

Variables hematológicas y bioquímicas en la trucha arcoiris, relacionadas con la condición hepática y la edad

Hilda Bastardo^{1*}, Cecilia Scorza² y Sara Sofia¹

RESUMEN

Se estudió la condición hepática y algunas características hematológicas y bioquímicas de truchas arcoiris de diferentes edades. Se utilizaron 30 ejemplares de cada grupo de edad (13, 20, 28, 31, 37, 44, 48, 55, 64 y 73 meses) del plantel de reproductores del Campo La Mucuy, ubicada en el Parque Nacional Sierra Nevada, en el estado Mérida, Venezuela. Se determinó peso corporal y peso del hígado para estimar el Índice Hepatosomático (IHS). La condición hepática (CH) macroscópica se estableció haciendo referencia a un hígado aparentemente sano. Las muestras para histología fueron colocadas en formol a los 10%, procesadas en parafina y coloreadas en hematoxilina-eosina. Se tomaron muestras de sangre para determinar hemoglobina, hematocrito y aminotransferasas, en sus dos formas: aspartato aminotransferasa y alanina aminotransferasa. El IHS de las truchas con tumores ($P < 0,05$) fue significativamente más alto que aquellas con hígado aparentemente normal, coloración anormal y manchas, pero en estas últimas no hubo diferencias significativas. La CH macroscópica de las truchas con edades entre 13 y 20 meses fue 100% normal. En ese mismo grupo el estudio histológico reportó un 3,3% de hepatocarcinoma en ejemplares de 20 meses de edad. A partir de esta edad la normalidad descendió alcanzando valores más bajos en las edades entre 55 y 73 meses. Se encontró una relación positiva con $r^2 = 0,499$ ($P < 0,05$) entre la CH y la edad. El hematocrito de las truchas con tumores y manchas fue

¹ Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Centro de Investigaciones Agrícolas del estado Mérida. Campo Experimental Truchícola La Mucuy, Mérida, estado Mérida. Venezuela. *Correo electrónico: hbastardo@inia.gov.ve

² Universidad de los Andes, Facultad de Ciencias. Mérida, estado Mérida. Venezuela.

significativamente menor ($P < 0,05$) que las truchas normales y con color anormal; a partir de los 28 meses de edad disminuyó alcanzando su mínimo valor a los 73 meses. Mientras que los valores de hemoglobina fueron similares al relacionarlos con la CH, las truchas de 73 meses presentaron un valor de hemoglobina significativamente menor que todos los demás grupos. Se encontraron diferencias significativas entre las aminotransferasas de las truchas con hígado normal y las que presentaron manchas y tumores. La actividad de estas enzimas fue significativamente mayor en los machos que en las hembras.

Palabras clave: Trucha, hematocrito, hemoglobina, aminotransferasas, hepatocarcinoma.

Hematological and biochemical variables in the rainbow trout, on relation with hepatic condition and age

SUMMARY

This research was carried out in the National Park Sierra Nevada in Mérida, Venezuela. The objective was to study the hepatic condition and some biochemical and hematology variables of rainbow trout of different age. There were utilized 300 animals of 13 to 73 months of age, was established ten lots of each ages. Was determined body weight and liver weight for to esteem hepatosomatic index. The macroscopic condition hepatic was established making reference to healthy liver, any different form was considered abnormal. Samples of blood were taken to determine haematocrit, haemoglobin and aminotransferase (aspartate and alanine). The hepatosomatic index of the trout with liver tumors was significantly greater than the normal liver, abnormal coloration and spot. The macroscopic condition hepatic of the rainbow trout between 13 and 20 months old was normal. The histology study reports 3.3% hepatic carcinoma in the twenty months old group. From this age to forward the values were falling with the lowest values between the ages of 55 to 73 months. The relation between hepatic condition and the age indicated positive a lineal relationship with $r^2 = 0,499$ ($P < 0,05$). Rainbow trout haematocrit with tumors and spot were significantly lower than the normal liver and abnormal coloration. From twenty eight months old it was to go down to the trout of 73 months old. The haemoglobin was similar in all condition hepatic, but haemoglobin of the trout of 73 months old presented valor significantly lower than the others group. The aminotransferase of trout with normal liver was significantly

greater than trout with spot and tumors. The enzymatic activity of alanine and aspartate aminotransferase was higher in the male than in the female.

