

- 11) SERRANO, M. (1985). Tipificación serológica de cepas de *E. coli* patógenas para el cerdo. *Not. Neosan*, 218:101-106.
- 12) STALEY, J.T. and KRIEG, N.P. (1984). Classification of procaryotic organism an overview. In: KRIEG, N.R. and HOLT, J.G. (Eds). *Bergey s manual of Sistematy Bacteriology. Vol. I.* The Williams and Wilkins, Baltimore, pp. 1-4.
- 13) SUAREZ, S.; PANIAGUA, C.; ALVAREZ, M. y RUBIO, P. (1985). Biología y fimbriación de cepas enteropatógenas de *E. coli* de origen porcino en Castilla-León. *Med. Vet.* 2(11):567-571.
- 14) SUAREZ, S.; PANIAGUA, C.; ALVAREZ, M. and RUBIO, P. (1987) Features of enterotoxigenic *E. coli* strains from porcine origin that expres K88 and 987P fimbrial antigens. *Vet. Microbiol.*, 13 (1):65-68.
- 15) SUAREZ, S.; PANIAGUA, C.; ORSKOV, I. and ORSKOV, F. (1988). Unusual serotypes of *E. coli* from piglets diarrhea in north Spain. *Vet. Microbiol.* 17:375-377.
- 16) TORANZO, A.E. (1983). Characterization of plasmids in bacterial fish pathogens. *Infect. Immun.*; 39: 184-192.
- 17) YOLKEN, R.H.; GREENBERG, H.B.; MERSON, M.H.; SACK, R.B. and KAPIKIAN, A.Z. (1977). Enzyme linked immunossorbent assay for detection of *Escherichia coli* heat labile enterotoxin. *J. Clin. Microbiol.*, 6:439-444.

**ESTUDIO HEMATOLOGICO DE TRUCHAS ARCO IRIS
(SALMO GAIRDNERI RICHARDSON) DE
UNA PISCIFACTORIA DE LEON**

**(HAEMATOLOGICAL STUDY OF RAINBOW TROUT
(SALMO GAIRDNERI RICHARDSON)
IN A FISHFARM OF LEON (SPAIN)**

*Por A. Serantes, *
C. Vázquez Díaz, *
A. Bayón del Río **
y M.A. Orden **

Palabras clave: Truchas arco-iris, hematocrito, hemoglobina, recuento eritrocitario, índices de Wintrobe.

Key words: Rainbow trout, packed cell volume, haemoglobin, erythrocyte counts, Wintrobe index.

SUMMARY

This work describes a study on the hamatological parameters (packed cell volume, haemoglobin, erythrocyte counts, mean corpuscular volume, mean corpuscular haemoglobin, mean concentration of corpuscular haemoglobin) of the rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) in a fishfarm of León (Spain), studying the variations due to the sex, body weight, date and gonadal status.

RESUMEN

En el presente trabajo realizamos un estudio de los parámetros hematológicos (hematocrito, hemoglobina, recuentos eritrocitarios, volumen corpuscular medio, hemo-

* Departamento de Patología Animal: Medicina Animal. Universidad de León.

** Unidad de Patología General. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia.

An. Fac. Vet. León. 1989, 35, 147-159

globina corpuscular media, concentración media de hemoglobina corpuscular) en truchas arco iris (*Salmo gairdneri* Richardson) de una piscifactoría leonesa, analizando sus variaciones en función del sexo, peso, fecha y estado gonadal.

INTRODUCCION

La indiscutible utilidad de las técnicas más sencillas de hematología como pruebas rutinarias en la determinación del estado de salud y diagnóstico de enfermedades en los peces, así como de su estado inmunológico, pasa por el conocimiento previo de los valores normales de cada especie en el ámbito en que se encuentra, así como de las posibles variaciones de estos valores en función de factores como el sexo, peso, fecha o estado gonadal.

Con este trabajo pretendemos una aproximación a la hematología de la trucha arco-iris en los ríos leoneses, en función de las citadas variables.

MATERIAL Y METODOS

Animales: el presente estudio se realizó sobre 104 truchas arco-iris (*Salmo gairdneri* Richardson), 52 machos y 52 hembras, procedentes de una piscifactoría comercial ubicada en el río Orbigo (León). Estos animales, sexualmente maduros, de al menos dos años de edad, con pesos comprendidos entre 150 y 1.750 g (558 g por término medio), aparentemente sanos y de comportamiento normal, fueron trasladados a nuestro laboratorio, donde fueron mantenidos en un circuito semicerrado, en condiciones de temperatura y fotoperíodo naturales, y alimentados "ad libitum" con un pienso comercial.

Material de laboratorio: el normal para estudios hematológicos rutinarios: microscopio, centrífuga de cabezal radial horizontal, tabla de lectura "Grafic Reader" para microhematócrito, cámaras de Neubauer, pipetas de Sahli, heparina, solución de Drabkin, solución de Dacie modificada², jeringuillas plásticas desechables de 2cc de capacidad, agujas desechables de 21g x 1" (8 x 25), etc.

Protocolo experimental: de noviembre de 1986 a julio de 1987, cada mes, ocho machos y ocho hembras eran trasladados a las citadas dependencias de nuestro Departamento, y sometidas, tras 48 horas de aclimatación, a cuatro muestreos semanales sucesivos, tras los cuales el lote era sacrificado.

La toma de muestras se realizó por punción cardíaca, siguiendo el método descrito para salmónidos por SERANTES y col.¹⁸ El anticoagulante utilizado fue la heparina, por ser considerada de elección en peces¹⁷.

