



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

CARACTERIZACION HISTOPATOLOGICA EN LA INTOXICACION CRONICA POR TRICLORFON EN TILAPIA (Tilapia mossambica)

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
BIBLIOTECA - UNAM

T E S I S
Que para obtener el Título de
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P r e s e n t a

PEDRO PRESBITERO ARAIZA

2426
1. Triclorfon - Tox.
2. Tilapia
3. Agua - Cont.

Asesores: M.V.Z. LUIS OCAMPO CAMBEROS
M.V.Z. ANA AURO DE OCAMPO



México, D. F.

1984



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

RESUMEN

PRESBITERO ARAIZA, PEDRO. Caracterización histopatológica en la intoxicación crónica por triclorfón en tilapia (Tilapia mossambica) (bajo la dirección de: M.V.Z. Luis Ocampo Camberos y M.V.Z. Ana Auró de Ocampo).

Un grupo de 30 tilapias (Tilapia mossambica) se dividió en 3 lotes de 10 animales cada uno, a los que se les disolvió triclorfón, con el fin de observar su histopatología, de la siguiente manera: Grupo A, 0.25 ppm; Grupo B, 0.10 ppm y al Grupo C no se le trató, considerándose como grupo testigo.

En los grupos A y B, se presentó un cuadro histopatológico de degeneración grasa hepática, degeneración hidrópica renal, degeneración vacuolar branquial, depleción linfoide e infartos superficiales esplénicos, congestión y degeneración mucosa intestinal; Clarke y otros investigadores coinciden en señalar sólo 2 lesiones: la depleción linfoide esplénica y la congestión intestinal, en intoxicaciones por triclorfón en animales domésticos; las demás lesiones posiblemente se debieron a la cronicidad de este bioensayo. Los resultados se procesaron mediante el análisis de Probabilidad exacta de Fisher con una $\alpha=0.05$, encontrándose que estas lesiones fueron estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

CARACTERIZACION HISTOPATOLOGICA EN LA
INTOXICACION CRONICA POR TRICLORFON
EN TILAPIA (Tilapia mossambica)

Tesis presentada ante la
División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
de la
Universidad Nacional Autónoma de México
para la obtención del título de
Médico Veterinario Zootecnista
por
Pedro Presbítero Araiza
Asesores: M.V.Z. Luis Ocampo Camberos
M.V.Z. Ana Aurora de Ocampo

México, D. F.

1984

AGRADECIMIENTO

Al M.V.Z. JORGE TOLOSA SANCHEZ, jefe del Departamento de Citología e Histología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la U.N.A.M., por el procesamiento histológico de las muestras.

A la DIRECCION GENERAL DE ACUACULTURA de la Secretaría de Pesca, por su valiosa colaboración en la donación del material biológico.

DEDICATORIA

A mis padres:

ION PRESBITERO CALDERON Y CONCEPCION ARAIZA DE
PRESBITERO.

Por hacerme de mi un hombre de bien y orgulloso
de ser su hijo.

A mis hermanos:

ALBERTO, CONCEPCION, ERNESTO, ADRIAN, OSCAR,
FELIPE, ION.

Por darme una convivencia familiar plena de
felicidad.

A mis asesores:

M.V.Z. LUIS OCAMPO CAMBEROS Y M.V.Z. ANA AURO
DE OCAMPO.

Por su paciencia y colaboración brindada

CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESUMEN.....	ii
INTRODUCCION.....	1
MATERIAL Y METODOS.....	5
RESULTADOS.....	8
CUADROS.....	8 y 10
DISCUSION.....	12
LITERATURA CITADA.....	16

I N T R O D U C C I O N

En la actualidad la desnutrición es uno de los principales problemas que enfrenta nuestro país, causado primordialmente por la falta de una adecuada cantidad de proteína en la dieta. México dispone de aproximadamente 2.8 millones de hectáreas de aguas dulces y salobres, en las cuales, la actividad acuacultural encuentra una amplia gama de posibilidades para estructurar programas y proyectos, con el objetivo de incrementar la producción de proteína de origen animal,-- por lo cual un sin número de investigadores se ha avocado a la búsqueda de especies acuáticas que por sus características biológicas, condiciones bióticas y abióticas requeridas, permitan la implementación de su cultivo; el resultado de estas investigaciones ha permitido asegurar que la Tilapia spp. constituye un recurso dulceacuícola potencial para la obtención de esta proteína a bajo costo; por su fácil manejo, resistencia a condiciones adversas, crecimiento eficiente, buena conversión alimenticia, alto valor nutricional y aceptación comercial por su sabor y textura. (12, 13, 16)

