

## Caracterización cualitativa y cuantitativa de células sanguíneas de robalo *Eleginops maclovinus* (Valenciennes, 1830) (Pisces, Eleginopsidae) en la desembocadura del río Biobío

Qualitative and quantitative characterization of blood cells in the rock cod *Eleginops maclovinus* (Valenciennes, 1830) (Pisces, Eleginopsidae) in the Biobío river mouth

Ariel Valenzuela<sup>1</sup>, Víctor Silva<sup>2</sup> y Ciro Oyarzún<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Programa de Doctorado en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción.

<sup>2</sup> Fac. Farmacia, Depto. Bioquímica Clínica e Inmunología, Universidad de Concepción, Casilla 237, Concepción.

<sup>3</sup> Depto. Oceanografía, Facultad Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Casilla 160-C, Concepción. [avalenz@udec.cl](mailto:avalenz@udec.cl)

Los autores dedican este trabajo en memoria del Dr. Eduardo de la Hoz.

**Abstract.-** There are few hematological studies on Chilean fish species, therefore the information this discipline can give about the organism and its relationship with the environment is scarce. The aim of this work is to contribute, by means of hematological characterization, to the general biological knowledge of the autochthonous species *Eleginops maclovinus* for its potential use in aquaculture. Twenty six individuals were caught in the mouth area of the Biobío River. The blood was obtained by caudal puncture. The cellular count was made in a Neubauer hemocytometer and the characterization of the blood cells was made in slides stained with May-Grünwald-Giemsa. The following cellular types were characterized, corresponding to the percentage of three classic blood series and a few blast cells. Erythrocytes: ovoid mature erythrocytes, diameter greater than 11.3  $\mu\text{m}$  and immature (polychromatophils) in low proportion (0-3%). Thrombocytes: mature (lengthened) and immature (round) of a diameter greater than 6.8 and 5.1  $\mu\text{m}$ , respectively. Leukocytes: lymphocytes (small ones of 5.8  $\mu\text{m}$  and large ones of 9.8  $\mu\text{m}$ ) were the predominant cellular type (84.9%) continued by neutrophil granulocytes or type G2 (9.3%) and eosinophils (5.4%). Monocytes and blasts were the cells in smallest proportion (0-3 and 0-1.6%, respectively). The size of the erythrocytes would suggest a species not very active from the point of view of swimming speed. The low polychromatophily together with the high percentage of eosinophils and polymorphonuclear neutrophils could be related with the reproductive function during the season studied.

Key words: hematology, blood cells, marine fishes, Teleostei, *Eleginops*, Chile.

**Resumen.-** Los estudios hematológicos de especies de peces chilenos son escasos, por lo que se pierde gran parte de la información que esta disciplina puede dar acerca del organismo y su relación con el medio. El objetivo de este trabajo es contribuir al conocimiento biológico general de una especie autóctona, potencialmente cultivable, mediante su caracterización hematológica. Se capturaron 26 individuos en la desembocadura del río Biobío. La sangre se obtuvo por punción caudal. El conteo celular se hizo en cámaras de Neubauer y la caracterización de las células sanguíneas en extensiones teñidas con May-Grünwald-Giemsa. Se caracterizaron los siguientes tipos celulares, correspondientes a las tres series sanguíneas clásicas y un pequeño porcentaje de blastos: Serie roja: eritrocitos maduros ovoides, diámetro mayor 11,3  $\mu\text{m}$  e inmaduros (policromatófilos) en baja proporción (0-3%). Trombocitos: maduros (alargado) e inmaduros (redondos) de diámetro mayor 6,8 y 5,1  $\mu\text{m}$ , respectivamente. Leucocitos: los linfocitos (pequeños de 5,8  $\mu\text{m}$  y grandes de 9,8  $\mu\text{m}$ ) fueron el tipo celular predominante (84,9%), seguidos por un granulocito neutrófilo tipo G2 (9,3%) y un 5,4% de eosinófilos. Monocitos y blastos fueron las células presentes en menor proporción (0-3 y 0-1,6%, respectivamente). El tamaño de los eritrocitos indicaría que se trata de una especie poco activa desde el punto de vista natoratorio. La baja policromatofilia junto con el porcentaje elevado de eosinófilos y de polimorfonucleares neutrófilos podrían estar relacionados con el período en que se realizó el estudio (época reproductiva).

