde:

P= Prevalencia

HP= Hospederos parasitados (número)

HR= Hospederos revisados (número)

$$IP = NP/HP \quad (2)$$

Dónde:

IP= Intensidad promedio

NP= Número de parásitos

HP= Hospederos parasitados (número)

$$AM = NP/HR \quad (3)$$

Dónde:

AM= Abundancia media

NP= Número de parásitos

HR= Hospederos revisados (número)

Con base en el parásito que presentó la mayor intensidad y prevalencia parasitaria en los peces, se formaron cuatro grupos: peces no parasitados, nivel de infestación 1 (de 1-15 parásitos / pez), nivel de infestación 2 (de 16-30 parásitos / pez) y nivel de infestación 3 (mayor a 30 parásitos / pez).

A partir de los promedios de longitud y peso obtenidos en los muestreos, se calcularon el índice de condición de acuerdo a Le Cren (1951) y Da Costa y Gerson (2003). También tomando en cuenta el peso del hígado y del bazo se calcularon los índices biológicos de acuerdo a Nikolski (1963).

$$IC = Pt/Lt \quad (4)$$

Dónde:

IC= Índice de condición

Pt= peso total promedio

Lt= Longitud total promedio

$$IH = (Wh/Wt) * 100 \quad (5)$$

Dónde:

IH= Índice hepatosomático

Wh= peso del hígado

Wt= peso total del organismo

$$IE = (Wb/Wt) * 100 \quad (6)$$

Donde:

IE= Índice esplenosomático

Wb= peso del bazo

Wt= peso total del organismo

5.4 Análisis sanguíneos

Tres días a la semana (martes, jueves y sábado) durante 5 semanas, se acudió al laboratorio de Inmunotoxicología de la Universidad Autónoma de Nayarit (UAN) para analizar las muestras de sangre de los peces, las cuales fueron transportadas en una hielera con hielo al laboratorio donde fueron almacenadas a 4 °C (por un periodo máximo de 4 días). La muestra de sangre contenida en el tubo con anticoagulante se utilizó para los frotis sanguíneos, el hematocrito y el recuento total de células blancas (leucocitos) y rojas (eritrocitos).

Recuento de leucocitos (WBC, por sus siglas en inglés) y eritrocitos (RBC, por sus siglas en inglés)

El recuento total de leucocitos se realizó mediante el método de tinción de Natt-Herrick, con la muestra de sangre se preparó una dilución 1:200 colocando 20 µL de la muestra de sangre con anticoagulante en 4 mL del colorante Natt-Herrick; se

mezcló y se dejó a temperatura ambiente por un periodo de 5 minutos. Posteriormente, con una micropipeta se agregó una gota de cada lado del hematocitómetro, después de que las células se sedimentaron se realizó el recuento con un microscopio OPTIKA. Para el caso de los leucocitos, el recuento se realizó en ambos extremos de la cámara de Neubauer y en los cuatro cuadros más grandes (Natt-Herrick, 1952).

El número de leucocitos se calculó con la siguiente fórmula:

$$WBC = \frac{\text{Total del No. de células blancas contadas}}{8} \times 200 \quad (7)$$

8

El recuento de eritrocitos se realizó en el cuadrante central, en los cuadros más pequeños de la cámara, se contó en los cuatro cuadros de los extremos y el centro.

El número de eritrocitos se calculó con la siguiente fórmula:

$$RBC = \frac{\text{No. de eritrocitos} \times 10}{0.020} \times 200 \quad (8)$$

0.020 mm³

Factor de dilución: 200

Hematocrito (Htc)

El hematocrito se realizó por el método del microhematocrito (Goldenfarb *et al.*, 1971), citado por Silva-Acuña (2007). En un tubo capilar para microhematocrito de 75 mm de longitud y sin heparina, se extrajo por capilaridad la muestra de sangre contenida en el tubo con EDTA hasta llenar $\frac{3}{4}$ partes del capilar, en seguida se selló un extremo con fuego; se realizaron dos capilares por muestra. Posteriormente, los tubos capilares se centrifugaron en una centrifuga para microhematocrito marca Microspin 25 a 9500 r.p.m. para la separación del paquete celular del plasma.

Después con ayuda de una regla milimétrica se calculó el porcentaje del paquete celular con respecto al volumen total.

Recuento diferencial de leucocitos

La diferenciación celular de los leucocitos se realizó mediante un frotis sanguíneo (dos por muestra). Se tomó una gota (4 μ L) de sangre del tubo con anticoagulante y se colocó en el extremo de un portaobjetos y con ayuda de otro portaobjetos en un ángulo de 45°, se puso en contacto con la gota de sangre, la cual se expandió a lo largo del portaobjeto para inmediatamente deslizarlo hacia el extremo opuesto. Este procedimiento permitió formar una película de grosor uniforme. El frotis se secó al aire libre y después se agregó metanol para fijarlo. Una vez que el metanol se evaporó, los frotis se tiñeron utilizando el kit comercial hemacolor, siguiendo las instrucciones del comerciante. Después se colocó un poco de resina y se cubrió con un cubreobjetos para tener una preparación permanente. Posteriormente, el frotis se observó en un microscopio marca ZEISS modelo Scope. A1, en donde se contaron en promedio 103 ± 14 células para conocer el porcentaje de cada tipo celular. Los diferentes tipos celulares se identificaron con base en la morfología propuesta por Conroy y Conroy (2007) y Roberts (2012), y se documentaron con ayuda de una cámara marca ZEISS modelo AxioCam ICc 5.

Proteínas totales (PT)

La muestra de sangre sin anticoagulante, se centrifugó dos veces en una centrifuga marca Sigma a 7 000 rpm durante 10 minutos, para separar el suero del paquete celular. El suero fue colocado en un tubo de 1.5 mL y refrigerado para posteriormente cuantificar la concentración de las proteínas totales por el método de Bradford (1976). Se tomaron 180 μ L de reactivo Bradford y se depositó en una placa de 96 pocillos, posteriormente se agregaron 20 μ L de la muestra de suero; se dejó reposar la dilución durante 15 minutos a temperatura ambiente. Después la muestra fue leída a 545 nanómetros en un espectrofotómetro marca SIGMA modelo 1-14 k. Para conocer la concentración de PT, se elaboró una curva de calibración con albumina bovina y los valores registrados de la absorbancia de cada muestra fueron sustituidos en la fórmula de la curva de calibración, para obtener el valor de las PT.

5.5 Análisis estadístico

Se utilizó un análisis de clúster para la categorización y división de grupos de acuerdo a la intensidad parasitaria, tomando como referencia la distancia euclidiana. Posteriormente, se empleó un diseño completamente aleatorizado (DCA) para comparar las diferencias entre los peces no parasitados, y los tres niveles de infestación parasitaria. Los datos no cumplieron con la prueba de normalidad y homogeneidad de varianzas, por lo cual se utilizó un método no paramétrico. Se aplicó una prueba de Kruskal-Wallis y una prueba Tukey (no paramétrica) a posteriori para encontrar las diferencias entre los grupos. El nivel de significancia fue $p < 0.05$. Se utilizó el programa estadístico Statistica 10 Enterprise.

Capítulo 6. Resultados

6.1 Carga parasitaria

En este estudio se examinaron un total de 123 peces del híbrido de tilapia (*O. niloticus* x *O. mossambicus*) cultivada en agua de mar en jaulas flotantes en la Bahía de Santa Cruz de Miramar. El registro de parásitos en los peces en el sitio de estudio incluyó solamente a tres especies, de las cuales el más representativo fue el grupo de los monogéneos (Capsalidae) *Neobenedenia* sp., seguido por el grupo de crustáceos (copépodos) hembras y machos de *Caligus* sp. y el preadulto de *Lernaeenicus* sp.

Descripción de los parásitos

PLATYHELMINTHES

Clase: Monogenea

Subclase: Monopisthocotylea

Familia: Capsalidae (Baird, 1853)

Subfamilia: *Benedeniinae* (Johnston, 1931)

Género: *Neobenedenia* (Yamaguti, 1963)

En el híbrido de tilapia cultivada en agua de mar se identificaron parásitos adultos de este capsárido, los cuales se encontraron distribuidos en el cuerpo, las aletas, la cabeza y los ojos. De acuerdo a Whittington y Horton (1996), la longitud total de estos parásitos es de 2 a 7 mm y de 1.5 a 3 mm de anchura (Figura 6). El cuerpo de *Neobenedenia*, fue ancho a nivel de los órganos de fijación anteriores y no se estrecha como en el caso de la especie *Benedenia seriolae*. Los órganos de fijación anteriores y el haptor son relativamente pequeños en comparación con el cuerpo. Una característica taxonómica de *Neobenedenia* es que no posee vagina (Fuentes

et al., 2009). Presentan dos testículos uno al lado del otro y una cámara interna de fertilización (Figura 7A).

Tienen dos discos adhesivos anteriores (Figura 7B) y un haptor en la zona ventral posterior con escleritas (Figura 7C). De acuerdo a Yamaguti (1963), las escleritas anteriores miden alrededor de 21.6 μm , los hamuli anteriores 29.7 μm y los hamuli posteriores 11.8 μm , los ganchos marginales miden alrededor de 9.8 μm .

De acuerdo con Crespo y Crespo (2003) estos parásitos tienen un ciclo de vida directo, es decir, no necesitan de hospederos intermediarios; alcanzan la madurez sexual a los 14 días y una hembra puede producir en promedio de 20 a 100 huevos / hora. Los huevos de *Neobenedenia* sp. son pequeños de color amarillento y tienen un largo filamento en uno de sus polos que llega a medir hasta 200 μm , el cual funciona como órgano de adhesión a cualquier sustrato (Figura 7D). La eclosión de los huevos sucede después de 5 a 8 días y dan origen a formas larvarias conocidas como oncomiracidios, estos nadan libremente para buscar a su huésped y alcanzar la madurez sexual (Crespo y Crespo, 2003), estas larvas tienen una vida libre de 4 a 36 horas, ya que al no encontrar un huésped donde fijarse, mueren (Paperna, 1963).

Las especies del género *Neobenedenia* son exclusivamente marinas, se distribuyen desde Norte América hasta Sur América, Australia y Japón (Crespo y Crespo, 2003).

ARTHROPODA

Subfilo: Crustacea

Clase: Maxillopoda

Subclase: Copepoda

Familia: Caligidae (Burmeister, 1835)

Género: *Caligus* (Müller, 1785)

Este copépodo relativamente grande existe en toda la región tropical. Es fácil de observar y ocasiona menor daño a los peces de valor recreativo. Estos parásitos tienen forma de platillo, se adhieren al huésped por medio de dos discos de succión especiales (lúnulas) localizados en el extremo anterior de la cabeza. El segundo segmento del cuerpo (abdomen) es más largo que ancho. Las lúnulas están dispuestas entre sí a una distancia menor que el ancho de una de ellas. Esta especie es de color crema (Quispe Maica, 2005).

En general las especies de la familia Caligidae son difíciles de identificar. Esta familia se compone de 33 géneros con 445 especies, más de tres cuartas partes está compuesta por los miembros del género *Caligus* (239 especies) (Ho, 2000). La forma general, el tamaño del cuerpo y los apéndices, son usados principalmente para la identificación de este parásito (Robert *et al.*, 2006).

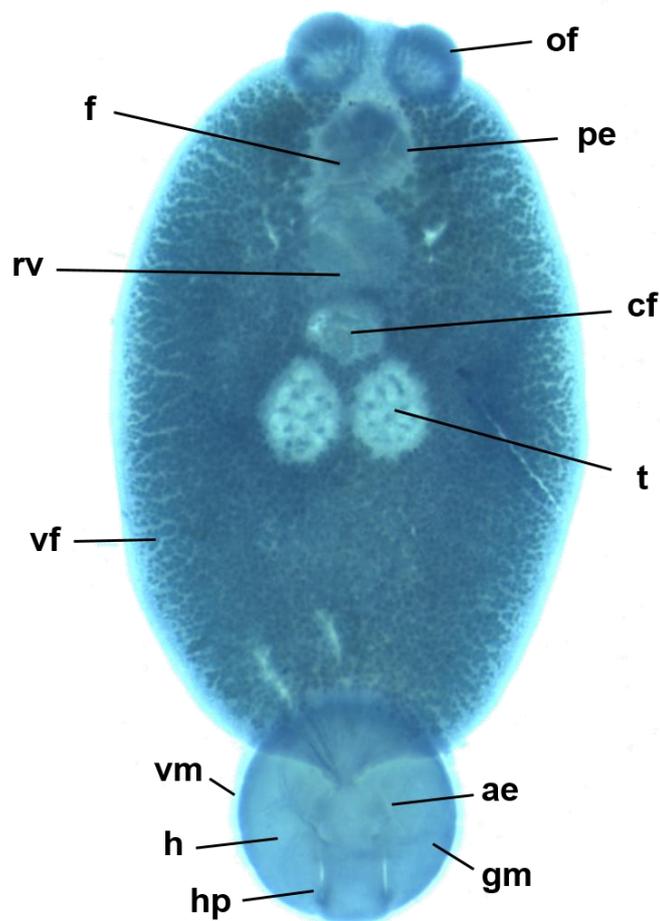


Figura 6. Vista ventral del adulto de *Neobenedenia* sp. of, órgano de fijación anterior; f, faringe; pe, pene; rv, reservorio vitelino; cf, cámara de fertilización interna; t, testículos; vf, folículo vitelino; vm, valva marginal; ae, accesorio escleritas; gm, ganchos marginales; h, haptor; hp, hamuli posterior.

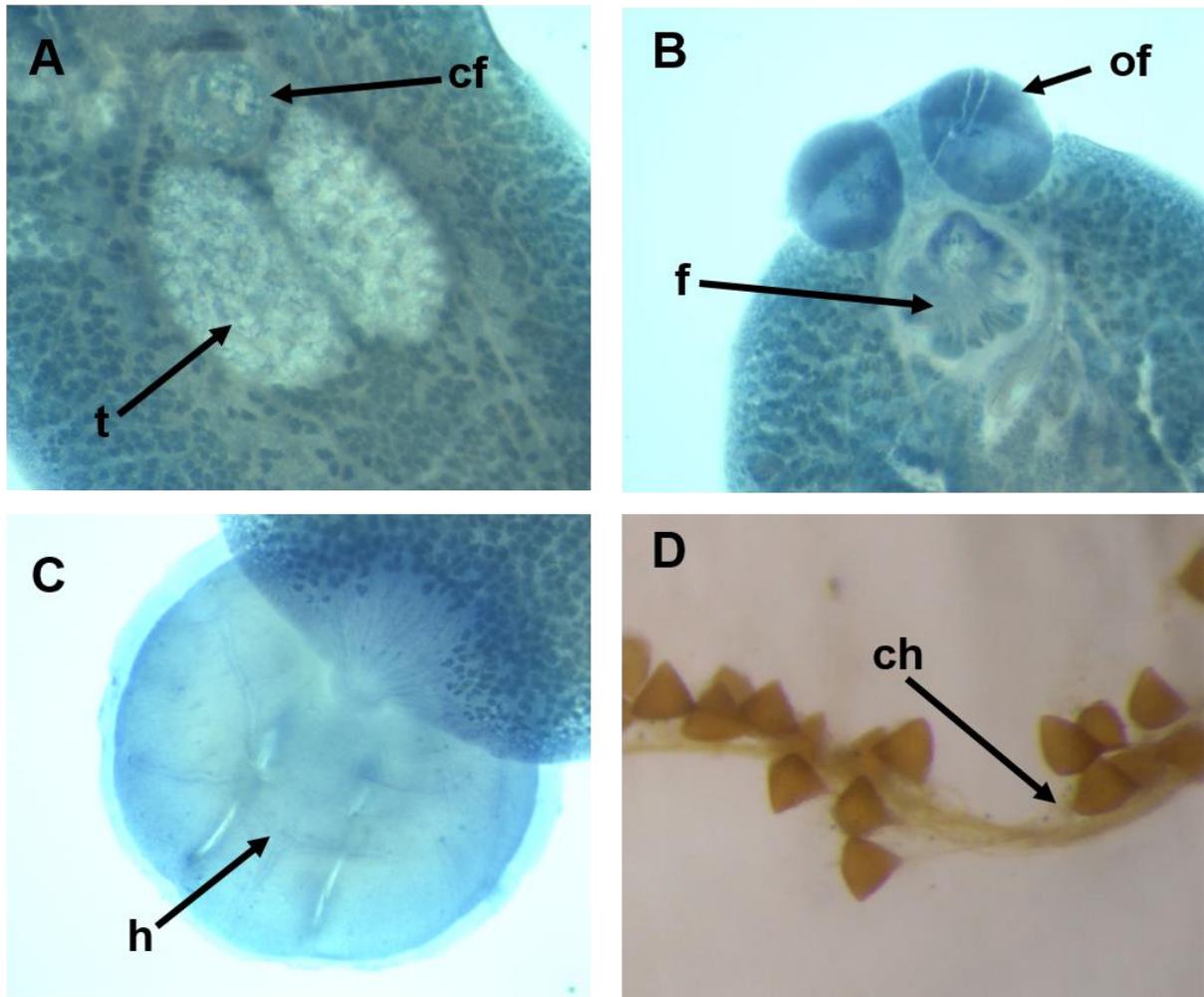


Figura 7. *Neobendenia* sp. A) Testículos (t) y cámara de fertilización (cf); B) Órganos de fijación anteriores (of) y faringe (f); C) Haptor (h); D) Cadena de huevos (ch).

Los caligidos adultos presentan dimorfismo sexual (Figura 8); la hembra es más grande que el macho, y los apéndices del macho, particularmente la primera maxila y segunda antena son modificadas como órganos de fijación para la cópula. La hembra mide de 10 a 18 mm de largo, mientras que los machos de 5 a 7 mm (Kabata, 1979). Las cadenas de huevos llegan a medir hasta 2 cm y pueden tener hasta 700 huevos, estas cadenas son producidas por el segmento genital posterior de la hembra. Las extremidades son similares para ambos sexos. Las especies del género *Caligus* presentan lúnulas frontales, las cuales son evidentes en los estadios de calimus (González y Carvajal, 2003).

En el híbrido de tilapia se encontraron hembras y machos adultos de *Caligus* sp. Los machos presentaron el cefalotórax de forma suborbicular, ovalado, más largo que

ancho y aplanado dorsoventralmente. El complejo genital es más pequeño que el de la hembra (Figura 8A), y usualmente ovalado. Las antenas presentaron 3 segmentos. El segundo segmento está equipado con almohadillas de adhesión corrugadas. El segmento terminal es una garra con varios dientes o pliegues. El cuerpo de los maxilípedos es más grueso y ornamentado que el de las hembras. En estos organismos, se observaron vestigios de la pata 5 y 6. Las hembras presentaron un cefalotórax muy similar al del macho con suturas dorsales conspicuas en forma de H y un complejo genital más grande que el del macho (Figura 8B). Las lúnulas estaban situadas ventralmente en la placa frontal. Exhibió cuatro pequeñas patas segmentadas fuera de la placa dorsal.

Este parásito se encontró distribuido en el cuerpo y las aletas de las tilapias, sin embargo, también se puede encontrar en la boca y ocasionar irritación y daño en los tejidos (Lester y Craig, 2006).

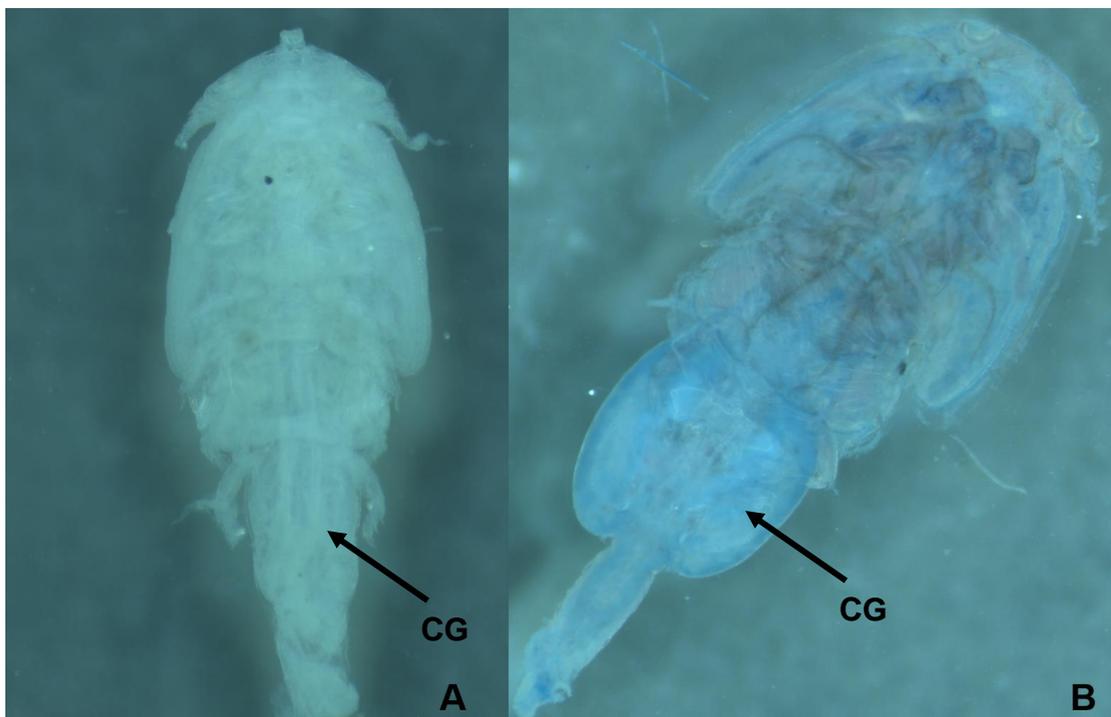


Figura 8. *Caligus* sp. A) Macho adulto; B) Hembra adulto. CG= Complejo genital

ARTHROPODA

Subfilo: Crustacea

Subclase: Copepoda

Familia: Lernaeceridae (Milne Edwards, 1840)

Género: *Lernaeenicus* (Le Seur, 1824)

El ciclo de vida de estos parásitos comprende dos estadios de nauplio de vida libre (nauplio I y II), un estadio de copepodito y una fase de sujeción (segundo copepodito), cuatro estadios de calimus (calimus I, II, III y IV) y cuatro estadios de parásitos externos (estadios ninfa) en el hospedero (Schram, 1979). Los machos presumiblemente mueren después de la cópula con la hembra, en seguida las hembras mudan y se adhieren al ojo de los peces, donde además de causar daño, llevan a cabo la metamorfosis a hembras maduras y comienzan a producir las cadenas de huevos (Schram, 1987).

En el híbrido de tilapia se encontró solamente el estadio llamado “hembra en el ojo” (Figura 9A), el cual estaba adherido y prácticamente sumergido en el tejido del ojo, en donde la parte del abdomen y el segmento genital del parásito quedan sobresaliendo del ojo del hospedero. Estos especímenes son muy parecidos morfológicamente a los adultos de vida libre. La longitud del segmento genital (Figura 9B) y el abdomen son muy largos, entre 1.2 y 2.1 mm; mientras que la longitud total de este organismo mide entre 1.8 y 3.3 mm (Schram, 1987). Estos parásitos son visibles en el ojo, sin embargo, la pigmentación negra produce el efecto de camuflaje en el ojo. El parásito se encontró en la periferia de la córnea del pez. Este estadio larvario experimenta una metamorfosis al estadio hembra inmadura y posteriormente a hembra madura. En la tilapia solamente se encontró una hembra, la cual presentó una pigmentación negro azulado, concentrada en dos bandas dorso lateral (Figura 9C) que corren de la parte anterior del abdomen de la larva. La parte posterior de la boca está equipada con lamelas en forma de serrucho (Figura 9D).