La contaminación creciente del medio acuático por sustancias nocivas resulta particularmente evidente en las aguas dulces, las cuales han sido utilizadas para la eliminación de los desechos agropecuarios e industriales. En la actividad agropecuaria es común el uso de insecticidas; principalmente los organofosforados, debido a su rápida biodegradación y al desarrollo de resistencia en los insectos para los

Órganoclorados. La toxicidad aguda de los Órganofosforados ha sido -- comprobada en recientes experimentos y los resultados se expresan generalmente como la concentración letal media; las contaminaciones crónicas son mucho más peligrosas, pues son engañosas y difíciles de detectar, los peces presentan retraso de crecimiento, pobre sobrevivencia alevina, baja conversión alimenticia, aumenta la predisposición a sufrir enfermedades, hasta provocar la muerte y por ende hay pérdida en la productividad piscícola. (3, 10, 15, 21, 22, 24, 29)

El efecto tóxico de los Órganofosforados se debe a su capacidad de fosforilizar a la enzima acetilcolinesterasa, los cuales a través de una intoxicación crónica, producen el efecto de inhibición acumulativa de esta enzima, provocando una sobreestimulación del sistema nervioso parasimpático, debido al exceso de acetilcolina en la sangre, cerebro, hígado, branquias, músculo y otros tejidos. El curso de la intoxicación depende principalmente de la dosificación, sin -- embargo, la intoxicación por malatión, triclorfón, paratión y el hexaetiltetrafosfato, es de corta duración, seguida de la muerte o de la recuperación completa a las 24 horas; el ronnel y el coumafós producen intoxicación durante un período mucho más prolongado, incluso durante 30 días. (4, 6, 7, 9, 20)

Los signos en los animales domésticos por intoxicación con triclorfón, son: anorexia, disnea, tensión, excesiva salivación, descarga nasal, sudoración, miosis, hiperemia conjuntival, estertores pulmonares, vómito, diarrea, poliuria, contracciones fasciculares de los músculos, parálisis, convulsiones, coma; la muerte sobreviene por pa-

ro respiratorio o a veces cardiaco. Las lesiones post mortem, son: congestión, hemorragias gastrointestinales y cardiacas, edema pulmonar, congestión del cerebro y médula espinal, degeneración turbia del hígado y de los riñones, y depleción linfoide esplénica. (4, 6, 17, 27, 30)

Debido a la importancia de encontrar un diagnóstico confiable en los peces afectados por organofosforados, dado que las contaminaciones no siempre son detectables por análisis químicos del agua; - varios investigadores han realizado estudios recientes, que han puesto al descubierto ciertos efectos tóxicos de los organofosforados, como son: una reducción en el consumo de oxígeno en los tejidos --- branquial, cerebral y muscular; una disminución de las enzimas succinato deshidrogenasa y lactato deshidrogenasa, de los carbohidratos y del glicógeno en tejido branquial, hepático, cerebral y muscular; un descenso de los ácidos nucleicos y proteínas en hígado, cerebro y músculo; un aumento de la enzima aldolasa en branquias, hígado, cerebro y músculo, y la regulación de la fosforilasa activa e inactiva en estos tejidos. Respecto a los estudios histopatológicos se reporta una severa hiperplasia del epitelio branquial y una amplia degeneración hialina muscular, en el cual las miofibrillas se encuentran fusionadas formando una masa homogénea. (8, 14, 18, 19, 25, 26, 28)

La mayor parte de la investigación toxicológica en los peces es desde el punto de vista químico-metabólico, sin reportes de estudios histopatológicos en los órganos parenquimatosos, intestino, corazón y encéfalo.

HIPOTESIS

De acuerdo con las alteraciones presentadas en los animales domésticos, se plantea la posibilidad de que la tilapia (Tilapia mossambica) presente los mismos cambios histopatológicos causados por la intoxicación crónica de triclorfón, más no así los signos clínicos ya que éstos dependen del habitat, que en este caso es diferente.

OBJETIVOS

1) Describir los signos clínicos presentados por la tilapia -- después de la intoxicación con triclorfón.

2) Indicar las lesiones macroscópicas producidas por la intoxicación.

3) Identificar y describir las lesiones microscópicas en hígado, riñon, branquias, intestino, bazo, corazón y encéfalo de la tilapia intoxicada con el fin de caracterizar histopatológicamente a esta intoxicación y proveer de parámetros objetivos de comparación a los médicos veterinarios encargados de sanidad acuícola.