Palabras clave: hematología, células sanguíneas, peces marinos, Teleostei, *Eleginops*, Chile.

## Introducción

La hematología de peces ha adquirido mayor importancia en especies con relevancia económica, principalmente en salmónidos, llegando a ser una disciplina coparticipante en el diagnóstico y control de enfermedades. La ictiohematología ha mostrado

también su utilidad en otras disciplinas como contaminación (McLeay & Gordon 1977, Moles *et al.* 1979, Zbanyszek & Smith 1984, Marshall *et al.* 1985, Falk *et al.* 1990), ecología (Mavres & Pérez 1984, Wells *et al.* 1980, 1990, Kock 1992, Wilhelm *et al.* 1992), diferenciación de stocks y genética (De Cristini

& Graziosi 1976, Du Troit *et al.* 1973), etc. No obstante, la mayor parte de los estudios giran en torno a peces dulceacuicolas (salmónidos, ciprinidos, etc.), existiendo poca información hematológica sobre especies marinas.

De este modo, llama la atención la falta de aplicaciones hematológicas prácticas, resultando hasta hace poco tiempo, en información sólo sobre la estandarización de técnicas e identificación y nomenclatura de tipos celulares, con escasa información respecto a "valores de referencia", paso indispensable en la comprensión de los parámetros sanguíneos en función con su medio y la búsqueda de aplicaciones prácticas. Al mismo tiempo, llama la atención que en la mayoría de los estudios hematológicos de peces, a excepción de aquellos en especies de importancia económica, no se realiza la fórmula leucocitaria (recuento diferencial) de leucocitos sanguíneos. Aún así, se ha confirmado ciertas tendencias generales similares a los hallazgos clásicos en mamíferos, a saber: a) inducción de respuesta de polimorfonucleares en infecciones bacterianas agudas (Ellis 1977, Campbell & Murru 1990, Ordoñez 1991); b) respuesta eosinofílica en infecciones parasitarias, con tendencia a encontrarlos alrededor de las lesiones patológicas (Powell *et al.* 1990, Barnett *et al.* 1996); c) degeneración de leucocitos y trombocitos en infecciones virales. Por otra parte, la disminución en la concentración de oxígeno habitualmente produce aumento de reticulocitos (Cerde 1994, González 1994) y factores que estimulan la producción de ACTH y adrenocorticoides en forma crónica, producirían leucopenia con la consecuente predisposición a enfermedades infecciosas (Ellis 1977).

En el contexto nacional, la hematología de peces se remite al trabajo de Ordoñez (1991) y los realizados en nuestro laboratorio (Cerde 1994, González 1994), todos en salmones. Así pues, la determinación de hematocrito y hemoglobina en *Paralichthys* (Astete & González 1997) y el presente trabajo corresponderían a los primeros estudios publicados en hematología de especies nativas de Chile.

*E. maclovinus* ha sido recientemente reubicado desde la familia Nototheniidae hacia su propia familia, monogénica y mono-específica, Eleginopsidae (Balushkin 1992) y es una de las pocas con distribución externa a la zona antártica, encontrándose en la costa chilena desde Valparaíso a Magallanes y desde la Provincia de Buenos Aires al canal Beagle por el Atlántico sin pasar la convergencia antártica (Calvo *et al.* 1992).

Biológicamente el robalo (*E. maclovinus*) aparece como un pez demersal de aguas someras (Pequeño 1989, Rueda 1982), no encontrándose a más de 40 metros de profundidad; su desove ocurre en fondos

arenosos en aguas estuarinas o mixohalinas (Pequeño 1989) en época de primavera-verano (Rueda 1982). Últimamente se han establecido nuevos antecedentes acerca de su carácter protándrico (Panozo 1996), sus características genéticas (Gómez 1995), alimenticias (Valdés 1995), morfométricas, merísticas (Gacitúa 1997) y crecimiento (Veas 1998). Respecto a sus características hematológicas, sólo se ha informado el conteo de eritrocitos y determinación de hemoglobina en 2 individuos (Everson & Ralph 1968) y los determinados por Valenzuela (1997).