La determinación del volumen celular aglomerado (valor hematócrito) se llevó a cabo por la técnica de microhematocrito, centrifugando a 12.000 g. durante cinco minutos, técnica perfectamente válida en salmónidos⁶.

La concentración de hemoglobina fue determinada por el método de Cianometahemoglobina, el más adecuado en peces teleosteos^{11, 17}.

Para el recuento de glóbulos rojos utilizamos como diluyente la solución de Dacie modificada por adición de cresil brillante², siguiendo por lo demás la técnica usual en hematología veterinaria¹⁷.

El cálculo de los índices hematimétricos de Wintrobe se realizó a partir de las fórmulas generales utilizadas en otras especies²⁵.

RESULTADOS

El valor del volumen celular aglomerado osciló entre 14,5 y 55,5% con una media de $32,8 \pm 1,1\%$, siendo de $36,6 \pm 1,7\%$ en los machos y $32,0 \pm 1,5\%$ en las hembras, si bien la diferencia determinada por el sexo no resultó estadísticamente significativa.

El peso no origina diferencias significativas en este parámetro, mientras que la época del año fue causa de variaciones altamente significativas, aumentando el volumen celular aglomerado de noviembre a julio, con una caída en abril.

Las diferencias entre machos en reposo gonadal, finalizando la espermatogénesis o en plena espermiación, así como entre hembras desovando o no, no presentaron significación estadística.

La concentración de hemoglobina en sangre osciló entre 3,9 y 14,4 g/100 ml, con una media de $7,21 \pm 0,28$ g/100ml, siendo más elevada en los machos ($7,51 \pm 0,44$ g/100 ml) que en las hembras ($6,84 \pm 0,30$ g/100 ml), sin alcanzar, no obstante, significación estadística esta diferencia.

Ni el peso ni el estatus gonadal determinan diferencias estadísticamente significativas en la concentración de hemoglobina, mientras que sí lo hace la fecha de recogida de la muestra, aumentando ligeramente dicha concentración de noviembre a enero, descendiendo entonces hasta abril para aumentar de nuevo hasta julio.

El número de eritrocitos por milímetro cúbico de sangre, expresado en millones, osciló entre 0,500 y 1,595, con una media de $0,967 \pm 0,036$, siendo más elevado en los machos ($0,977 \pm 0,053$) que en las hembras ($0,954 \pm 0,048$), sin alcanzar esta diferencia significación estadística, como no se alcanzó entre individuos con distinto peso o diferente estatus gonadal.

En cuanto a la época del año, el valor de este parámetro aumentó significativamente de noviembre a julio, con descensos registrados en enero y abril.

El volumen corpuscular medio calculado fue de 208,95 a 544,60 micras cúbicas, con una media de $346,29 \pm 8,20$ micras cúbicas, sin diferencia significativa entre machos y hembras ($350,35 \pm 12,11$ y $341,42 \pm 10,86$ micras cúbicas, respectivamente).

Ni el estatus gonadal ni el peso fueron causa de variaciones significativas.

En cuanto a la fecha, únicamente se observa un patrón estacional claramente definido en las hembras, en las que el volumen corpuscular medio aumenta significativamente de noviembre a julio.

La hemoglobina corpuscular media osciló entre 28,84 y 126,88 pg, con una media de $75,22 \pm 2,58$ pg. Estos valores fueron más elevados en los machos ($77,18 \pm 3,81$ pg) que en las hembras ($72,86 \pm 3,39$ pg), sin alcanzar esta diferencia significación estadística.

En este caso, encontramos valores significativamente distintos en individuos de diferentes pesos, correspondiendo las tasas más bajas de hemoglobina corpuscular media a los individuos de 250 a 349 g, en los machos, o de 350 a 449 g, en las hembras, y las más elevadas a los animales de 450 a 549 g, en ambos sexos, aunque sin seguir un patrón de variación claramente definido.

En cuanto a la época del año, se detectó, tanto en machos como en hembras, un ligero aumento de noviembre a enero, seguido de un marcado descenso hasta abril, para aumentar de nuevo hasta julio.

El estatus gonadal no fue causa de variaciones significativas.

La concentración media de hemoglobina corpuscular fue de 9,36 a 38,03%, con una media de $21,96 \pm 0,76$, sin diferencias significativas entre machos y hembras, si bien los valores más elevados fueron observados en los machos ($22,08 \pm 1,04$, y $21,82 \pm 1,13\%$ en las hembras).

Las variaciones en función del peso alcanzan significación estadística, siguiendo un patrón similar al obtenido en la hemoglobina corpuscular media, tanto en machos como en hembras.

Las diferencias debidas a la época del año también resultan estadísticamente significativas, manteniéndose el porcentaje elevado de noviembre a enero, con ligeras oscilaciones, para descender de forma marcada hasta julio.

El estatus gonadal no determinó variaciones significativas en el valor de este parámetro.

Correlaciones entre los diferentes parámetros hematológicos:

Observamos correlaciones positivas altamente significativas ($p < 0,001$) entre el volumen celular aglomerado y la concentración de hemoglobinemia o el número de eritrocitos por centímetro cúbico, entre la hemoglobina y el número de eritrocitos por centímetro cúbico, la hemoglobina corpuscular, y entre la concentración media de hemoglobina corpuscular y la hemoglobina corpuscular media.

Encontramos correlación significativa ($0,001 < p < 0,01$), esta vez negativa, entre el volumen celular aglomerado y la concentración media de hemoglobina corpuscular, entre el número de eritrocitos por centímetro cúbico y el volumen corpuscular medio o la hemoglobina corpuscular media, y entre el volumen corpuscular medio y la concentración media de hemoglobina corpuscular.

