

# EFFECTO DEL CADMIO Y DE LA TEMPERATURA SOBRE EL CONTEO DE CÉLULAS SANGUÍNEAS DEL PEZ DULCEACUÍCOLA *Colossoma macropomum*

## Cadmium and Temperature Effect on Blood Cell Counts of Freshwater fish *Colossoma macropomum*

Raquel Salazar-Lugo<sup>1\*</sup>, Alida León<sup>2</sup> y Mairin Lemus<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Lab. de proteínas e inmunotoxicidad, Postgrado de Biología Aplicada, Núcleo de Sucre, Universidad de Oriente.

<sup>2</sup>Dpto. de Bioanálisis, Escuela de Ciencias, Universidad de Oriente. <sup>3</sup>Lab. de Ecofisiología, Instituto Oceanográfico de Venezuela, Universidad de Oriente. \*E-mail: raquelugove@yahoo.com

### RESUMEN

En este trabajo se evaluó el efecto del cadmio y de la temperatura sobre la fragilidad osmótica y el número de células sanguíneas, en el pez *Colossoma macropomum*. Los organismos fueron expuestos a 0,5 mg/L de cloruro de cadmio durante 24 días y a dos temperaturas (25 y 30°C). A los 0; 10 y 24 días de exposición, se les tomó muestras de sangre para determinar la curva de fragilidad osmótica, el conteo diferencial de células blancas y el conteo de reticulocitos. Los eritrocitos presentaron principios de hemólisis a 90 mmol/L de NaCl y hemólisis total a 10 mmol/L. El porcentaje de linfocitos fue >62%, incrementándose en los peces expuestos a cadmio, no obstante, el porcentaje absoluto (controles y expuestos) de linfocitos, disminuyó a los 24 días de experimentación, siendo más significativo a la temperatura de 30°C. Después de los neutrófilos, los trombocitos fueron el tercer tipo celular encontrado, sobre los cuales, ni el cadmio ni la temperatura, tuvieron efecto significativo. Sin embargo, el número absoluto de estas células aumentó en los organismos mantenidos a 25°C/24 días; contrario a lo observado en los peces a 30°C/24 días, quienes registraron un descenso de 4% en su abundancia. Los peces expuestos a Cd/30°C revelaron un significativo aumento de trombocitos en comparación con los expuestos Cd/25°C. Los reticulocitos disminuyeron por la exposición al metal. El cadmio y la temperatura ejercen un efecto sinérgico sobre el número de trombocitos y afectan individualmente la producción de reticulocitos en el pez.

**Palabras clave:** Cadmio, *Colossoma*, linfocitos, trombocitos, reticulocitos.

### ABSTRACT

In this work, the cadmium (CD) and temperature effect on the red cell osmotic fragility and blood cells count in the tropical fish *Colossoma macropomum* were evaluated. The fishes were exposed to 0.5 mg/L of cadmium chloride during 24 days and two temperatures (25 and 30°C). At 0; 10 and 24 days of Cd exposure, blood samples were taken from fishes to determine the osmotic fragility curve, the differential white cell and reticulocyte count. The erythrocytes osmotic fragility began at 90 mmol/L of NaCl and total hemolysis was observed at 10 mmol/L of NaCl. Lymphocytes were the more abundant cells (>62%). These cells increased in Cd-exposed fish; moreover, the lymphocytes absolute percentage (control and exposed) decrease at 24 days of experimentation, being more significant at 30°C. After the granulocytes acidophils, trombocytes were the third cellular type, they were not affect by Cd neither temperature. However, trombocyte absolute number increased than fishes at 25°C/24 d as fishes at 30°C/24. On the other hand, the Cd/30°C exposed fishes showed a significant increase of thrombocytes. Both, cadmium and temperature affect thrombocyte number. The reticulocytes decrease due to cadmium exposed fishes. A synergic effect is produced by Cd and temperature on trombocytes; however, these factors exert an individual effect in fish reticulocytes.

**Key words:** Cadmium, *Colossoma*, lymphocytes, thrombocytes, reticulocytes.

## INTRODUCCIÓN

El sistema hematopoyético de los peces es altamente sensible a estresores ambientales; por lo que los estudios hematológicos en estos organismos aportan significativa información en el diagnóstico e interpretación de sus enfermedades. Dichos estudios se han incrementado con el desarrollo de la piscicultura y con el empleo de los peces para evaluaciones ecotoxicológicas. Por tanto, el entendimiento de la fisiología de estos organismos y en consecuencia de sus relaciones con las variables ambientales es un importante factor a considerar en el uso de esta herramienta de investigación [33].

El efecto que tóxicos ambientales ejercen sobre los parámetros hematológicos de peces varía dependiendo del tipo del tóxico, dosis, tiempo de exposición y condiciones fisicoquímicas del agua, entre otros factores [25, 32]. En el caso de los metales pesados, éstos afectan los índices sanguíneos de los peces de diversas formas; por ejemplo, en ríos y cuencas del país impactados por la actividad antropogénica, se han reportado concentraciones de metales pesados por encima de las normas establecidas por el Ministerio del Ambiente en el Decreto No 883 para el control de la calidad de los cuerpos de agua y de los vertidos líquidos [31]. Uno de los metales pesados detectado en altas concentraciones es el cadmio, este metal aún a bajas concentraciones, puede afectar los índices sanguíneos de los peces, producir daños irreversibles en estos organismos porque tiende acumularse en órganos como el hígado y el riñón; además de competir con los metales esenciales por los sitios de unión en las proteínas, produce anemia, inmunosupresión y cáncer [32].