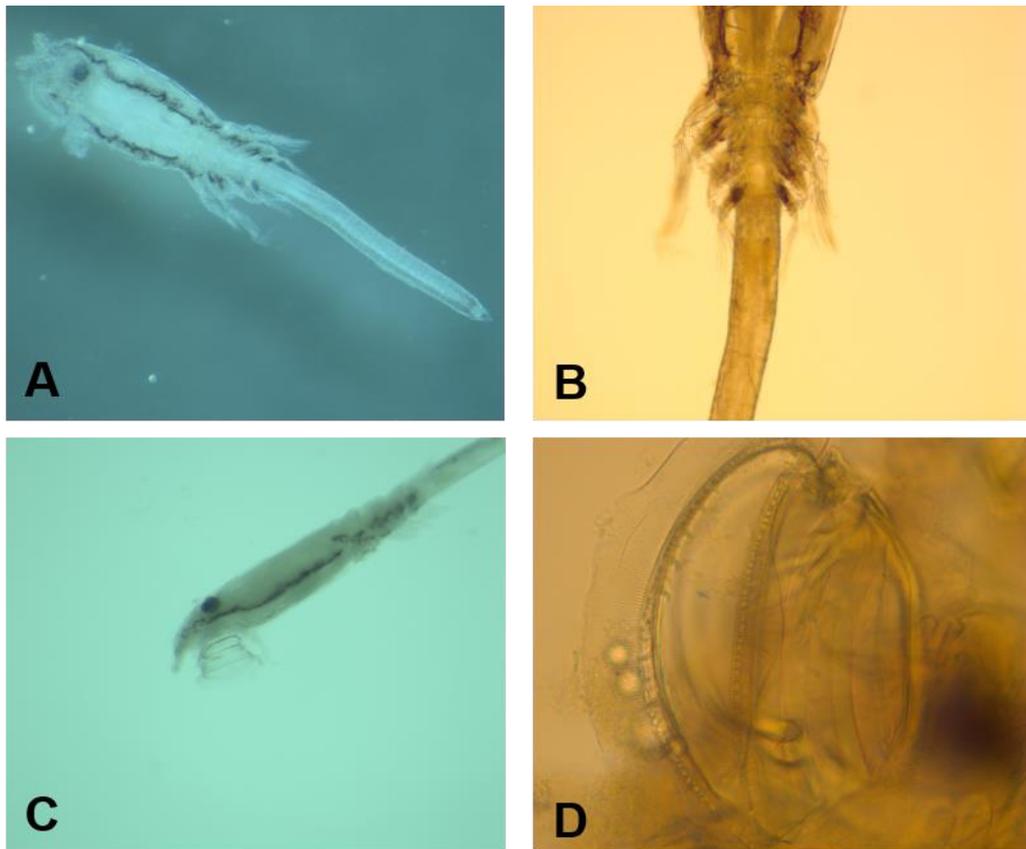


Figura 9. *Lernaenicus* sp. A) Vista dorsal de una hembra del “hembra en el ojo”; B) segmento genital; C) Bandas dorsolaterales abdominales; D) Lamelas de la proyección bucal.

Prevalencia, intensidad, abundancia y distribución de los parásitos

El comportamiento de la prevalencia de los ectoparásitos encontrados en las tilapias cultivadas en agua de mar durante el periodo de estudio se muestra en la Tabla 1, donde se destaca que el parásito monogéneo *Neobenedenia* sp. presentó la mayor prevalencia (91.05 %) y distribución en el cuerpo de los peces, seguido por los copépodos *Caligus* sp. y *Lernaenicus* sp. (8.94 % y 0.81 % respectivamente).

La mayor abundancia e intensidad de parásitos encontrados en las tilapias corresponde a los monogéneos, específicamente *Neobenedenia* sp. (15.74 ± 21.41 y 17.29 parásitos / pez, respectivamente), mientras que el grupo representado por los copépodos *Caligus* sp. y *Lernaenicus* sp. se encuentra muy cercano o por debajo de 1 parásito / pez, en ambos casos (Tabla 1).

Tabla 1. Caracterización de las infestaciones causadas por los ectoparásitos en el híbrido de tilapia (*O. niloticus* x *O. mossambicus*) cultivada en agua de mar. HP= Hospederos parasitados, P= Prevalencia, IP= Intensidad promedio, AM= Abundancia media, Ip= Intervalo de parásitos.

Parásito	No. parásitos	HP	P (%)	IP	AM	Ip	Sitio de infestación
<i>Neobenedenia</i> sp.	1937	112	91.05	17.29	15.74 ± 21.41	1 – 115	Cuerpo Cabeza Ojos Aletas
<i>Caligus</i> sp.	12	11	8.94	1.09	0.09 ± 0.32	1 – 2	Cuerpo Aletas
<i>Lernaeenicus</i> sp.	1	1	0.81	1	0.09	1	Ojos

El análisis de la frecuencia de ectoparásitos en la distribución del cuerpo de la tilapia infestada se muestra en la Figura 10, donde se observa que la mayor distribución corresponde a *Neobenedenia* sp., este parásito se encontró en el cuerpo, cabeza, aletas y ojos. *Caligus* sp. se distribuyó en la zona del cuerpo y las aletas, mientras que el copépodo *Lernaeenicus* sp. únicamente se encontró un espécimen adherido al ojo de la tilapia.

6.2 Análisis sanguíneos

Los valores de las variables hematológicas de los híbridos de tilapia cultivados en agua de mar, independientemente de la carga parasitaria, se presentan en la Tabla 2. El intervalo en el valor del hematocrito fue de 5.7 % a 51 %, el recuento de células rojas (eritrocitos) y blancas (leucocitos) tuvo un promedio de 2.62 Celx10⁶/mm³ y 0.22 Celx10⁵/mm³ respectivamente. El valor promedio de las proteínas totales fue de 3.2 g dL⁻¹.

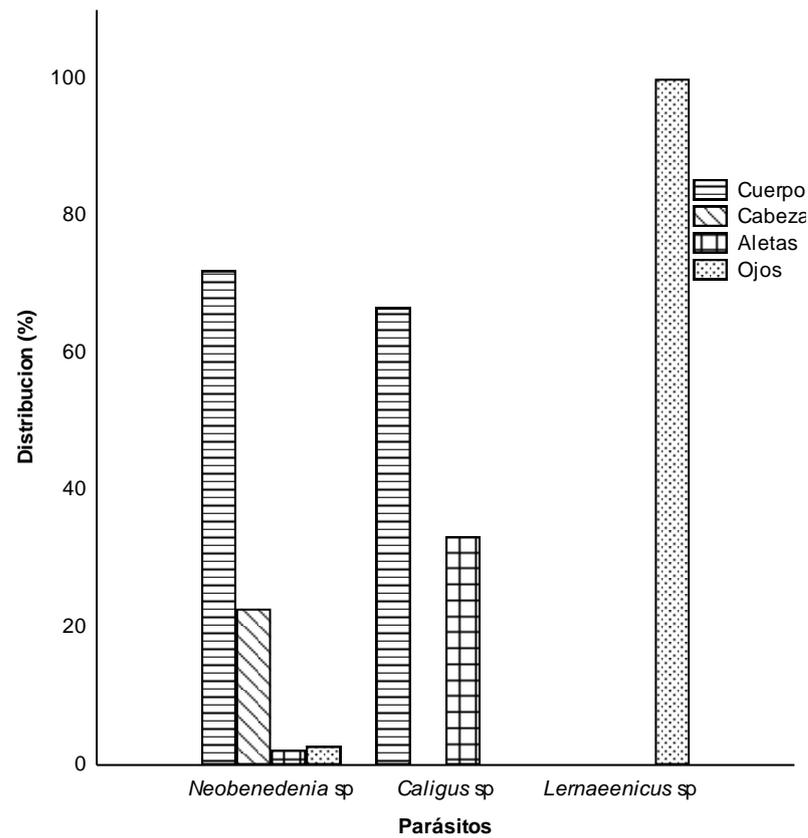


Figura 10. Frecuencia de parásitos distribuidos en el cuerpo del híbrido de tilapia (*O. niloticus* x *O. mossambicus*) cultivada en agua de mar.

Tabla 2. Parámetros hematológicos del híbrido de tilapia (*O. niloticus* x *O. mossambicus*) cultivada en agua de mar. Htc= Hematocrito, RBC= Recuento de eritrocitos, WBC= Recuento de leucocitos, PT= Proteínas totales. Intervalo de peso 56-300 g con n = 123 peces.

Variable	Unidades	Min	Max	Promedio±DS
Htc	%	5.7	51.0	30.09±6.77
RBC	Celx10 ⁶ /mm ³	0.27	6.6	2.62±1.00
WBC	Celx10 ⁵ /mm ³	0.10	0.65	0.22±0.09
PT	g dL ⁻¹	2.7	4.9	3.2±0.27
Linfocitos	%	36.2	94.2	72.4±0.10
Monocitos	%	0.0	25.0	3.6±0.05
Trombocitos	%	1.9	50.2	22.6±0.09
Eosinófilos	%	0.0	5.4	0.4±0.007
Basófilos	%	0.0	3.8	1.0±0.009
Neutrófilos	%	0.0	9.0	1.1±0.08

En este estudio se realizó una categorización con base en el parásito (*Neobenedenia* sp.) que presentó la mayor intensidad y prevalencia en los peces, para ello se formaron cuatro grupos: peces no parasitados, nivel de infestación 1 (de 1-15 parásitos / pez), nivel de infestación 2 (de 16-30 parásitos / pez) y nivel de infestación 3 (mayor a 30 parásitos / pez). Posteriormente, se compararon las variables hematológicas entre los diferentes grupos para observar si había algún efecto de la intensidad parasitaria en el hospedero.

En este trabajo no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) en el Htc de los peces no parasitados y el nivel 1 de infestación, pero mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$) con respecto a los niveles 2 y 3 de infestación (Figura 11), esto mismo se aprecia en el análisis de clúster, donde se observa la formación de dos grupos (Figura 12). Esta misma tendencia se observó para el número de WBC, donde hubo diferencias significativas ($p < 0.05$) con una disminución en el nivel 3 de infestación con respecto a los demás niveles y los peces no parasitados (Figura 13).

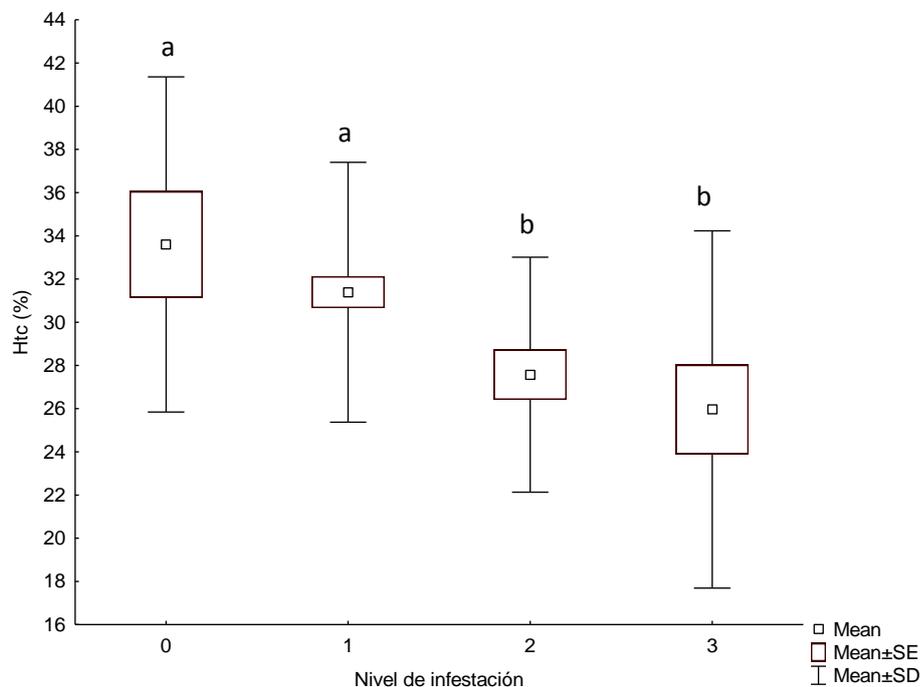


Figura 11. Valores del hematocrito del híbrido de tilapia (*O. niloticus* x *O. mossambicus*), con diferentes niveles de infestación parasitaria. Las letras diferentes en el gráfico indican diferencias estadísticas entre medias ($p < 0.05$).

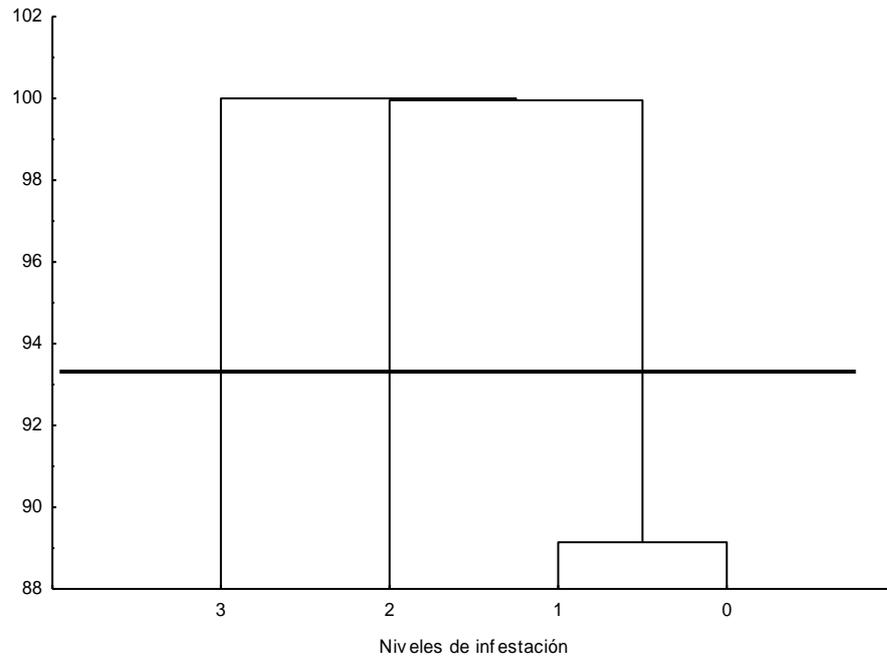


Figura 12. Dendrograma de la variable hematocrito del híbrido de tilapia (*O. niloticus* x *O. mossambicus*), con diferentes niveles de infestación parasitaria utilizando la distancia euclidiana.

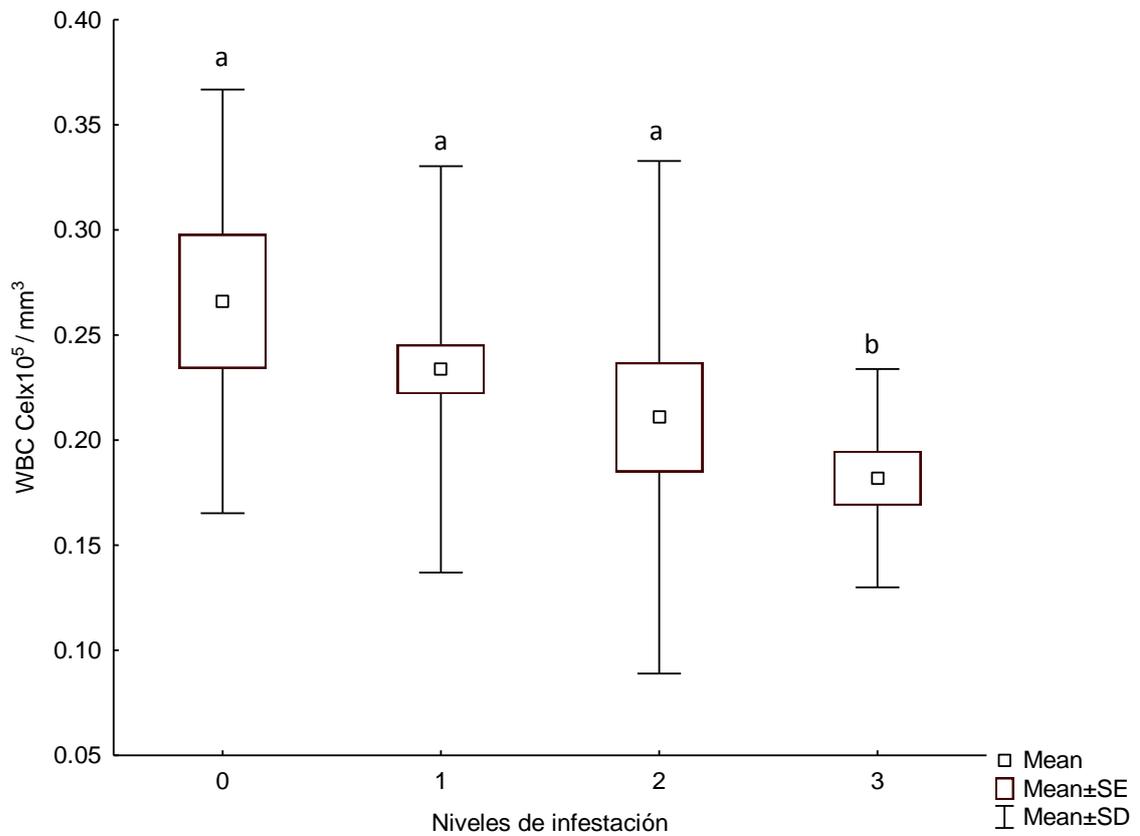


Figura 13. Valores de los leucocitos (WBC) del híbrido de tilapia (*O. niloticus* x *O. mossambicus*), con diferentes niveles de infestación parasitaria. Las letras diferentes indican diferencias significativas entre medias ($p < 0.05$).

El porcentaje de linfocitos en el nivel 2 de infestación fue diferente significativamente ($p<0.05$) al nivel 1 y 3, con una disminución en el porcentaje de 7.6 % y 12.2 % respectivamente, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los peces no parasitados, con respecto a los tres niveles de infestación parasitaria (Tabla 3).

El resto de las variables hematológicas como el número de eritrocitos, el porcentaje de monocitos, trombocitos, eosinófilos, basófilos y neutrófilos, así como las proteínas totales, no presentaron diferencias significativas ($p>0.05$) entre los diferentes niveles de infestación, ni con los peces no parasitados (Tabla 3).

Tabla 3. Parámetros hematológicos del híbrido de tilapia (*O. niloticus* x *O. mossambicus*) infestada con el monogéneo *Neobenedenia* sp. Htc= Hematocrito, RBC= Recuento de eritrocitos, WBC= Recuento de leucocitos, PT= Proteínas totales. Las letras diferentes indican diferencias significativas entre medias ($p<0.05$).

Variable	Peces no parasitados (n=10)	Nivel 1 (n=67) (1-15 parásitos/pez)	Nivel 2 (n=22) (16-30 parásitos/pez)	Nivel 3 (n=16) (>30 parásitos/pez)
	Promedio±DS	Promedio±DS	Promedio±DS	Promedio±DS
Htc (%)	33.6±7.7a (26.1-51.0)	31.3±6.0a (18.8-46.6)	25.5±5.4b (20.7-39.0)	25.9±8.2b (5.7-38.3)
RBC (Celx10 ⁶ /mm ³)	2.5±0.9 (0.5-3.7)	2.7±1.0 (0.7-6.6)	2.3±0.7 (0.6-3.5)	2.6±1.2 (0.2-6.29)
WBC (Celx10 ⁵ /mm ³)	0.2±0.1a (0.1-0.4)	0.2±0.09a (0.1-0.5)	0.2±0.1a (0.1-0.6)	0.1±0.05b (0.1-0.2)
PT (mg dL ⁻¹)	3.1±0.3 (28.7-38.8)	3.1±0.2 (27.0-39.6)	3.3±0.4 (29.4-49.6)	3.2±0.1 (29.8-35.5)
Linfocitos (%)	71.6±11.6ab (56.9-86.5)	73.4±10.0a (36.2-94.2)	65.8±11.5b (49.3-86.6)	78.0±7.4a (61.6-88.4)
Monocitos (%)	5.0±7.8 (0.0-22.2)	2.7±0.3 (0.0-22.2)	5.7±7.5 (0.0-25.0)	3.9±3.1 (0.04-11.7)
Trombocitos (%)	20.9±9.7 (6.5-37.5)	21.9±9.1 (0.0-46.8)	26.8±11.2 (0.0-50.2)	16.7±7.1 (6.4-34.6)
Eosinófilos (%)	0.8±0.1 (0.0-5.4)	0.4±0.5 (0.0-3.8)	0.4±0.7 (0.0-3.4)	0.1±0.2 (0.0-0.09)
Basófilos	0.8±0.1 (0.0-2.5)	1.1±0.9 (0.0-3.8)	0.7±0.8 (0.0-2.9)	0.8±0.9 (0.0-2.9)
Neutrófilos	0.6±0.05 (0.0-1.5)	0.3±0.7 (0.0-4.8)	0.3±0.3 (0.0-0.03)	0.2±0.3 (0.0-0.09)

En el híbrido de tilapia (*O. niloticus* x *O. mossambicus*) cultivada en agua de mar, se observaron y caracterizaron las células sanguíneas (eritrocitos y leucocitos). Los eritrocitos fueron células ovoides, tanto el núcleo como el citoplasma. El núcleo de estas células se tiñó de un color púrpura intenso, mientras que el citoplasma presentó un púrpura claro. Se observó la presencia de eritrocitos inmaduros, los cuales se caracterizan por tener un núcleo y citoplasma casi redondo (Figura 14).

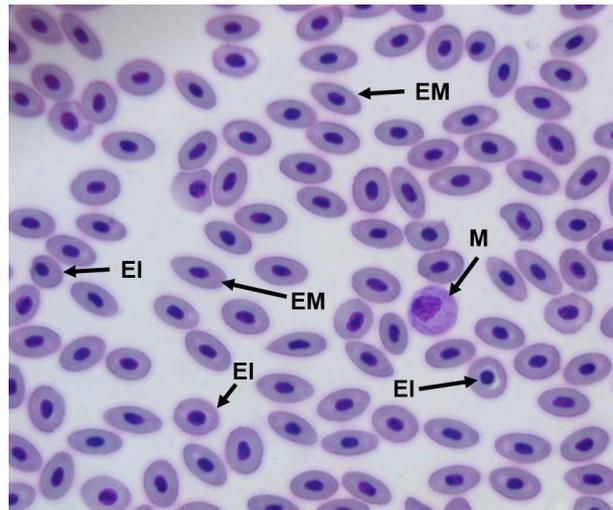


Figura 14. Eritrocitos inmaduros (EI), eritrocitos maduros (EM) y Monocitos (M), del híbrido de tilapia (*O. niloticus* x *O. mossambicus*) cultivada en agua de mar.

En el híbrido de tilapia cultivada en agua se encontraron seis tipos celulares: linfocitos, trombocitos, monocitos y granulocitos (eosinófilos, basófilos y neutrófilos). Los linfocitos fueron las células que se presentaron en mayor cantidad, seguidas de los trombocitos y monocitos. Los eosinófilos fueron los menos abundantes.