El robalo actualmente posee importancia económica sólo a nivel de pesca artesanal (SERNAPECSA 1998) y es una de las especies nativas con buen potencial para ser cultivada. Así, los resultados presentados aquí son parte del esfuerzo por conocer las características biológicas y fisiológicas de esta especie, etapa previa y obligada para iniciar experimentos relacionados con su reproducción, desarrollo y mantención en cautividad.

## Materiales y Métodos

Se analizaron hematológicamente 26 robalos capturados con red de trasmallo en la desembocadura del río Biobío (36°48'30''S; 73°10'00''W) entre el 18 de octubre de 1996 y el 9 de enero de 1997; las tallas variaron entre 29 y 46 cm de longitud estándar. Los especímenes capturados en promedio midieron 34,7 ± 4,3 cm y pesaron 484,9 ± 155,6 g. Se descartaron los peces en condiciones de deterioro físico o hipóxicos. La sangre fue obtenida por punción caudal, siguiendo los procedimientos sugeridos por Campbell & Murru (1990); las muestras se obtuvieron de peces no anestesiados, con jeringas plásticas humedecidas con heparina (5000 U/ml) en su interior y recibidas en tubos Eppendorf con EDTA al 10% (csp 4-6 mg/ml final) con el objeto de evitar el efecto "swelling" (Soivio *et al.* 1974, Soivio & Nikinmaa 1981).

Las extensiones sanguíneas se realizaron por duplicado inmediatamente después de obtener la muestra de sangre, dejándolas secar a temperatura ambiente. Se fijaron con metanol y se guardaron protegidas de la luz y la humedad. Posteriormente se tiñeron con May-Gründwald-Giemsa.

Los conteos celulares se realizaron utilizando la solución de Natt y Herrick (Campbell 1988, Campbell & Murru 1990), con dilución 1:100 de la sangre con el reactivo dejándolo actuar por tres minutos aproximadamente, antes de llenar la cámara Neubauer.

Dadas las dificultades para diferenciar en cámara los linfocitos de los trombocitos, éstos se contaron como leucocitos, diferenciándolos posteriormente en la extensión teñida al momento de realizar la fórmula

leucocitaria. Al mismo tiempo, antes de cada conteo se hizo una identificación rápida de cada tipo celular en una extensión teñida con el objeto de evitar la confusión entre linfocitos y eritrocitos (Gajardo et al. 1997)<sup>1</sup>.

## Resultados y Discusión

La caracterización e identificación de los leucocitos de peces es confusa, fundamentalmente por la poca uniformidad en las tinciones utilizadas, la variedad morfológica de los granulocitos (Ellis 1977, Campbell 1988, Campbell & Murru 1990) y la actitud antropocéntrica de los hematólogos que, en general, tienden a asimilar toda célula sanguínea a algún tipo celular de sangre humana. En cuanto a las tinciones, existen verdaderas escuelas hematológicas que usan una u otra tinción; así los veterinarios norteamericanos, siguiendo la tendencia de los hematólogos humanos, usan preferentemente la tinción de Wright y sus combinaciones o Giemsa sola que poco ayudan a la diferenciación clara de todos los tipos celulares, mientras que los hematólogos europeos usan preferentemente la tinción May Grundwaid-Giemsa. Del mismo modo, no existe consenso respecto a la nomenclatura de los granulocitos; por ejemplo, "heterófilos" y granulocitos tipo I (G1) podrían corresponder al mismo tipo celular y los granulocitos tipo II, III o IV (Ellis 1977, Campbell 1988, Campbell & Murru 1990) podrían corresponder a alguno(s) de los mismos anteriores, pero en distintos grados de maduración definida por grado de lobulación, densidad de la cromatina, cromafinidad del citoplasma y de los gránulos.

En sangre periférica de *E. maclovinus* se identificaron al menos ocho tipos celulares (Fig. 1) correspondientes a las tres series sanguíneas clásicas (eritrocitos, trombocitos y leucocitos) y una pequeña proporción de blastos. Los tipos celulares encontrados, en general, son similares a los descritos en otros peces, sólo que en sangre periférica de *E. maclovinus* no se observaron basófilos. A continuación se describe las características fundamentales de las células sanguíneas de *E. maclovinus*.

### Eritrocitos

En el robalo, al igual que en otros peces, los eritrocitos son elípticos, con núcleo central; sin embargo, en comparación con otras especies, son de mayor tamaño, lo que podría estar en relación con su actividad desde el punto de vista natatorio (Wilhem et al. 1992, Bone et al. 1995).