Keywords: Trout, hematocrit, hemoglobin, aminotransferase, carcinoma hepatic.

INTRODUCCIÓN

La presencia de micotoxinas en el alimento destinado para el consumo de las truchas puede originar hepatomas, ocasionados por contaminación con aflatoxinas, metabolitos tóxicos producidos por *Aspergillus* sp. Entre las aflatoxinas más comunes destacan la B1, B2, G1, G2, M1 y M2, siendo la B1 la más fuertemente implicada en el riesgo de contraer cáncer (Barrios-Cisnero, 1995). En los Estados Unidos, especialmente en la zona sudeste, esta última constituyó una de las micotoxinas de mayor importancia en la alimentación animal, por las propiedades carcinogénicas de su tóxico y por su frecuente aparición. La legislación estadounidense sobre piensos, señala que los productos de maíz y maní no pueden contener más de 20 ppm de aflatoxinas (Lovell, 1992). Los daños que causan las micotoxinas ha motivado la unión entre los gobiernos, los científicos y los fabricantes de productos alimenticios para detectar, reducir y eliminar las aflatoxinas que son encontradas en estos productos, es así como Brekke *et al.* (1977) utilizando amonio logró bajar la contaminación del maíz de 180 µg aflatoxina/kg a niveles no detectables, en 12 días.

Las micotoxinas se originan en el moho de determinados productos alimenticios, antes de su recolección o durante el período de almacenamiento (Tacon, 1995). Los productos alimenticios especialmente sensibles a contaminarse son la harina de semilla de algodón, la harina de maní, la harina de copra, los productos del maíz y en menor grado el arroz, la cebada, el sorgo, la avena, el girasol, la soya y la yuca (Hendricks y Bailey, 1989).

Sinnhuber *et al.* (1978) señalan que la trucha arcoiris ha sido particularmente útil en el estudio de la carcinogénesis hepática, debido a su sensibilidad a la aflatoxina B1 (AFB1). La alimentación con una concentración baja de aflatoxina B1, durante un período prolongado, causa tumores hepáticos en trucha arcoiris (Lovell, 1992).

En Venezuela, se ha informado la presencia de hepatomas y hepatocarcinomas en truchas adultas. El primer registro científico sobre este

problema fue presentado por Coché *et al.* (1985), quienes informan que más del 50% de los reproductores de trucha mantenidos en el Campo La Mucuy (Mérida, Venezuela) presentaban hepatomas. Coché y Bastardo (1991) señalan que el índice hepatosomático de ejemplares de truchas con hepatomas es mayor que aquellos sin hepatomas y la mayoría de individuos afectados han sido reproductores de dos años y medio a seis años de edad. En Mérida, Venezuela se ha encontrado que a partir de los dos años de edad la curva de sobrevivencia de las truchas disminuye y cuando los reproductores alcanzaron la edad de cinco años y medio había muerto el 50% de la población en estudio (Bastardo, 1994). En todos los casos los ejemplares presentaron tumores en hígado semejantes a los reportados por Roberts y Shepherd (1986) y Lovell (1992). Bastardo (1995) señala que entre los factores que limitan la productividad de las truchas, la presencia de hepatomas podría ser uno de ellos, debido a que las poblaciones de reproductores están afectados por un factor de mortalidad, precisamente cuando están entrando a su etapa productiva (dos años).