4) Comparación de las lesiones histopatológicas encontradas en tilapia, en las presentadas por los animales domésticos intoxicados con triclorfón.

MATERIAL Y METODOS

Animales y alojamiento

En el presente trabajo se utilizaron 30 tilapias (Tilapia mossambica) juveniles de tres a cuatro meses de edad, con un peso -- promedio de 37 g y una talla de 10 cm, provenientes de la piscifactoría "Zacatepec", localizada en el Municipio de Zacatepec, Edo. - de Morelos.

Los peces, se alojaron en tres acuarios, con 40 litros de agua cada uno; oxigenada mediante bombas de aire provistas de mangueras y piedras difusoras en sus extremos. La temperatura del agua fue de 19 a 21 °C. Cada acuario tuvo 10 peces que permanecieron en su nuevo habitat durante 72 horas para su ambientación antes de la aplicación del triclorfón.

El experimento se llevó a cabo en los laboratorios del Departamento de Fisiología y Farmacología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (F.M.V.Z.) de la Universidad Nacional Autónoma de México (U.N.A.M.).

Agua

El suministro de agua fue de los propios laboratorios del Departamento de Fisiología y Farmacología.

Alimento

Como alimento se dió un producto comercial en comprimidos para peces de engorda, con 21% de protefna cruda, en una cantidad diaria

correspondiente al 3% del peso de la biomasa de cada acuario. (13)

Método

Se disolvió en forma homogénea en el agua de 2 acuarios un producto comercial* de triclorfón técnico al 96% en presentación polvosa, de la siguiente manera: Grupo A, 0.25 ppm y Grupo B, 0.10 ppm. - El Grupo C no fue contaminado, considerándose como el acuario testigo. La exposición se repitió cada 5 días, durante 72 días.

Después de la aplicación del triclorfón, se observó el comportamiento de los peces durante las primeras 2 horas en forma continua y a los peces que murieron, inmediatamente se les practicó la necropsia, según la técnica descrita por Amlacher (2), separando hígado, riñón, branquias, intestino, bazo, corazón y encéfalo, para su posterior observación histopatológica. Los peces sobrevivientes se sacrificaron mediante la sección de la médula espinal y se les practicó la necropsia.

Observación histopatológica

Se colectaron muestras de hígado, riñón, branquias, intestino, bazo, corazón y encéfalo, se fijaron en formol al 10%, para su posterior procesamiento por inclusión en parafina, corte con microtomo y tinción con hematoxilina-eosina, y P.A.S. para glucógeno. El procesamiento de órganos se llevó a cabo en el Departamento de Citología e Histología de la F.M.V.Z. de la U.N.A.M. La observación histopatológica se realizó con el microscopio de luz. (11)

Estadística

Los resultados obtenidos se manejaron estadísticamente por me-

* neguvon de Bayer de México, S.A. de C.V.

dio del análisis de Probabilidad exacta de Fisher (23), de acuerdo con la fórmula:

$$P = \frac{(A+B)! (C+D)! (A+C)! (B+D)!}{N! A! B! C! D!}$$

Donde: A=frecuencia de casos positivos en el grupo tratado.
 B=frecuencia de casos negativos en el grupo tratado.
 C=frecuencia de casos positivos en el grupo testigo.
 D=frecuencia de casos negativos en el grupo testigo.
 N=número total de observaciones individuales.

R E S U L T A D O S

La signología clínica presente en los peces después de cada intoxicación, fue únicamente una ligera disnea, mostrada por boqueo en la superficie del agua; los testigos permanecieron sin cambios.

En el cuadro 1 se observan las lesiones macroscópicas y los valores de la Probabilidad exacta de Fisher, al contrastar la frecuencia de presentación de lesiones en los grupos A&C y B&C.

CUADRO 1

Lesiones macroscópicas	Afectados/total				
	A	A&C	B	B&C	C
Hemorragias en aletas y boca	2/10	.6437	0/10	1	0/10
Friabilidad y palidez hepática	10/10	.0054*	10/10	.0054*	4/10
Friabilidad y palidez renal	9/10	.00014*	9/10	.00014*	0/10
Palidez branquial	9/10	.000002*	8/10	.00035*	0/10
Enrojecimiento esplénico	8/10	.00035*	8/10	.00035*	0/10
Enrojecimiento encefálico	4/10	.315	5/10	1	5/10
Enrojecimiento intestinal	10/10	.0000001*	10/10	.000002*	0/10

$$\alpha=0.05$$

* diferencia estadísticamente significativa ($p < \alpha$)

De los resultados del análisis estadístico se puede observar que no hay diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$) en la frecuencia de presentación de las hemorragias en aletas y boca, y del enrojecimiento encefálico, en los grupos A&C y B&C, lo que nos indica que estas lesiones no pueden ser atribuidas al triclorfón.