También resultó negativa, aunque con menor significación ($0,01 < p < 0,05$), la correlación entre el volumen celular aglomerado y la hemoglobina corpuscular media.

Estudiando por separado ambos sexos, sin embargo, en los machos no resulta significativa la correlación entre el volumen celular aglomerado y concentración media de hemoglobina corpuscular o hemoglobina corpuscular media, ni entre el volumen corpuscular medio y la concentración media de hemoglobina corpuscular, mientras que en las hembras no se obtuvo correlación significativa entre la hemoglobinemia y la hemoglobina corpuscular media.

DISCUSION

Los resultados obtenidos por nosotros en la trucha arco-iris, no difieren en lo esencial de los citados por los distintos investigadores en otras latitudes, si bien existen algunos aspectos diferenciales a discutir.

Los porcentajes de volumen celular aglomerado que encontramos se aproximan a los citados en diversos trabajos¹⁷, si bien son superiores a los encontrados por otros investigadores^{10, 12, 22, 23, 24}, diferencias atribuibles tanto los métodos de muestreo como a la temperatura del agua, superior en todos ellos a la media en nuestro caso.

Por encima de la media en nuestros resultados, podemos citar prácticamente todos los trabajos realizados sobre alevines o animales inmaduros^{1, 16}, junto a otros en los que el manejo y la utilización de anestésicos podrían justificar un hinchamiento celular, con el consiguiente incremento sobre el volumen celular aglomerado^{3, 4, 5, 9, 21}.

La hemoglobinemia en nuestro trabajo concuerda también con la observada en otros muchos¹⁷, aunque resulta considerablemente diferente a la encontrada por autores que utilizan para su determinación otras técnicas analíticas, como el método de hematina ácida, que es causa de una gran variabilidad en sus resultados^{11, 17}.

Los recuentos eritrocitarios encontrados por nosotros, si bien coinciden en gran medida con las citas de otros autores¹⁷, resultan más bajos que los obtenidos por investigadores¹⁴ que toman la sangre por punción o corte de los vasos caudales. En este sentido, HOFFMAN y col.⁸ demostraron que en la sangre tomada de estos vasos se encuentran recuentos más elevados que en la tomada por punción cardíaca.

El hecho de que el sexo no determine diferencias significativas en ninguno de los parámetros hematológicos, si bien en todos ellos los machos presentan valores más elevados, puede explicarse por diferentes razones:

Por una parte, las diferencias en el hematocrito y recuentos globulares entre machos y hembras sólo son significativas en un determinado momento o época del año, y a veces no son detectables^{13, 15}. No obstante, los valores más elevados en los machos vendrían justificados por el efecto eritropoyético positivo de la testosterona en machos y hembras, y negativo de los estrógenos, que contrarrestaría en las hembras el efecto positivo de los andrógenos sobre los órganos hematopoyéticos.

Por otra parte, ha sido demostrada la correlación positiva entre el nivel de actividad y algunos parámetros, como la hemoglobinemia¹⁷. En este sentido, la mayor concentración de hemoglobina en la sangre de los machos estaría relacionada con un aumento de las interacciones agonísticas durante la época de freza, que no se da en las hembras que, además, han visto disminuido su reflejo de desove; mientras que las limitaciones a cualquier actividad exacerbada impuestas por las condiciones experimentales impedirían que estas diferencias alcanzaran significación estadística.

En cuanto al peso, únicamente GARCIA RIERA y col.⁴ encontraron alguna correlación peso/hematocrito. Nuestros resultados, sin embargo, confirman más bien la afirmación de SMITH²⁰ y SIDDIQUI y NASEEM¹⁹: las diferencias en los parámetros hematológicos entre individuos de distinto peso son poco claras.

Las variaciones significativas que encontramos en la hemoglobina corpuscular media y concentración media de hemoglobina corpuscular en función del peso estarían relacionadas con los períodos de crecimiento intenso del individuo, en los que aumenta el porcentaje de eritrocitos inmaduros circulantes, de menor tamaño y con menor cantidad de hemoglobina que los maduros^{6, 7}.

El comportamiento estacional de los parámetros estudiados, con variaciones significativas en todos ellos, es un hecho que ha sido observado por gran número de investigadores¹⁷. Sin embargo, no todos ellos coinciden entre sí y con nuestros resultados en cuanto al sentido de dichas variaciones estacionales.

La variabilidad de estos datos se debe, sin duda, al gran número de factores que entran en juego a la hora de determinar unos cambios dados a lo largo de un período de tiempo (temperatura, fotoperíodo, calidad del agua, nivel de actividad, alimentación...) que no son en modo alguno comparables entre distintos ríos, distintos países y distintas latitudes.

Por ello, se hace cada vez más necesario el estudio de las especies de interés en cada región geográfica particular, y aún en cada cuenca fluvial de importancia o en cada costa.

VALOR HEMATOCRITO

	TRUCHAS ARCO-IRIS	MACHOS ARCO-IRIS	HEMBRAS ARCO-IRIS
Tamaño de la muestra	166	86	80
Media	32,85	33,58	31,98
Mediana	32,87	33,25	32,00
Moda	32,00	35,00	65,34
Varianza	84,89	102,33	8,08
Desviación típica	9,21	10,12	1,48
Error estándar	1,13	1,69	15,00
Mínimo	14,50	14,50	46,50
Máximo	55,50	55,50	25,00
Rango	41,00	41,00	

CONCENTRACION DE HEMOGLOBINA EN SANGRE g/100 ml.