El objetivo de la presente investigación fue determinar la condición hepática de truchas adultas con edades comprendidas entre 13 y 73 meses de edad, así como también estudiar la histopatología hepática y su relación con algunos parámetros hematológicos y bioquímicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Esta investigación se realizó en el Campo Experimental Truchícola La Mucuy, ubicado a una altitud de 2.300 msnm, en el Parque Nacional Sierra Nevada, en el estado Mérida, Venezuela, adscrito al Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas del Ministerio de Ciencia y Tecnología. Se estudió la histopatología hepática de la trucha arcoiris, *Oncorhynchus mykiss*, considerando cuatro categorías: apariencia normal, color anormal, manchas y tumores, las cuales se relacionaron con algunas variables hematológicas en ejemplares desde 13 a 73 meses de edad, de acuerdo a la estructura de edad del plantel de reproductores del área de estudio, compuesta por individuos de 13, 20, 28, 31, 37, 44, 48, 55, 64 y 73 meses de edad.

Las truchas se mantuvieron en estanques rectangulares de concreto con un flujo constante de agua y alimentadas con una dieta comercial expandida y pigmentada, cuya composición bromatológica se muestra en el Cuadro 1.

Se sacrificaron un total de 300 ejemplares de truchas, desde 13 meses hasta 73 meses de edad. Se determinó peso corporal, peso y condición macroscópica del hígado, se tomaron muestras de hígado para estudios histológicos y muestras de sangre de cada uno de los ejemplares sacrificados. Se determinó el índice hepatosomático (IHS) utilizando la relación entre el peso del hígado y el peso corporal, expresada en porcentaje. El pesaje se realizó con una balanza con capacidad de 1.600 g y precisión de 0,01 g. La condición macroscópica del hígado se determinó tomando como referencia un hígado aparentemente sano, a partir de esta condición, cualquier apariencia diferente se consideró anormal.

Cuadro 1. Composición química proximal de la dieta comercial, utilizada para alimentar las truchas de la presente investigación

Parámetros	Dieta comercial
	%
Humedad	13,00
Cenizas	10,03
Grasas	9,44
Proteínas	42,31
Carbohidratos	24,05
Fibra	1,17

Los ejemplares con signos de enfermedad presentaron distensión abdominal, lo que en algunos casos, ocasionaba el roce del abdomen con el piso del estanque, provocando lesiones ventrales. La disección de los ejemplares mostró la presencia de líquido ascítico y tumores en el hígado. Las muestras para el estudio histológico se tomaron tanto en áreas sanas como afectadas del hígado de un mismo ejemplar; se colocaron en formol a los 10%, posteriormente procesadas en parafina para luego proceder a los cortes histológicos con un microtomo manual y finalmente coloreada con hematoxilina-eosina.

Las muestras de sangre se tomaron por punción de la vena caudal, antes de sacrificar al animal. Las determinaciones hematológicas se realizaron en el Centro Ambulatorio Médico Odontológico de la Universidad de los Andes, utilizando las técnicas de rutina empleadas en humanos. Se utilizó EDTA como anticoagulante para las determinaciones de hemoglobina y hematocrito. Otra parte de la muestra, sin EDTA, se centrifugó para obtener suero y hacer las determinaciones de aminotransferasa (aspartato y alanina aminotransferasa). Los valores hematológicos y las aminotransferasas se relacionaron con la condición hepática y con la edad de los ejemplares estudiados.

Para los análisis estadísticos se utilizó el paquete estadístico Statistic, versión 4.5, con el cual se realizaron los análisis de varianza de una sola vía, la comparación de medias (Scheffe) y regresión lineal.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Condición hepática e índice hepatosomático

Al relacionar la edad con la condición hepática de las truchas, a través de un análisis de varianza, se encontraron dos grupos diferentes ($P < 0,05$). En el primer grupo las edades estuvieron representadas por los ejemplares de 13, 20, 28, 31, 37 y 44 meses de edad, los cuales estuvieron más relacionados con la condición hepática normal. En el grupo representado por las edades de 48, 55, 64 y 73 meses prevaleció la condición hepática anormal (manchas y tumores).

El Cuadro 2 representa la condición hepática macroscópica y microscópica de las truchas con edades comprendidas entre 13 a 73 meses, donde se observa que las truchas de mayor edad presentaron la peor condición hepática, incrementándose las manchas y tumores a partir de los 48 meses. Histológicamente, las truchas presentaron también un incremento en la aparición de hepatocarcinoma a medida que envejecían.