En Venezuela, la acuicultura es una actividad emergente con un importante incremento de la pesca comercial y actividades posteriores. La cachama, *Colossoma macropomum* (Characidae) es uno de las especies piscícolas que está siendo empleada para esta actividad, dado que en el país se distribuye en los grandes ríos, principalmente en los ríos Guanare, Portuguesa, Apure y los afluentes del Orinoco, y además posee una demanda media en los mercados locales de algunas ciudades de importancia. Es un pez de comportamiento migratorio, puede soportar un amplio rango de pH y baja concentración de oxígeno, por lo que puede vivir en diferentes ambientes incluyendo, contaminados [28].

Al respecto, se ha observado un descenso en el número de glóbulos rojos en *C. macropomum* (cachama) expuesto a dosis subletales de cadmio, indicativo de la presencia de anemia, igualmente se observó disminución en el número total de leucocitos sugiriendo un efecto sobre el sistema inmunológico [22]. Sin embargo, factores no relacionados con el sistema inmunológico pueden modificar el número de leucocitos en los peces [1]. En este trabajo se evaluó el efecto del cadmio, de la temperatura y del tiempo de exposición sobre la fragilidad globular osmótica y el número de células sanguíneas del pez *C. macropomum* como una contribución al entendimiento del

mecanismo fisiopatológico implicado en la anemia inducida por el cadmio en este organismo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Muestra poblacional

Se utilizaron para este estudio 60 peces juveniles de *Colossoma macropomum*, cuya medida y peso osciló entre  $13,57 \pm 1,67$  cm y  $44,70 \pm 12,60$  g, los cuales fueron aclimatados durante 20 días, con recambio del 60-80% del agua diariamente y ésta se mantuvo con sistema de aireación compuesto por aireadores y piedras difusoras de oxígeno. Toda la aclimatación se realizó con fotoperíodo de 12/12 horas; la temperatura para 3 de los acuarios se controló a 25 y a 30°C para los otros 3 acuarios. La alimentación de los peces se realizó *ad libitum*, todas las mañanas antes de realizar el recambio de agua, con alimento comercial granulado (cachamarina).

### Exposición a 0,5 mg/L de Cloruro de cadmio

Partiendo de la CL<sub>50</sub> obtenida por Blanco y col. [3] se seleccionó la concentración subletal de 0,5 mg/L de cloruro de cadmio. Fueron colocados 10 peces de tallas similares a la concentración de 0,5 mg/L de CdCl<sub>2</sub>, a la temperatura de 25°C con su respectiva réplica y en otros 2 acuarios preparados como anteriormente se describió, se colocaron 10 peces a la misma concentración de cadmio y a la temperatura de 30°C. Se prepararon, además, dos acuarios cada uno con diez peces; uno a la temperatura de 25°C (controles 25°C) y el otro a la temperatura de 30°C (controles 30°C). A todos los grupos se les suministró alimento *ad libitum*, cada 24 horas en forma alterna a los cambios de agua y luego se le agregaba la dosis correspondiente del metal.

### Toma de muestras sanguíneas

A los especímenes se les tomó una muestra de sangre mediante punción de la vena caudal a nivel del arco hemal, utilizando para ello, jeringas desechables de 3 mL, con agujas de 21 G (0,80 mm) x 38 mm (11/2") previamente lavadas con heparina sódica, cada una de las muestras se colocó en tubos eppendorf individualmente rotulados y se mantuvieron en un envase con hielo mientras se procedía a realizar las determinaciones abajo descritas.

### Determinación de la fragilidad globular osmótica

La fragilidad globular osmótica fue determinada siguiendo el procedimiento descrito por Parpart y col. [19], el cual se describe brevemente: se prepararon diluciones de NaCl desde 100 mmol/L hasta 10 mmol/L a partir de una solución madre de NaCl 1,71 mol/L pH 7,4 y se colocaron en tubos agregándoles luego 20 µL de la muestra problema, mezclándose de inmediato por inversión suave, sin agitar. Se dejó en reposo a temperatura ambiente por 30 minutos, Se mezcló suavemente y se centrifugó a 4000 rpm durante 10 minutos en

una centrífuga marca HERMLE Labnet modelo Z393K, (Labnet, Alemania). Se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro JENWAY modelo 6300, (Jenway Ltd, Felsted, Reino Unido) a una densidad óptica de 540 nm, utilizando como blanco el sobrenadante de la solución 100 mmol/L y mediante la fórmula: % Hemólisis= Abs(Muestra problema) x 100/ Abs blanco. Los resultados son expresados como porcentajes de hemólisis.