En todas las extensiones se encontraron eritrocitos inmaduros (policromatófilos) que se caracterizaron por ser más redondeados, de cromatina menos densa que los maduros y con citoplasma de color violáceo (Fig. 1 a y b); corresponden a los "reticulocitos" (tinción con azul brillante de crecilo) y su nombre se refiere a la

ambigüedad tintorial del citoplasma: rosado-naranja por la afinidad de la hemoglobina por la eosina y azul (basofilia) que indica activa síntesis proteica. Los porcentajes de policromatófilos encontrados fueron bajos (0-3%), lo que sugiere una actividad eritropoyética baja que coincide con lo informado para otras especies de poca actividad natatoria (Wilhem et al. 1992) y, posiblemente, con su período reproductivo en el tiempo considerado (Valenzuela 1997).

Respecto a policromatófilos existe poca información, restringiéndose su uso al estudio de las anemias regenerativas (sangramiento agudo, síndromes hemolíticos) o al control del tratamiento de anemias carenciales. Sin embargo, la estandarización de una técnica para cuantificar reticulocitos en *Oncorhynchus mykiss* (Cerdeja 1994) y su posible relación con estrés antropogénico en salmónidos en cautividad (González 1994), abrieron la posibilidad de que este parámetro pueda ser de utilidad en el manejo de cultivos de ésta y otras especies. De este modo, los valores elevados encontrados en salmónidos en cautiverio (20-50%) por Cerdeja (1994), González (1994) y Gajardo et al. (1997)<sup>1</sup> estarían reflejando más bien el grado de estrés antropogénico más que una diferencia interespecífica asociada a su actividad natatoria, lo cual quedaría confirmado con la baja policromatofilia encontrada en salmónidos en estado silvestre.

### Trombocitos

Este tipo celular aparece de distintas formas (Figs. 1 a y b), representando distintos estados de madurez o actividad (Ellis 1977, Campbell 1988): alargados (maduros), generalmente formando agregados y redondos, que generalmente se presentan en solitario. No se observaron trombocitos con gránulos citoplasmáticos como los descritos en algunas especies (Ellis 1977) y la semejanza con eritrocitos fue sólo a nivel nuclear.

### Leucocitos

Los linfocitos son el tipo leucocitario mayoritario en el robalo (Figs. 1); son de forma irregular y el núcleo ocupa gran parte del citoplasma; tanto sus características morfológicas como sus porcentajes (84,9% en promedio) (Tabla 1) son similares a los descritos en otros peces (Ellis 1977, Mahajan & Dheer 1979, Gajardo et al. 1997<sup>2</sup>). En general, linfocitos y trombocitos redondos pueden ser fácilmente confundidos, situación que se puede resolver considerando las semejanzas morfológicas de los núcleos de trombocitos con los de eritrocitos.

En el robalo los granulocitos corresponderían a un polimorfo nuclear (PMN) neutrófilo (granulocito tipo II

<sup>1</sup> Gajardo G, R Galleguillos, R González. 1997. Caracterización genética, hematológica y química sanguínea de salmónidos silvestres y de cultivo. Informe Final Proyecto FIP 95-35.

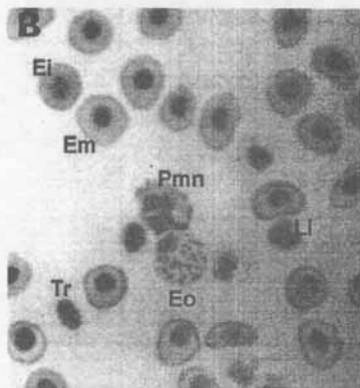
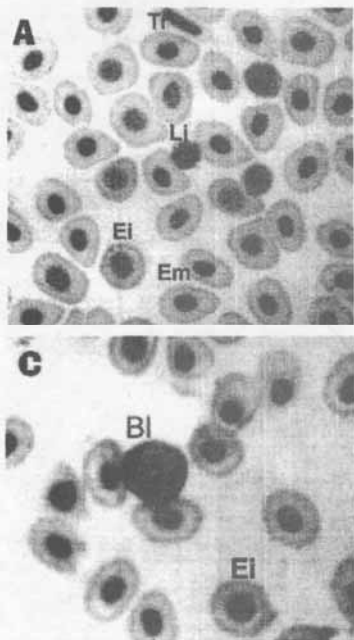


Figura 1

Tipos celulares frecuentes en sangre periférica de *E. maclovinus*. Em = eritrocito maduro, Ei = eritrocito inmaduro (policromatófilo), Tr = trombocito, Li = linfocito, Pmn = polimorfonuclear, Eo = eosinófilo, Bl = blasto; a y b 12x40; c: 12x100.