Cuadro 2. Condición hepática de los reproductores de trucha de diferentes edades en el Campo La Mucuy, Mérida, Venezuela.

Edad	Condición macroscópica				Condición microscópica†		
	Apariencia a normal	Color anormal	Manchas	Tumores	DGF	FdN	HC
mes	-----	%	-----	-----	-----	%	-----
13	100	0	0	0	0	0	0
20	100	0	0	0	10,0	6,7	3,3
28	96,7	0	0	3,3	16,7	3,3	3,3
31	86,7	6,7	0	6,7	-	-	-
37	56,7	0	33,3	10,0	-	-	-
44	56,7	13,3	30,0	0	-	-	-
48	40,0	0	33,3	40,0	2,9	2,9	41,3
55	10,0	0	34,8	55,2	10,3	6,7	55,2
64	16,7	0	40,0	43,3	-	-	-
73	16,7	0	6,7	76,7	30,0	3,3	50,0

† DGF: Degeneración grasosa focal. FdN: Focos de necrosis. HC: Hepatocarcinoma.

En ejemplares de 20 meses de edad, con lesiones de tipo tumoral, se observó infiltración linfocitaria difusa y densa en la cápsula hepática, trabéculas conjuntivas intraparenquimatosas y trabéculas de células hipertrofiadas, con gran basofilia, núcleos grandes con nucleolos evidentes. Se apreció también dos agrupaciones constituidas por células fusiformes, núcleos excéntricos hiper cromáticos y áreas indiferenciadas, estas características son compatibles con un carcinoma hepatocelular. Las muestras analizadas de este mismo lote presentaron un 66,7% de lesiones inflamatorias, de las cuales la mitad correspondió a lesiones de tipo histiolinfocitario, ubicadas dentro del parénquima hepático. El porcentaje restante presentó marcada degeneración vacuolar de los hepatocitos y picnosis de los núcleos. Se encontraron además extensas áreas de necrosis e intenso infiltrado linfocitario.

En ejemplares de 28 meses de edad se encontró una trucha con un tumor único (3,3%); el estudio histológico reveló la presencia de carcinoma hepatocelular. También se observaron lesiones degenerativas, representadas por degeneración grasosa focal en un 16,66%, pequeños focos de necrosis (3,3%).

La muestra de 48 meses de edad presentó lesiones de tipo tumoral en 41,3%, así como también 2,9% de degeneración grasosa focal y necrosis en 2,9%. Las lesiones tumorales se presentaron en 12 truchas, observándose agrupaciones de células con intensa basofilia, muchas de ellas fusiformes formando trabéculas y núcleos hiper cromáticos. Esta descripción es compatible con un carcinoma hepatocelular. De las doce truchas con tumores, cuatro presentaron tumores únicos, mientras que ocho tenían varios tumores.

En los ejemplares de 55 meses de edad se encontraron diferentes lesiones hepáticas entre ellas, esteatosis severa, hepatomas y hepatocarcinomas.

La Figura 1 muestra el IHS, donde se observa que las truchas con tumores presentaron un mayor índice que las de apariencia normal, color anormal y manchas. El análisis de variancia indicó diferencias entre las que presentaron tumores y las otras tres categorías ($P < 0,05$).

Los resultados obtenidos indican que hasta los 28 meses de edad el hígado presentó una condición normal. Por el contrario, a medida que las truchas envejecieron se hizo más evidente la presencia de manchas y tumores en el hígado, como lo demuestra el estudio microscópico al pasar de 3,3% de tumores malignos en truchas de 20 meses a 55,2% en ejemplares de 55 meses

de edad. Los tumores encontrados son similares a los reportados por Reichenbach-Klinke (1977), Roberts y Shepherd (1986) y Lovell (1992), quienes coinciden que se debe al efecto químico de una toxina que produce la aflatoxicosis originada por el hongo *Aspergillus flavus*. Esta micotoxina tiene un elevado efecto cancerígeno y constituye la causa de los frecuentes hepatomas de la trucha. Las aflatoxinas penetran en el animal a través de los alimentos enmohecidos, pasan a la sangre de los peces y en el hígado produce degeneración, hipertrofia celular y formación de nódulos o tumores, pudiéndose diagnosticar al final un hepatoma maligno. Estas características reportadas por estos autores son similares a los resultados encontrados en este trabajo.