Los linfocitos presentaron una forma redonda u ovalada con un gran núcleo que ocupó la mayor parte de la célula, con la cromatina condensada. El núcleo se tiñó de un color púrpura oscuro (Figura 15 y Figura 16), el citoplasma fue casi imperceptible o en ocasiones no se apreció, el cual se asemeja a un fino anillo basófilo alrededor del núcleo. En algunos casos se encontraron linfocitos que presentaron pseudópodos. El porcentaje promedio de linfocitos fue de 72.4 ± 0.10 %, este tipo celular fue el más representativo.

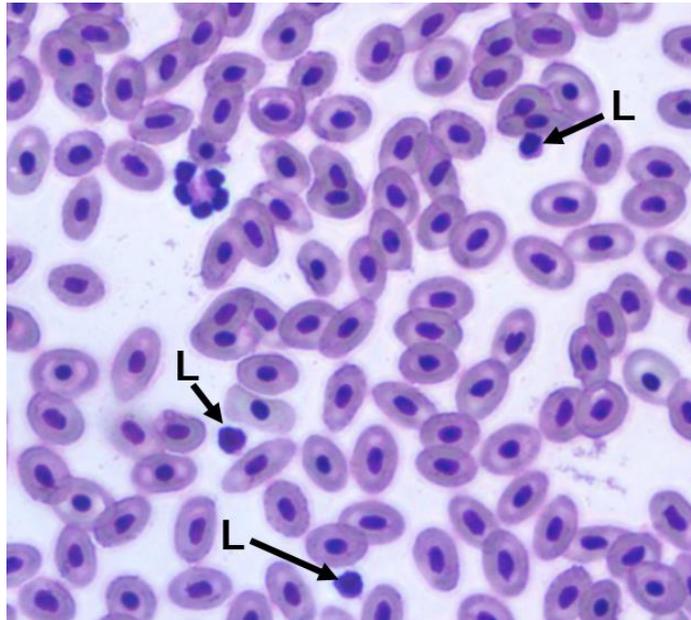


Figura 15. Linfocitos (L) del híbrido de tilapia (*O. niloticus* x *O. mossambicus*) cultivada en agua de mar.

Los monocitos se observaron con una forma circular o irregular (Figura 16), con un núcleo excéntrico de forma irregular con la cromatina distribuida y ocasionalmente vacuolada que ocupó entre un medio y un tercio de la célula. Estas fueron células grandes con vacuolas en el citoplasma, se tiñeron de color púrpura claro, y el núcleo de púrpura más oscuro. Los intervalos porcentuales de este tipo celular fueron del 0 % al 25 %, con un promedio de 3.6 ± 0.05 % (Tabla 2).

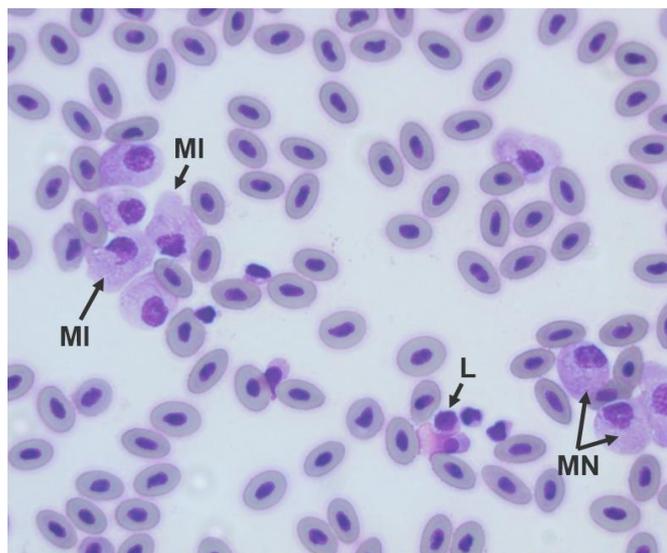


Figura 16. Monocitos normales (MN), monocitos irregulares (MI) y linfocitos (L) del híbrido de tilapia (*O. niloticus* x *O. mossambicus*) cultivada en agua de mar.

Los porcentajes de trombocitos variaron del 1.9 % al 50.0 % (Tabla 2), con un promedio del 22.6 ± 0.09 %. Estas células presentaron una forma alargada y con un núcleo que cubrió casi el total de la célula, el citoplasma fue poco visible en los polos de la célula (Figura 17). El núcleo se tiñó de un purpura oscuro con cromatina condensada.

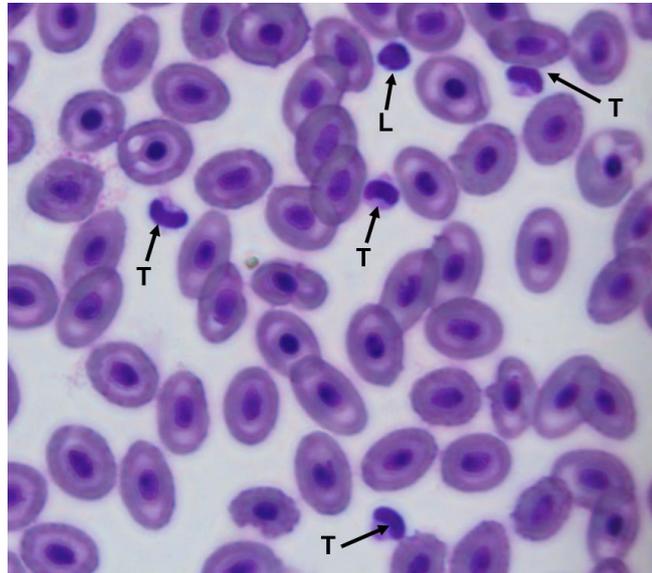


Figura 17. Trombocitos (T) y linfocitos (L) del híbrido de tilapia (*O. niloticus* x *O. mossambicus*) cultivada en agua de mar.

Las células eosinófilas presentaron forma redonda y se tiñeron de color purpura oscuro, con frecuencia exhibieron núcleos excéntricos y bilobulados y con la cromatina condensada. El citoplasma mostró numerosos gránulos pequeños alargados o esféricos. El promedio de este tipo celular en el híbrido de tilapia fue de 0.4 ± 0.007 % (Tabla 2).

Las células tipo basófilo se caracterizaron por tener un citoplasma con gránulos basófilos de diferentes tamaños. Su núcleo se tiñó de un color purpura-azulado claro y en ocasiones ocupó hasta el 70 % del total de la célula (Figura 18). En los frotis sanguíneos estas células representan únicamente el 1.0 ± 0.009 % (Tabla 2) en la diferenciación de los leucocitos.

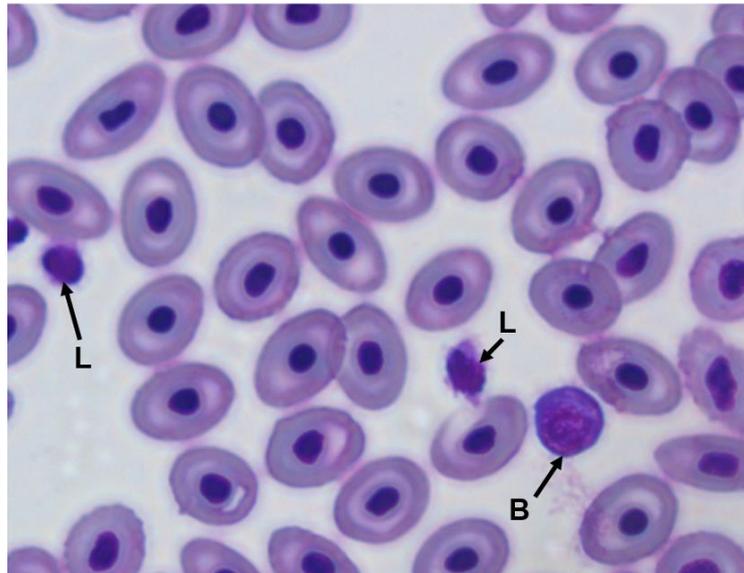


Figura 18. Basófilo (B) y linfocitos (L) del híbrido de tilapia (*O. niloticus* x *O. mossambicus*) cultivada en agua de mar.

Los granulocitos del tipo neutrófilos se caracterizaron por presentar un gran citoplasma basófilo, con pocos gránulos de forma redonda u ovalada, que se tiñeron de color púrpura pálido, el núcleo de forma irregular, excéntrico y en ocasiones bilobulado o multilobulado, teñido de color púrpura oscuro (Figura 19). El valor promedio de este tipo celular en el híbrido de tilapia cultivada en agua de mar fue de 1.1 ± 0.08 %.

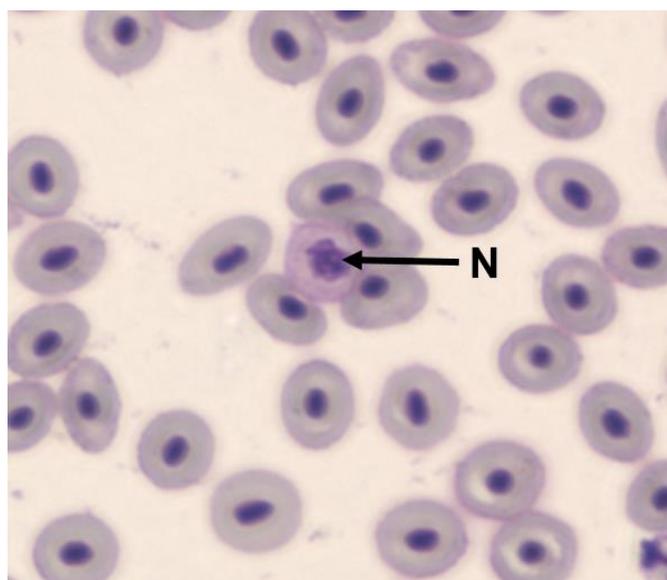


Figura 19. Neutrófilo (N) del híbrido de tilapia (*O. niloticus* x *O. mossambicus*) cultivada en agua de mar.

6.3 Índices biológicos

Los resultados de las biometrías e índices biológicos de los híbridos de tilapia cultivada en agua de mar (peces parasitados y no parasitados) se presentan en la Tabla 4. El peso y longitud promedio de los organismos fue de 176.5 ± 56.21 g y 21.2 ± 2.25 cm respectivamente. El índice de condición tuvo un intervalo de 38.3 a 123 %, con un promedio de 81.3 ± 18.05 %. Para el caso de los Índices hepatosomático y esplenosomático, se obtuvo un promedio de 1.1 ± 0.26 % y 0.05 ± 0.04 %, respectivamente.

En el análisis con diferentes niveles de infestación, los peces que mostraron un mayor peso, fueron encontrados en el nivel 3 de infestación parasitaria; el peso mostró diferencias significativas ($p < 0.05$) entre el nivel 3 y el nivel 1 de infestación (Figura 20), sin embargo, no hubo diferencias significativas entre los niveles de infestación y los peces no parasitados.

Tabla 4. Biometría e índices biológicos del híbrido de tilapia (*O. niloticus* x *O. mossambicus*) cultivada en agua de mar. IC= Índice de condición, IH= Índice hepatosomático, IE= Índice esplenosomático.

Variable	Unidades	Min	Max	Promedio \pm DS
Peso	g	56.8	330.5	176.5 ± 56.21
Longitud	cm	14.8	26.9	21.2 ± 2.25
IC	%	38.3	123.3	81.3 ± 18.05
IH	%	0.60	2.0	1.1 ± 0.26
IE	%	0.0	0.19	0.05 ± 0.04

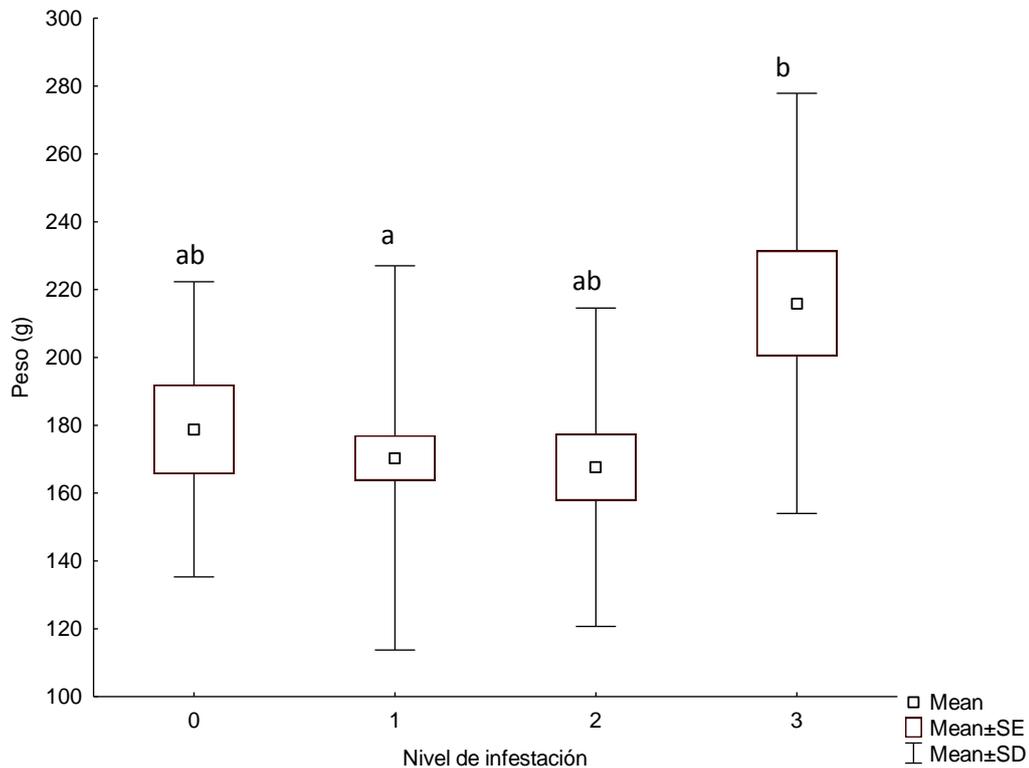


Figura 20. Peso (g) del híbrido de tilapia (*O. niloticus* x *O. mossambicus*), a diferentes niveles de infestación parasitaria. Las letras diferentes representan diferencias significativas entre medias ($p < 0.05$).

La mayor infestación parasitaria (nivel 3) se encontró en los peces de mayor tamaño (23.23 ± 2.1 cm). Este nivel presentó diferencias significativas ($p < 0.05$) con respecto al nivel 1 y 2 de infestación, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos de peces infestados y los peces no parasitados ($p > 0.05$) (Figura 21). El análisis de clúster, ubica a los peces parasitados nivel 1 y 2 de infestación y los peces no parasitados en un mismo grupo, y a los peces del nivel 3 en un grupo aparte (Figura 22).

En relación a los índices de condición, hepatosomático y esplenosomático de la tilapia cultivada en agua de mar, no se encontraron diferencias significativas, entre los diferentes niveles de infestación parasitaria, y tampoco con respecto a los peces no parasitados. El promedio del IC para los peces no parasitados fue de 84.4 ± 14.5 % y para los niveles 1, 2 y 3 fue de 79.6 ± 18.8 %, 78.5 ± 14.9 % y 91.4 ± 18.1 % respectivamente; mientras que el promedio del IH fue de 1.1 % para los peces parasitados y no parasitados (Tabla 5).

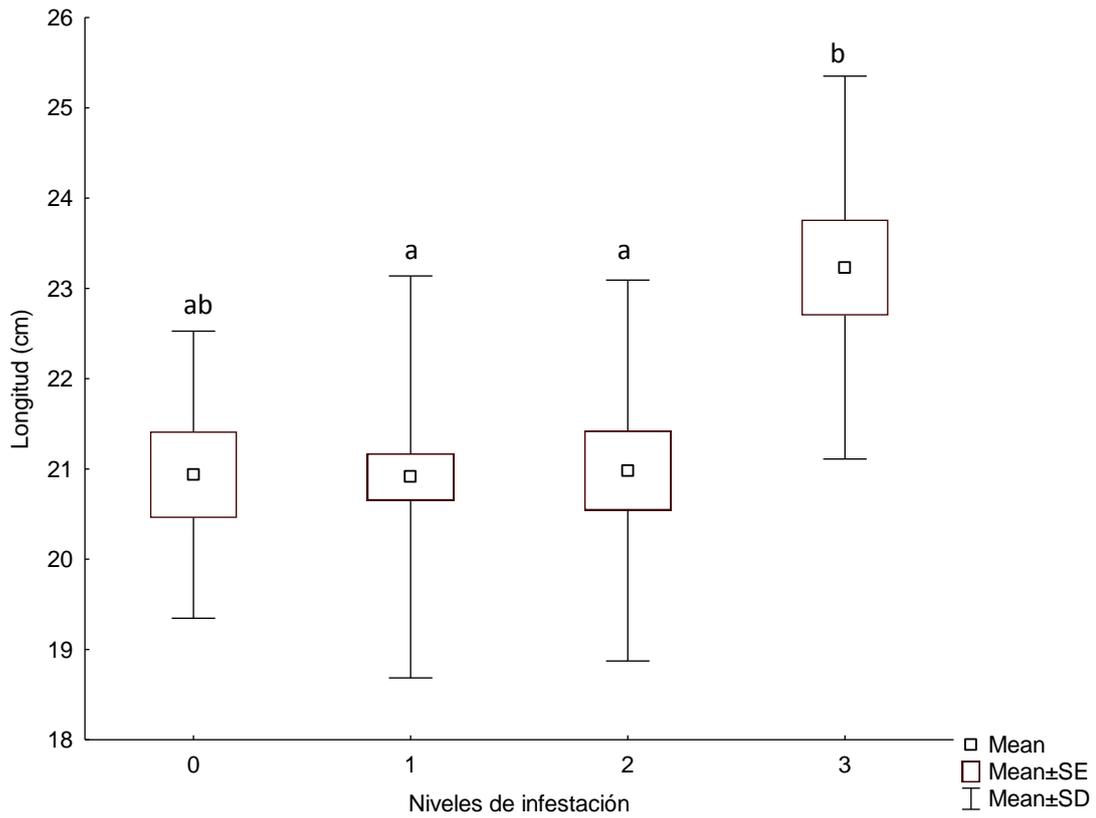


Figura 21. Longitud (cm) del híbrido de tilapia (*O. niloticus* x *O. mossambicus*), a diferentes niveles de infestación parasitaria. Las letras diferentes indican diferencias significativas entre medias ($p < 0.05$).

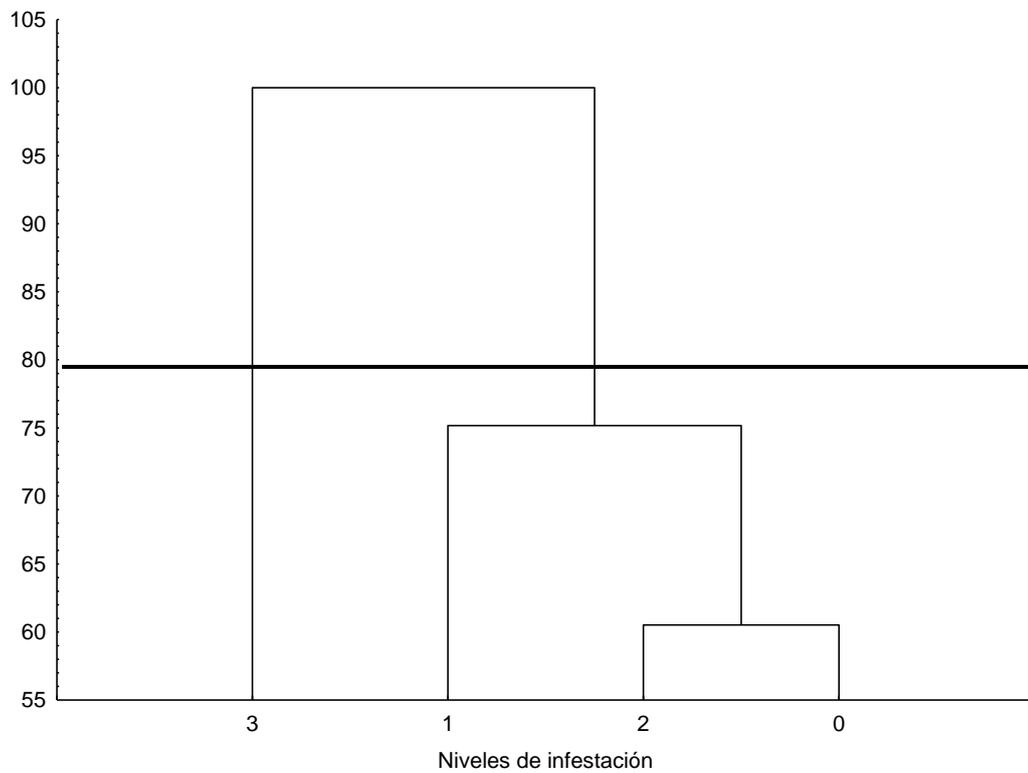


Figura 22. Dendrograma de la variable longitud del híbrido de tilapia (*O. niloticus* x *O. mossambicus*); a diferentes niveles de infestación parasitaria utilizando la distancia euclidiana.

Tabla 5. Biometría e índices biológicos del híbrido de tilapia (*O. niloticus* x *O. mossambicus*) infestada con el monogéneo *Neobenedenia* sp. IC= Índice de condición, IH= Índice hepatosomático, IE=índice esplenosomático.

Variable	Peces no parasitados (n=11)	Nivel 1 (n=73) (1-15 parásitos/pez)	Nivel 2 (n=23) (16-30 parásitos/pez)	Nivel 3 (n=16) (>30 parásitos/pez)
	Promedio±DS (115.6-248.5)	Promedio±DS (56.8-303.5)	Promedio±DS (94.3-245.9)	Promedio±DS (134.6-330.5)
Peso (g)	178.8±43.5ab (115.6-248.5)	170.3±56.6a (56.8-303.5)	167.6±46.9ab (94.3-245.9)	215.9±61.9b (134.6-330.5)
Longitud (cm)	20.9±1.5ab (18.4-23.4)	20.9±2.2a (14.8-24.9)	20.9±2.1a (17.4-24.0)	23.2±2.1b (20.6-26.9)
IC (%)	84.4±14.5 (62.8-106.1)	79.6±18.8 (38.3-121.8)	78.5±14.9 (53.8-104.6)	91.4±18.1 (63.6-123.3)
IH (%)	1.1±0.2 (0.7-1.7)	1.1±0.2 (0.6-2.0)	1.1±0.3 (0.7-2.0)	1.1±0.2 (0.9-1.5)
IE (%)	0.04±0.03 (0.0-0.1)	0.05±0.04 (0.0-0.1)	0.03±0.03 (0.0-0.1)	0.06±0.03 (0.0-0.1)

Capítulo 7. Discusiones

En el presente estudio se evaluó el efecto de los parásitos sobre las variables hematológicas, química sanguínea e índices biológicos en el híbrido de tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis mossambicus*) cultivada en jaulas en agua de mar en la Bahía de Santa Cruz de Miramar, Nayarit. En el híbrido de tilapia se identificaron tres especies de parásitos, uno perteneciente al grupo de los monogéneos (Capsalidae) y dos al grupo de los crustáceos (copépodos).