Frequent cellular types in peripheral blood of *E. maclovinus*. Em = mature erythrocyte, Ei = immature erythrocyte (polychromatophil), Tr = thrombocyte, Li = lymphocyte, Pmn = polymorphonuclear, Eo = eosinophil, Bl = blast cell; a and b 12x40; c: 12x100.

o G2) con núcleo sin marcadas lobulaciones (Fig. 1b) y representan el segundo grupo mayoritario después de los linfocitos (9,3% en promedio) (Tabla 1). Sus niveles en sangre periférica tienen variaciones interespecíficas e intraespecíficas: 0-25% en truchas (Blaxhall & Daisley 1973), 1-2% en carpa (Watson *et al.* 1963), 5-12% en la misma especie según Weinreb & Weinreb (1969) y sobre 60% en *Prosopium williamsoni* (Ezzat *et al.* 1974). De este modo, el porcentaje de granulocitos encontrado en *E. maclovinus* (promedio 9,3%, mínimo 1,5, máximo 23,1) se considera intermedio y la amplitud del rango puede tener relación con la edad, estacionalidad y estado reproductivo, en analogía con lo ocurrido con *Tilapia zilli* (Ezzat *et al.* 1974), hecho que requiere ser bien establecido si se quiere estudiar la posibilidad de cultivo de la especie.

Los eosinófilos (Fig. 1b) son un tipo celular observado en varias especies de peces y ausentes en otras; se han descrito corrientemente en salmonidos (Ellis 1977); sin embargo, en estudios realizados en Chile en *Salmo coho*,

*O. mykiss* y *Salmo salar*, no han sido observados en ningún estado de desarrollo, en cultivo ni en silvestres (Ordoñez 1991, Gajardo *et al.* 1997<sup>5</sup>). Mahajan & Dheer (1979) encontraron 3-6% de eosinófilos en sangre de *Channa punctatus*; en carpas se describe un 8% (Ellis 1977), mientras que Watson *et al.* (1963) dan a conocer un rango entre 2-3% del total de leucocitos. Ezzat *et al.* (1974) describen la influencia de la estacionalidad, estado reproductivo y estrés, aumentando el porcentaje en época de desove tanto en machos y hembras de *Tilapia zilli*. En *E. maclovinus* el porcentaje de eosinófilos está dentro de los mayores porcentajes detectados en peces (Tabla 1). Este hecho, junto con la variación interindividual (0 - 15,7%) y el aumento hacia enero (datos no mostrados), que posiblemente corresponde a la época de desove según Panoso (1996), permiten postular una posible relación con el desove. Sin embargo, no se puede descartar una posible relación con algún tipo de parasitosis de manifestación estacional.

El robalo (*E. maclovinus*) presentó un rango de monocitos entre 0 y 3% (Tabla 1) en el período estudiado. Son las células de mayor tamaño en sangre, presentando ocasionalmente vacuolas (Tabla 2). Esta

Tabla 1

Porcentajes de los tipos celulares encontrados para *E. maclovinus* entre octubre de 1996 y enero de 1997 en la desembocadura del río Biobío.

Percentages of the cellular types found in *E. maclovinus* between October of 1996 and January of 1997 in the mouth area of the Biobío river.

| Tipo celular                   | Linfocito | Polimorfonucleares | Eosinófilo | Monocitos | Otros  |
|--------------------------------|-----------|--------------------|------------|-----------|--------|
| Promedio                       | 84,9      | 9,33               | 5,4        | 0,14      | 0,15   |
| Desv. estándar                 | 6,6       | 6,69               | 4,1        | 0,6       | 0,44   |
| Intervalo de confianza del 95% | 82,4-87,4 | 6,8-12,0           | 3,8-7,0    | 0-0,37    | 0-0,32 |
| Mínimo                         | 71,4      | 1,5                | 0          | 0         | 0      |
| Máximo                         | 94,7      | 23,1               | 15,7       | 3,0       | 1,6    |

Tabla 2

Características de las células sanguíneas de *E. maclovinus* (n= número de células medidas).