**Determinación de la fórmula leucocitaria**

Se utilizó el método del extendido según Lynch y col. [13], estos frotis fueron coloreados, unos con el método de Giemsa y otros con el método de Coloración de Peroxidasa de Sato y Selkiya [4]. Este último método fue utilizado como alternativa confirmatoria de reconocimiento de los distintos tipos de células blancas observadas con el método de coloración de Giemsa y de esta manera poder diferenciar representantes de la serie mielocítica de la linfocítica y diferenciar ambos grupos de la línea eritrocítica. Los frotis se observaron en un microscopio óptico Olympus, modelo CX41RF, (Olympus, Tokio, Japón) con objetivo de inmersión (100X). Los resultados se expresaron en porcentajes de tipos celulares.

**Conteo de reticulocitos**

Los reticulocitos fueron determinados en extensiones sanguíneas teñidas con Giemsa, determinándose la policromatofilia relativa sobre la base aproximada de 100 eritrocitos contados por individuo y observados en cuatro sectores del extendido sanguíneo [19].

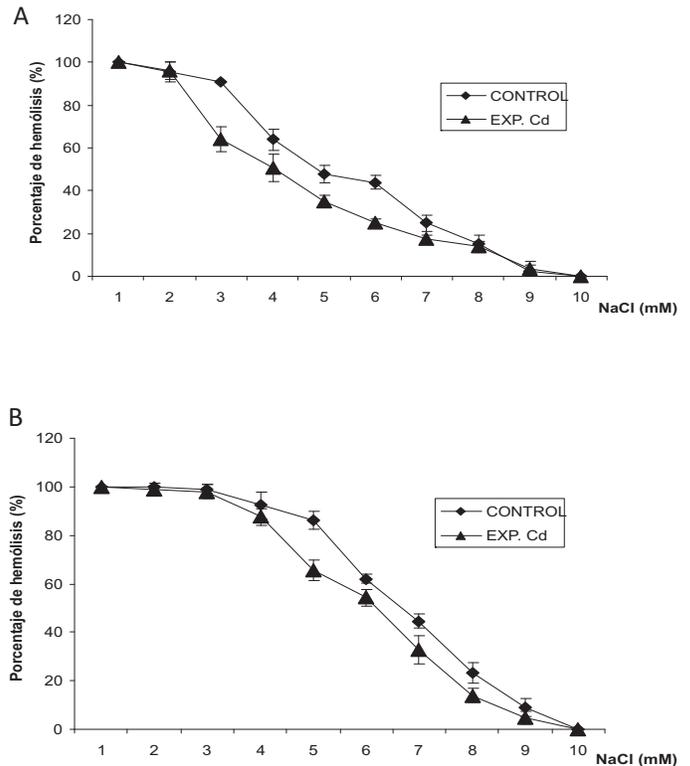
**Análisis estadístico**

Un análisis de varianza (ANOVA) de tres vías con interacción, fue efectuado sobre los diversos parámetros hematológicos (granulocitos, linfocitos, trombocitos y reticulocitos) evaluados, tanto en controles como en expuestos a cadmio durante 10 y 24 días, a dos temperaturas: 25 y 30°C. El ANOVA fue seguido de una prueba *a posteriori* Student-Newman-Keuls (SNK) [24].

**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

El cadmio no afectó la fragilidad globular osmótica de los eritrocitos, quienes presentaron hemólisis inicial a la concentración de 90 mmol/L de NaCl y la hemólisis final la alcanzaron a 10 mmol/L de NaCl; los resultados indican que puede ser definida una curva de referencia única para esta especie, coincidiendo con Seibert y col. [23] que definieron una curva de fragilidad para la especie con una hemólisis inicial a la concentración de 85,5mmol/L de NaCl y hemólisis total a 17mmol/L de NaCl independientemente de las temperaturas a que estaban sometidos los organismos (FIGS. 1A y B).

El cadmio no induce daño significativo sobre la membrana de los eritrocitos en *C. macropomum*, ya que, a pesar



**FIGURA 1. CURVA DE FRAGILIDAD OSMÓTICA PARA ERITROCITOS DE *C. MACROPOMUM*. A. 25°C, B. 30°C /ERYTHROCYTE OSMOTIC FRAGILITY CURVE OF *C. MACROPOMUM*. A. 25°C, B. 30°C .**

de haberse presentado hemólisis inicial temprana en los peces expuestos, al final ambos grupos (controles y expuestos a cadmio) alcanzaron valores semejantes de hemólisis final. Las curvas de fragilidades muestran un modelo sigmoide, lo que concuerda con la de otros vertebrados, incluyendo humanos; aunque con diferentes porcentajes de comienzo y finales de hemólisis [2, 10, 14, 18]. Los eritrocitos de *C. macropomum* son más resistentes a la hemólisis que los de otros peces, tales como *Neoceratodus fosteri* y *Scleropages schneichardti* [8]. Nikinmaa [17] demostró que los eritrocitos nucleados maduros se caracterizan por tener filamentos de proteínas que forman una banda marginal de microtúbulos que le confiere una mayor resistencia a la deformación. En ese sentido se puede decir que son las características estructurales de la membrana eritrocitaria de *C. macropomum* la que les confiere la capacidad de resistencia a las soluciones hipotónicas.