El parásito monogéneo *Neobenedenia* sp. se identificó por presentar dos discos adhesivos anteriores y un órgano de fijación que recibe el nombre de haptor posterior, el cual consta de 2 pares de hamulis que se localizan en la zona ventral y escleritas en la parte perimetral del haptor, que utiliza para perforar el tejido epitelial de los peces. Este capsárido, se considera un riesgo para los peces a través del Atlántico Norte occidental. En empresas dedicadas al cultivo de tilapia en agua salada o salobre en las Bahamas, Jamaica y Puerto Rico ha tenido un impacto negativo. La abundancia de estos parásitos que cubren al pez le dan la apariencia de escamas (Bunkley-Williams y Williams, 1995).

Neobenedenia sp. puede estar presente en el medio ambiente en bajas intensidades sin causar altas mortalidades, ya que son parte integral de los ecosistemas (Scholz, 1999), sin embargo, estos parásitos incrementan con el aumento en las densidades de cultivo (Hoshina, 1968), como lo corroboró Sasal (2003), quien encontró mayores intensidades parasitarias a mayores densidades de peces, lo que atribuyó principalmente al estrés por el confinamiento. El parásito *Neobenedenia* sp. presenta una amplia distribución geográfica, y altas intensidades pueden ocasionar la devastación de cultivos completos de tilapia, como lo reportado en Puerto Rico por Bunkley-Williams y Williams (1995). La presencia de *Neobenedenia* sp. es muy frecuente en los cultivos de peces marinos. Deveney *et al.* (2001) encontraron *Neobenedenia melleni* en el barramundi (*Lates calcarifer*) cultivado en Australia, estos autores reportan la presencia de estos parásitos en aletas, piel, cabeza y ojos; de igual forma, en este trabajo en los híbridos de tilapia analizados, los parásitos se encontraron distribuidos sobre la superficie del cuerpo, cabeza, ojos y aletas, lo que coincide con lo reportado por Hirazawa *et al.* (2001). Este monogéneo se ha

reportado para el pez *Seriola dumerili* (Hirazawa *et al.*, 2004, Hirazawa *et al.*, 2010 y Hirazawa *et al.*, 2011) y en peces ornamentales (Sikkel *et al.*, 2009).

El género *Oreochromis* cultivada en agua de mar es muy susceptible a infestaciones parasitarias por *Neobenedenia* sp. Robinson *et al.* (1992), reportaron la presencia de *Neobenedenia melleni* en tilapia híbrida (*Oreochromis* spp.) cultivada en jaulas en Jamaica, en donde registraron mortalidades del 16 %, 33 % y 100 % en densidades de 50, 75 y 100 peces / m³ respectivamente. De igual forma, estos mismos autores reportaron en 2008, la presencia de *N. melleni* en el híbrido de tilapia (*O. aureus* x *O. mossambicus*) cultivada en agua de mar en Jamaica. Este parásito también se ha encontrado en la tilapia red florida (*O. urolepis hornorum* x *O. mossambicus*) cultivada en agua de mar (Mueller *et al.*, 1992). Rubio-Godoy *et al.* (2011) compararon la susceptibilidad de dos especies de tilapia, *O. mossambicus* y el denominado pargo UNAM (híbrido compuesto de 50 % tilapia roja florida, 25 % tilapia rocky mountain y 25 % *O. niloticus*) a *Neobenedenia* sp., donde registraron una mortalidad del 100 % en el pargo UNAM y 22 % en *O. mossambicus*.

Crespo y Crespo (2003) mencionan que las tilapias exóticas tienen poca resistencia a este parásito, y su efecto en los peces como la tilapia se traduce en una disminución de la tasa de fertilidad, retardo del crecimiento, pérdida de peso y altas mortalidades. La alimentación de estos gusanos es a base de mucus, epitelio y en ocasiones de sangre; producen desgarre y destrucción del tejido epitelial.

El híbrido de tilapia en este estudio presentó una alta prevalencia (91.05 %) al parásito *Neobenedenia* sp., similar a la reportada por Rubio-Godoy *et al.* (2011) al registrar el 100 % en dos especies de tilapia (*O. mossambicus* y pargo UNAM) a los 15 días de haber sido cultivadas en agua de mar. Resultados similares fueron encontrados por Robinson *et al.* (2008), con una prevalencia del 100 % en híbrido de tilapia (*O. aureus* x *O. mossambicus*) infestado con *N. melleni* en un cultivo en jaulas marinas en Jamaica. Por otro lado, en los peces *Acanthurus bahianus* y *A. coeruleus* se registró una prevalencia de 33 % y 55.6 % respectivamente, ambos infestados con el parásito *N. melleni* (Sikkel *et al.*, 2009).

En la tilapia cultivada en agua de mar en el presente estudio, la intensidad parasitaria de *Neobenedenia* sp. tuvo intervalos de intensidad entre 1 y 115 parásitos / pez, con un promedio bajo (17 parásitos / pez) en relación a lo reportado por Hirazawa *et al.* (2004, 2010 y 2011) para el pez *Seriola dumerili*, quienes encontraron una intensidad promedio de 27.0 ± 6.6 a 187.4 ± 50.8 parásitos / pez. Robinson *et al.* (2008) reportaron en tilapia cultivada en agua de mar (*O. aureus* x *O. mossambicus*) infestada con *N. melleni* una intensidad de 101 ± 45 parásitos / pez en juveniles de 10 a 140 g de peso en 12 semanas de cultivo. En *O. mossambicus* aclimatada al agua de mar infestada con *N. melleni*, se han registrado intensidades de 62.4 y 898.4 parásitos / pez a los 15 y 21 días de cultivo respectivamente, teniendo como intervalos de 182 a 1923 parásitos / pez. En el pargo UNAM, la intensidad fue de 51.3 parásitos / pez a los 15 días de cultivo, con mortalidades del 100 % al día 21 (Rubio-Godoy, 2011).

En los híbridos de tilapia, además se encontró que a mayor longitud, mayor intensidad parasitaria; esto debido a que en los peces de mayor tamaño, los parásitos tienen más área para fijarse a su hospedero (Rameshkumar y Ravichandran, 2012). Esto coincide con lo reportado por Paperna *et al.* (1984), quienes encontraron una correlación positiva entre la intensidad de parásitos y la longitud de los peces. De igual manera Anstensrud y Schram (1988) y Nagasawa (2004), coincidieron que a mayor longitud del hospedero, existe un aumento en la intensidad parasitaria. Por otra parte, Leaw *et al.* (2012) documentaron en el *Lutjanus erythropterus*, que la intensidad máxima de infestación con *C. rotundigenitalis* se dio en los peces más grandes.

El parásito *Caligus* sp. encontrado en la tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis mossambicus*) de la presente investigación, fue identificado de acuerdo a lo descrito por Kabata (1979, 1992) y Dojiri y Ho (2013). El parásito presentó la estructura del cefalotórax característica de este género en donde se observaron las suturas dorsales conspicuas en forma de H, además de la cuarta pata que estuvo conformada por más de un segmento. Se encontraron machos y hembras, los que se diferenciaron conforme al complejo genital y a la forma del abdomen, además del tamaño, ya que la hembra es más grande que el macho; las hembras encontradas presentaron las cadenas de huevos características de *Caligus* sp.

Los caligidos son parásitos de gran importancia en el cultivo de peces, ya que ocasionan grandes pérdidas económicas para los productores (Johnson *et al.*, 2004), como lo reporta Nagasawa (2004) en salmónidos cultivados en Europa y Norteamérica, y en *Mugil cephalus* en granjas de cultivo en Egipto (El-Deen *et al.*, 2012). En los años recientes estos parásitos han causado con mayor frecuencia daños en la epidermis, infecciones secundarias y mortalidades en los peces de cultivo (Boxhall y Dafaye, 1993 y Tansel y Fatih, 2012). Muhd-Faizul *et al.* (2012) reportaron cinco especies del género *Caligus*; *C. chiastos*, *C. rotundigenitalis*, *C. punctatus*, *C. epidemicus* y una especie desconocida en el pez barramundi (*Lates calcarifer*) en Malasia, siendo el parásito *C. elongatus* el más abundante.

La familia Caligidae comprende más de 450 especies de parásitos identificados principalmente en peces marinos (Ho y Lin, 2004), siendo el género *Caligus* el más representativo con 249 especies (Boxshall, 2012). Estos parásitos afectan significativamente el crecimiento, fecundidad y supervivencia de los peces (Kabata, 1985). En el híbrido de tilapia cultivado en agua de mar en este estudio, no se vio afectado el crecimiento ni la supervivencia de los peces, debido a que la prevalencia e intensidad fueron bajas.

La prevalencia del parásito *Caligus* sp. en los híbridos de tilapias del presente trabajo fue de 8.9 %, mientras que la intensidad promedio fue de 1.09 parásitos / pez (intervalos de intensidad de 1 a 2 parásitos / pez), estos valores son bajos si se comparan con lo reportado para otras especies de peces. Leaw *et al.* (2012), encontraron en un cultivo de pargo *Lutjanus erythropterus* (100 a 329 g) en Malasia, una intensidad promedio de 5.6 ± 4.4 parásitos / pez del copépodo *C. rotundigenitalis*, los cuales presentaron una distribución del 81.4 % y 7.1 % en el opérculo y el cuerpo respectivamente. En la tilapia cultivada en agua de mar en Nayarit, el 65 % de los parásitos se encontraron distribuidos en el cuerpo y el 35 % en las aletas.

En el cultivo de *Tilapia rendalli* de 20.4 ± 2.5 cm de longitud promedio, se registró una prevalencia de 2.5 % y una intensidad de 4 parásitos / pez del copépodo *Caligus balistae* en Río de Janeiro, Brasil (Paschoal *et al.*, 2011). El-Deen *et al.* (2013), registraron una prevalencia máxima (91.6 %) del parásito *C. minimus* e intensidades

de 23.15 ± 0.3 parásitos / pez, y una prevalencia del 90 % de *C. elongatus* con intensidades de 22.5 ± 0.55 parásitos / pez, ambos parásitos se encontraron en los peces *Dicentrarchus labrax* (robalo) y *Mugil cephalus* (lisa). En el salmón (*Salmon salar*) de 81.4 g e infestado con *C. rogercresseyi* se encontró una prevalencia del 100 % y una intensidad promedio de 41.25 parásitos / pez (González *et al.*, 2015).

El-Deen *et al.* (2013) encontraron daños en la piel, branquias y musculo de los peces *D. labrax* y *M. cephalus*. Estas lesiones se caracterizaron por desprendimiento del epitelio y necrosis ocasionado por el copépodo *C. minimus* y *C. elongatus*, además de un incremento de las células fagocíticas en el músculo. De igual forma González *et al.* (2015), sugieren que el desarrollo del parasito *C. rogercresseyi* de copepodito a adulto induce cambios fisiológicos en el salmón *S. salar*, debido a la demanda energética por parte del hospedero, y a que en los peces de 80 g una infestación mayor a seis parásitos adultos / pez son suficientes para causar alteraciones en los organismos. En la tilapia cultivada en agua de mar en esta investigación se encontró una intensidad máxima de 2 parásitos / pez, este valor es bajo para ocasionar alteraciones fisiológicas significativas en los peces; sin embargo, es muy probable que los daños aumenten a mayores intensidades parasitarias.

Los copépodos del género *Lernaeenicus* pertenecen a la familia Pennellidae, estos parásitos tienen un ciclo de vida heteroxeno, es decir, necesitan más de un huésped para completar su ciclo de vida; las hembras adultas son hematófagas y viven incrustadas en el cuerpo del hospedero (Rousset y Raibaut, 1989). Las infestaciones de este parásito aumentan en peces de mayor tamaño, debido a que tienen más área para su fijación (Dogiel *et al.*, 1958). Las infestaciones con *Lernaeenicus* sp., ocasionan en los peces daños en los sitios de fijación. Rameshkumar y Ravichandran (2012), encontraron pequeñas perforaciones y lesiones en la piel y en los riñones de los peces infestados por *L. sprattae*. Autores como Sebastian y George (1964) mencionan que estos parásitos pueden perforar la piel y llegar a la cavidad visceral y adherirse a órganos internos como las gónadas, el hígado y los riñones; otros incluso lo han reportado adherido al corazón de los peces (Rousset y Raibaut, 1989).

En los híbridos de tilapias examinados se encontró un ejemplar de copépodo del género *Lernaeenicus*, en el estadio llamado “hembra en el ojo”. La cual presentó dos bandas dorsolaterales en la parte anterior del cuerpo y una boca equipada con lamelas en forma de serrucho. El tronco estaba dividido en 5 segmentos, el primero identificado como el segmento genital y abdomen, y los restantes como segmentos torácicos, cada uno equipado con un par de patas nadadoras. Estas características morfológicas coinciden con lo descrito por Schram (1979). Este parásito se encontró adherido (sumergido) en los tejidos del ojo de la tilapia, con la parte del abdomen y segmento genital sobresaliendo del ojo.

Lo que coincide a lo reportado para este género (*Lernaeenicus*), ya que se ha encontrado en el ojo y ocasionalmente en el cuerpo de sardinas en Europa (Wilson, 1917). Rousset y Raibaut (1989) reportaron al parásito *Lernaeenicus* sp. en la *Sardina pilchardus* en las costas del sur de Francia, estos fueron encontrados adheridos al ojo, el cuerpo y las aletas de los peces. De la misma manera Vijayakumar *et al.* (2014), reportaron al parásito *L. hemiramphi* en el pez aguja (*Hemiramphus far*) en la India; este parásito fue encontrado en el cuerpo y el opérculo del pez. En el este de China, el parásito *L. ramosus* fue encontrado en el mero amarillo (*Epinephelus awoara*), adherido en el tejido subcutáneo del cuerpo (Nagasawa *et al.*, 2011).

En el presente trabajo solamente se encontró un parásito de *Lernaeenicus* sp. en un hospedero, por lo que la intensidad promedio y prevalencia fueron bajas con 1 parásito / pez y 0.8 % respectivamente; sin embargo, los resultados están dentro de lo descrito por Schram (1987), quien sugiere que la prevalencia de este parásito va de 0.4 % al 7 %, encontrándose una prevalencia comúnmente del 1 %. Moller (1981), reportó una prevalencia del 26 % del parásito *L. encrasicoli*, este porcentaje es poco frecuente, acorde a lo mencionado por Schram (1987). En estudios realizados por Bharadhirajan *et al.* (2013) en la costa sureste de la India, encontraron una prevalencia del parásito *L. polynemi* de 13.94 % y una intensidad promedio de 2.33 parásitos / pez en *Eleutheronema tetradactylum*. Rameshkumar y Ravichandran (2012), reportaron en los peces aguja (*H. far*) una intensidad del parásito *L. sprattae* de 4 parásitos / pez.

Las bajas intensidades parasitarias encontradas en la tilapia cultivada en agua de mar en la Bahía de Santa Cruz de Miramar, Nayarit, México, podrían deberse a la baja densidad de siembra $10 \text{ kg} / \text{m}^3$, y a que la unidad de cultivo se encontraba ubicada en una zona de fuertes corrientes, lo que ayuda a la circulación del agua en las jaulas de cultivo y evita que los huevos de *Neobenedenia* sp. se fijen en los filamentos de la jaula. Estas observaciones coinciden con lo mencionado por Baker y Cone (1992), al sugerir que las tasas de flujo de agua reducen la abundancia y prevalencia de monogéneos y copépodos en las anguilas silvestres del Atlántico de Canadá. Por lo cual, el tener una buena circulación de agua, bajas densidades de siembra y mantener limpios los sistemas de cultivo, podrían ser implementadas como estrategias en los cultivos de peces en jaulas, para tener una menor intensidad y prevalencia de ectoparásitos.

7.1 Variables hematológicas

En los peces, es complicado estandarizar los parámetros hematológicos debido a que estos pueden ser influenciados por deficiencias alimenticias, enfermedades y situaciones de estrés (Silveira y Rigores, 1989), ya que las características fisiológicas y bioquímicas de la sangre se modifican con gran facilidad por cambios en el ambiente (Atamanalp *et al.*, 2013).

En el híbrido de tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis mossambicus*) cultivada en agua de mar, se buscaron cambios en las variables hematológicas y química sanguínea en relación a la carga parasitaria. Los parámetros sanguíneos que se tomaron en cuenta fueron específicamente el hematocrito, conteo de eritrocitos y leucocitos, diferenciación de leucocitos y proteínas totales.

El hematocrito representa el porcentaje de eritrocitos en la sangre, y este se incrementa durante condiciones de estrés (Barton, 2000 y Yuji *et al.*, 2014). De acuerdo con Martins *et al.* (2004), un Htc del 45 % o mayor en tilapia nilótica cultivada en agua dulce evidencia la presencia de policitemia (aumento significativo de eritrocitos), por el contrario, niveles bajos indican estados anémicos, causados posiblemente por enfermedades inflamatorias, renales o esplénicas, trastornos nutricionales, parasitismo o ulceraciones.

En el presente estudio para el híbrido de tilapia cultivada en agua de mar, se obtuvo un Htc promedio de 30.09 ± 6.77 % con intervalos de 5.7 a 51.0 %, estos resultados son similares a lo reportado en tilapia *O. niloticus* aclimatada en agua de mar, donde el promedio fue de 26.9 % (Sun *et al.*, 1995), así como en lo encontrado en el híbrido de tilapia (*O. nilotica* x *O. mossambicus* x *O. aureus*) con un Htc de 33 % (Hrubec *et al.*, 2000). Hahn-Von-Hessberg *et al.* (2011, 2014), Bittencourt *et al.* (2003) y Barros *et al.* (2004) reportaron para *O. niloticus*, un promedio mínimo de 28.0 % y un máximo de 33.56 % (promedios en Anexo 2). Del Rio-Zaragoza *et al.* (2008), reportan un Htc de 34 % para la especie *O. mossambicus*, que es parecido a lo encontrado en este trabajo. El hematocrito en la mayoría de los peces marinos es mayor comparado con los valores encontrados en peces de agua dulce (Wilhelm *et al.*, 1992), sin embargo, en la tilapia cultivada en agua de mar de este estudio, mostró un hematocrito similar a las especies de tilapias cultivadas en agua dulce.

Por otra parte, Cnaani *et al.* (2004) reportaron promedios para el Htc de 28.3 % en *O. aureus*, 24.2 % en *O. mossambicus*, 24.7 % en *O. niloticus* y 24.8 % en la tilapia roja (*O. niloticus*) cultivadas en agua dulce, los valores encontrados por estos autores son menores a los registrados en este trabajo. Mientras que en especies como el pacú *P. mesopotamicus* reportan un porcentaje promedio de Htc del 33.5 ± 1.6 (Yuji *et al.*, 2014) y en la lisa (*Mugil cephalus*) de 39.60 ± 2.10 % (Fazio *et al.*, 2013).

En el híbrido de tilapia cultivada en agua de mar no se encontraron diferencias en el porcentaje del Htc de los peces no parasitados (33.6 %) y el nivel 1 de infestación (31.3 %), pero estos fueron diferentes con respecto a los niveles 2 y 3 de infestación (25.5 y 25.9 %, respectivamente); observándose una disminución en el porcentaje del Htc a mayor carga parasitaria del monogéneo *Neobenedenia* sp. Estos resultados coinciden con los reportados por Silveira-Coffigny *et al.* (2004), quienes infectaron a la especie *O. aureus* con la bacteria *Corynebacterium* sp., en donde encontraron diferencias significativas en el porcentaje del Htc, con un 30.6 % en peces sanos y un 21.0 % en peces infectados. De la misma manera Tavares-Dias *et al.* (2002), reportaron diferencias significativas en el porcentaje del Htc en *O. niloticus* parasitadas con *Ichthyophthirius multifiliis* y *Saprolegnia* sp. con respecto al grupo control (24.9 % y 30.6 %, respectivamente). Los resultados de la presente investigación y de los autores antes mencionados, difieren a lo reportado por Del

Rio-Zaragoza *et al.* (2011), quienes encontraron diferencias en los valores del Htc en pargo *Lutjanus guttatus* parasitados con monogéneos, los valores más altos se encontraron en los peces parasitados ($62.66 \pm 8.68 \%$), comparados con los no parasitados ($52.33 \pm 9.59 \%$).

Por otra parte, en tilapia *O. aureus* expuesta a una infección con *Corynebacterium* sp. y *Aeromonas hydrophila*, se obtuvo un Htc del 26 % para el grupo control y del 21 % para los peces infectados con *Corynebacterium* sp, y un 25 % para *A. hydrophila*, sin embargo, estadísticamente no se encontraron diferencias (Silveira-Coffigny *et al.*, 2005). En estudios realizados en *O. niloticus* parasitadas con el monogéneo *Cichlydogyrus* sp. a una intensidad de 33 parásitos / pez, los valores del Htc fueron del 42 % en peces no parasitados y del 33 % en peces parasitados (Pegado *et al.*, 2006). Los autores mencionan que hubo una disminución en el Htc, sin embargo, los valores no difieren significativamente, probablemente debido a que el número de parásitos no fue suficiente para inducir cambios en esta respuesta. En el híbrido de tilapia cultivado en agua de mar en el presente trabajo, el Htc también disminuyó en los peces con mayor intensidad parasitaria, mostrando diferencias estadísticas en los peces con una intensidad mayor a 15 parásitos / pez. Estos resultados difieren con lo reportado por Vásquez-Piñeros *et al.* (2010) en la evaluación hematológica de tilapia (*Oreochromis* sp.) infectada con *A. hydrophila* y *Edwardsiella tarda*, donde no encontraron diferencia en el Htc con respecto al grupo control.

En las tilapias cultivadas en agua de mar, el número de eritrocitos (Red blood cells, RBC, por sus siglas en inglés) encontrados fue de $2.62 \times 10^6/\text{mm}^3$ con un intervalo de 0.27 a $6.6 \times 10^6/\text{mm}^3$, lo que es semejante a lo reportado por Hrubec *et al.* (2000) para híbridos de tilapia (*O. niloticus* x *O. mossambicus* x *O. aureus*) cultivada en agua dulce, con un promedio de 2.31×10^6 Cel/ μL . Estos resultados son similares a los obtenidos por Hahn-Von-Hessberg *et al.* (2014) (Anexo 2). En *O. niloticus* cultivada en agua dulce, se han reportado valores de 2.23 a $3.04 \times 10^6/\text{mm}^3$ (Del Rio-Zaragoza *et al.*, 2008), mientras que en pargo *L. guttatus* reportan un promedio de $2.23 \pm 0.75 \times 10^6/\text{mm}^3$ (Del Rio-Zaragoza *et al.*, 2011).

Los valores encontrados en este estudio son mayores a lo reportado para *O. aureus* cultivada en agua dulce ($1.18 \times 10^6/\text{mm}^3$) por Silveira-Coffigny (2005) y a $1.99 \pm 0.25 \times 10^6/\text{mm}^3$ registrado en el pacú (Yuji *et al.*, 2014). Hahn-Von-Hessberg *et al.* (2011), encontraron una concentración de RBC de $1.78 \pm 0.056 \times 10^6/\text{mm}^3$ en tilapia *O. niloticus*, coincidiendo con Barros *et al.* (2004) para esta misma especie con un promedio de $1.80 \times 10^6/\text{mm}^3$. Por otra parte Bittencourt *et al.* (2003), reportaron valores altos de RBC para *O. niloticus* con un promedio de $6.93 \times 10^6/\text{mm}^3$, con un intervalo que va de 0.7 a $28 \times 10^6/\text{mm}^3$. Fazio *et al.* (2013) también registraron en la lisa *M. cephalus* valores altos de RBC ($3.53 \pm 0.16 \times 10^6/\mu\text{L}$).