Blood cell characteristics of *E. maclovinus* (n= number of measured cells).

| Tipo celular                             | n  | Núcleo   | Citoplasma   | Diámetro promedio |
|--|----|--|--|-------------------|
| 1. Eritrocito maduro                     | 60 | Central, ocupando 1/3 de la célula, color morado, redondo o levemente ovoide y cromatina condensada. | Elíptico, color rosado con tintes naranjos, sin granulaciones.                                       | 11,25 ± 0,91 µm   |
| 2. Eritrocito inmaduro                   |    | Central, de aspecto semejante a un eritrocito maduro pero con cromatina menos condensada.            | Color violeta pálido (policromatófilo), circular con zonas más claras, aparentemente sin teñir.      | No medido         |
| 3. Trombocito maduro, alargado           | 25 | Posición central, cromatina semejante a eritrocitos, ocupa aprox. el 50% de la célula.               | Citoplasma abundante, azurófilo pálido, sin gránulos.  | 6,76 ± 1,4 µm     |
| 4. Trombocito inmaduro, redondo          | 25 | Posición central, cromatina violácea semejante a linfocitos, ocupa sobre el 80% de la célula.        | Escaso, a veces sólo un borde de color violáceo o azurófilo, sin gránulos. Muy parecido a linfocito. | 5,1 ± 0,89 µm     |
| 5. Linfocito pequeño                     | 25 | Excéntrico ocupando sobre el 70% de la célula, color violeta redondo y de cromatina granulosa.       | Generalmente redondo, basófilo oscuro sin gránulos.  | 5,9 ± 1,1 µm      |
| 6. Linfocito grande                      | 25 | Similar al anterior.   | Similar al anterior, un poco más abundante, a veces menos basófilo.                                  | 9,8 ± 0,84 µm     |
| 7. Neutrófilo (granulocito tipo II o G2) | 30 | Excéntrico ocupando 20-30% de la célula, color violeta, redondo con finos granos.                    | Redondo, fondo citoplasmático celeste con finas granulaciones.                                       | 11,73 ± 1,16 µm   |
| 8. Eosinófilo                            | 10 | Excéntrico, ocupando 20-30% de la célula, color violeta, redondeado.                                 | Redondo, grandes gránulos de color naranja en fondo citoplasmático celeste.                          | 11,68 ± 1,22 µm   |
| 9. Monocito                              |    | Generalmente reniforme, semiexcéntrico, ocupando más del 50% de la célula.                           | Irregular o redondo de color azul gris.  | No medido         |
| 10. Blastos                              |    | Abundante, cental, cromatina poco densa.   | Pequeña cantidad, sólo rebordes de intensa basofilia, sin gránulos.                                  | No medido         |

célula ha sido encontrada en porcentajes variados. En *Channa punctatus* (Mahajan & Dheer 1979), por ejemplo, se ha informado porcentajes entre 1,6 y 3%; en salmonídeos en cambio, Ellis (1977) menciona porcentajes cercanos a 0,1% del total de leucocitos, mientras que en Chile se han descrito valores entre 0 y 4% desde alevines hasta reproductores en cautividad, excepto smolt de *Salmo salar* (3 a 9%) (Gajardo *et al.* 1997<sup>2</sup>), posiblemente relacionado con estrés antropogénico. De este modo, el porcentaje de monocitos encontrado en el robalo concuerda más con los valores descritos por Gajardo *et al.* (1997)<sup>2</sup> para salmonídeos asilvestres.

En las extensiones sanguíneas de *E. maclovinus*, además de los tipos leucocitarios mencionados, fue posible observar una que otra célula de tamaño mayor que los eritrocitos (11 µm), con núcleo que ocupa más del 70% de la célula y citoplasma intensamente basófilo, célula encontrada comúnmente en pequeños porcentajes en peces y que corresponde a blastos (Tabla 2, Fig. 1c).