Los peces intoxicados fueron muriendo gradualmente, permitiendo observar un proceso degenerativo en hígado y riñón. En el hígado, se observó una degeneración turbia e hidrópica en los peces que murieron al inicio del bioensayo, a los 21 y 26 días de intoxicación; los demás animales intoxicados crónicamente murieron hasta el día 55, 57 y 72 del bioensayo, presentando una degeneración grasa. Los testigos fueron sacrificados a los 72 días, observándose una degeneración hidrópica.

Respecto al proceso degenerativo del riñón, se observó que los peces intoxicados que murieron el inicio del bioensayo, los días 21 y 26, presentaron degeneración vacuolar del epitelio tubular; en los animales que murieron hasta el día 55 predominó la degeneración hidrópica del epitelio tubular y los peces muertos los días 57 y 72, presentaron principalmente una degeneración turbia del epitelio tubular, misma lesión observada en los peces testigos, que fueron sacrificados el día 72 del bioensayo.

En el cuadro 2 se observan las lesiones microscópicas y los valores de la Probabilidad exacta de Fisher, al contrastar la frecuencia de presentación de lesiones en los grupos A&C y B&C.

CUADRO 2

Lesiones microscópicas	Afectados/total				
	A	A&C	B	B&C	C
Degeneración turbia hepática	0/10	1	2/10	.6834	0/10
Degeneración hidrópica hepática	4/10	.0054*	3/10	.0015*	10/10
Degeneración grasa hepática	6/10	.0054*	5/10	.0162*	0/10
Degeneración turbia del epitelio tubular renal	1/10	.0000025*	1/10	.0000025*	10/10
Degeneración vacuolar del epitelio tubular renal	3/10	.1052	4/10	.043*	0/10
Degeneración hidrópica del epitelio tubular renal	6/10	.0054*	5/10	.0162*	0/10
Degeneración vacuolar del epitelio branquial, con necrosis laminar	10/10	.0000001*	10/10	.0000001*	0/10
Depleción linfoide esplénica	8/10	.00035*	7/10	.0015*	0/10
Infartos superficiales esplénicos	6/10	.0054*	5/10	.0162*	0/10
Congestión aguda encefálica	5/10	.0162*	8/10	.236	10/10
Congestión y degeneración mucosa intestinal	9/10	.0000025*	8/10	.00035*	0/10
Hemorragias intersticiales en miocardio	2/10	.6434	2/10	.6434	0/10

$\alpha=0.05$

* diferencia estadísticamente significativa ($p < \alpha$)

El análisis estadístico de las lesiones microscópicas nos indica que la frecuencia de presentación de la mayoría de las lesiones de -- los grupos A&C y B&C son estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$), -- excepto en la degeneración turbia hepática, la degeneración vacuolar del epitelio tubular renal, la congestión aguda encefálica y las hemorragias intersticiales en miocardio; por lo que estas lesiones no -- pueden ser atribuidas a la intoxicación por triclorfón.

DISCUSION

La ligera disnea presente en los peces intoxicados, coincide con lo reportado en los animales domésticos que sufren el mismo problema. (6, 17, 27)

Las lesiones macroscópicas presentes en los peces, se encuentran también en los animales domésticos intoxicados por triclorfón; respecto a la palidez de las branquias, es debido probablemente al proceso degenerativo que presenta este órgano. (4, 6, 17, 27)

En el caso, de las lesiones microscópicas, Walter e Israel (30) indican que el proceso degenerativo del hígado, causado principalmente por hipóxia, se inicia con una degeneración turbia, seguida por una vacuolar, continuando una hidrópica y termina con la muerte celular, semejante a lo observado en este bioensayo con los 3 grupos, que provenían del mismo lugar; pero también señalan otro proceso degenerativo producido generalmente por sustancias tóxicas, en el cual únicamente hay degeneración grasa, lesión predominante en esta intoxicación, esto nos indica que la lesión degenerativa turbia, vacuolar e hidrópica presente en los peces, se debe a la hipóxia y no se pueden atribuir al organofosforado. Casarett y Doull (5) indican que los organofosforados actúan sobre los hepatocitos, alterando las mitocondrias, produciendo lesión hipóxica en la célula, lesión observada en los grupos experimentales al inicio de la intoxicación; pero también informan que afecta a retículo endoplásmico rugoso, haciendo que se

acumulen los triglicéridos dentro del hepatocito, provocando una degeneración grasa, lesión que se presentó en los grupos experimentales al final de la intoxicación, la cual podemos atribuirle al triclorfón.