En el conteo total de RBC no se encontraron diferencias entre los peces parasitados y no parasitados, obteniendo valores de $2.5 \times 10^6/\text{mm}^3$ para los peces no parasitados, $2.7 \times 10^6/\text{mm}^3$ en el nivel 1 de infestación, $2.3 \times 10^6/\text{mm}^3$ para el nivel 2 y $2.6 \times 10^6/\text{mm}^3$ para el nivel 3 de infestación, con una mayor variabilidad en este último. Esto coincide con lo reportado por Silveira-Coffigny *et al.* (2004) en tilapias (*O. aureus*) cultivadas en agua dulce de 75 a 275 g, infectadas con *Corynebacterium* sp., los autores no encontraron diferencias en los niveles de RBC entre los peces infectados y el grupo control, con un promedio de $1.11 \times 10^6/\text{mm}^3$ y $1.42 \times 10^6/\text{mm}^3$, respectivamente. Sin embargo, en el estudio realizado por Tavares-Dias *et al.* (2002) observaron en la tilapia *O. niloticus* infectadas con *I. multifiliis* y *Saprolegnia* sp. que en el grupo control los valores de RBC ($2.473 \times 10^6/\mu\text{L}$) difieren significativamente con los peces infectados ($1.402 \times 10^6/\mu\text{L}$). En la tilapia cultivada en agua de mar en Nayarit, los valores de RBC entre peces parasitados y no parasitados no fueron diferentes estadísticamente, lo que sugiere probablemente que el número de parásitos no fue lo suficientemente alto para ocasionar cambios en este parámetro hematológico.

Los leucocitos (White blood cells, WBC, por sus siglas en inglés) en la sangre de los peces forman parte del sistema inmune, un aumento en el número de estas células indican una mayor respuesta inmune por parte de los organismos (Tavares-Dias y Moraes, 2004) causada por estrés (Wedemeyer, 1996 y Del Rio-Zaragoza *et al.*, 2008), anemia e infecciones, lo que es común en el cultivo de peces, ya que los organismos están expuestos a confinamiento y también a la mala calidad del agua (Hrubec *et al.*, 2000).

En el híbrido de tilapia cultivada en agua de mar, el recuento total de leucocitos tuvo un promedio de $0.22 \pm 0.09 \times 10^5/\text{mm}^3$, con un mínimo y máximo de 0.10 y $0.65 \times 10^5/\text{mm}^3$. Estos resultados están por debajo de los reportados por Hahn-Von-Hessberg *et al.* (2011, 2014) para *O. niloticus* cultivada en agua dulce, donde registraron un promedio de $1.21 \pm 0.074 \times 10^5/\text{mm}^3$ y $2.18 \times 10^5/\text{mm}^3$. Así como en el documentado en el híbrido de tilapia (*O. niloticus* x *O. mossambicus* x *O. aureus*) con un promedio de $0.75 \pm 0.09 \times 10^5/\text{mm}^3$ (Hrubec *et al.*, 2000).

En este estudio se observó una disminución en el conteo total de WBC a mayores intensidades parasitarias, en donde se encontraron diferencias entre el nivel 3 de infestación ($0.1-0.2 \times 10^5/\text{mm}^3$) con respecto a los niveles 1 y 2 ($0.1-0.6 \times 10^5/\text{mm}^3$), y los peces no parasitados. Sin embargo, Del Rio-Zaragoza *et al.* (2011), encontraron diferencias significativas en los valores de WBC en peces *L. guttatus* infestados con parásitos monogéneos (Dactylogyridae), los autores reportaron un promedio de $0.68 \pm 0.21 \times 10^5/\text{mm}^3$ para peces no parasitados y de $1.98 \times 10^5/\text{mm}^3$ en pargos parasitados, donde se observó un aumento en estas células en el grupo parasitado, lo que es contrario a lo encontrado en los híbridos de tilapia en el presente trabajo, lo que podría deberse a las condiciones ambientales y al estado fisiológico de los organismos.

En el conteo diferencial de WBC fueron observados seis tipos de células: linfocitos, trombocitos, monocitos, neutrófilos, eosinófilos y basófilos; los linfocitos (72.4 ± 0.10 %) fueron los más predominantes, seguido por los trombocitos. Esto coincide con lo reportado por Ueda *et al.* (2001), Pegado *et al.* (2006), Martins *et al.* (2008) y Hahn-Von-Hessberg *et al.* (2014) (Anexo 2) en frotis sanguíneos de *O. niloticus*. Así como lo encontrado en carpa (*C. carpio*) infestada por ectoparásitos (Ahmed y Ali, 2013). Sin embargo, la morfología de los trombocitos en este trabajo no concuerda con lo descrito por Silveira-Coffigny *et al.* (2005) en *O. aureus*, y Hahn-Von-Hessberg *et al.* (2011) para *O. niloticus*; ya que ambos autores mencionan que hubo confusión en la diferenciación entre trombocitos y linfocitos, por la similitud entre estos tipos celulares. Por otro lado la morfología de los tipos de leucocitos encontrados coinciden con lo reportado por Conroy y Conroy (2007) en tilapia y Del Rio-Zaragoza *et al.* (2011) en pargo. Silveira-Coffigny *et al.* (2005), no reportaron la presencia de eosinófilos y basófilos en la sangre de tilapia *O. aureus*, al igual que Bittencourt *et al.* (2003) para *O. niloticus*.

El número y tipo de leucocitos varia por factores externos, densidad de siembra, estrés, infestaciones parasitarias y deficiencias nutricionales (Hahn-Von-Hessberg *et al.*, 2011), por lo que se utilizan como herramienta para conocer la condición de salud de los peces (Cazenave *et al.*, 2009).

Los porcentajes de linfocitos en la sangre son muy variados en la literatura, debido a que estas células se ven afectadas por la especie, edad, sexo, condiciones fisiológicas y condiciones de extracción de sangre (Fernández *et al.*, 2002). La función principal de los linfocitos es la respuesta inmune específica humoral y celular, mediante la producción de anticuerpos principalmente (Campbell y Murru, 1990).

El porcentaje de linfocitos encontrados en la sangre del híbrido de tilapia cultivada en agua de mar fue el más representativo con intervalos de 36 a 94 %, con un promedio de 72.4 ± 0.10 %, lo cual coincide con lo reportado por Hahn-Von-Hessberg *et al.* (2011) para tilapia *O. niloticus* con valores del 49 al 94 %, con un promedio de 76.78 ± 1.63 %. Los valores del híbrido de tilapia fueron más altos a lo reportado por Silveira-Coffigny (2005) para *O. aureus*, con un valor promedio de 23 %, y menores a lo reportado por Pegado *et al.* (2006) para *O. niloticus* cultivada en agua dulce en Brasil.

En el conteo diferencial de leucocitos, el porcentaje de linfocitos disminuyó en el nivel 2 de infestación (65.8 %), con diferencias respecto al nivel 1 y 3 de infestación (73.4 % y 78.0 %, respectivamente), sin embargo, no se encontraron diferencias en los tres niveles de infestación con los peces no parasitados (71.6 %). Estos resultados coinciden con lo reportado en tilapias (*O. aureus*) infestadas con *Corynebacterium* sp., en donde no encontraron diferencias entre los peces control y los infectados, ya que tuvieron valores del 17.4 % y 13.0 %, respectivamente (Silveira-Coffigny *et al.*, 2004). Tampoco se encontraron diferencias en el porcentaje de linfocitos en la carpa común parasitadas y no parasitadas (Ahmed y Ali, 2013).

En diversos trabajos ha sido descrito la disminución en el número de linfocitos de hasta un 60% (Maule y Schreck, 1990, Ruane *et al.*, 1999); la explicación radica en que los efectos de los corticoides sobre el sistema inmune son muy diversos, por lo

que las respuestas no son uniformes, ya que se ha observado que los elementos celulares no son afectados de igual manera (Flores, 2002). Las recientes investigaciones relacionadas con respuestas inflamatorias, demuestran que aumenta la migración de los linfocitos a los tejidos como el riñón, timo, branquias y piel, donde los macrófagos (células presentadoras de antígenos y reparación de tejidos entre otras funciones) están en intenso intercambio (Maule & Schreck, 1990). Este proceso ocasiona que los linfocitos disminuyan en la sangre, lo que podría explicar lo observado en las tilapias del nivel 2 de infestación, sin embargo, hay que complementar esta información con lo propuesto por Dhabhar *et al.* (1995) sobre la “vigilancia inmunológica” en los organismos.

Los valores del presente trabajo difieren con lo reportado por Tavares-Dias *et al.* (2002), quienes encontraron diferencias en el porcentaje de linfocitos entre tilapias (*O. niloticus*) parasitadas con *I. multifiliis* y *Saprolegnia* sp. y el grupo control, con una disminución en el porcentaje de linfocitos en los peces parasitados. De igual forma Vásquez-Piñeros *et al.* (2010), obtuvieron diferencias en los porcentajes de linfocitos de tilapias (*Oreochromis* sp.) infectadas con *A. hydrophila* y *E. tarda*, en donde observaron una disminución de estas células en peces infectados con respecto a los peces control, con valores de 35.12 y 67.12 %, respectivamente. En el pargo *L. guttatus* infestado por monogéneos, se reporta una disminución en el porcentaje de linfocitos con respecto a los peces no parasitados (Del Rio-Zaragoza *et al.*, 2011).

Los monocitos en peces son el tipo celular que se encuentran en el torrente sanguíneo, o macrófagos cuando están presentes en los tejidos. Este tipo de leucocito es la principal célula fagocítica, con capacidad de ingerir y digerir materiales extraños o antigénicos como resultado de la respuesta inflamatoria u otros procesos degenerativos (MacArthur y Fletcher, 1985 y Savari *et al.*, 2011).

El porcentaje de monocitos en la tilapia cultivada en agua de mar en este estudio fue de 3.6 ± 0.05 % (0.0 – 25.0 %), estos resultados son bajos en comparación con los registrados para *O. aureus* cultivada en agua dulce, con un promedio de 8 % (Silveira-Coffigny, 2005) y lo reportado por Martins *et al.* (2004) con un promedio de 17.7 % de estas células en *O. niloticus*. En otras especies como *L. guttatus* se han

reportado valores de 2.05 ± 1.34 % (Del Rio-Zaragoza *et al.*, 2011); sin embargo, los intervalos (0.55 % - 5.37 %) son menores a los registrados en el presente trabajo. En *O. niloticus*, se registró un promedio de 1.9 % (1.1 – 1.9 %) (Pegado *et al.*, 2006) y Hahn-Von-Hessberg *et al.* (2011), encontraron en esta misma especie un promedio de 1.2 % en condiciones de cultivo en agua dulce y en el caso de tilapia *O. mossambicus* los valores tuvieron un intervalo de 1.79 - 5.43 % (Del Rio-Zaragoza *et al.*, 2008)

En el número de monocitos no se encontraron diferencias significativas entre los peces parasitados y no parasitados, ni entre los niveles de infestación. En donde se obtuvieron valores de 5.0 % para peces no parasitados, 2.7 % en el nivel 1, 5.7 % en el nivel 2 y 3.9 % en el nivel 3 de infestación. Estos resultados son opuestos a los reportados por Silveira-Coffigny *et al.* (2004) quienes realizaron una infestación bacteriana (*Corynebacterium* sp.) en la especie *O. aureus*, en donde encontraron diferencias significativas en los porcentajes de monocitos, teniendo un 8 % en los peces control y un 20.8 % en las tilapias infectadas. Resultados similares fueron encontrados por Tavares-Dias *et al.* (2002) en *O. niloticus* infestada con *I. multifiliis* y *Saprolegnia* sp., donde reportaron diferencias significativas en el porcentaje de monocitos, con un aumento en los peces parasitados con respecto al grupo control (16.3 % y 7.5 %, respectivamente). De la misma manera se observaron diferencias en el porcentaje de monocitos en *Oreochromis* sp. infectadas por bacterias (*E. tarda*), con valores de 21.25 % en los peces control y 54.12 % en peces infectados (Vásquez-Piñeros *et al.*, 2010).

En relación a los trombocitos, son células asociadas a procesos de coagulación sanguínea, inflamación y fagocitosis, que pueden aumentar con la presencia de hemorragias (Dolittle y Surgenor, 1962), por lo que la tasa de coagulación de los peces está en función de los niveles de trombocitos presentes en la sangre (Srivastava, 1969).

En el presente estudio se encontraron valores bajos de estas células con un promedio de 22.6 % (1.9 – 50 %), comparado con los reportados por Silveira-Coffigny (2005) en tilapia *O. aureus*, con valores que van del 55 al 74 %, con un promedio de 66 %. Mientras que Hahn-Von-Hessberg *et al.* (2011), reportaron en

tilapia *O. niloticus* cultivada en agua dulce, un promedio de 14.53 ± 1.27 % con intervalos del 3.5 al 41 %. La gran diferencia en los porcentajes encontrados, puede deberse a confusiones durante la diferenciación celular entre los trombocitos y linfocitos, ya que diversos autores coinciden que estos dos tipos celulares son parecidos morfológicamente (Hrubec *et al.*, 2000; Ueda *et al.*, 2001; Silveira-Coffigny *et al.*, 2004 y Vásquez-Piñeros *et al.*, 2010).

En este estudio no se encontraron diferencias en los valores de los trombocitos entre los niveles 1 (21.9 %), 2 (26.8 %), y 3 (16.7 %) de infestación con respecto al grupo control (20.9 %). Estos resultados son similares a los encontrados por Tavares-Dias *et al.* (2002), quienes tampoco encontraron diferencias en los porcentajes de trombocitos entre tilapias (*O. niloticus*), parasitadas con *I. multifiliis* y *Saprolegnia* sp. y el grupo control.

Contrario a lo observado en este trabajo, Silveira-Coffigny *et al.* (2004) realizaron una infección experimental en tilapia *O. aureus* con *Corynebacterium* sp., donde reportan diferencias en los porcentajes de trombocitos, con un valor de 66.5 % y 29.6 % para peces control e infectados, respectivamente. Esta misma relación fue documentada por Del Rio-Zaragoza *et al.* (2011) en *L. guttatus* parasitados y no parasitados con porcentajes de trombocitos del 58.8 % y 52.9 % respectivamente; los autores asociaron el aumento en los trombocitos a la presencia de los parásitos monogéneos.

Los granulocitos son leucocitos que se clasifican en eosinófilos, basófilos y neutrófilos, sus características derivan de las coloraciones que adoptan por la sustancia que se utiliza para colorear los orgánulos de la célula (Fernández *et al.*, 2002 y Ahmed y Ali 2013). La función de los eosinófilos en los peces no es clara, son poco frecuentes en el torrente sanguíneo y están asociados a las respuestas inflamatorias antigénicas o infestaciones parasitarias (Tavares-Dias y Moraes, 2004) e intervienen en la defensa celular mediante degranulación (Fernández *et al.*, 2002).

El promedio de eosinófilos obtenidos en los híbridos de tilapia fue de 0.4 ± 0.007 % (0.0 – 5.4 %). Estos porcentajes son mayores comparados con el 0.07 % reportado para *O. niloticus* por Hahn-Von-Hessberg *et al.* (2011).

Los peces cultivados en agua de mar como el híbrido de tilapia del presente trabajo y el pargo *L. guttatus*, están expuestos a las infestaciones parasitarias, las cuales pueden ocasionar cambios en las relaciones de células sanguíneas que forman parte del sistema inmune como los granulocitos del tipo eosinófilo. Del Rio-Zaragoza *et al.* (2011), encontraron diferencias en los niveles de eosinófilos, en el pargo *L. guttatus*, al registrar un aumento del 12.39 % en los peces parasitados, mientras que en los no parasitados el porcentaje fue del 2.05 %.

En el presente estudio no se encontraron diferencias en los porcentajes de eosinófilos entre las tilapias parasitadas y no parasitadas, con valores de 0.4 % para los niveles 1 y 2 de infestación, 0.1 % para el nivel 3 y de 0.8 % para los peces no parasitados. Esto coincide con Vásquez-Piñeros *et al.* (2010), quienes no encontraron diferencias entre los peces (*Oreochromis* sp.) infectados con *A. hydrophila* y *E. tarda* y el grupo control.

Los basófilos son raros en la sangre de la tilapia, incluso se consideran ausentes en la circulación de la mayoría de los salmónidos (Ellis, 1977). Son células poco comunes en el conteo diferencial de leucocitos, estos presentan respuestas a procesos alérgicos, aunque su función no está bien establecida (Tavares-Dias y Moraes, 2004).

En los híbridos de tilapia *O. niloticus* del estudio en cuestión, el porcentaje de basófilos promedio fue de 1.0 ± 0.009 %, con un mínimo de 0.0 % y un máximo de 3.8 %. Estos intervalos coinciden con lo reportado por Hahn-Von-Hessberg *et al.* (2011) en *O. niloticus*, con valores del 0.0 % al 4.0 %, con un promedio de 0.35 %, al igual que lo encontrado por Martins *et al.* (2004), con un promedio de 0.5 % en *O. niloticus*.

En los híbridos de tilapias examinados en este trabajo, no se encontraron diferencias en los porcentajes de basófilos entre los peces parasitados y no parasitados, con valores de 0.8 % para los peces no parasitados. Estos resultados son análogos a los reportados por Vásquez-Piñeros *et al.* (2010), cuando realizaron una infestación experimental en tilapias del género *Oreochromis*, con dos diferentes bacterias, *A. hydrophila* y *E. tarda*. En dicho estudio los autores encontraron un porcentaje de

0.25 % y 0.0 % en peces infectados y el grupo control, respectivamente, sin diferencias en los porcentajes de basófilos. Ranzani-Paiva *et al.* (2002), relacionan a este tipo celular con infestaciones parasitarias.

Los neutrófilos se localizan en los tejidos inflamados y en la sangre circulante (Cambell, 1988), y son los encargados de la fagocitosis y el estallido respiratorio (actividad microbica) (O'Neill, 1985).

En los híbridos de tilapia, los valores mínimos y máximos encontrados para los neutrófilos estuvieron entre 0.0 % y 9.0 % con un promedio de 1.1 %, estos valores son similares a los encontrados en *O. aureus*, con 1 – 7 % (Silveira-Coffigny *et al.*, 2004, 2005) y en *O. niloticus* cultivada en agua dulce en Brasil, con un promedio de 1.5 ± 1.6 % (Pegado *et al.*, 2006). El porcentaje de neutrófilos en los híbridos de tilapia es bajo si se compara con los estudios realizados por Hahn-Von-Hessberg *et al.* (2011, 2014) en *O. niloticus* cultivada en agua dulce (promedio de 7.07 % y 10 % respectivamente) y, con el pargo *L. guttatus* (4.29 %) (Del Rio-Zaragoza *et al.*, 2011).

Los híbridos de tilapia parasitadas en este trabajo, no presentaron diferencias en el porcentaje de neutrófilos en los peces no parasitados, con respecto a los diferentes niveles de infestación parasitaria. Resultados similares documentaron en tilapias (*O. aureus*) infectadas con la bacteria *Corynebacterium* sp., donde no se encontraron diferencias en el porcentaje de neutrófilos entre los peces control e infectados, con un promedio de 1.6 % y 9.6 %, respectivamente (Silveira-Coffigny *et al.*, 2004). De igual forma, coincide con lo reportado por Tavares-Dias *et al.* (2002) en la especie *O. niloticus* infestada con el protozoario *I. multifiliis* y el hongo *Saprolegnia* sp. En este estudio, los autores no encontraron diferencias en el porcentaje de neutrófilos entre el grupo control y peces infestados. De la misma manera, esto se ha encontrado en infecciones experimentales realizadas en tilapias (*Oreochromis* sp.) expuestas a bacterias *A. hydrophila* y *E. tarda* (Vásquez-Piñeros *et al.*, 2010).

De acuerdo a Azevedo *et al.* (2006), un aumento en los neutrófilos puede atribuirse a la mala calidad del agua, altas cantidades de materia orgánica, estrés o infecciones parasitarias. Se ha documentado que estas células tienen mayor tendencia a la

variación porcentual, debido a que aumentan durante el estrés (Martins *et al.*, 2004). Sin embargo, en el híbrido de tilapia cultivado en agua de mar, no se observaron aumentos en la variación de los porcentajes de neutrófilos, lo que podría suponer que la baja densidad de siembra (10 kg / m³) en el cultivo, el flujo constante de la corriente marina y la baja carga parasitaria ayudaron a mantener niveles bajos de estrés en los organismos.

La tilapia es un organismo de agua dulce, sin embargo, en México se ha iniciado su cultivo en agua de mar, por lo que es importante caracterizar su fauna parasitaria en ambientes marinos y documentar los cambios en las variables hematológicas. En este estudio dentro de las variables de la química de la sangre se evaluó solamente las proteínas totales.

La concentración de proteínas totales en el suero de la sangre de los peces puede proporcionar información relacionada con deficiencias nutricionales, donde se observa una disminución en las proteínas debido a la albumina sérica, y un aumento en las mismas por infecciones sistémicas con una mayor producción de globulinas (Bush, 2004 y Crivelenti *et al.*, 2011).

Para el híbrido de tilapia cultivada en agua de mar, se encontró una concentración de 3.2 ± 0.29 g dL⁻¹. Estos valores coinciden con lo reportado por Hrubec *et al.* (2000) en el híbrido de tilapia *O. niloticus* x *O. mossambicus* x *O. aureus* (3.9 g dL⁻¹), así como lo encontrado por Bittencourt *et al.* (2003) y Crivelenti *et al.* (2011) en *O. niloticus* con promedios de 3.06 ± 0.65 g dL⁻¹ y 3.01 g dL⁻¹, respectivamente. En otros estudios con tilapia se reportan concentraciones de proteínas totales bajos al del presente estudio, tales como el de Cnaani *et al.* (2004), quienes documentaron promedios de 2.0 g dL⁻¹ en *O. aureus*, 1.5 g dL⁻¹ en *O. mossambicus* y 1.8 g dL⁻¹ en *O. niloticus* y la variedad tilapia roja (*O. niloticus*). Para especies como el *Piractus mesopotamicus* se han registrado concentraciones superiores con un promedio de 5.5 ± 0.2 g dL⁻¹, en condiciones de cultivo (Yuji *et al.*, 2014) y valores de 3.05 ± 0.10 g dL⁻¹ para la lisa *Mugil cephalus* (Fazio *et al.*, 2013).

Los valores de las PT no presentaron diferencias entre los diferentes niveles de infestación parasitaria, ni estos con respecto a los peces no parasitados, con

concentraciones similares para los peces no parasitados y el nivel 1 de infestación (3.1 g dL^{-1}) y para los niveles 2 y 3 de infestación (3.3 y 3.2 g dL^{-1}). Esto concuerda con lo reportado por Ahmed y Ali *et al.* (2013), quienes no encontraron diferencias en los niveles de PT en *C. carpio* parasitados y el grupo control.

Contrario a lo obtenido en el presente trabajo, Del Rio-Zaragoza *et al.* (2011) reportaron diferencias en el valor de las PT en *L. guttatus* infestado por monogéneos, los autores asocian la disminución en las concentraciones de las PT a la intensidad parasitaria.