	TRUCHAS ARCO-IRIS	MACHOS ARCO-IRIS	HEMBRAS ARCO-IRIS
Tamaño de la muestra	166	86	80
Media	7,21	7,51	6,84
Mediana	7,04	7,12	7,04
Moda	5,89	9,11	4,36
Varianza	5,11	7,00	2,76
Desviación típica	2,26	2,65	1,66
Error estándar	0,28	0,44	0,30
Mínimo	3,94	3,96	3,94
Máximo	14,44	14,44	9,57
Rango	10,50	10,48	5,63

N.º DE GLOBULOS ROJOS (x 10⁻⁶)/µl.

	TRUCHAS ARCO-IRIS	MACHOS ARCO-IRIS	HEMBRAS ARCO-IRIS
Tamaño de la muestra	166	86	80
Media	0,967	0,977	0,954
Mediana	0,985	1,022	0,941
Moda	1,342	1,045	1,342
Varianza	0,086	0,102	0,069
Desviación típica	0,293	0,320	0,262
Error estándar	0,036	0,053	0,048
Mínimo	0,499	0,502	0,499
Máximo	1,595	1,595	1,395
Rango	1,095	1,092	0,895

VOLUMEN CORPUSCULAR MEDIO (EXPRESADO EN MICRAS CUBICAS)

	TRUCHAS ARCO-IRIS	MACHOS ARCO-IRIS	HEMBRAS ARCO-IRIS
Tamaño de la muestra	166	86	80
Media	346,29	350,35	341,42
Mediana	343,29	327,60	350,57
Moda	330,14	322,72	340,43
Varianza	4441,18	5279,60	3537,41
Desviación típica	66,64	72,66	59,48
Error estándar	8,20	12,11	10,86
Mínimo	208,95	208,95	228,57
Máximo	544,60	544,60	461,54
Rango	335,65	335,65	232,97

HEMOGLOBINA CORPUSCULAR MEDIA (pg)

	TRUCHAS ARCO-IRIS	MACHOS ARCO-IRIS	HEMBRAS ARCO-IRIS
Tamaño de la muestra	166	86	80
Media	75,22	77,18	72,86
Mediana	70,22	71,53	66,52
Moda	67,35	70,43	66,12
Varianza	439,99	523,43	343,93
Desviación típica	20,97	22,88	18,54
Error estándar	2,58	3,81	3,38
Mínimo	29,84	29,84	43,45
Máximo	126,88	126,88	119,04
Rango	97,05	97,05	75,59

CONCENTRACION MEDIA DE HEMOGLOBINA CORPUSCULAR (%)

	TRUCHAS ARCO-IRIS	MACHOS ARCO-IRIS	HEMBRAS ARCO-IRIS
Tamaño de la muestra	166	86	80
Media	21,96	22,08	21,82
Mediana	20,23	21,05	19,76
Moda	29,91	20,24	29,32
Varianza	38,10	39,20	38,04
Desviación típica	6,17	6,26	6,17
Error estándar	0,76	1,04	1,12
Mínimo	9,35	9,35	13,94
Máximo	37,64	33,11	37,64
Rango	28,28	23,76	23,70

Correlaciones entre los parámetros hematológicos en las truchas arco-iris

Hemoglobina	+++				
Recuentos	+++	+++			
V.C.M.	ns	ns	--		
H.C.M.	-	+++	--	ns	
C.M.H.C.	--	+++	ns	--	+++
	Hematocrito	Hemoglobina	Recuentos	V.C.M.	H.C.M.

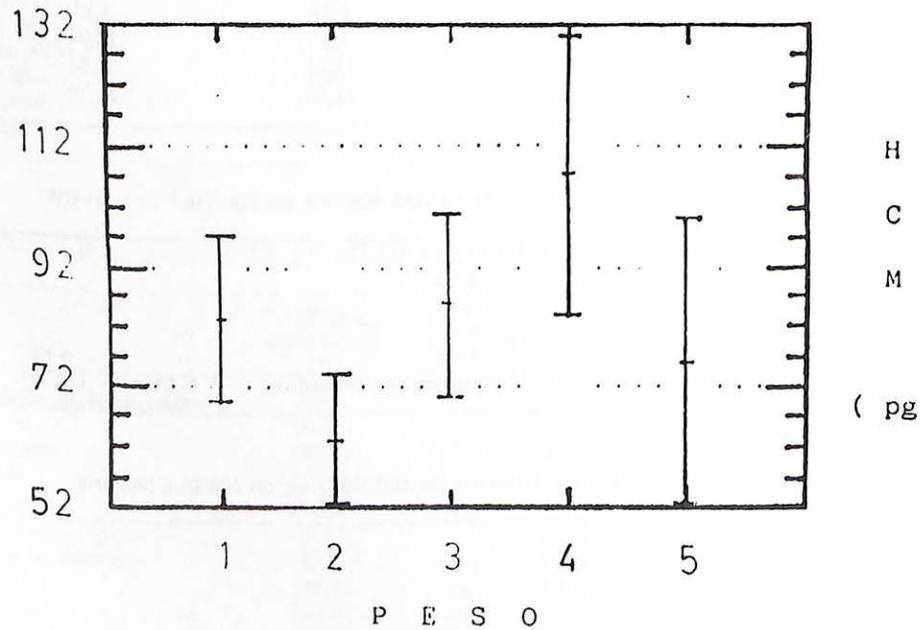
Correlaciones entre los parámetros hematológicos en los machos-iris