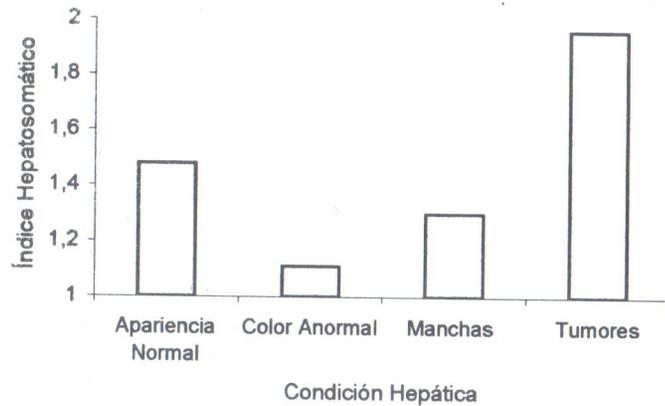


Figura 1. Índice hepatosomático de adultos de trucha arcoiris en relación a la condición hepática en un criadero venezolano.

Reichenbach-Klinke (1977) señala que los hepatomas crecen muy lentamente y se observan en truchas de tres o más años. En nuestro caso la histología hepática demostró la presencia de hepatomas a los 20 meses de edad; sin embargo, macroscópicamente se observaron en una proporción baja a los 28 meses de edad. Estos resultados coinciden con lo informado por este autor si sus datos son a nivel macroscópico. De igual manera, Coché y Bastardo (1991) registraron la presencia de hepatomas en reproductores de trucha de dos años y medio a seis años de edad. Bastardo (1995) señala que

los reproductores de trucha están seriamente afectados por la presencia de tumores en hígado, iniciándose su aparición a partir de los dos años de edad, cuando constituyen el potencial productivo del criadero, resultados similares se encontraron en esta investigación. Bastardo *et al.* (1997) informaron que las truchas alimentadas con RP (alimento comercial) presentaron un mayor deterioro del hígado que las alimentadas con otras dietas. RP fue el alimento utilizado en este trabajo, por ser el único alimento disponible en el mercado venezolano para ese momento.

Hematocrito y hemoglobina

El hematocrito de las truchas con manchas y tumores fue significativamente más bajo que aquellas que presentaron condición hepática normal y con coloración anormal, mientras que los valores de hemoglobina cuando se relacionaron con la CH fueron similares. A partir de los 31 meses, el hematocrito descendió alcanzando el valor más bajo a los 73 meses de edad (Figura 2). En la misma Figura se presentan los niveles de hemoglobina en relación a la edad, observándose que no sigue una tendencia definida como se aprecia en los valores de hematocrito, encontrándose que a partir de los 55 meses los valores de hemoglobina presentaron un descenso mantenido hasta la edad de 73 meses. En el Cuadro 3 se presentan las concentraciones de hemoglobina, hematocrito y actividad enzimática, discriminadas por sexo, no se observaron diferencias significativas.

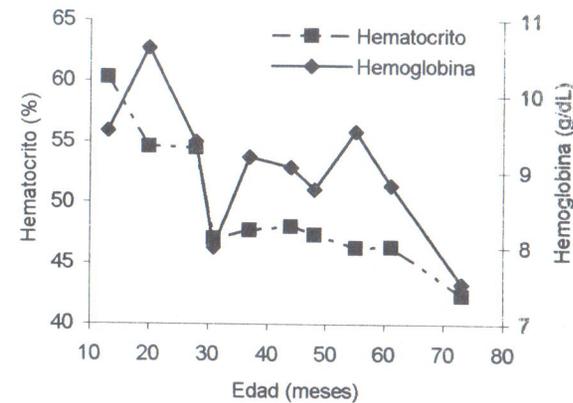


Figura 2. Niveles de hematocrito y hemoglobina en adultos de trucha arcoiris en relación a la edad (13, 20, 28, 31, 37, 44, 48, 55, 61 y 73 meses), en un criadero venezolano.