La concentración de proteínas en el suero es un indicador del estado de salud de los peces (Riche, 2007), además de ser un método no invasivo, fácil y barato (Coourdacier *et al.*, 2011). En los peces es difícil lograr una estandarización en los parámetros hematológicos, debido a que estos pueden verse afectados por deficiencias alimentarias, enfermedades, estrés y cambios en el ambiente (Silveira y Rigores, 1989). Los resultados de PT obtenidos en este estudio, concuerdan con los intervalos reportados por diferentes autores para el género *Oreochromis*, por lo que se puede inferir que el número de parásitos en los peces, el nivel de estrés y la alimentación, no afectaron los niveles de PT en el híbrido de tilapia cultivado en agua de mar.

El estudio de la inmunología en peces óseos puede aportar grandes avances y beneficios para la acuicultura, en el seguimiento, prevención y control de las enfermedades parasitarias (Hrubec *et al.*, 2000; Silveira-Coffigny *et al.*, 2005 y Hahn-Von-Hessberg *et al.*, 2011, 2014). El profundizar en el conocimiento del sistema inmune de los peces puede ayudar a disminuir el uso de químicos para la prevención y control de infecciones y reducir el impacto en el medio ambiente (Hahn-Von-Hessberg *et al.*, 2014).

7.2 Índices biológicos

Para evaluar el estado fisiológico de la tilapia cultivada en agua de mar asociado a la presencia de parásitos, también se consideraron los índices de condición, hepatosomático y esplenosomático. Estos índices son importantes en la

identificación de trastornos causados por enfermedades nutricionales en diferentes especies de peces (Quentel y Obach, 1992). De acuerdo a Barker *et al.* (1994), la disminución en el índice de condición e índice hepatosomático en peces, están relacionados con deficiencias nutricionales, o efectos de una baja digestión. El índice de condición es utilizado en la comparación de dos o más poblaciones de peces que están bajo condiciones similares de alimentación, densidad de siembra y condiciones ambientales (Weatherley y Gill, 1987).

En la presente investigación se trató de encontrar una relación entre la carga parasitaria (ectoparásitos) y algunos índices biológicos considerando que cuando los organismos tienen una alta abundancia e intensidad de parásitos disminuyen su alimentación. El IC promedio del híbrido de tilapia cultivada en agua de mar en este estudio fue de 81.3 ± 18.05 %, teniendo un intervalo de 38.3 a 123.3 %. El IC no fue diferente significativamente entre los diferentes niveles parasitarios y los peces no parasitados, en donde se obtuvieron porcentajes de 84.4 % para las tilapias no parasitadas y de 91.4 % para el mayor nivel de intensidad parasitaria (nivel 3). Estos resultados coinciden con lo obtenido por Tavares-Dias *et al.* (2002) en tilapia *O. niloticus* parasitadas con *I. multifiliis* y *Saprolegnia* sp., donde tampoco encontraron diferencias en el IC de los peces parasitados con *Saprolegnia* sp. y el grupo control; los autores asumen que la intensidad parasitaria no fue suficiente como para afectar el desarrollo de los peces. Este mismo comportamiento fue observado en el híbrido de tilapia cultivado en agua de mar, por lo que es probable que la carga parasitaria fue baja para tener un efecto negativo en el IC de los peces.

El índice hepatosomático también ha sido evaluado en los peces bajo condiciones de cultivo, el cual puede aumentar en situaciones de estrés (Arcand-Hoy y Metcalfe, 1999). El crecimiento de este órgano puede deberse a la hiperplasia o hipertrofia como respuesta adaptativa de desintoxicarse de compuestos extraños o por procesos patológicos (Addison, 1984). Por el contrario, algunas fuentes de contaminación y deficiencia alimentaria (nutrientes), pueden conllevar a la reducción del índice hepatosomático (Tricklebank *et al.*, 2002).

El intervalo del IH de los híbridos de tilapia analizados en este estudio fueron de 0.6 % a 2.0 %, con un promedio de 1.1 ± 0.26 %. Estos resultados son parecidos a los

reportados por Tavares-Dias *et al.* (2000) en tilapias *O. niloticus* con peso promedio de 420 g, quienes registraron un IH de 1.44 %. Sin embargo, Cerdá *et al.* (1998), reportaron un IH mayor en la tilapia *O. niloticus*, con valores de 2.03 % y 1.9 % para peces de 17.44 g y 23.05 g, respectivamente.

En el híbrido de tilapia (*O. niloticus* x *O. mossambicus*) de este trabajo, no se encontraron diferencias significativas entre los peces no parasitados y los peces infestados a diferentes niveles, obteniendo valores de 1.1 % en el IH para todos los grupos. Resultados similares fueron documentados por Vásquez-Piñeros *et al.* (2010), cuando realizaron una infección bacteriana (*A. hydrophila* y *E. tarda*) en tilapias (*Oreochromis* sp.), en donde los peces presentaron un patrón en el aumento de tamaño del bazo y mostraron una tendencia a incrementar el IH en peces infectados, sin embargo, estadísticamente no se encontraron diferencias entre los peces sanos e infectados. Por otra parte, Kurovskaya y Osadchaya (1993) reportaron una disminución en el IH en la carpa *C. carpio* parasitada con el protozooario *I. multifiliis*. Estos resultados son parecidos a los reportados para otras especies de peces como la lisa *M. platanus*, la cual en presencia de parásitos tuvo un índice hepatosomático de 1.0 ± 0.2 % (Ranzani-Paiva y Tavares-Dias, 2002).

Intensidades altas de infestaciones parasitarias ocasionan que los peces disminuyan la ingesta de alimento, lo que conlleva a una reducción del índice hepatosomático, ya que el hígado funciona como fuente de almacenamiento y transferencia de proteínas y lípidos (Santos *et al.*, 1996). En la presente investigación las intensidades parasitarias fueron bajas para ocasionar cambios en el IH de los peces, sin embargo, se observó una disminución en el peso del hígado en el nivel de infestación 3 (mayor a 30 parásitos / pez).

El bazo es otro de los órganos importantes, ya que participa en la producción de eritrocitos y leucocitos (Quentel y Obach, 1992). Cuando el índice esplenosomático es bajo (esplenomegalia) sugiere una respuesta leucocitaria a un proceso de infección, o una producción de eritrocitos para la reposición sanguínea en hemorragias o procesos anémicos. Por el contrario, cuando existe un aumento en el bazo puede atribuirse a alteraciones bioquímicas o fisiológicas para mantener la

homeostasis, como respuesta a una infección o alteraciones ambientales (Lowe-Jinde, 1980).

El índice esplenosomático promedio encontrado en los híbridos de tilapia cultivada en agua de mar del presente estudio fue de 0.05 %, con un intervalo de 0.0 % a 0.19 %. Además no se observó una disminución en el IE, y tampoco se encontraron diferencias entre los peces no parasitados con respecto a los distintos niveles de infestación, en donde se obtuvo un promedio de 0.04 % para peces no parasitados y 0.05, 0.03 y 0.06 % para los niveles 1, 2 y 3 de infestación parasitaria, respectivamente. El valor promedio del IE del híbrido de tilapia coincide con los reportados en tilapias de la especie *O. niloticus* con peso promedio de 420 g (Tavares-Dias *et al.*, 2000). En especies como la lisa *M. platanus*, en presencia de parásitos el porcentaje del IE fue mayor (0.31 ± 0.3 %) (Ranzani-Paiva y Tavares-Dias, 2002) al encontrado en el híbrido de tilapia cultivada en agua de mar a los tres niveles de infestación.

Los ectoparásitos tienen un papel importante en el cultivo de peces en agua de mar, ya que estos ocasionan enfermedades, lo que se refleja en pérdidas económicas para los productores. El híbrido de tilapia cultivado en agua de mar en jaulas en Nayarit, presentó bajas intensidades parasitarias, no obstante, se encontró que en los peces de mayor peso y longitud había una mayor intensidad parasitaria. La baja intensidad parasitaria pudo deberse a las fuertes corrientes en el sitio de cultivo y a la baja densidad de siembra ($10 \text{ kg} / \text{m}^3$), por lo que algunos parámetros hematológicos como el conteo de RBC, porcentajes de linfocitos, monocitos, trombocitos, granulocitos y PT no se encontraron diferencias entre los peces parasitados y no parasitados, esto mismo ocurrió con el IC, IH e IE. Sin embargo, la carga parasitaria afectó los parámetros hematológicos, específicamente, el Htc, el conteo de WBC y el porcentaje de linfocitos de los peces parasitados con respecto a los no parasitados.

Capítulo 8. Conclusiones

- Se registraron tres géneros de parásitos en los híbridos de tilapia (*O. niloticus* x *O. mossambicus*) cultivados en agua de mar. El parásito monogéneo *Neobenedenia* sp. fue la especie más representativa y se encontró distribuido en todo el cuerpo; seguido por los copépodos del género *Caligus* y *Lernaeenicus*. En este último solo se encontró un representante de esta especie adherido (sumergido) en el ojo de la tilapia y ello constituye el primer registro de este parásito para tilapia cultivada en agua de mar en México.
- Las bajas intensidades de ectoparásitos encontrados en este trabajo, pueden ser atribuidas a las bajas densidades de siembra (10 kg / m³), y a las fuertes corrientes presentes en el sitio de cultivo, lo que dificulta la reinfestación de los parásitos.
- En las variables hematológicas, específicamente en el hematocrito no hay diferencias entre los peces no parasitados (33.6 ± 7.7 %) y el nivel 1 de infestación (31.3 ± 6.0 %), pero ambos grupos mostraron diferencias con respecto a los niveles 2 (25.5 ± 5.4 %) y 3 (25.9 ± 8.2 %) de infestación parasitaria. En los leucocitos se encontraron diferencias entre el nivel 3 de infestación parasitaria (0.1 ± 0.05 x10⁵/mm³), con respecto al nivel 1 (0.2 ± 0.09 x10⁵/mm³) y 2 (0.2 ± 0.1 x10⁵/mm³) de infestación y con los peces no parasitados (0.2 ± 0.1 x10⁵/mm³).
- En el recuento total de eritrocitos (intervalo de 2.3 ± 0.7 x10⁶/mm³ a 2.7 ± 1.0 x10⁶/mm³) y las proteínas totales (intervalo de 3.1 ± 0.3 mg dL⁻¹ a 3.3 ± 0.4 mg dL⁻¹) no hubo diferencias entre las tilapias parasitadas y no parasitadas, por lo que probablemente la carga parasitaria no fue suficiente como para alterar estos parámetros hematológicos.
- De acuerdo a la morfología, tamaño y características de las células sanguíneas, se identificaron seis tipos de leucocitos, siendo los más representativos los linfocitos, seguido por los trombocitos y monocitos, y en

menor porcentaje se encontraron los granulocitos del tipo basófilo, neutrófilo y eosinófilo.

- Los peces que mostraron una mayor intensidad parasitaria fueron los de mayor peso y talla; se encontraron diferencias entre los niveles de infestación, sin embargo, no hubo diferencias entre los peces parasitados con respecto a los no parasitados.
- Respecto a los índices de condición, hepatosomático y esplenosomático, no se encontraron diferencias significativas entre los diferentes niveles de infestación, con respecto a los peces no parasitados.

Lista de referencias bibliográficas

- Aguirre, F.D. (2009). Parásitos branquiales de cuatro grupos genéticos de tilapias, cultivados en la zona centro-norte del estado de Veracruz. Tesis de maestría. Instituto de Ecología, A.C., 88 p.
- Ahmed, S.M. y Ali, A.H. (2013). Serum proteins and leucocytes differential count in the common carp (*Cyprinus carpio*) infested with ectoparasites. *Mesopot. J. Mar. SCI.*, 28(2): 151-162.
- Ainsworth, A.J. (1994). A β -glucan inhibitable zymosan receptor on channel catfish neutrophils. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 41: 141-152.
- Akoll, P., Konecny, R., Mwanja, W.W. y Schiemer, F. (2012). Risk assessment of parasitic helminths on cultured Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, L.). *Aquaculture* 356-357. 123-127.
- Alamilla, T.H. (2004). Cultivo de tilapia. Recuperado en julio de 2015 de: <http://www.zoetecnocampo.com>
- Al-Almoudi, M.M. (1987). Acclimation of commercially cultured *Oreochromis* species to seawater: an experimental study. *Aquaculture*, 65: 333-342.
- Álvarez, T.P., Soto, F., Aviles, Q.S., Díaz, L.C. y Treviño, C.L. (2012). Panorama de investigación y su repercusión sobre la producción Acuícola en México. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales y Pesca - Instituto Nacional de la Pesca. 30 p.
- Alvarez-Pellitero, P. (2008). Fish immunity and parasite infections: from innate immunity to immunoprophylactic prospects. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 126: 171-198.
- Anstensrud, M. y Schram, T.A. (1988). Host and site selection by larval stages and adults of the parasitic copepod *Lernaenicus sprattae* (Sowerby) (Copepoda, Pennellidae) in the Oslofjord. *Hydrobiologia*, 167/168: 587-595.
- Arredondo, F.J.L., Flores, V.F., Garduño, H., y Campos, R. (1994). Desarrollo científico y tecnológico del banco de genoma de tilapia. SEPESCA/UAM-I, México, D.F., 89 p.
- Arredondo, F.J.L. y Lozano, G.S. (1996). El cultivo de la tilapia en México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma Metropolitana. Secretaría del Medio Ambiente Recursos Naturales y Pesca. Primer Curso Internacional de Producción de Tilapia. 20 al 22 de junio de 1996. 7-18.

- Aydin, S., Erman, Z., y Bilgin, O.C. (2001). Investigations of *Serratia liquefaciens* infection in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Turkish J. Veterinary Animal Sciences*, 25: 643-650.
- Azevedo, T.M., Martins, M.L., y Bozzo, F.R. (2006). Haematological and gill responses in parasitized tilapia from valley of Tijucas Rivers, S.C. Brazil, *Scientia Agrícola*, 63(2): 115-120.
- Balboni, L., Colautti, D.C. y Baigun, R.M. (2009). Cambios en los índices biológicos de la tararira, *Hoplias malabaricus* (Bloch, 1794) en un ciclo anual en la laguna Yalca, provincial de Buenos Aires, Argentina. *Biología Acuática* 26:7-17.
- Balcázar, J.L., Aguirre, A., Gómez, G. y Paredes, W. (2006). Culture of hybrid red tilapia (*Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis niloticus*) in marine cages: effects of stocking density on survival and growth. University of Zaragoza, Zaragoza, Spain.
- Barber, I., Hoare, D. y Krause, J. (2000). Effects parasites on fish behaviour: a review and evolutionary perspective. *Fish Biology and Fisheries*, 10: 131-165.
- Barker, D.E., Khan, R.A., y Hooper, R. (1994). Bioindicator of stress in Winter Flounder, *Pleuronectes americanus*, captured adjacent to a pulp and paper mill in St. George's Bay, Newfoundland. *Can. Jour. Fish. Aquat. Sci.*, 51: 2203-2209.
- Barros, M.M.; Pezzato, L.E.; Hisano, H.; Falcon, D.R. y Sá M.V.C. (2004). Farinha de sangue tostada em dietas prácticas para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.). *Acta Scient*, 26(1): 5-13.
- Barton, B. (2000). Salmonid fishes differ in their cortisol and glucose responses to handling and transport stress. *N. Am. J. Aquac.*, 62.
- Berland, B. (1997). Current fish parasite problems – Scandinavia and adjacent área. In: Ali Özcel, M. (Ed.), *New Dimensions in Parasitology. Acta Parasitol.*, 20(1): 429-443.
- Bharadhirajan, P., Gopalakrishnan, A., Raja, K., Murugan, S., Vijayakumar, R. y Rahman, M.M. (2013). Prevalence of copepod parasite (*Lernaeenicus polynemi*) infestation on *Eleutheronema tetradactylum* from Pazhayar coastal waters, southeast coast of India. *Journal of Coastal Life Medicine*, 1(4): 278-281.
- Bittencourt, N.L.R.; Molinari, L.M.; Scoaris, D.O.; Pedroso, R.B; Nakamura, C.V; Ueda-Nakamura, T.; Philo, B.A.A. y Philo-Dias, B.P. (2003). Haematological and biochemical values for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* cultured in semi-intensive system. *Acta Scient*, 25(2): 385-389.

- Blaxhall, P.C. y Daisley, K.W. (1973). Routine haematological methods for use with fish blood. *J. Fish Biol.*, 5: 771-781.
- Boxhall, G.A. (2012). *Caligus* O.F. Müller, 1785. Recuperado el 20 de junio de 2015 en <http://www.marinespecies.org>
- Boxhall, G.A. y Defaye, D. (1993). Pathogens of wild and farmed fish: sea lice. Ellis Horwood, *Chichester*, 378 p.
- Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Buchmann, K. (1999). Immune mechanisms in fish skin against monogeneans - a model. *Folia Parasitologica*, 46: 1-9.
- Buchmann, K. y Bresciani, J. (2006). Fish Diseases and Disorders. Chapter 9: Monogenea (Phylum Platyhelminthes. Edited by Woo, P.T.K., (2a. ed).
- Buchmann, K. y Lindenstrøm, T. (2002). Interactions between monogenean parasites and their fish hosts. *International Journal for Parasitology* 32: 309-319.
- Bullard, S.A., Benz, G.W., Overstreet, R.M., Williams, E.H., JR, W. y Hemdal, J. (2000). Six new host records and an updated list of wild hosts for *Neobenedenia melleni* (MacCallum) (Monogenea: Capsalidae). *Comp. Parasitol.*, 67(2): 190-196.
- Bunkley-Williams, L. y Williams, H.E. (1995). Parásitos de peces de valor recreativo en agua dulce de Puerto Rico. Departamento de Recursos Naturales y Ambientales de Puerto Rico y el Departamento de Ciencias Marinas, Universidad de Puerto Rico, 50-52.
- Burmeister, H. (1835). Beschreibung einiger neun order weniger bekannten Schmarotzerkrebse, nebst allgemeinen Betrachtungen über die Gruppe, welcher sie angehören. *Nova Acta Physico-Medica Academiae Caesareae Leopoldino-Carolinae Naturae Curiosorum, Halle*, 17(1): 269-336.
- Bush, A.O. (1997). Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al.* Revisited. *J. Parasitol.* 83(4): 575-583.
- Bush, B.M. (2004). Interpretacão de resultados laboratoriais para clínicos de pequenos animais. São Paulo: Roca, 238-239.
- Campbell, T.W. (1988). Fish cytology and hematology. *Vet. Clin. North Am.*, 18: 349-364.

- Campbell, T.W. y Murru, F. (1990). An introduction to fish hematology. *The compendium-Small Animal*, 12: 525-533.
- Campos, M.N., Sevilla, P.M., Velasco, L.S., Filograsso, L.C. y Cárdenas, O.L. (2012). Acuicultura: estado actual y restos de la investigación en México. *Aquatic*, 37: 20-25.
- Cazenave, J., Bacchetta, C., Parma, M.J., Sacarabotti, P.A., y Wunderlin, D.A. (2009). Multiple biomarkers responses in *Prochilodus lineatus* allowed assessing change in the water quality of Salado River basin (Santa Fe, Argentina). *Environ Pollut*, 157: 3025-3033.
- Cerdá, M.J., Igualada, L.P., Zaragoza, L. y Carmona, F.J. (1998). Crecimiento de tilapias (*Oreochromis niloticus*, L.) con piensos extrusionados de diferente nivel proteico. *Arch. Zootec.*, 47: 11-20.
- Chebaani, N., Guardiola, F.A., Sihem, M., Nabil, A., Oumouna, M., Meseguer, J., Esteban, M.A. y Cuesta, A. (2014). Innate humoral immune parameters in *Tilapia zillii* under acute stress by low temperature and crowding. *Fish Physiol Biochem*, 40: 797-804.
- Chen, C., Wooster, G.A., Getchell, R.G., Bowser, P.R. y Timmons, M.B. (2003). Blood chemistry of healthy, nephrocalcinosis-affected and ozone-treated tilapia in a recirculation system, with application of discriminant analysis. *Aquaculture* 218: 89-102.
- Chervinski, J. y Zorn, M. (1974). Note on the growth of *Tilapia aurea* (Steindachner) and *Tilapia zillii* (Gervais) in seawater ponds. *Aquaculture* 4: 249-255.
- Cnaani, A.; Tinman, S.; Avidar, Y.; Ron, M. y Hulata, G. (2004). Comparative study of biochemical parameters in response to stress in *Oreochromis aureus*, *O. mossambicus* and two strains of *O. niloticus*. *Aquaculture Research*, 35: 1434-1440.
- Coerdacier, J.L., Dutto, G., Gasset, E. y Blancheton, J.P. (2011). Is total serum protein a good indicator for welfare in reared sea bass (*Dicentrarchus labrax*)?. *Aquat. Living Resour.*, 24: 121-127.
- Conroy, D.A. (1989). Manual de técnicas de uso común en la hematología pisciaria. Maracay: Universidad Central de Venezuela, 25 p.
- Conroy, D. y Conroy, G. (2007). Basic atlas of normal and abnormal blood cells in farmed tilapias. *Patterson Peddie Consulting Ltd.*, 32 p.
- Crespo, F.J. y Crespo, F.R. (2003). Monogéneos, parásitos de peces en México: estudio recapitulativo. *Téc. Pecu Méx.* 41(2): 175-192.

- Crivelenti, L.Z., Borín, S., Socha, J.J.M. y Mundim, A.V. (2011). Valores bioquímicos séricos de tilapia del nilo (*Oreochromis niloticus*) en cultivo intensivo. *Rev Inv Vet Perú*, 22(4): 318-323.
- Crowden, A.E., y Broom, D.M. (1980). Effects of the eyefluke, *Diplostomum spathaceum*, on the behaviour of dace (*Leuciscus leuciscus*). *Anim. Behav*, 28: 287-294.
- Da Costa, M.R. y Gerson, A.F. (2003). Length weight relationship and condition factor of *Micropogonias furnieri* (Desmarest) (Perciformes, Sciaenidae) in the Sepetiba Bay, Rio de Janeiro State, Brazil. *Revista Brasileira de Zoología*, 20(4): 685-690.
- Del Río-Zaragoza, O.B., Fajer-Ávila, E.J., Almazán-Rueda, P. y Abdo de la Parra, M.I. (2011). Hematological characteristics of the spotted rose snapper *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869) healthy and naturally infected by dactylogyrid monogeneans. *Tissue and Cell*, 43: 137-142.
- Del Río-Zaragoza, O.B., Hernández, R.M. y Bückle, R.L.F. (2008). Thermal effect on tilapia *Oreochromis mossambicus* (Pisces: Cichlidae) blood parameters. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology* 41(2): 135-145.
- Deveney, M.R., Chisholm, L.A. y Whittington, I.D. (2001). First published record of the pathogenic monogenean parasite *Neobenedenia melleni* (Capsalidae) from Australia. *Diseases of aquatic organisms*, 46: 79-82.
- Dhabar, F., Miller, A., McEwen, B., Spencer, R. (1995). Effects of stress on immune cell. Distribution dynamics and hormonal mechanisms. *Journal of Immunology*, 154(10): 5511-5527.
- Docan, A., Cristae, V., Dedin, L., y Grecu, I. (2012). Studies of European catfish (*Silurus glanis*) leucocytes reaction in condition of rearing in flow.thru aquaculture. *Lucrări Științifice Zootehnie*, 53: 417-423.
- Dogiel, V.A. (1958). Parasitology of fishes. XII. Oliver & Boyd, 384 p.
- Dojiri, M., y Ho, J.S. (2013). Systematics of the Caligidae, copepods parasitic on marine fishes. *Crustaceana Monographs*, 18: 1-448.
- Dominguez, M., Takemura, A., Tsuchiya, M. y Nakamura, S. (2004). Impact of different environmental factors on the circulating immunoglobulin levels in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, 241: 491-500.
- Dolittle, R.F., y Surgenor, D.M. (1962). Blood coagulation in fish. *Am. J. Physiol*, 203: 964-970.