Los peces intoxicados presentaron principalmente degeneración -hidrópica del epitelio tubular renal, debido a la acción del organofosforado sobre las mitocondrias de estas células epiteliales; pero se observó cierta recuperación tisular en los últimos peces muertos, probablemente relacionado con la cronicidad de la intoxicación, encontrándose una degeneración turbia del epitelio tubular renal, misma lesión reportada en los animales domésticos que sufren esta exposición. (5, 6, 17, 27)

Jauch (8) reporta que en una intoxicación aguda, se presentó -- una severa hiperplasia del epitelio branquial en Tilapia leucostita, pero en esta exposición crónica se observó una degeneración vacuolar del epitelio branquial, con necrosis laminar en todos los peces intoxicados, debido posiblemente al contacto directo y prolongado del triclorfón con este órgano.

La depleción linfoide del bazo observada en este bioensayo, se encuentra indicada en los animales domésticos afectados por organofosforados; pero la presencia de infartos superficiales no ha sido reportada, debida posiblemente a una embolia grasa provocada por el estado de tensión o degeneración grasa hepática, presente en los peces intoxicados, que produce un aumento de grasa en la sangre. (1, 27)

La congestión aguda del encéfalo, presente en los peces, se encuentra reportada en los animales domésticos, pero en este bioensayo parece ser que es debido a la forma de sacrificio y obtención del en céfalo, ya que en todos los testigos presentaron esta lesión. (2, 4)

La congestión y las hemorragias cardiacas e intestinales, presen tes en los peces intoxicados, es la misma señalada en los animales do mésticos afectados por triclorfón, pero no la degeneración mucosa intestinal, debida probablemente al efecto tóxico del órganofosforado - sobre la mucosa intestinal. (6, 17, 27)

La frecuencia de presentación de la mayoría de las lesiones ma croscópicas y microscópicas, encontradas en esta intoxicación experimental, mostraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$), cuando se contrastaron con las frecuencias presentadas en el grupo tes tigo; por lo tanto son debidas a la exposición crónica por triclorfón.

Conclusiones

- 1) Una ligera disnea es el único signo clínico presente en Tila pia mossambica después de cada intoxicación por triclorfón.
- 2) La friabilidad y palidez hepática y renal, la palidez branquial y el enrojecimiento intestinal y esplénico; son las lesiones ma croscópicas producidas por esta intoxicación.
- 3) Esta intoxicación produce un cuadro histopatológico de degeneración grasa hepática, degeneración hidrópica del epitelio tubular renal, degeneración vacuolar branquial, depleción linfoide e infartos superficiales esplénicos, congestión y degeneración mucosa intestinal.
- 4) La frecuencia de presentación de estas lesiones macroscópicas y microscópicas son estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

5) La ligera disnea, las lesiones macroscópicas, la depleción linfoide esplénica y la congestión intestinal; observadas en este bioensayo, coinciden con lo reportado en los animales domésticos - intoxicados con triclorfón.

L I T E R A T U R A C I T A D A

1. Albert, L.: Residuos de plaguicidas órganoclorados en leche materna y riesgo para la salud. Bol. Of. Sanit. Panam., 91: 15-29 (1981).
2. Amlacher, E.: Textbook of fish diseases, 1th ed. T.F.H. Publications, Inc., Nueva Jersey, U.S.A., 1970.
3. Arrignon, J.: Ecología y piscicultura de aguas dulces, 1th ed. Mundi-Prensa, Madrid, España, 1979.
4. Buck, W.B., Osweiler, G.D. and Van Gelder, G.A.: Clinical and diagnostic veterinary toxicology, 1th ed. Kendall/Hunt Publishing Company, Iowa, U.S.A., 1973.
5. Casarett, L.J. and Doull, J.: Toxicology, 1th ed. Macmillan Publishing Co., Inc., New York, U.S.A., 1975.
6. Clarke, M.L., Harvey, D.G. and Humphrey, D.J.: Veterinary toxicology, 2th ed. Bailliére Tindall, London, Great Britain, 1981.
7. El manual Merck de veterinaria, 2th ed. Merck C.O., Rahway, E.U.A., 1981.
8. Jauch, D.: Gill lesions in cichlid fishes after intoxication with the insecticide fenthion. Experientia, 35: 371-372 (1979).
9. Kabeer, I. and Ramana, K.V.: Correlation between subacute toxicity of malathion and acetylcholinesterase inhibition in the teleost Tilapia mossambica. Bull. Environm. Contam. Toxicol., 24: 711-718 (1980).