Las truchas con manchas y tumores presentaron valores de hematocrito significativamente más bajos que en aquellos aparentemente sanos. Rehulka (2003) encontró en truchas afectadas por la enfermedad septicemia hemorrágica viral niveles de hemoglobina y hematocrito más bajos que en los ejemplares sanos. De allí que las determinaciones hematológicas se apliquen cada día más en investigaciones biológicas y particularmente en acuicultura, permitiendo así valorar los cambios que ocurren en estos parámetros como indicadores no solo de enfermedad sino también en cambios fisiológicos, deficiencias nutricionales, hábitat, cambios ambientales y otros (Bastardo *et al.*, 1992).

Cuadro 3. Concentración de hemoglobina, hematocrito, enzimas ALT y AST en relación al sexo de la trucha arcoiris, en un criadero venezolano

Variables	Sexo	
	Macho	Hembra
Hemoglobina, g/dL	8,95±1,64	9,35±2,03
Hematocrito, %	50,02±8,24	51,77±10,69
ALT, U/L	22,39±22,05	16,59±15,35
AST, U/L	385,34± 215,7	302,84±192,95

Actividad enzimática

La actividad de las enzimas ALT y AST de las truchas con hígado normal fueron significativamente diferentes a las otras tres categorías (Figura 3). La mayor actividad enzimática del grupo normal puede atribuirse a que se corresponden con los ejemplares más jóvenes, por lo tanto son truchas inmaduras, como puede observarse en la Figura 4. Las truchas más jóvenes (13 meses) presentaron una actividad enzimática significativamente mayor a los otros grupos de edad, excepto en el caso de la AST, donde las truchas de 28 meses presentaron valores similares a las de trece meses de edad. La actividad enzimática de ALT y AST fue discriminada por sexo encontrándose que los niveles en los machos fueron significativamente mayores que en las hembras (Cuadro 3).

Samsonova *et al.* (2003) señalaron que las enzimas alanina y aspartato aminotransferasa son indicadoras de estados fisiológicos y

responden a reacciones adaptativas en los salmónidos. Estos autores investigaron la actividad de estas enzimas en etapas tempranas de *Oncorhynchus keta*, encontrando una mayor actividad en las larvas durante la etapa de reabsorción de vesícula vitelina y nado libre. Lusková (1997a) investigó con adultos de *Salmo trutta*, *Thymallus thymallus*, *Leuciscus cephalus* y *Chondrostoma nasus*, encontrando que la actividad de las enzimas ALT y AST mostraron una dinámica estacional en el curso del año, observándose diferencias específicas entre salmónidos y ciprinidos. En los salmónidos encontró que la actividad de ALT y AST presentó diferencias significativas con el sexo y la estación del año; la dinámica anual mostró un incremento tanto en machos como en hembras en dos periodos del año, uno de estos incrementos coincidió con un aumento en la temperatura del agua y el otro con el periodo de desove.