La distribución de los distintos tipos de células blancas encontradas en *C. macropomum*, indica que los linfocitos fueron las células más abundantes en todas las condiciones experimentales seguido por los neutrófilos, tal y como ha sido reportado anteriormente en este pez y en otras especies de teleosteos [3, 15, 20, 29, 30]. El tiempo de exposición, la temperatura y el tratamiento con cadmio afectan el número de lin-

focitos y neutrófilos. Por su parte, el número de eosinófilos y de reticulocitos fue afectado sólo por la temperatura y el tratamiento con cadmio. Los trombocitos fueron afectados significativamente por el factor tiempo. Además, se encontró interacción estadísticamente significativa entre el tiempo de ensayo y la temperatura empleada, para los linfocitos, neutrófilos y trombocitos indicando que estos dos factores combinados afectan a estos tipos celulares; por otra parte, los trombocitos fueron afectados por la temperatura y el tratamiento con cadmio conjuntamente (TABLA I).

Se observaron siempre los valores más altos de linfocitos y más bajos de neutrófilos en los peces expuestos al metal, durante los 10 días de exposición, similar a lo observado por Blanco y col. [3] en *C. macropomum* expuesto a cadmio. La temperatura de 30°C incrementa el porcentaje de linfocitos a los 10 días de ensayo, contrariando los resultados encontrados

por Moura y col. [16], en donde se presentó una disminución de linfocitos circulantes en *C. macropomum* expuesto a 30°C (TABLAS II A y B).

Los eosinófilos fueron las células blancas menos obtenidas en el conteo diferencial con resultados inferiores al 3% en todos los casos (TABLAS II A y B). Los eosinófilos son afectados por la temperatura ( $P < 0,05$ , 30°C) y la exposición al metal ( $P < 0,001$ ), observándose disminución de este parámetro. Similar a estos resultados, Blanco y col. [3] encontraron disminución de eosinófilos a los 7; 15 y 21 días de exposición al cadmio en este pez.

Al interaccionar la temperatura (25 y 30°C) con el tiempo de experimentación (10 y 24 días), se encontró que el conteo absoluto (controles y expuestos) de neutrófilos, a los 24 días, estaba aumentado en relación al porcentaje obtenido a los 10 días; este incremento, fue más representativo a la temperatura

TABLA I

**RESUMEN DE LA SIGNIFICACIÓN ESTADÍSTICA DE LOS ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) APLICADOS A LOS TIPOS DE CÉLULAS SANGUÍNEAS/ SUMMARY OF STATISTICAL SIGNIFICANTY OF ANOVA ON BLOOD CELLS.**

Parámetro	(A) Tiempo	(B) Temperatura	( C) Tratamiento	Interacción
Neutrófilos	***	**	***	AB ***
Linfocitos	***	***	***	AB **
Eosinófilos	NS	*	***	NS
Trombocitos	*	NS	NS	AB*** BC*
Reticulocitos	NS	**	*	NS

\*\*\* Altamente significativo ( $P < 0,001$ ); \*\* muy significativo ( $P < 0,01$ ); \* significativo ( $P < 0,05$ ); NS: no significativo.  
AB: interacción entre tiempo y temperatura; BC: interacción entre temperatura y tratamiento.

TABLA II

**DISTRIBUCIÓN (%) DE CÉLULAS BLANCAS DEL PEZ *COLOSSOMA MACROPOMUM* EXPUESTO A CADMIO, 10 DÍAS(A) Y 24 DÍAS (B)/ DISTRIBUTION (%) OF WHITE CELLS OF *Colosoma Macropomum* CADMIUM EXPOSED, 10 DAYS (A) AND 24 DAYS (B).**

(A) Analito	Control (25°C) X ± DS	Expuesto(25°C) X ± DS	Control (30°C) X ± DS	Expuesto(30°C) X ± DS
Neutrófilos	27 ± 4,24	19,6 ± 4,25	15,7 ± 1,25	11,1 ± 3,21
Linfocitos	64 ± 3,74	74,3 ± 4,84	73,3 ± 2,62	79,4 ± 2,42
Eosinófilos	2,7 ± 0,47	1,0 ± 0,7	1,7 ± 0,94	0,9 ± 0,54
Trombocitos	6,3 ± 0,94	5,1 ± 2,7	9,3 ± 0,94	8,6 ± 1,02

x: media. DS: desviación estándar

(B) Analito	Control (25°C) X ± DS	Expuesto(25°C) X ± DS	Control (30°C) X ± DS	Expuesto(30°C) X ± DS
Neutrófilos	27,3 ± 4,5	22,6 ± 3,83	31,0 ± 2,16	24 ± 3,24
Linfocitos	62,0 ± 5,1	68,6 ± 2,63	64,0 ± 1,41	68 ± 3,43
Eosinófilos	3,0 ± 0	1,44 ± 0,96	1,7 ± 0,47	1,12 ± 0,78
Trombocitos	7,7 ± 0,94	6,89 ± 1,45	3,3 ± 0,47	6,62 ± 0,86