Hemoglobina	+++				
Recuentos	+++	+++			
V.C.M.	ns	ns	-		
H.C.M.	ns	++	-	ns	
C.M.H.C.	ns	+++	ns	ns	+++

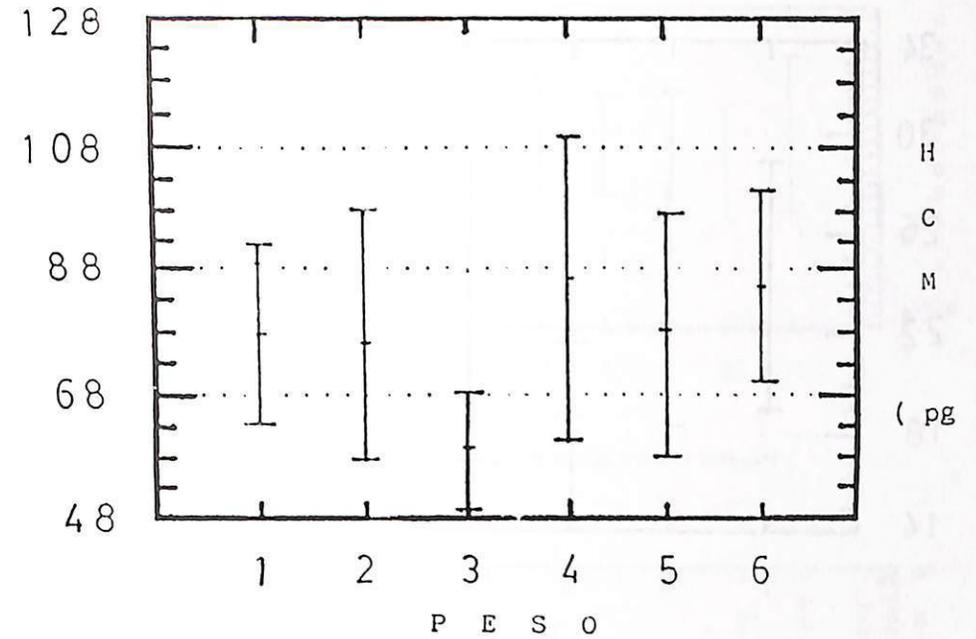
Correlaciones entre los parámetros hematológicos en las hembras arco-iris

Hemoglobina	++					
Recuentos	+++	+++				
V.C.M.	ns	ns	-			
H.C.M.	-	ns	-	ns		
C.M.H.C.	-	++	ns	--	+++	
	Hematocrito	Hemoglobina	Recuentos	V.C.M.	H.C.M.	

+++ : Correlación positiva significativa: $p < 0,001$.
 ++ : Correlación positiva significativa: $0,001 < p < 0,01$
 + : Correlación positiva significativa: $0,01 < p < 0,05$
 --- : Correlación negativa significativa: $p < 0,01$
 -- : Correlación negativa significativa: $0,001 < p < 0,05$
 - : Correlación negativa significativa: $0,01 < p < 0,05$
 ns : Correlación no significativa.