- El-Deen, A.E.N., Hady, O.K.A., Shalaby, S.I. y Zaki M.S. (2012). Field studies on Caligus disease among cultured *Mugil cephalus* in brackish water fish farms. *Life Science Journal*, 9(3): 733-737.
- El-Deen, A.I.E.N., Mahmoud, A.E. y Hassan A.H.M. (2013). Field studies of Caligus parasitic infections among cultured seabass (*Dicentrarchus labrax*) and mullet (*Mugil cephalus*) in marine fish farm a with emphasis on treatment trials. *Global Veterinarian*, 11(5): 511-520.
- Ellis, A.E. (1977). The leucocytes of fish: a review. *J. Fish Biol.*, 11: 453-491.
- Ernst, I., Whittington, I.D., Corneillie, S. y Talbot, C. (2002). Monogenean parasites in sea-cage aquaculture. *Austasia Aquaculture*, 22: 46-48.
- FAO. (2012). El Estado Mundial de la Pesca y la Acuicultura. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, Roma. 231 p.
- Fazio, F., Marafioti, S., Torre, A., Sanfilippo, M., Panzera, M. y Faggio, C. (2013). Hematological and serum protein profiles of *Mugil cephalus*: effect of two different habitats. *Ichthyol Res.*, 60: 36-42.
- Feist, S.W. y Longshaw, M. (2008). Histopathology of fish parasite infections - importance for populations. *Journal of Fish Biology*, 73: 2143-2160.
- Fernández, A.B., De Blas, I. y Ruiz, I. (2002). El sistema inmune de los teleósteos (I): Células y órganos. *AquaTic*, 16.
- Fernández, A.B., Ruiz, I., y De Blas, I. (2002). El sistema inmune de los teleósteos (II): Respuesta inmune inespecífica. *AquaTic*, 17.
- Finn, J.P., y Nielsen, N.O. (1971). The effect of temperatura variation on the inflammatory response of rainbow trout. *J. Pathol.*, 105: 257-268.
- Flores, Q.C. (2002). Respuestas neuroendócrinas al estrés en peces teleósteos. *Rev. Ictiol.*, 10(1/2): 57-78.
- Flores-Crespo, J., Ibarra, V.F., Flores, C.R., y Vásquez, P.C. Variacion estacional de *Dactylogyrus* sp. en dos unidades productoras de tilapia del estado de Morelos. *Tec. Pecu. Méx.*, 30(2): 109-118.
- Flores-Crespo, J., y Flores, C.R. (1993). Principales trematodos y cestodos de importancia económica en acuicultura. *Universidad Nacional Autónoma del Estado de Morelos*, 2: 13-36.

- Fuentes, Z.J.L., Sprock, I., Mago, Y. y Chinchilla, O.L. (2009). Monogeneos, parásitos de peces de la laguna Las Mártires, Isla de Margarita, Venezuela. *Interciencia*, 34(7): 507-513.
- Ghiraldelli, L., Martins L.M., Tomas, J.G., Maia, Y.M. y Barros, A.W. (2006). Ectoparasites communities from *Oreochromis niloticus* cultivated in the state of Santa Catarina, Brazil. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 1(2): 181-190.
- Goldenfarb, P.B., Bowyer, F.P., Hall, H. y Brosious, E. (1971). Reproducibility in the Hematology Laboratory: The Microhematocrit Determination. *A.J.C.P.* 56: 35-39.
- Gonzales-Fernández, J.G. (2012). Parasitofauna en tilapia causante de mortalidad en alevinos en dos centros de cultivos, Lima, Perú. *Neotrop. Helminthol.*, 6(2): 219-229.
- González, L., y Carvajal, J. (2003). Life cycle of *Caligus rogercresseyi* (Copepoda: Caligidae) parasite of Chilean salmonids. *Aquaculture*, 220: 101-117.
- González, L. y Carvajal, J. (1994). Parásitos en los cultivos marinos de salmónidos en el sur de Chile. *Rev. Inv. Pesq.* 38: 87-96.
- González, L., Carvajal, J. Medina, A. (1997). Susceptibilidad comparativa de trucha arco iris y salmón coho a ectoparásitos de importancia económica. *Arch. Med. Vet.*, 1: 1-9.
- González, M.P., Marín, S.L., y Vargas-Chacoff, L. (2015). Effects of *Caligus rogercresseyi* (Boxshall and Bravo, 200) infestation on physiological response of host *Salmo salar* (Linnaeus 1758): Establishing physiological thresholds. *Aquaculture*, 438: 47-54.
- González, P. y Oyarzún, C. (2002). Variabilidad de índices biológicos en *Pinguipes chilensis* Valenciennes 1833 (Perciformes, Pinguipedidae): ¿están realmente correlacionados?. *Gayana*, 66(2): 249-253.
- Grano-Maldonado, M., Roque, A., Aguirre, H. y Avila-Fajer, E. (2011). Egg morphology, larval development and description of the oncomiracidium of *Heterobothrium ecuadori* (Monogenea: Diclidophoridae) parasitising the bullseye pufferfish, *Sphoeroides annulatus*. *Helminthologia*, 48(1): 51-55.
- Hahn-Von-Hessberg, C.M., Quintero-Grajales, A. y Gutiérrez-Jaramillo, A.V. (2011). Parámetros hematológicos de Tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1757) con peso entre 250 g y 350 g, en el Centro Experimental Piscícola de la Universidad de Caldas. *Vet. Zootec.*, 5(1): 47-61.

- Hahn-Von-Hessberg, C.M., Quiroz-Bucheli, A. y Grajales-Quintero, A. (2014). Caracteres hematológicos en individuos de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*, Trewavas 1983) con pesos entre 50-150 g y 150-250 g, estación piscícola, Universidad de Caldas, Colombia. *Bol. Cient. Mus. Hist. Nat.*, 18(1): 142-157.
- Harris, P.D., Soleng, A., y Bakke, T.A. (1998). Killing of *Gyrodactylus salaris* (Platyhelminthes, Monogenea) mediated by host complement. *Parasitology*, 117: 137-143.
- Hayes, P., Justine, J.L. y Boxshall, G.A. (2012). The genus *Caligus* Müller, 1785 (Copepoda: Siphonostomatoida): two new species from reef associated fishes in New Caledonia, and some nomenclatural problems resolved. *Zootaxa*, 3534: 21-39.
- Hida, T.S., Harada, J.R. y King, J.E. (1962). Rearing tilapia for tuna bait. *Fishery Bulletin of the Fish and Wildlife Service*, 62: 1-20.
- Hirayama, T., Kawano, F. y Hirazawa, N. (2009). Effect of *Neobenedenia girellae* (Monogenea) infection on host amberjack *Seriola dumerili* (Carangidae). *Aquaculture*, 288: 159-165.
- Hirazawa, N., Hagiwara, H., Takano, R., Noguchi, M. y Narita, M. (2011). Assessment of acquired protection levels against the parasite *Neobenedenia girellae* (Monogenea) between body surface sites including fins of amberjack *Seriola dumerili* (Carangidae) and the skin in response to the parasite infection. *Aquaculture*, 310: 252-258.
- Hirazawa, N., Mitsuboshi, T., Hirata, T. y Shirasu, K. (2004). Susceptibility of spotted halibut *Verasper variegatus* (Pleuronectidae) to infection by the monogenean *Neobenedenia girellae* (Capsalidae) and oral therapy trials using praziquantel. *Aquaculture*, 238: 83-95.
- Hirazawa, N., Takano, R., Hagiwara, H., Noguchi, M. y Narita, M. (2010). The influence of different water temperatures on *Neobenedenia girellae* (Monogenea) infection, parasite growth, egg production and emerging second generation on amberjack *Seriola dumerili* (Carangidae) and the histopathological effect of this parasite on fish skin. *Aquaculture*, 299: 2-7.
- Ho, J.S. (2000). The major problem of cage aquaculture in Asia relating to sea lice. Asian Fisheries Society, Manila and World Aquaculture Society, Southeast Asian chapter, Bangkok, 13-19.
- Ho, J.S., y Lin, C.L. (2004). Sea lice of Taiwan Copepoda: Siphonostomatoida: Caligidae. Sueichan Press, Taiwan, 213-215.

- Hoai, T.D. y Hutson, K.S. (2014). Reproductive strategies of the insidious fish ectoparasite, *Neobenedenia* sp. (Capsalidae: Monogenea). *Plos One*, 9(9): 1-7.
- Hopkins, D.K., Ridha, M., Leclerco, D., Al-Meerri, A.A. y Alahmad, T. (1989). Screening tilapia for culture in sea water in Kuwait. *Aquaculture and Fisheries Management*, 20: 389-397.
- Hoshina, T. (1968). On the monogenetic trematode *Benedenia seriolae*, parasitic on yellowtail, *Seriola quinqueradiata*. *Bull. Office. Int. Epizoot.*, 69: 1179-1191.
- Hrubec, T.C.; Cardinale, J.L. y Smith S.A. (2000). Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured tilapia (*Oreochromis* hybrid). *Veterinary Clinical Pathology*, 29(1): 7-12.
- Hrubec, T.C., y Smith, S.A. (1999). Differences between plasma and serum samples for the evaluation of blood chemistry values in rainbow trout, channel catfish, hybrid tilapias, and hybrid striped bass. *Journal of Aquatic Animal Health*, 11: 116-122.
- Hutson, K.S., Mata, L. Paul, N.A. y De Nys, R. (2012). Seaweed extracts as a natural control against the monogenean ectoparasite, *Neobenedenia* sp., infecting farmed barramundi (*Lates calcarifer*). *International Journal for Parasitology*, 42: 1135-1141.
- Hutson, S.K., Ernst, I. y Whittington, I.D. (2007). Risk assessment for metazoan parasites of yellowtail kingfish *Seriola lalandi* (Perciformes: Carangidae) in South Australian sea-cage aquaculture. *Aquaculture*, 271: 85-99.
- Ingram, A.L. y Parker, A.R. (2005). The anatomy and attachment mechanism of the haptor of a *Capsala* sp. (Platyhelminthes: Monogenea: Capsalidae) on the blue marlin, *Makaira nigricans* (Istiophoridae). *Journal of Natural History*, 39(42): 3633-3647.
- Johnson, S.C., Treasurer, J.W., Bravo, S., Nagasawa, K. y Kabata, Z. (2004). A review of the impact of parasitic copepod on marine aquaculture. *Zoological Studies*, 43(2):229-243.
- Johnston, T.H. (1931). New trematodes from the Subantartic and Antartic. *Australian Journal of Experimental Biology and Medicine Science*, 8: 91-98.
- Jones, S.R.M. (2001). The occurrence and mechanisms of innate immunity against parasites in fish. *Developmental and Comparative Immunology*, 25: 841-852.
- Kabata, Z. (1992). Copepods parasitic on Australian fish, XV, Family Ergasilidae (poecilostomatoida). *Journal of Natural History*, 26: 47-66.

- Kabata, Z. (1985). Parasites and diseases of fish cultured in tropics. Taylor and Francis, London and Philadelphia, 318 p.
- Kabata, Z. (1979). Parasitic copepod of british fishes. London: The Ray Society, 152: 468 p.
- Kaneko, J.J., Yamada, R., Brock, J.A., y Nakamura, R.M. (1988). Infection of tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Trewavas), by a marine monogenean, *Neobenedenia melleni* (MacCallum, 1927) Yamaguti, 1963 in Kaneohe Bay, Hawaii, USA, and its treatment. *J Fish Dis*, 11: 295-300.
- Kearn, G.C., Ogawa, K., Maeno, Y. (1992). Egg Production, the Oncomiracidium and Larval Development of *Benedenia seriola*, a Skin Parasite of the Yellowtail, *Seriola quinqueradiata*, in Japan. *Publ. Seto Mar. Biol. Lab.*, 15:351-362.
- Kinkelin, P., Michel, C., y Ghittino, P. (1991). Tratado de las enfermedades de los peces. Zaragoza, España, Ed. Acribia, 353 p.
- Kumar, V.B., Jiang, I.F., Yang, H.H. y Weng, C.F. (2009). Effects of serum on phagocytic activity and proteomic analysis of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) serum after acute osmotic stress. *Fish & Shellfish Immunology*, 26: 760-767.
- Kurovskaya, L.N., y Osadchaya, S.A. (1993). The influence of *Ichthyophthirius multifiliis* on underyearling carp, *Cyprinus carpio*. *Jour. Ichthyol.*, 33(4): 81-92.
- Lackenby, J.A., Chambers, C.B., Ernst, I. y Whittington, I.D. (2007). Effect of water temperature on reproductive development of *Benedenia seriola* (Monogenea: Capsalidae) from *Seriola lalandi* in Australia. *Diseases of aquatic organisms*, 74: 235-242.
- Le Cren, E.D. (1951). The length-weight relationship and seasonal cycle in gonadal weight and condition in the perch (*Perca fluviatilis*). *J. Anim. Ecol.*, 20: 201-219.
- Leaw, Y.Y., Faizah, S., Anil, C. y Kua, B.C. (2012). Prevalence, mean intensity and site preference of *Caligus rotundigenitalis* Yü, 1993 (Copepoda: Caligidae) on cage cultured crimson snapper (*Lutjanus erythropterus* Bloch, 1790) from Bukit Tambun, Penang, Malaysia. *Veterinary Parasitology*, 187: 505-510.
- León, F.L.P., Pérez, M.M. y Silveira, R. (2012). Primer reporte de monogéneos del género *Enterogyrus* Paperna, 1963 (Monogenea: Ancyrocephalidae) en tilapias de cultivo en Cuba. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 13(3): 1-12.
- Lin, C.L. (1996). Studies on the parasitic caligids (Copepoda: Caligidae) of cultured marine fish in taiwan. PhD thesis, National Taiwan University.

- Lin, C.C., Ho, J.S., y Chen S.N. (1994). Two species of *Caligus* (Copepoda, Caligidae) parasitic on black sea bream (*Acanthopagrus schlegelii*) cultured in Taiwan. *Fish Pathology*, 29: 253-264.
- Loh, R. (2015). Diagnostic characteristics of common fish ectoparasites. Richmond Loh Publishing, Perth, Australia, 20(1): 54-57.
- MacArthur, J.I. y Fletcher, T.C. (1985). Phagocytosis in fish. En: Fish Immunology. M.J. Manning y M.F. Tatner. Academic Press. Londres, 29-46.
- MacCallum, G.A. (1927). A new ectoparasitic trematode *Epibdella melleni* sp. Nov. *Zoopathologica*, 1: 291-300.
- Mackinnon, B.M. (1997). Sea lice: a review. *World Aquac.*, 28(3): 5-10.
- Maqsood, S., Samoon, M.H., y Singh, P. (2009). Immunomodulatory and growth promoting effect of dietary levamisole in *Cyprinus carpio* fingerlings against the challenge of *Aeromonas hydrophila*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquaculture Sciences*, 9: 111-120.
- Martínez, C.T.M. (2003). Adaptación y crecimiento de las tilapias *Oreochromis niloticus*, *Oreochromis aureus*, *Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis niloticus* en agua salada. Tesis de maestría en ciencias. Universidad de Colima. 72p.
- Martins, M.L. y Romero N.G. (1996). Efectos del parasitismo sobre el tejido branquial en peces cultivados: estudio parasitológico e histopatológico. *Revta. Bras. Zool.* , 13(2): 489-500.
- Martins, M.L., Azevedo, T.M.P., Ghiraldelli, L. y Bernardi, N. (2010). Can the parasitic fauna on Nile tilapias be affected by different production systems?. *An Acad Bras Cienc*, 82(2): 493-500.
- Martins, M.L.; Mouriño, J.L.P.; Amaral, G.V.; Vieira, F.N.; Dotta, G.; Jatobá, A.M.B.; Pedrotti, F.S.; Jerônimo, G.T.; Buglione-Neto, C.C. y Pereira-Jr, G. (2008). Haematological changes in Nile tilapia experimentally infected with *Enterococcus* sp. *Braz. J. Biol.*, 68(3): 657-661.
- Martins, M.L.; Nomura, D.T.; Myiazaki, D.M.Y.; Pilarsky, F.; Ribeiro, K.; Castro, M.P. y Campos, C.F.M. (2004). Physiological and haematological response of *Oreochromis niloticus* (Osteichthyes: Cichlidae) exposed to single and consecutive stress of capture. *Acta Scient*, 26(4): 449-456.
- Maule, A. y Schreck, C. (1990). Changes in numbers of leukocytes in immune organs of juvenile coho salmon after acute stress or cortisol treatment. *Journal Aquatic Animal Health*, 2: 298-304.

- Mena-Herrera, A., Sumano-López, H. y Macías-Zamora, R. (2002). Efecto de la salinidad en el crecimiento de tilapia híbrida *Oreochromis mossambicus* (Peters) x *Oreochromis niloticus* (Linnaeus), cultivada bajo condiciones de laboratorio. *Vet. Méx.*, 33(1): 39-48.
- Möller, H. (1981). Untersuchungen über den Gesundheitszustand der Unterweser-Fische. GKSS Forshungszentrum Geestacht GMBH, 56 p.
- Morales-Serna, F.N., Pinacho-Pinacho, C.D., Gómez, S. y Pérez-Ponce, L.G. (2014). Diversity of sea lice (Copepoda: Caligidae) parasitic on marine fishes with commercial and aquaculture importance in Chamela Bay, Pacific coast of Mexico by using morphology and DNA barcoding, with description of a new species of *Caligus*. *Parasitology International*, 63: 69-79.
- Moreno, A.Z., Fuentes, J.L., Mago, Y. y Chinchilla, O. (2008). Descripción, Taxonomía e índices ecológicos de parásitos en peces de la laguna de los Mártires, Isla de Margarita, Venezuela. *Saber, Universidad de Oriente, Venezuela*, 20(1): 3-11.
- Mueller, K.W., Watanabe, W.O. y Head, W.D. (1992). Effect of salinity on hatching Monogenean ectoparasites of seawater-cultured tilapia. *Journal of the World Aquaculture Society*, 23:199-204.
- Muhd-Faizul, H.A.H., Kua, B.C. y Leaw, Y.Y. (2012). Caligidae infestation in Asian seabass, *Lates calcarifer*, Bloch 1790 cultured at different salinity in Malaysia. *Veterinary Parasitology*, 184: 68-72.
- Natt, M.P., y Herrick, C.A. (1952). A new blood diluent for counting erythrocytes and leukocytes of the chicken. *Poult. Sci.*, 31: 735-738.
- Nagasawa, K. (2004). Sea lice, *Lepeophtherius salmonis* and *Caligus orientalis* (Copepoda: Caligidae), of wild and farmed fish in sea and brackish waters of Japan and adjacent regions: a review. *Zoological Studies*, 43(2): 173-178.
- Nagasawa, K., Doi, H. y Yokoyama, F. (2011). Further records of *Lernaeenicus ramosus* (Copepoda: Pennellidae) from groupers (*Epinephelus* spp.) in Japanese waters. *Biogeography*, 13: 51-53.
- Nigrelli, R.F. (1943). Causes of diseases and death of fishes in captivity. *Zoological, N.Y.*, 28: 203-216.
- Nikolski, G.V. (1963). The ecology of fishes. London, Academic Press, 352 p.
- O'Neill, J.G. (1985). An in vitro study of polymorphonuclear phagocytosis and the effect of temperatura. En *Fish Immunology*. M.J. Manning y M.F. Tatner. Academic Press. Londres, 47-56.

- Pantoja, M.F.W., Neves, R.L., Dias, R.D.M., Marinho, G.B.R., Montagner, D. y Tavares-Dias, M. (2012). Parásitos protozoarios y metazoarios de la tilapia del Nilo *Oreochromis niloticus* criadas en Brasil. *Rev. MVZ Córdoba*, 17(1): 2812-2819.
- Paperna, I. (1991). Diseases caused by parasites in the aquaculture of warm waters fish. *Annu. Rev. Fish Dis.*, 1: 155-194.
- Paperna, I. (1963). Dynamics of *Dactylogyrus vastator* Nybelin (Monogenea) populations on the gills of carp fry in fish ponds. *Bamidgeh*, 15: 31-50.
- Paperna, I., Diamant, A. y Overstreet, R.M. (1984). Monogenean infestations and mortality in wild and cultured Red Sea fishes. *Helgoländer Meeresunters*, 37: 445-462.
- Paschoal, F., Cezar, A.D. y Luque, J.L. (2011). Novo registro de hospedeiro para *Caligus balistae* Steenstrup & Lütken, 1861 (Crustacea: Copepoda: Caligidae) em *Tilapia rendalli* (Boulenger, 1897) (Osteichthyes; Cichlidae) da Lagoa de Jacarepaguá, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Zociências*, 13(1, 2, 3): 193-196.
- Patriche, T., Patriche, N., y Tenci, M. (2009). Cyprinids total proteins determination. *Lucrari Stiintifice Zootehnic Si Biotechnology*, 42(2): 95-101.
- Pegado, A.T.M., Laterça, M.M., Rizzi, B.F. y Ruas, M.F. (2006). Hematological and gill responses in parasitized tilapia from Valley of Tijucas River, SC. Brazil. *Sci. Agric.*, 63(2): 115-120.
- Penagos, G., Barato, P. y Iregui, C. (2009). Sistema inmune y vacunación de peces. *Acta biol. Colomb.*, 14(1): 3-24.
- Pereira-Bueno, J.M., y Ferre-Pérez, I. (1997). Parásitos del pescado. Universidad de León, Departamento de Patología Animal: Sanidad Animal. Junta de Castilla y León, 37 p.
- Pérez, V.E. (2012). Efecto de la concentración de aceite de linaza y maíz en la dieta sobre el crecimiento, composición proximal, respuesta hematológica y química sanguínea en juveniles de corvina blanca *Atractoscion nobilis*. Tesis de maestría en ciencias. Universidad Autónoma de Baja California, Facultad de Ciencias Marinas, Instituto de Investigaciones Oceanológicas, 74p.
- Piasecki, W. y Mackinnon, B.M. (1995). Life-cycle of a sea louse, *Caligus elongatus* von Nordmann, 1832 (Copepoda, Siphonostomatoida, Caligidae). *Canadian Journal of Zoology*, 73: 74-82.