x: media. DS: desviación estándar

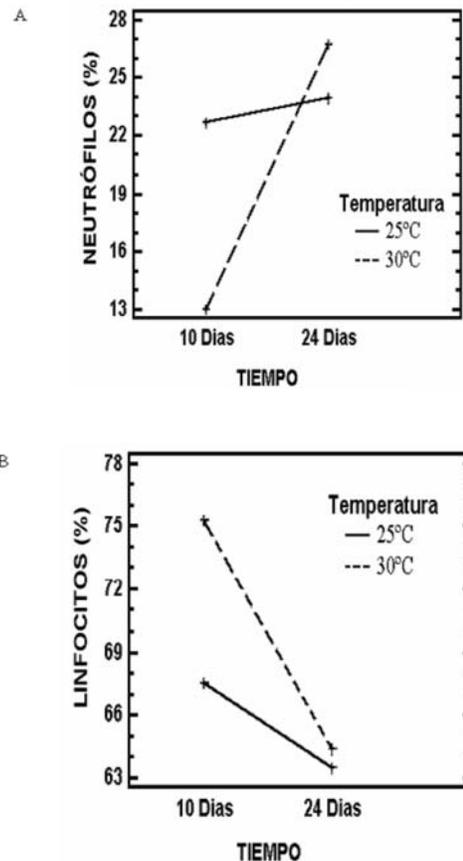
de 30°C, (14%, FIG. 2A). Contrario a esto, el valor absoluto de linfocitos disminuyó a los 24 días de experimentación, con respecto al número de linfocitos contabilizado a los 10 días, sin embargo, cabe destacar, que tal descenso fue más notable a la temperatura de 30°C, a la cual se produjo una disminución del 10% en los valores de este tipo celular, mientras que a 25°C el descenso en el conteo de linfocitos, fue aproximadamente de un 5% (FIG. 2B).

Este hecho, tal vez sea producto de un mecanismo de defensa activado por los órganos hematopoyéticos del pez en un intento por equilibrar la cantidad de leucocitos circulantes, que se ha visto seriamente afectado por la acción de la temperatura y el cautiverio coincidiendo con Tavares-Dias [26]. Moura y col. [16] reportan en *C. macropomum* expuesto a las temperaturas de 20; 25; 30 y 40°C, índices muy bajos, casi ausentes, de neutrófilos, exceptuando en aquellos peces expuestos a 40°C. Los resultados obtenidos en este trabajo indican que estos tipos celulares responden a perturbaciones, tanto químicas como físicas, en las condiciones ambientales del pez y pueden ser indicadores inespecíficos de estos cambios, sobre todo en tiempos cortos de la influencia del estresor.

Cuando se analizan los valores absolutos de trombocitos frente a la acción conjunta del tiempo de experimentación (10 y 24 días) y la temperatura (25 y 30°C), se encuentran que hubo un aumento aproximado de un 1% en la abundancia de estas células sanguíneas a los 24d/25°, en relación al porcentaje obtenido a los 10 días en este mismo grupo de peces, mientras que se registró un descenso en los valores de trombocitos de aproximadamente un 4% a los 24 d/30°C, en comparación con los valores encontrados a los 10 d/30°C (FIG. 3B).

Los trombocitos de peces teleosteos son células multifuncionales que están involucradas en la liberación de eicosanoides [12], en el proceso de coagulación sanguínea [9] y en la defensa orgánica, por lo que son también considerados del linaje leucocitario, con actividad fagocítica [26, 27]. En el presente estudio no se registraron variaciones intraespecíficas en *C. macropomum* para el conteo de trombocitos, ya que siempre se mantuvo la uniformidad de los resultados.

El conteo de reticulocitos estuvo disminuido en los organismos expuestos al cadmio, en relación con los organismos controles ( $P < 0,05$ ), pero además, se observó una disminución de este parámetro en los organismos mantenidos a 30°C en comparación con aquellos mantenidos a 25°C [FIGS. 4A y B]; aunado a esto, los organismos expuestos a cadmio, presentaron además, valores disminuidos de hemoglobina y hematocrito (TABLA III). Estos resultados permiten inferir un estado de anemia no regenerativa desarrollado en los peces estudiados como consecuencia de la exposición al metal. Existen tres posibles mecanismos por medio de los cuales el cadmio pudiese estar induciendo esta anemia con conteo de reticulocitos disminuido. El primero de estos es que, el cadmio esté compitiendo



**FIGURA 2. VALORES (%) PROMEDIO DE NEUTRÓFILOS (A) Y DE LINFOCITOS (B) EN *C. MACROPOMUM* EXPUESTO A 25 Y 30°C, 10 Y 24 DÍAS DE EXPERIMENTACIÓN/ GRANULOCYTES ACIDOPHILS (A) AND LYMPHOCYTES MEAN (B) IN *C. Macropomum* 25 AND 30°C EXPOSED, 10 AND 24 DAYS.**

con el hierro por el sitio de unión de este oligoelemento en las macromoléculas y en consecuencia induciendo una ferropenia; se ha demostrado en ratas la inducción de anemia por competencia del cadmio con el hierro aunque a diferencia de los resultados obtenidos, la anemia cursa con reticulocitosis [7, 11]; segundo, la acumulación demostrada de cadmio en riñón excretor de este pez pudiese generar una insuficiencia renal crónica que produciría una disminución en la producción de eritropoyetina por las células de los túbulos renales y como consecuencia de esto, la inducción de anemia [5, 6] y por último, pudiese ser que el metal esté afectando la capacidad de producción de eritrocitos, por parte de los órganos hematopoyéticos; en peces, el riñón cefálico es el principal órgano hematopoyético, es posible que el cadmio se acumule en este tejido afectando la producción de células. Una disminución de eritrocitos y leucocitos en sangre fue observada en este pez expuesto a 0,2 mg/L de cloruro de cadmio durante 21 días sin recuperación de estas células una vez desintoxicado [21].