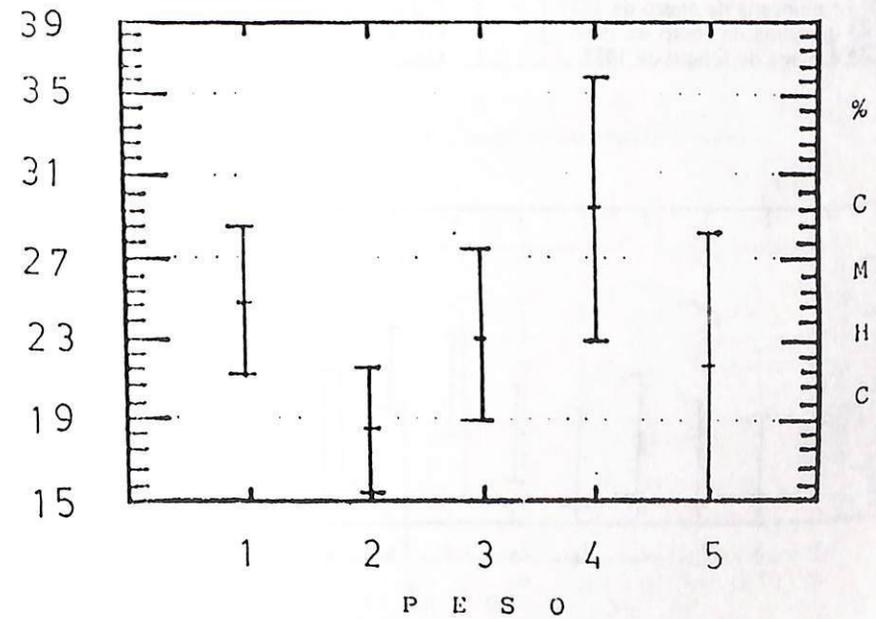
Dato: H.C.M. en los machos arco-iris



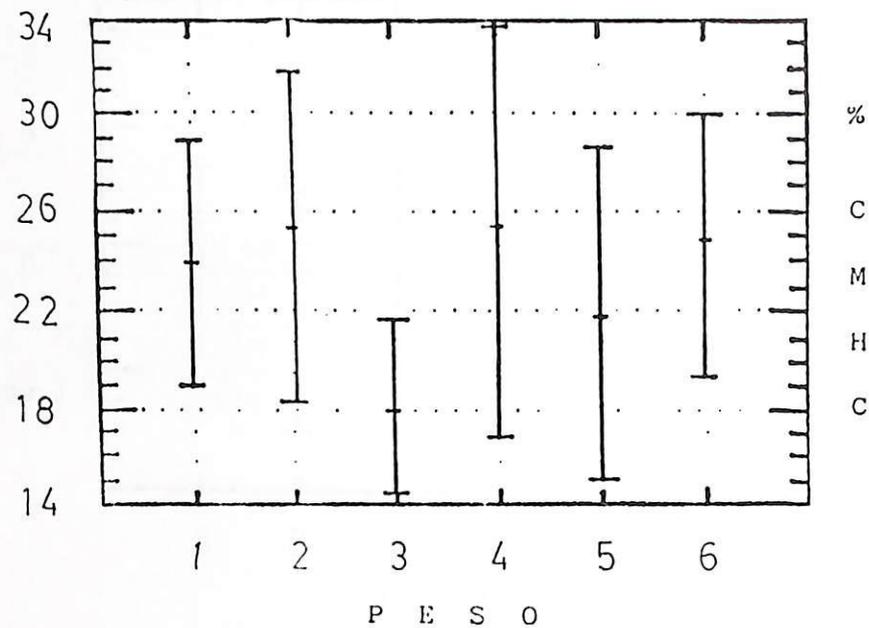
Dato: H.C.M. En las hembras arco-iris

Grupo 1: Animales hasta 249g.
 Grupo 2: Animales de 250 a 349g.
 Grupo 3: Animales de 350 a 449g.

Grupo 4: Animales de 450 a 549g.
 Grupo 5: Animales de 550 a 649g.
 Grupo 6: Animales de más de 650g.



Dato: C.M.H.C. en los machos arco-iris

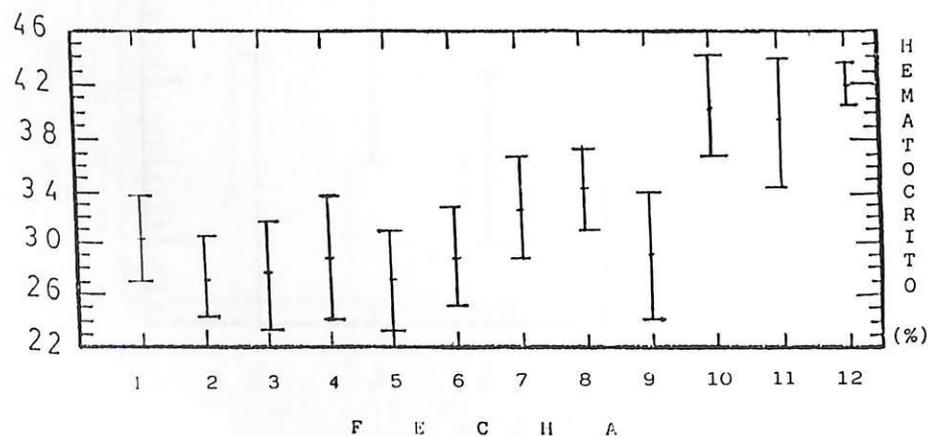


Dato: C.M.H.C. en las hembras arco-iris

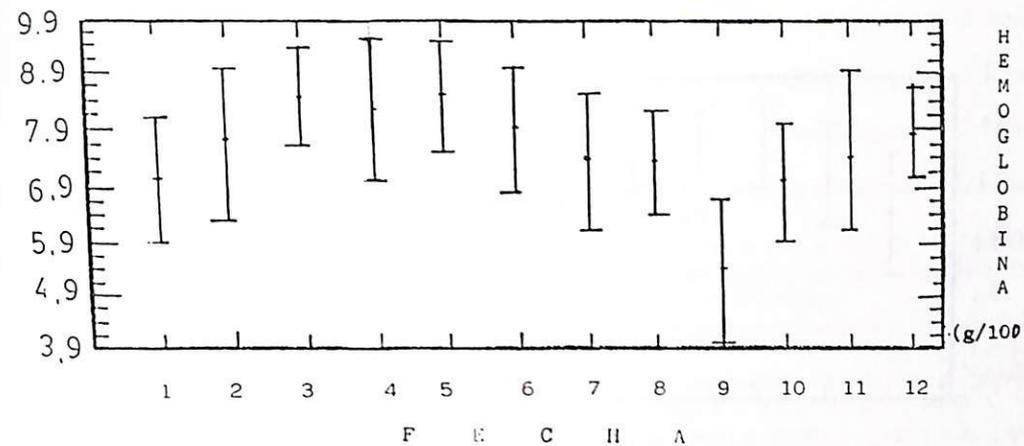
FECHAS:

Grupo 1: 2.^a semana de noviembre de 1986.
 Grupo 2: 4.^a semana de noviembre de 1986.
 Grupo 3: 2.^a semana de diciembre de 1986.
 Grupo 4: 1.^a quincena de enero de 1987.
 Grupo 5: 2.^a quincena de enero de 1987.
 Grupo 6: 2.^a semana de febrero de 1987.