10. Kabeer, I. and Ramana, K.V.: Toxicity of malathion to the teleost Tilapia mossambica. Bull. Environm. Contam. Toxicol., 24: 870-874 (1980).
11. Lee, G. and Luna, H.T.: Histologic staining methods of the armed forces institute of pathology, 3th ed. Mc. Graw-Hill Book Company, New York, U.S.A., 1968.
12. Manual de piscicultura. Dirección General de Acuacultura. Dirección General de Planeación. Secretaria de Pesca, México, D.F., 1982.
13. Manual técnico para el cultivo de la tilapia. Dirección General de Acuacultura. Dirección General de Planeación. Secretaria de Pesca, México, D.F., 1982.
14. Matton, P. and Laham, Q.N.: Effect of the organophosphate dylox - on rainbow trout larvae. J. Fish. Res. Bd. Canad., 26: 2193-2200 (1969).
15. Meyer, L.: Farmacología y terapéutica veterinarias, 1th ed. Unión Tipográfica Editorial Hispano-Americana, México, D.F., 1982.
16. Ortiz, F.: La pesca en México, 1th ed. Fondo de Cultura Económica, México, D.F., 1975.
17. Radeleff, R.D.: Veterinary toxicology, 2th ed. Lea Febiger, Philadelphia, U.S.A., 1970.
18. Rath, S. and Misra, B.N.: Age-related changes in oxigen consumption by the gill, brain and muscle tissues of Tilapia mossambica Peters exposed to dichlorvos. Envirom. Pollut. Ser. A, 23: 95-101 (1980).
19. Rath, S. and Misra, B.N.: Changes in nucleic acids and protein -- content of Tilapia mossambica exposed to dichlorvos. Indian J. --

- Fish., 27: 76-81 (1980).
20. Rath, S. and Misra, B.N.: Toxicological effects of dichlorvos on brain and liver acetylcholinesterase activity of Tilapia mossambica, Peters. Toxicology, 19: 239-245 (1981).
 21. Reichenbach, H. y Klinke, N.: Trabajos sobre histopatología de los peces, 1th ed. Acribia, Zaragoza, España, 1977.
 22. Roberts, R.J.: Patología de los peces, 1th ed. Mundi-Prensa, Madrid, España, 1981.
 23. Siegel, S.: Estadística no paramétrica, 2th ed. Trillas, México, D.F., 1978.
 24. Sinderman, C.J.: Disease diagnosis and control in north american marine aquaculture, 1th ed. Elsevier Scientific Publishing Company, New York, U.S.A., 1977.
 25. Siva, K. and Ramana, K.V.: Effect of sublethal concentrations of methyl parathion on selected oxidative enzymes and organic constituents in the tissues of the freshwater fish, Tilapia mossambica (Peters). Curr. Sci., 48: 526-528 (1979).
 26. Siva, K. and Ramana, K.V.: Regulation of phosphorylases and aldolases in tissues of the teleost (Tilapia mossambica) under methyl parathion impact. Bull. Environm. Contam. Toxicol., 31: 474-478 (1983).
 27. Smith, H.A. y Jones, T.C.: Patología veterinaria, 1th ed. Unión Tipográfica Editorial Hispano-Americana, México, D.F., 1980.
 28. Srinavasa, K., Dhananjaya, M., Sreeramulu, C. and Swami, K.S.: - Changes in carbohydrate metabolism in tissues of freshwater mussel (Lamellidens marginalis) exposed to phosphamidon. Bull. En-

- viromm. Contam. Toxicol., 30: 219-222 (1983).
29. Verma, S.R., Bansal, S.K., Gupta, A.K., Pal, N., Tyagi, A.K., Bhatnagar, M.C., Kumar, V. and Dalela, R.C.: Bioassay trials with twenty three pesticides to a fresh water teleost, Saccobranchus fossilis. Water Res., 16: 525-529 (1982).
30. Walter, J.B. and Israel, M.S.: General pathology, 4th ed. — Churchill Livingstone, London, Great Britain, 1975.