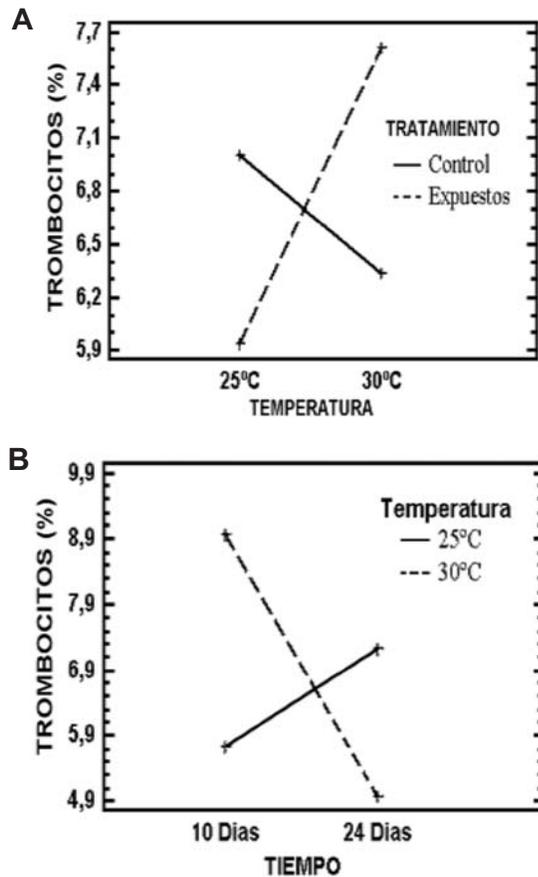


FIGURA 3. VALORES (%) PROMEDIO DE TROMBOCITOS EN *C. Macropomum* EXPUESTO A 25°C Y 30°C A LOS 10 Y 24 DÍAS DE EXPERIMENTACIÓN (B)/ TROMBOCYTES MEAN IN *C. Macropomum* EXPOSED TO 25°C Y 30°C FOR 10 Y 24 DAYS.

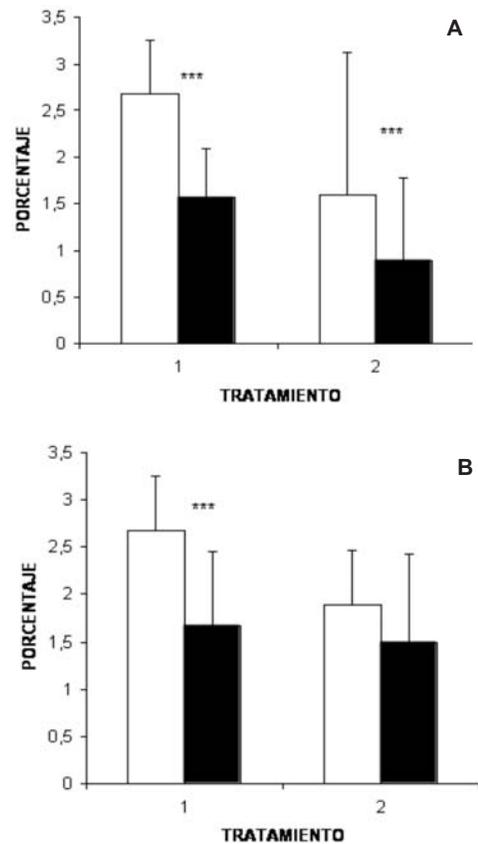


FIGURA 4. FRECUENCIA RELATIVA DE RETICULOCITOS EN *C. Macropomum* A LOS 10 (A) Y 24 DÍAS (B) DE EXPERIMENTACIÓN. RECTÁNGULOS BLANCOS (CONTROLES), RECTÁNGULOS NEGROS (EXPUESTOS A CD), \*\*\* (P<0,01)/ RETICULOCYTES RELATIVE FREQUENCY IN *C. Macropomum* AT 10 (A) AND 24 DAYS (B) OF EXPERIMENTATION. WHITE RECTANGLES (CONTROLS), BLACK RECTANGLES (CD EXPOSED), \*\*\* (P<0.01).

TABLA III

VALORES DE HEMOGLOBINA (HB) Y HEMATOCRITO (HTO) PARA EL PEZ *C. Macropomum* EXPUESTO A CADMIO DURANTE 24 DÍA/ HEMOGLOBIN (HB) AND HEMATOCRIT (HT) OF FISH *C. Macropomum* CADMIUM EXPOSED DURING 24 DAYS.

Analito	Control (25°C) X ± DS	Expuesto(25°C) X ± DS	Control (30°C) X ± DS	Expuesto(30°C) X ± DS
Hemoglobina (g/dl)	5,378±0,68	3,40±0,77	5,7±1,06	3,39 ±1,21
Hematocrito (%)	12,4±1,82	13,11±3,66	17±5,57	13,25±5,31

X: media. DS: desviación estándar.