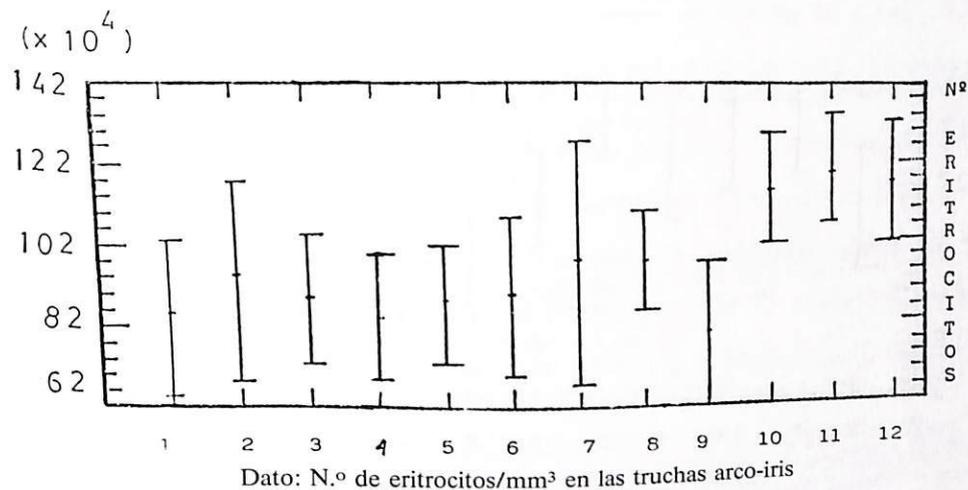
Grupo 7: 4.^a semana de febrero de 1987.
 Grupo 8: 1.^a semana de marzo de 1987.
 Grupo 9: 1.^a semana de abril de 1987.
 Grupo 10: 2.^a semana de abril de 1987.
 Grupo 11: 1.^a semana de mayo de 1987.
 Grupo 12: 1.^a semana de julio de 1987.



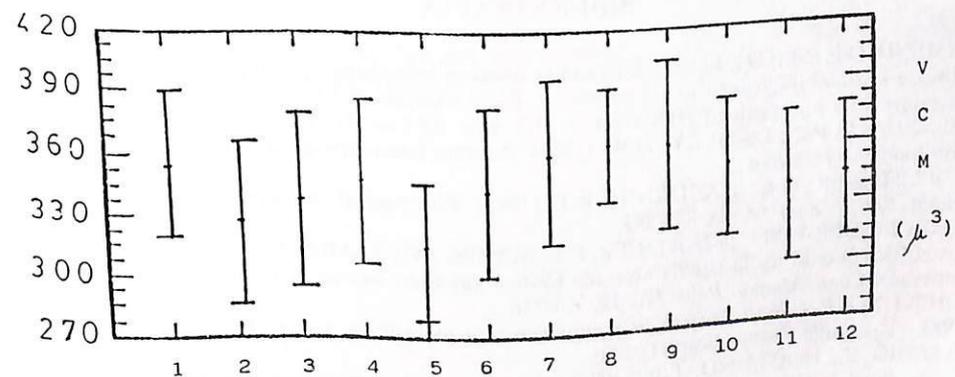
Dato: Valor hematocrito en las truchas arco-iris



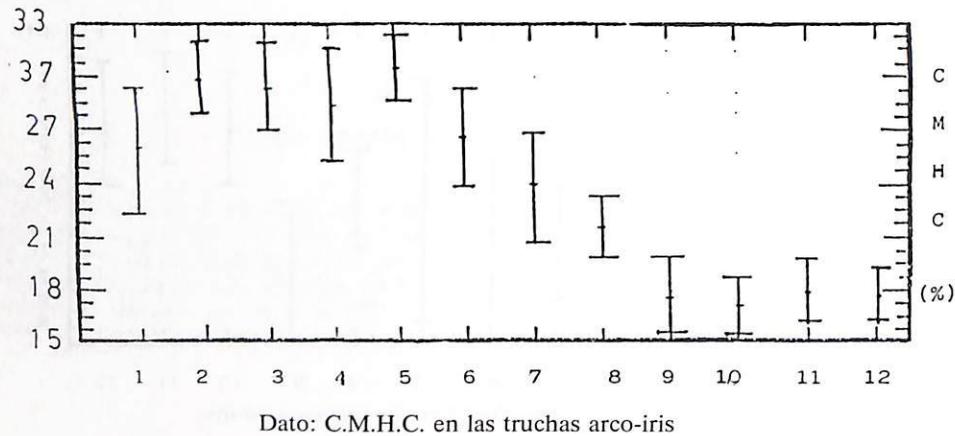
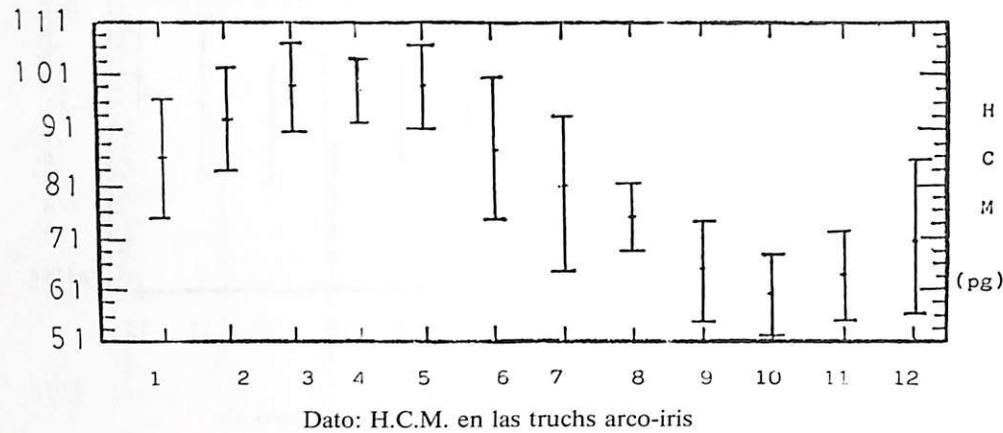
Dato: hemoglobina (g/100 ml) en las truchas arco-iris