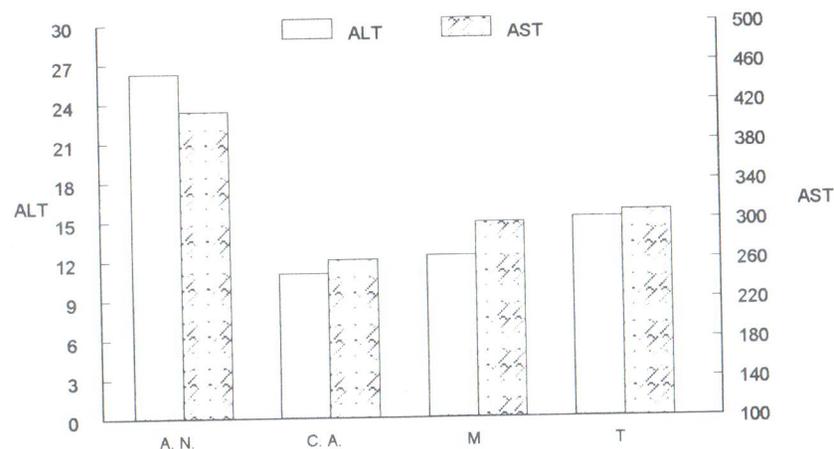


Figura 3. Actividad de las enzimas ALT y AST de truchas adultas en relación a la condición hepática, en un criadero venezolano. AN: aparentemente normales, CA: color anormal, M. manchas, T: tumores.

En esta investigación se encontró una actividad enzimática significativamente mayor en los machos, lo que es congruente con Lusková (1997b) quien registró una mayor actividad de estas enzimas durante el periodo de maduración, siendo mucho más alta en los machos. La mayor

actividad de los machos en el presente trabajo pudiera estar relacionada con la actividad de maduración de las gónadas, la cual es casi constante durante todo el año, a diferencia de las hembras que su actividad de maduración está concentrada en una época del año (septiembre a febrero). Bajo las condiciones en las cuales se realizó esta investigación la temperatura posiblemente no influyó en la actividad de estas enzimas porque la toma de muestras fue durante los meses de marzo y abril cuando comienza a ascender sin alcanzar el máximo de temperatura que se registra en un período anual en el sitio de muestreo. Por otro lado, Venezuela se encuentra en la línea ecuatorial por lo que la temperatura del agua no registra cambios bruscos que pudieran ser determinantes en la actividad de estas enzimas.

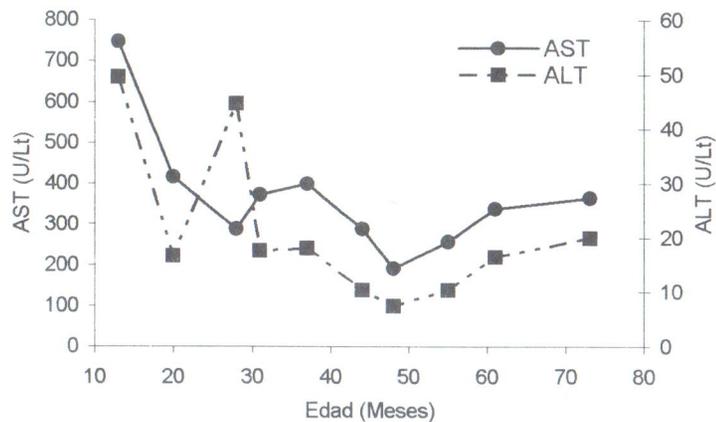


Figura 4. Actividad de las enzimas ALT y AST en adultos de diferentes edades (13, 20, 28, 31, 37, 44, 48, 55, 61 y 73 meses) de trucha arcoiris, en un criadero venezolano.

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones de esta investigación se concluye que a medida que las truchas envejecen la presencia de tumores malignos en el hígado es mayor. El hematocrito se encuentra afectado por la presencia de manchas y tumores, registrando los valores más bajos en estas categorías. De igual

manera, el hematocrito presentó un valor significativamente más alto en los individuos jóvenes (13, 20 y 28 meses), mientras que en ejemplares de 31 a 73 meses se presentó un menor valor.

Las implicaciones de estos resultados son determinantes en las empresas cultivadoras de trucha que realizan el ciclo completo, puesto que el problema comienza a manifestarse después de los dos años de vida, coincidiendo esta edad con la maduración gonadal de las truchas, lo que representa un problema económico por la pérdida de reproductores y por ende del potencial productivo del criadero. A nivel de engorde no tiene ningún impacto porque la trucha porción se obtiene entre los diez y doce meses de edad, período en el cual aun no se observa manifestación de esta enfermedad nutricional.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al FONACIT la subvención aprobada para ejecutar el proyecto RP-100029, el cual permitió obtener esta información.