Valores de referencia				
Hb	Hto	Tamaño y peso del pez	Referencias bibliográficas	
5,6±0,3	25,4±1,2	13,2 – 21,1 cm 33 – 160 g	[20]	
11,3±0,9	41,6± 6,9	27 ±3 cm 585 ± 100 g	[26]	
5,7±0,78	16,09±3	12,4 ± 1,2 cm 31,4 ± 12,2 g	[22]	

## CONCLUSIONES

El cadmio y la temperatura incrementa los valores de linfocitos y disminuye los eosinófilos en *C. macropomum*.

El cadmio disminuye el conteo de reticulocitos en el pez e induce anemia no regenerativa.

## AGRADECIMIENTO

Este trabajo fue realizado con fondos del proyecto Consejo de Investigación Universidad de Oriente, CI 5-1005-1096/02 y del Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (FONACIT) UDO-PROYECTO G-2005000775.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ANDERSON, D. Immunological indicator; Effects of environmental stress on immune protection and disease outbreaks. **Am. Fis. Scc. Sim.** 8:38-59. 1990.
- [2] ALONI, B.; EITAN, A.; LIVNEY, A. The erythrocyte membrane site for the effect of temperature on osmotic fragility. **Biochim Biophys Acta** 465:46-53. 1977.
- [3] BLANCO, Y.; SALAZAR, R.; LEMUS, M.; GARCÍA, N.; HERNÁNDEZ, M.; CENTENO, L.; MATUTE, C.; PÉREZ, J. Parámetros hematológicos e inmunológicos del pez *Colossoma macropomum* expuesto a cadmio. **Act. Ci-ent. Venez.** 55:(Supl. 1):80. 2004.
- [4] CONROY, D. Métodos de diagnóstico. En: **Manual de métodos de diagnóstico en ictiopatología con especial referencia a los salmónidos**. AQUILA-Apoyo a las actividades regionales de acuicultura para América latina y el Caribe. Serie Project reports No 4. 63 pp. 1987.
- [5] HERNÁNDEZ, M. Proteínas en diferentes tejidos (hígado, riñón y branquias) del pez dulceacuícola *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818). Expuesto a dosis subletales de cloruro de cobre y cadmio. Universidad de Oriente. Cumaná. Trabajo de Pre-grado. 30 pp. 2005.
- [6] HORIGUCHI, H.; OGUMA, E.; KAYAMA, F. Cadmium and cisplatin damage Erythropoietin-producing proximal renal tubular cells. **Arch Toxicol.** 80(10):680-6. 2006
- [7] HORIGUCHI H. Anemia induced by cadmium intoxication. **Nippon Eiseigaku Zasshi.** 62(3):888-904. 2007
- [8] ISAACKS, R.; KIM, H. Erythrocyte phosphate composition and osmotic fragility in the Australian lungfish *Neoceratodus fosteri* and osteoglossid *Sleropages schneichardii*. **Comp. Bioch. Physiol.** 79:841-847. 1984.
- [9] JAGADEESWARAM, P.; SHEEHAN, J. P.; CRAIG, F.; TROYER, D. Identification and characterization of zebrafish thrombocytes. **Br. J. Haematol.** 107:731-738. 1999.
- [10] KIM, H.; ISAACKS, R. The osmotic fragility and critical haemolytic volume of red blood cells of amazon fishes. **Can. J. Zool.** 56:860-862. 1978.
- [11] KOSTIÆ, MM.; OGNJANOVIÆ, B.; DIMITRIJEVIÆ, S.; ZIKIÆ, RV.; STAJN, A.; ROSIÆ, GL.; ZIVKOVIÆ, RV. Cadmium-induced changes of antioxidant and metabolic status in red blood cells of rats: in vivo effect. **Eur. J. Haematol.** 51(2):86-92. 1993.
- [12] LLOYD-EVANS, P.; BARROW, S.; HILL, D.; BOWDEN, L.; RAINGER, G.; KNIGHT, J.; ROWLEY, A. Eicosanoid generations and effects on the aggregation of thrombocytes from the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. **Biochim. Biophys. Acta.** 1215:291-299. 1994.
- [13] LYNCH, M.; RÁPALE, S.; MELLON, L.; SPARE, P. Biometría hemática En: **Análisis Clínicos. 2da Ed.** Nueva Editorial Interamericana, S.A. de C.V. México, D.F. 1522 pp. 1977.
- [14] MARCH, B.; CAOTES, B.; BIELY, J. The effect of estrogen and androgen on osmotic fragility and fatty acid composition of erythrocytes in the chicken. **Can. J. Physiol.** 44:379-387. 1966.
- [15] MORILLAS, J. Tipos celulares y mediciones de las células sanguíneas de pintarroja *Halaalurus chilensis* (G) (Pisces, Chondrichthyes). **Bol. Soc. Boil. de Concepción.** 52:103-107. 1981.
- [16] MOURA, M.; FARÍAS, I.; VAL, A. Effects of temperature on leucocytes of *Colossoma macropomum* and *Hoplosternum littorale* (Pisces). **Braz. J. Med. Boil. Res.** 27:1589-1598. 1994.
- [17] NIKINMAA, M. Vertebrate red blood cells. Adaptations of function to respiratory requirement. **Zoophysiol.** 71:262. 1990.
- [18] OYEWALE, J. Further studies on osmotic resistance of nucleated erythrocytes: observation with pigeon, peafowl, lizard and toad erythrocytes during changes in temperature and pH. **J. Vet. Med. Ser.** 41:62-71. 1994
- [19] PARPART, A.; LORENZ, P.; PARPART, E. The osmotic resistance (fragility) of human cells. **J. Clin. Inv.** 26:636-640. 1947.
- [20] RANZANI-PAIVA, M.J.; SALLES, F.A.; COSTA-E., J.; COCUZZA DAS EIRAS, A.; MASSATOSHI, I.C.; AGAR, C. A. Análises hematológicas de curimatá (*Prochilodus scrofa*), pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e tambaqui (*Colossoma macropomum*) das estações de piscicultura do instituto de pesca, estado de São Paulo **Bol. do Instit de Pesca, São Paulo.** 25: 77 – 83. 1998/1999
- [21] SALAZAR, R.; BLANCO, Y.; CENTENO, L.; LEMUS, M.; CHUNG, KS. Haematological changes in freshwater fish