## Literatura Citada

- Astete L. & R. González. 1997. Determinación de estrés a través de parámetros químicos sanguíneos y hematológicos en ejemplares del género *Paralichthys* que habitan la bahía de Concepción. *Gayana Oceanología* 5: 13-19.
- Balushkin A. V. 1992. Classification, phylogenetic relationships, and origins of the families of suborder Notothenioidae (Perciformes). *Journal of Ichthyology* 32: 90-110.
- Barnett RR, T. Akindele, C. Orte & L. Shephard. 1996. Eosinophilic granulocytes in the epidermis of *Oreochromis mossambicus* gill filaments studied in situ. *Journal of Fish Biology* 49:148-156.
- Blaxhall PC & KW Daisley. 1973. Routine haematological methods for use with fish blood. *Journal of Fish Biology* 5: 771-782.
- Bone Q, NB Marshall & JHS Blaxter. 1995. Biology of fishes. Second Edition, Blackie Academic & Professional, Glasgow, UK, 332 págs.
- Calvo JE, A. Morriconi, A. Rae & NA San Roman. 1992. Evidence of protandry in subantarctic notothenid, *Eleginops maclovinus* (Cuv y Val 1830) from the Beagle Channel, Argentina. *Journal of Fish Biology* 40:157-164.
- Campbell TW. 1988. Fish cytology and hematology. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice* 18: 349-364.
- Campbell TW & F. Murru. 1990. An introduction to fish hematology. *Compendium of Continuing Education in Veterinary Science* 12: 525-533.
- Cerda A. 1994. Valores de referencia de la serie roja en *Oncorhynchus mykiss* en la piscicultura centro Antuco, Los Angeles, VIII Región. Tesis para optar al título de Biólogo Marino. Universidad de Concepción, Chile, 55 págs.
- De Cristini F. & G. Graziosi. 1976. Electroforetic analyses and denaturation test of haemoglobins of *Trachurus trachurus* (L.). *Journal of Fish Biology* 9: 401-403.
- Du Troit PJ, J. Hattingh & JC Shabert. 1973. The haemoglobins of *Labeo umbratus* (Smith) and *Labeo capensis* (Smith). *Journal of Fish Biology* 5: 523-526.
- Ellis AE. 1977. The leucocytes of fish: A review. *Journal of Fish Biology* 14: 453-491.
- Everson I & R. Ralph. 1968. Blood analyses of some Antarctic fish. *British Antarctic Survey Bulletin* 5:59-62.
- Ezzat A.A, M.B. Shabana & AM Farhady. 1974. Studies on the blood characteristics of *Tilapia zilli* (Gervais) I. Blood cells. *Journal of Fish Biology* 6:1-12.
- Falk HF, RD Negele & R. Goerlich. 1990. Phagocytosis activity as an in vitro test for the effects of chronic exposure of rainbow trout to Linuron, a herbicide. *Journal of Applied Ichthyology* 6: 231-236.
- Gacitúa S. 1997. Variabilidad en los caracteres morfológicos y merísticos en el robalo *Eleginops maclovinus* (Valenciennes 1830) entre la Octava y la Décima Región (Pisces, Perciformes, Eleginopsidae). Tesis para optar al título de Biólogo Marino. Universidad de Concepción, Chile, 98 págs.
- Gómez DG. 1995. Variabilidad genética en el robalo, *Eleginops maclovinus* (Valenciennes, 1830). (Pisces, Perciformes, Eleginopsidae). Seminario de título para optar al grado de Biólogo Marino. Universidad de Concepción, Chile, 40 págs.
- González P. 1994. Serie roja de *Oncorhynchus mykiss*: reticulocitos como marcadores de estrés crónico en piscicultura de la VIII Región. Tesis para optar al título de Biólogo Marino. Universidad de Concepción, Chile, 47 págs.
- Kock KH. 1992. Antarctic fish and fisheries. Cambridge University Press, 344 págs.
- Mahajan CL & JMS Dheer. 1979. Cell types in the peripheral blood of an air-breathing fish *Channa punctatus*. *Journal of Fish Biology* 14: 481-487.
- Marshall AS, CA Burtis & JJ Beauchamp. 1985. Integrated and individual biochemical responses of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to varying duration of acidification stress. *Comparative Biochemistry and Physiology* 82: 301-310.
- Mavares RN & JE Pérez. 1984. Blood adaptations to marine and freshwater environments in fish of the family Sciaenidae (Perciformes). *Journal of Fish Biology* 25: 657-664.
- McLeay DJ & MR Gordon. 1977. Leucocrit: a simple hematological technique for measuring acute stress in salmonid fish, including stressful concentrations of pulp mill effluent. *Journal of the Fisheries Research Board Canada* 34: 2165-2175.