- Pike, A.W., y Wadsworth, S.L. (1999). Sealice on salmonids: their biology and control. *Adv. Parasitol.*, 44: 233-337.
- Prats, L.F.L., Martínez-Pérez, M. y Silveira, R. (2012). Primer reporte de monogéneos del género *Enterogyrus* Paperna, 1963 (Monogenea: Ancyrocephalidae) en tilapias de cultivo en Cuba. *Rev. Electrón. Vet.*, 13(3): 1-12.
- Quentel, C., y Obach, A. (1992). The celular composition of the blood and hematopoietic organs of turbot *Scophthalmus maximus* L. *Jour. Fish Biol. London*, 41: 709-716.
- Quispe-Maica, P.R. (2005). Estudio de las comunidades de metazoarios parásitos del pargo lunarejo, *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869), silvestre y cultivado en jaulas flotantes en el Estado de Nayarit. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Nayarit, 135 p.
- Rameshkumar, G. y Ravichandran, S. (2012). *Lernaeenicus sprattae* (Crustacea: Copepoda) on Hemiramphus far. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 11(9): 1212-1215.
- Ranzani-Paiva, M.J.T. y Tavares-Dias, M. (2002). Eritrograma, relação viscerosomática, hepatosomática e esplenosomática em tainhas *Mugil platanus* Günther (Osteichthyes, Mugilidae) parasitadas. *Revta bras. Zool.*, 19(3): 807-818.
- Reed, P., Francis-Floyd, R., Klinger, R. y Petty, D. (2012). Monogenean Parasites of fish. University of Florida IFAS extension, 1-10.
- Robert, J.G., Lester, y Craig, J. (2006). Fish Diseases and Disorders. Chapter 14: Phylum Arthropoda. Edited by Woo, P.T.K., (2a ed.)
- Roberts, R.J. (2012). Fish Pathology. Chapter 2: The anatomy and physiology of teleosts. Wiley-Blackwell, (4a ed.), 581 p.
- Roberts, R.J., y Bullock, A.M. (1980). The skin surface ecosystem of teleost fishes. *Proc. R. Soc. Edynburg*, 79B: 87-91.
- Robinson, R.D., Khalil, L.F., Hall, R.N. y Steele, R.D. (1989). Infection of red hybrid tilapia with a monogenean in coastal waters off southern Jamaica. *Proceedings of the Gulf and Caribbean Fisheries Institute*, 42:441-447.
- Robinson, R.D., Khalil, L.F., Hall, R.N. y Steele, R.D. (1992). Infection of red hybrid tilapia with a monogenean in coastal waters off southern Jamaica. *Proceedings of the Gulf and Caribbean Fisheries Institute*, 42:441-447.

- Robinson, R.D., O'Connor, N.P.G. y Steele, R.D. (2008). Interactions between cage-cultured hybrid tilapia and marine monogenean, *Neobenedenia melleni*, in Jamaica. *North American Journal of Aquaculture*, 70 (1): 68-73.
- Rojo, C.A.H. (2009). Evaluación de la factibilidad técnica y económica del policultivo de la tilapia roja *Oreochromis* sp. con el langostino *Macrobrachium* (Bate 1868). Tesis de maestría. Instituto Politécnico Nacional, 72 p.
- Romana-Eguia, M.R.R. y Eguia, R.V. (1999). Growth of five Asian red tilapia strains in saline environments. *Aquaculture*, 173: 161-170.
- Rousset, V. y Raibaut, A. (1989). Peculiar cases of intracardiac parasitism in the pilchard, *Sardina pilchardus* (Walbaum), by pennellid copepod belonging to the genus *Lernaeenicus*. *Journal of Fish Diseases*, 12: 263-268.
- Ruane, N.M., Nolan, D.T., Rotllant, J., Castellote, J., y Wendelaar Bonga, S.E. (2000). Experimental exposure of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) to the infective stages of the sea louse *Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer) influences the physiological response to an acute stressor. *Fish & Shellfish Immunology*, 10: 451-463.
- Ruane, N.M., Wendelaar Bonga, S. y Balm, P. (1999). Differences between rainbow trout and brown trout in the regulation of the pituitary-interrenal axis and physiology performance during confinement. *General and Comparative Endocrinology*, 115: 210-219.
- Rubio-Godoy, M. (2010). Inmunología de los peces óseos. Revisión. *Rev. Mex. Cienc. Pecu.*, 1(1):47-57.
- Rubio-Godoy, M., Montiel-Leyva, A. y Martínez-Hernández, J.A. (2011). Comparative susceptibility of two different genetic types of tilapia to *Neobenedenia* sp. (Monogenea). *Diseases of aquatic organisms*, 93:171-177.
- Ruiz, I., Fernández, A.B. y De Blas, I. (2003). El sistema inmune de los teleósteos (III): Respuesta inmune específica. *AquaTic*, 18: 33-38.
- Ruiz, I., Fernández, A.B. y De Blas, I. (2003). El sistema inmune de los teleósteos (IV): Principales factores que afectan a la respuesta inmune. *AquaTic*, 19: 1-7.
- Sado, R.Y., Bicudo, A.J.A., y Cyrino, J.E.P. (2008). Feeding dietary mannan oligosaccharides to juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* have no affect on hematological parameters and showed decreased feed consumption. *J. World Aquacult. Soc.*, 39(6): 821-826.
- SAGARPA. (2012). Carta Nacional Acuícola. México, 112 p.

- SAGARPA. (2013). Anuario Estadístico de Acuacultura y Pesca. Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca. México, 295 p.
- Sasal, P. (2003). Experimental test of influence of the size of shoals and density of fish on parasitic infection. *Coral Reefs*, 22: 241-246.
- Savari, A., Hedayati, A., Safahieh, A., y Movahedinia, A. (2011). Characterization of blood cells and hematological parameters of yellowfin sea bream (*Acanthopagrus latus*) in some creeks of Persian Gulf. *World J. of Zool.*, 6: 26-32.
- Schram, T.A. (1987). Prevalence of *Lernaeenicus sprattae* (Sowerby) and *L. encrasicoli* (Turton) (Copepoda, Penellidae) infection of sprat from Oslofjorden. *Sarsia*, 72: 279-289.
- Schram, T.A. (1979). The life history of the eye-maggot of the sprat, *Lernaeenicus sprattae* (Sowerby) (Copepoda, Lernaeoceridae). *Sarsia*, 64: 279-316.
- Scholz, T. (1999). Parasites in cultured and feral fish. *Veterinary Parasitology*, 84: 317-335.
- Schram, T.A. (1991). Eye-Maggot (*Lernaeenicus sprattae*) and body-maggot (*L. encrasicoli*) of the sprat. Copenhagen K, Denmark: Conseil International pour l'Exploration de la Mer, 1-5 p.
- Sikkel, P.C., Nemeth, D., McCammon, A. y Williams, E.H.Jr. (2009). Habitat and species differences in prevalence and intensity of *Neobenedenia melleni* (Monogenea: Capsalidae) on sympatric caribbean surgeonfishes (Acanthuridae). *Journal Parasitology*, 95(1): 63-68.
- Silva-Acuña, R., Barrios, M.R., Salazar, L.R., Matute, C., y Pérez, J.L. (2007). Características hematológicas de la cachama (*Colossoma macropomun*) en tres etapas de crecimiento cultivadas en el estado Delta Amacuro, Venezuela. *Zootecnia Trop.*, 25(4): 237-243.
- Silveira-Coffigny, R. (2005). Índices hematológicos y celulares como bioindicadores de estrés en *Oreochromis aureus* Steindachner (tilapia) de cultivo. Tesis doctoral. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C., 115 p.
- Silveira-Coffigny, R., Quintana, Y. y Ascencio-Valle, F. (2005). Características morfológicas y citoquímicas de las células de la sangre periférica de *Oreochromis aureus* S. Cichlidae. *Revista electrónica veterinaria*, 6(10): 1-8.
- Silveira-Coffigny, R.; Prieto-Trujillo, A. y Ascencio-Valle, F. (2004). Effects of different stressors in haematological variables in cultured *Oreochromis aureus* S. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 139: 245-250.

- Silveira-Coffigny, R. y Rigores, C. (1989). Características hematológicas normales de *Oreochromis aureus* em cultivo. *Rev. Latinoam. Acuicul.*, 39: 54-56.
- Srivastava, A.K. (1969). Studies on the haematology of certain freshwater teleost. V. Thrombocytes and the clotting of blood. *Anat Anz Bd.*, 124: 368-374.
- Stickney, R.R. (1986). Tilapia tolerance of saline waters: a review. *Progressive Fish Culturist*, 48: 161-167.
- Suárez-Nuñez, R.S. (2010). Evaluación de mortalidad en salmon del Atlántico (*Salmo salar*) durante los seis primeros meses postingreso a fase de engorda en la zona de Melinka, región del General Carlos Ibañez del Campo. Tesis de nivel superior. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias, Instituto de Patología Animal, 36 p.
- Sun, L.T., Chen, G.R. y Chang, C.F. (1995). Acute responses of blood parameters and comatose effects in salt-acclimated tilapias exposed to low temperatures. *J. Therm. Biol.*, 20(3): 299-306.
- Tansel, T., y Fatih, P. (2012). Ectoparasitic sea lice, *Caligus minimus* (Otto 1821, Copepoda: Caligidae) on Brawn wrasse, *Labrusmerula* L. in Izmir Bay, Aegean Sea. *Journal of Animal Science*, 11(38): 208-211.
- Tavares-Dias, M., Martins, M.L., y Kronka, S.N. (1999). Evaluation of the haematological parameters in *Piractus mesopotamicus* Holmberg (Osteichthyes: Characidae) with *Argulus* sp. (Crustacea, Branchiura) infestation and treatment with organophosphate. *Revta. Bras. Zool.*, 16: 553-555.
- Tavares-Dias, M., Martins, M.L. y Moraes, F.R. (2000). Relação hepatosomática e esplenosomática em peixes teleósteos de cultivo intensivo. *Revta bras. Zool.*, 17(1): 273-281.
- Tavares-Dias, M., Moraes, F.R., Martins, M.L. y Santana, A.E. (2002). Haematological changes in *Oreochromis niloticus* (Osteichthyes: Cichlidae) with gill Ichthyophthiriasis and saprolegniosis. *Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo*, 28(1): 1-9.
- Tavares-Dias, M., y Faustino, C.D. (1998). Parâmetros hematológicos da tilapia-do-Nilo *Oreochromis niloticus* (Cichlidae) em cultivo extensivo. *Ars Veterinaria*, 14: 254-263.
- Tavares-Dias, M., y Moraes, F.R. (2004). Hematologia de peixes teleósteos. Ribeirão Preto: Villimpress, 144 p.

- Triana-García, P.A., Gutierrez-Espinosa, M.C. y Eslava-Mocha, P.R. (2013). Rendimiento productivo e hígado graso en tilapia híbrida (*Oreochromis* spp.): Influencia de dos fuentes de lípidos. *Orinoquia*, 17(2): 183-196.
- Tubbs, L.A., Poortenaar, C.W., Sewell, M.A. y Diggles, B.K. (2005). Effects of temperature of fecundity in vitro, egg hatching and reproductive development of *Benedenia seriolae* and *Zeuxapta seriolae* (Monogenes) parasitic on yellowtail kingfish *Seriola lalandi*. *International Journal for Parasitology*, 315-327.
- Ueda, I.K.; Egami, M.I.; Sasso, W.S. y Matushima, E.R. (2001). Cytochemical aspects of the peripheral blood cells of *Oreochromis* (Tilapia) niloticus. (Linnaeus, 1785) (Cichlidae, Teleostei) - Part II. *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.*, 38(6): 273-277.
- Vásquez-Piñeros, M.A., Rondón-Barragán, L.S., Restrepo-Betancur, L.F. y Eslava-Mocha, P.R. (2010). Estudio clínico y hematológico de una infección experimental con *Aeromonas hydrophila* y *Eduwardsiella tarda* en tilapia, *Oreochromis* sp. *Orinoquia*, 14(1): 33-44.
- Vidal-Martínez, V.M., Aguirre-Macedo, M.L., Scholz, T., González-Solis, D., y Mendoza-Franco, E.F. (2002). Atlas de los helmintos parásitos de cíclidos de México. Instituto Politecnico Nacional, México, 183 p.
- Vijayakumar, R., Raja, K. y Velvizhi, S. (2014). Occurrence of heavy copepod infestation on *Hemiramphus lutkei* and double parasitisms on *Hemiramphus far* with copepod (*Lernaeenicus hemiramphi*) and isopod (*Mothocya plagulophora*). *J. Parasit. Dis.*, 38(3): 331-333.
- Villegas, C.T. (1990). Evaluation of the salinity tolerance of *Oreochromis mossambicus*, *O. niloticus* and their F1 hybrids. *Aquaculture*, 815: 281-292.
- Watanabe, W.O., Kuo, C.M. y Huang, M.C. (1985). Salinity tolerance of Nile tilapia fry (*Oreochromis niloticus*) spawned and hatched at various salinities. *Aquaculture*, 48:159-176.
- Weatherley, A.H., y Gill, H.S. (1987). The biology of fish growth. New York, Academic Press, 429 p.
- Wedemeyer, G.A. (1996). Physiology of fish in intensive culture systems. USA: Chapman and Hall. P. 232p.
- Wilhelm, F.D., Jensen, E.G., Kassner, G., Caprario, F.X., Dafret, A.L. y Ohira, M. (1992). Comparative hematology in marine fish. *Comp. Biochem. Physiol.*, 102A(2): 311-321.

- Whittington, I.D. (1998). Diversity down under: Monogeneans in the Antipodes (Australia) with prediction of monogenean biodiversity worldwide. *International Journal for Parasitology*, 28: 1481-1493.
- Whittington, I.D. (2004). The Capsalidae (Monogenea: Mono-pisthocotylea): a review of diversity, classification and phylogeny with a note about species complexes. *Folia Parasitol (Praha)*, 51: 109-122.
- Whittington, I.D., y Horton, M.A. (1996). A revision of *Neobenedenia* Yamaguti, 1963 (Monogenea: Capsalidae) including a redescription of *N. melleni* (MacCallum, 1927) Yamaguti 1963. *J. Nat. Hist.*, 30: 1113-1156.
- Whittington, I.D., y Kearn, G.C. (1993). A new species of skin-parasitic Benedeniine monogenean with a preference for the pelvic fins of its host, *Lutjanus carponotatus* (Perciformes: Lutjanidae) from the great barrier reef. *Journal of Natural History*, 27: 1-14.
- Wilson, C.B. (1917). North American parasitic copepods belonging to the Lernaeidae with a revision of the entire family. *Proceedings of the United States National Museum*, 53: 56-59.
- Yamaguti, S. (1963). *Systema Helminthum*, Vol. IV. London: John Wiley & Sons.
- Yang, J.L., y Chen, H.C. (2003). Effects of gallium on common carp (*Cyprinus carpio*): acute test, serum biochemistry and erythrocyte morphology. *Chemosphere*, 53: 877-882.
- Yue, Y.R., y Zhou, Q.C. (2008). Effect of replacing soybean meal with cottonseed meal on growth, feed utilization, and hematological indexes for juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. *Aquaculture*, 284: 185-189.
- Yuji, S.R., Almeida, B.A.J. y Possebon, C.J.E. (2014). Hematology of juvenile pacu, *Piractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) fed graded levels of mannan oligosaccharides (MOS). *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 42(1): 30-39.
- Zapata, A. (1985). Inmunología de peces teleósteos. Primer curso teórico-práctico sobre acuicultura. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid, 123-205 p.

Anexos

Anexo 1. Registro de parásitos *Neobenedenia* sp., *Caligus* sp. y *Lernaeenicus* sp. en peces.

Autor	Hospedero	Parásito	P (%)	IP (Parásitos/pez)
Mueller <i>et al.</i> (1992)	<i>O. urolepis</i> x <i>O. mossambicus</i>	<i>N. melleni</i>		
Robinson <i>et al.</i> (1992)	<i>Oreochromis</i> spp.	<i>N. melleni</i>		300
Deveney <i>et al.</i> (2001)	<i>Lates calcarifer</i>	<i>N. melleni</i>		12 a 400
Hirazawa <i>et al.</i> (2004)	<i>Seriola dumerili</i>	<i>N. girellae</i>		27.0±6.6
Robinson <i>et al.</i> (2008)	<i>O. aureus</i> x <i>O. mossambicus</i>	<i>N. melleni</i>	100	101±45
Sikkel <i>et al.</i> (2009)	<i>Acanthurus bahianus</i>	<i>N. melleni</i>	33	1 a 3
	<i>Acanthurus coeruleus</i>	<i>N. melleni</i>	55.6	1 a 29
Hirazawa <i>et al.</i> (2010)	<i>Seriola dumerili</i>	<i>N. girellae</i>		128.8±23.4
Hirazawa <i>et al.</i> (2011)	<i>Seriola dumerili</i>	<i>N. girellae</i>		187.4±50.8
	<i>O. mossambicus</i>		100	62.4 a 898.4
Rubio-Godoy <i>et al.</i> (2011)	Pargo UNAM	<i>N. melleni</i>	100	51.3
Paschoal <i>et al.</i> (2011)	<i>Tilapia rendalli</i>	<i>C. balistae</i>	2.5	4
Leaw <i>et al.</i> (2012)	<i>Lutjanus erythropterus</i>	<i>C. rotundigenitalis</i>		5.6±4.4
Rameshkumar y Ravichandran, (2012)	<i>Hemiramphus far</i>	<i>L. sprattae</i>		4
El-Deen <i>et al.</i> (2013)	<i>Mugil cephalus</i>	<i>C. elongatus</i>	90	22.5±0.55
		<i>C. minimus</i>	91.6	23.15±0.3
Bharadhirajan <i>et al.</i> (2013)	<i>Eleutheronema tetradactylum</i>	<i>L. polynemi</i>	13.94	2.33
González <i>et al.</i> (2015)	<i>Salmon salar</i>	<i>C. rogercresseyi</i>	100	41.25

Anexo 2. Variables hematológicas de diferentes especies de tilapia del genero *Oreochromis*

Variable	Min-Máx	Promedio	Autor
Hematocrito (%)	15-33	26	Silveira-Coffigny (2005)
	20-46	42±15	Pegado <i>et al.</i> (2006)
		26.9±1.6	Sun <i>et al.</i> (1995)
		24.93±6.4	Vásquez-Piñeros <i>et al.</i> (2010)
	27-43	33.63±0.58	Hahn-Von-Hessberg <i>et al.</i> (2011)
	23-58	33.56±6.86	Hahn-Von-Hessberg <i>et al.</i> (2014)
		34	Del Rio-Zaragoza <i>et al.</i> (2008)
	15-45	31.85±8.45	Bittencourt <i>et al.</i> (2003)
	27-37	33	Hrubec <i>et al.</i> (2000)
		30.6±4.34	Silveira-Coffigny (2004)
		28.3±2.3	Cnaani <i>et al.</i> (2004)
		26.71±2.41	Yue y Zhou (2008)
		15.5±3.6	Martins <i>et al.</i> (2008)
	28±2.17	Barros <i>et al.</i> (2004)	
RBC	0.7-1.72 x10 ⁶ / mm ³	1.18 x10 ⁶ / mm ³	Silveira-Coffigny (2005)
	1.09-2.76 x10 ⁶ / mm ³	1.78±0.56 x10 ⁶ / mm ³	Hahn-Von-Hessberg <i>et al.</i> (2011)
		2.193 x10 ⁶ / mm ³	Hahn-Von-Hessberg <i>et al.</i> (2014)
	2.23-3.04 x10 ⁶ / mm ³		Del Rio-Zaragoza <i>et al.</i> (2008)
	0.7-28 x10 ⁶ / mm ³	6.93±8.28 x10 ⁶ / mm ³	Bittencourt <i>et al.</i> (2003)
	1.91-2.83 x10 ⁶ µL ⁻¹	2.31 x10 ⁶ µL ⁻¹	Hrubec <i>et al.</i> (2000)
		1.42±0.24 x10 ⁶ / mm ³	Silveira-Coffigny (2004)
		1.73 x10 ⁶ µL ⁻¹	Martins <i>et al.</i> (2004)
		0.74±0.5 x10 ⁶ µL ⁻¹	Martins <i>et al.</i> (2008)
	1.8±0.28 x10 ⁶ µL ⁻¹	Barros <i>et al.</i> (2004)	
WBC	0.18-2.17 x10 ⁵ / mm ³	1.21±0.07 x10 ⁵ / mm ³	Hahn-Von-Hessberg <i>et al.</i> (2011)
		2.18 x10 ⁵ / mm ³	Hahn-Von-Hessberg <i>et al.</i> (2014)
	0.21-1.54 x10 ⁵ µL ⁻¹	0.75 x10 ⁵ µL ⁻¹	Hrubec <i>et al.</i> (2000)
		0.15±0.07 x10 ⁵ µL ⁻¹	Martins <i>et al.</i> (2008)
		1.25±0.45 x10 ⁵ / mm ³	Barros <i>et al.</i> (2004)
PT	12-46 g L ⁻¹	32.2±6.5 g L ⁻¹	Hahn-Von-Hessberg <i>et al.</i> (2014)
	3.96-4.55 g 100mL ⁻¹		Del Rio-Zaragoza <i>et al.</i> (2008)
	2.18-4.49 g dL ⁻¹	3.01±0.45 g dL ⁻¹	Crivelenti <i>et al.</i> (2011)
	2.9-6.6 g dL ⁻¹	3.9 g dL ⁻¹	Hrubec <i>et al.</i> (2000)
		2.0±0.3 g dL ⁻¹	Cnaani <i>et al.</i> (2004)
		2.8±0.43 g dL ⁻¹	Barros <i>et al.</i> (2004)

Anexo 2. Continuación

Variable	Min-Máx	Promedio	Autor
Linfocitos	13-35 %	23 %	Silveira-Coffigny (2005)
	95-97 %	96.6±1.5 %	Pegado <i>et al.</i> (2006)
		67.12±8.04 %	Vásquez-Piñeros <i>et al.</i> (2010)
	49-94 %	76.78±1.63 %	Hahn-Von-Hessberg <i>et al.</i> (2011)
	53-54 %		Hahn-Von-Hessberg <i>et al.</i> (2014)
		17.4±6.41 %	Silveira-Coffigny (2004)
Monocitos	2-13 %	8 %	Silveira-Coffigny (2005)
	1.9-1.9 %	1.9±1.1 %	Pegado <i>et al.</i> (2006)
		21.25±7.93 %	Vásquez-Piñeros <i>et al.</i> (2010)
	0-8 %	1.20±0.23 %	Hahn-Von-Hessberg <i>et al.</i> (2011)
	1.79-5.43 %		Del Rio-Zaragoza <i>et al.</i> (2008)
		8±3.75 %	Silveira-Coffigny (2004)
		17.70 %	Martins <i>et al.</i> (2004)
Trombocitos	55-74 %	66 %	Silveira-Coffigny (2005)
	3.5-41 %	14.53±1.27 %	Hahn-Von-Hessberg <i>et al.</i> (2011)
		66.5±10.2 %	Silveira-Coffigny (2004)
Eosinófilos	0-2.5 %	0.07±0.05%	Hahn-Von-Hessberg <i>et al.</i> (2011)
Neutrófilos	1-7 %	4 %	Silveira-Coffigny (2005)
	1.2-1.4 %	1.5±1.6 %	Pegado <i>et al.</i> (2006)
		11.62±8.56 %	Vásquez-Piñeros <i>et al.</i> (2010)
	0-27 %	7.07±0.93 %	Hahn-Von-Hessberg <i>et al.</i> (2011)
	0-29 %	10 %	Hahn-Von-Hessberg <i>et al.</i> (2014)
	1.6±1.67 %	Silveira-Coffigny (2004)	
Basófilos	0-4 %	0.35±0.11 %	Hahn-Von-Hessberg <i>et al.</i> (2011)
		0.50 %	Martins <i>et al.</i> (2004)