- Colossoma macropomun* during cadmium exposure after subsequent depuration. Congreso Internacional de la Sociedad de Toxicología Ambiental y química (Society of Environmental Toxicology and Chemistry, (SETAC) Europa. Libro de resúmenes. 110. MO160. 2007.
- [22] SALAZAR, R.; GARCÍA, N.; BLANCO, Y; LEMUS, M. Parámetros sanguíneos como biomarcadores de efecto a la toxicidad del cobre y el cadmio en el pez *Colossoma macropomum*. **Act. Cient. Venez.** 55 (Suppl.1): 73. 2004.
- [23] SEIBERT, C.; GUERRA-SHINOHARA, E.; GOMES, E.; MARQUES, E. Red blood cells parameters and osmotic fragility curve of *Colossoma macropomum* (Pisces, Osteichthyes, Mileinae) in captivity. **Acta Scient.** 23:515-520. 2001.
- [24] SOKAL, R.; ROHLF, F. **Analysis of Variance. En: Biometry.** W.H. Freeman and Company. San Francisco. 859 pp. 1980.
- [25] SVOBODOVÁ, Z.; VYKUSOVÁ, B.; MACHOVÁ, J. The effects of pollutants of selected hematological and biochemical parameters in fish. In: **Sublethal and Chronic effects of pollutants on freshwater fish.** Fishing News Books. London. Muller J. y R. Lloyd (Eds). 36 pp. 1994.
- [26] TAVARES-DIAS, M.; FERREIRA DA SILVA, E.; RUAS DE MORAES, F.; CARNEIRO, P. Physiological responses of "tambaqui" *Colossoma macropomum* (characidae) to acute stress. **B. Inst. Pesca.** 27:43-48. 2001.
- [27] TAVARES-DIAS, M.; FRASCÁ-SCORVO, C.; MORAES, F. Características hematológicas de teleósteos brasileiros. IV. Parámetros eritroleucométricos, trombométricos e glicemia do matrinxã *Brycon cephalus* Günther, 1869 (Osteichthyes: cichlidae). **Ars. Vet.** 15:149-153. 1999.
- [28] USECHE, M. **El cultivo de la cachama, manejo y producción. Primer taller piscícola 2000.** Universidad Experimental del Táchira. Decanato de Investigaciones San Cristóbal. En Línea: [www.unet.edu.ve/~frey/varios/dinv/piscicultura/cachama/](http://www.unet.edu.ve/~frey/varios/dinv/piscicultura/cachama/) 16 de noviembre 2007.
- [29] VALENZUELA, A.; OYARZÚN, C.; SILVA, V. Células sanguíneas de *Schroederichthys chilensis* (Guichenot, 1848) (Elasmobranchii, Scyliorhinidae): La serie blanca. **Concept. Gayana.** 67:130-137. 2003.
- [30] VALENZUELA, A.; OYARZÚN, C.; SILVA, V. Células sanguíneas de *Schroederichthys chilensis* (Guichenot, 1848) (Elasmobranchii, Scyliorhinidae): La serie blanca. **Concept. Gayana.** 67:130-137. 2003.
- [31] VAQUERO, J.; QUILARTE, L.; LÓPEZ, J.; WILLIAMS, V.; ROJAS, L.; BONILLA, J.; RAMÍREZ, A. Evaluación de la concentración por metales de la cuenca del río Tigre. **Act. Cient. Venez.** 55:81. 2004.
- [32] ZELIKOFF, J.T.; BROWSER, D.; SQUIBB, K.S.; FRENKEL, K. Immunotoxicity of low level cadmium exposure in fish: an alternative animal model for immunotoxicological studies. **J. Toxicol. Environ Health.** 45:235-248. 1995.
- [33] ZELIKOFF, J.T.; RAYMOND, A.; CARLSON, E.; LI, Y.; BEAMAN J.R.; ANDERSON, M. Biomarkers of immunotoxicity in fish: from the lab to the ocean. **Toxicol. Lett.** 112-113:325-331. 2000.