BIBLIOGRAFÍA

- Barrios-Cisnero H. 1995. Estilo de vida, salud y enfermedad. Bases científicas para la medicina del futuro. Consejo de Publicaciones ULA. Mérida.
- Bastardo H., Z. Coché, P.J. Salinas e I. Hernández. 1992. Determinaciones hematológicas en trucha arco iris, *Oncorhynchus mykiss*, en Mérida, Venezuela. *Veterinaria Trop.*, 17: 31-39.
- Bastardo H. 1994. Supervivencia de la trucha arcoiris, *Oncorhynchus mykiss*, en condiciones de cultivo en Mérida, Venezuela. *Zootecnia Trop.*, 12(1): 77-97.
- Bastardo H. 1995. Hepatomas en trucha arcoiris, *Oncorhynchus mykiss*, y su efecto en la población de reproductores. III Encuentro Nacional de Acuicultura. San Cristóbal, Venezuela.

- Bastardo H., C. Scorza y S. Sofía. 1997. Histopatología hepática de la trucha arcoiris, *Oncorhynchus mykiss*, alimentadas con dietas diferentes. Arch. Latin. Prod. Anim., 5(Supl. 1): 267-270.
- Brekke O. L., R. O. Sinnhuber, A. J. Peplinski, J. H. Wales, G. B. Putnam, D. J. Lee y A. Ciegler. 1977. Aflatoxin in corn: Ammonia inactivation and bioassay with rainbow trout. App. Environ. Microbiol., 34(1):34-37.
- Coché Z., H. Bastardo y P. Salinas. 1985. Observaciones preliminares sobre enfermedades de trucha arcoiris, *Salmo gairdneri* Richardson. Memorias XXXV Convención Nacional de ASOVAC. Mérida, Venezuela.
- Coché Z. y H. Bastardo. 1991. Hepatomas en trucha arcoiris. Temas Agropecuarios, 9: 19-20.
- Hendricks J. A. y G. S. Bailey. 1989. Adventitious toxins. En Halver J.E. (Ed) Fish Nutrition, 2^{da} ed. Academic Press, NY. pp 605-651.
- Lovell R.T. 1992. Mycotoxins: hazardous to farmed fish. Fish International, 13(3): 24-28.
- Lusková V. 1997a. Annual cycles and normal values of hematological parameters in fishes. Acta Sci. Nat. Brno., 31(5):1-70.
- Lusková V. 1997b. Influence of spawning on enzyme activity in the blood plasma of fish. Pol. Arch. Hydrobiol., 44(1-2): 57-66.
- Reichenbach-Klinke H. 1977. Histopatología de las micosis y tumores micóticos de los peces. En Reichenbach-Klinke H. (Ed.) Trabajos sobre Histopatología de los Peces. Acribia, Zaragoza, España. pp. 86-94.
- Rejulka J. 2003. Haematological analices in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* affected by viral haemorrhagic septicaemia (VHS). Dis. Aquat. Organ., 56(3): 185-93.
- Roberts R.J. y C.J. Shepherd. 1986. Enfermedades de la Trucha y del Salmón. Acribia. Zaragoza, España.

- Samsonova M.V., N.O. Minkova, T.I. Lapteva, O.V. Mikodina e I. Filippovich. 2003. Aspartate and alanine-aminotransferase in early development of keta. Ontogene., 34(1): 19-23.
- Sinnhuber R.O., J.D. Hendricks, J.H. Wales y G.B. Putnam. 1978. Neoplasm in rainbow trout, a sensitive animal model of environmental carcinogenesis. Ann. N. Y. Acad. Sci., 298: 389-408.
- Tacon A. 1995. Ictiopatología nutricional. Signos morfológicos de la carencia y toxicidad de los nutrientes en los peces cultivados. FAO. Documento Técnico de Pesca No. 330. Roma, Italia. 77p.