Dato: N.º de eritrocitos/mm³ en las truchas arco-iris



Dato: V.C.M. en las truchas arco-iris



BIBLIOGRAFIA

- 1) AMEND, D.F.; SMITH, L. (1974). Patophysiology of infectious hematopoietic necrosis virus disease in Rainbow trout (*Salmo gairdneri*): Early changes in blood aspects of the immune response after injections of IHN virus. *J. Fish. Res. Bd. Can.* 31 (8), 1.371-1.378.
- 2) BLAXHALL, P.C.; DAISLEY, D.W. (1973). Routine haematological methods for use with fish blood. *J. Fish Biol.*
- 3) FLETCHER, G.L.; HAEDRICH, R.T. (1987). Rheological properties of rainbow trout blood. *Can. J. Zool.* 65 (4), 879-883.
- 4) GARCIA-RIERA, M.P.; MARTINEZ, F.J.; MARIN, J.F.; ZAMORA, S. (1987). Variaciones en el hematocrito de la trucha arco-iris (*Salmo gairdneri irideus* G.) debidas a la toma de muestras. *Cuad. Marisq. Publ. Téc.* 12, 231-236.
- 5) GHITTINO, P. (1983). *Tecnologia e patologia in acquacoltura, Vol 1- Tecnologia*. Gennaio 1983 - Tipografia Emilio Bono-Torino.
- 6) HARDIG, J.; HOGLUND, L.B. (1983). On accuracy in estimating fish blood variables. *Comp. Biochem. Physiol.* vol. 75A, 1, 35-40.

- 7) HARDIG, J.; HOGLUND, L.B. (1984). Seasonal variation in blood components of reared Baltic salmon (*Salmo salar* L.). *J. Fish Biol.* 24, 565-579.
- 8) HOFFMAN, R.; LOMMEL, R.; RIEDL, M. (1982). Influence of different anaesthetics and bleeding methods on hematological values in fish. *Arch. Fischwiss.*
- 9) HOFFMAN, R.; LOMMEL, R. (1984). Effects of repeated blood sampling on some blood parameters in freshwater fish. *J. Fish Biol.* 24, 245-251.
- 10) HUGHES, G.M.; MARTINEZ, I.; BOEUF, G. (1986). Physiological salines and mechanical properties of trout red blood cells. *J. Fish Biol.* 29, 393-402.
- 11) MULCAHY, M.F. (1971). Blood values in the pike, *Esox lucius* (L.). *J. Fish Biol.* 2, 203-209.
- 12) NIKINMAA, M.; SOIVIO, A.; RAILO, E. (1981). Blood volume of *Salmo gairdneri*: influence of ambient temperature. *Comp. Biochem. Physiol.* 69A, 767-769.
- 13) PICKERING, A.D. (1984). Cortisol-induced lymphocytopenia in brown trout (*Salmo trutta* L.). *Gen. Comp. Endocrinol.* 53, 252-259.
- 14) PICKERING, A.D.; POTTINGER, T.G. (1987). Lymphocytopenia and interrenal activity during sexual maturation in the brown trout (*Salmo trutta* L.). *J. Fish Biol.* 30, 41-50.
- 15) SANO, T. (1960). Haematological studies of the culture fishes in Japan. 3. Changes in blood constituents with growth of rainbow trout. *J. Tokyo Univ. Fish.* 46, 77-87.
- 16) SCHRECK, C.B.; WHALEY, R.A.; BASS, M.L.; MAUGHAN, O.E.; SOLAZZI, M. (1976). Physiological responses of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to electroshock. *J. Fish. Res. Bd. Can.* 33, 76-84.
- 17) SERANTES, A. (1989). *Aportaciones al conocimiento de la ovulación, desove, inseminación y conservación de gametos en las truchas arco iris (Salmo gairdneri R.) y común (Salmo trutta F.)*. Tesis doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad de León.
- 18) SERANTES, A.; GONZALO, J.M.; ORDEN, M.A.; VAZQUEZ, C. (1989). Extracción de sangre en salmónidos. *Vid. Rev. Quir. Vet.* 11 (1).
- 19) SIDDIQUI, A.Q.; NASEEM, S.M. (1979). The haematology of rohu, *Labeo rohita*. *J. Fish Biol.* 14, 67-72.
- 20) SMITH, G.C.; LEWIS, W.M.; KAPLAN, H.M. (1952). A comparative morphologic and physiologic study of fish blood. *Progre. Fish. Cult.* 14, 169-172.
- 21) SOIVIO, A.; NYHOLM, K.; WESTMAN, K. (1975). A technique for repeated sampling of the blood of individual resting fish. *J. Exp. Biol.* 62, 207-217.
- 22) SOIVIO, A.; NYHOLM, H.; HUHTI, M. (1977). Effects of anaesthesia with MS 222, neutralized MS 222 and benzocaine on the blood constituents of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *J. Fish Biol.* 10, 91 - 101.
- 23) SOIVIO, A.; OIKARI, A.; RUOPPA, M.; MIERRINEN, V. (1978). Experimental field toxicology. Transport, water temperature and hydrostatic pressure as factors affecting some clinical parameters of fish. *Fjort. Nord. Sump. Vattenforskning Miljövrdssekret.* Publik. 2, 249-259.
- 24) SOIVIO, A.; NIKINMAA, M.; NYHOLM, K.; WESTMAN, K. (1981). The role of gills in the responses of *Salmo gairdneri* during moderate hypoxia. *Comp. Biochem. Physiol.* 70-A, 133-139.
- 25) WINTROBE, M.M. (1932). The Size and Hemoglobin Content of the Erythrocyte. Methods of Determination and Clinical Application. *J. Lab. & Clin. Med.*