- Ordoñez M. 1991.** Estudio de variables hematológicas y bioquímicas en salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*) afectados con el síndrome de salmón coho. Tesis para optar al grado de Licenciado en Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile, 50 págs.
- Panozo RG. 1996.** Evidencias del hermafroditismo secuencial en el robalo *Eleginops maclovinus* (Valenciennes, 1830) (Perciformes, Eleginopsidae). Tesis para optar al título de Biólogo Marino. Universidad de Concepción, Chile, 44 págs.
- Pequeño G. 1989.** The geographical distribution and taxonomic arrangement of South American Nototheniid fishes (Osteichthyes, Nototheniidae). Boletín de la Sociedad de Biología de Concepción 60: 183-200.
- Powell MD, GM Wright & JF Burka. 1990.** Eosinophilic granule cells in the gills of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*: evidence of migration? Journal of Fish Biology 37: 495-497.
- Rueda TR. 1982.** Contribución al conocimiento de la biología del robalo (*Eleginops maclovinus* Cuv. y Val., 1830 en la zona de los canales (XI Región). Unidad de investigación para optar al grado de Licenciado en Biología Marina. Universidad de Concepción, Chile, 36 págs.
- SERNAPESCA. 1998.** Anuario estadístico de pesca 1997. Servicio Nacional de Pesca, 306 págs.
- Solvio A & Nikinmaa. 1981.** The swelling of erythrocytes in relation to the oxygen affinity of the blood of the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. En: Stress and fish (Pickering, A.D.), pp 103-118. Londres, Academic Press.
- Solvio A, K Westman & K Nyholm. 1974.** Changes in haematocrit values in blood samples treated with and without oxygen: a comparative study with four salmonid species. Journal of Fish Biology 6:763-769.
- Valdés A. 1996.** Ecología trófica del robalo *Eleginops maclovinus* (Valenciennes 1830). Tesis para optar al título de Biólogo Marino. Universidad de Concepción, Chile, 52 págs.
- Valenzuela A. 1997.** Aspectos hematológicos del robalo (*Eleginops maclovinus*) en la desembocadura del río Bío Bío. Tesis para optar al Título de Biólogo Marino. Universidad de Concepción, Chile, 72 págs.
- Veas R. 1998.** Tasas de crecimiento en relación al cambio de sexo en el robalo, *Eleginops maclovinus* (Valenciennes, 1830) (Pisces: Eleginopsidae), en la zona de la desembocadura del río Bío Bío, Chile. Tesis para optar al título de Biólogo Marino. Universidad de Concepción, Chile, 69 págs.
- Watson LJ, Shechmeister IL & LL Jackson. 1963.** The haematology of goldfish (*Carassius auratus*). Cytologia 28: 118-130.
- Weinreb EL & S Weinreb. 1969.** A study of experimentally induced endocytosis in a teleost. I. Light microscopy of peripheral blood cell response. Zoologica N.Y. 54: 25-34.
- Wells RMG, MD Ashby, SJ Duncan & JA MacDonald. 1980.** Comparative study of the erythrocytes and hemoglobin in Nototheniid fishes from Antarctica. Journal of Fish Biology 7: 517-527.
- Wells RMG, JA MacDonald & G Diprisco. 1990.** Thin-blooded Antarctic fishes: a rheological comparison of the haemoglobin-free eifishes *Chionodraco kaiteneae* and *Cryodraco antarcticus* with a red blooded nototheniid, *Pagothenia bernacchii*. Journal of Fish Biology 36: 595-609.
- Wilhelm DF, GJ Eble, G Kassner, FX Caprario, AL Dafre & M Ohira. 1992.** Comparative hematology in marine fish. Comparative Biochemistry and Physiology 102: 311-321.
- Zbanyszek R & LS Smith. 1984.** The effect of water-soluble aromatic hydrocarbons on some haematological parameters of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, during acute exposure. Journal of Fish Biology 24: 545-552.