

77
2 ej.



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores CUAUTITLÁN

ESTUDIO HISTOLOGICO DEL EFECTO DE LA ADICION DE
NIVELES REDUCIDOS DE SAL COMUN EN LA PIEL DE LA
CARPA DE ISRAEL (CYPRINUS CARPIO VAR. SPECULARES)

T E S I S

Que para obtener el Título de
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P r e s e n t a

LUIS FERNANDO IRUEGAS EVARISTO

Asesor: M.V.Z. Danilo Méndez Medina



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

ESTUDIO HISTOLOGICO DEL EFECTO DE LA ADICION DE NIVELES REDUCIDOS DE SAL COMUN EN LA PIEL DE CARPA DE ISRAEL (CYPRINUS CARPIO VAR. SPECULARIS).

INDICE

RESUMEN	2
I.-INTRODUCCION	4
1.1.-Piscicultura y sanidad piscícola	6
1.2.-Histología de la piel de la carpa	8
1.3.-Inmunidad y resistencia de los teleosteos	11
1.4.-Moco cutáneo	15
1.5.-El uso de soluciones de sal	19
II.-OBJETIVO	22
III.-HIPOTESIS	23
IV.-MATERIAL Y METODOS	24
V.-RESULTADOS Y DISCUSION	26
VI.-CONCLUSIONES	30
VII.-BIBLIOGRAFIA	31
APENDICE	
AGRADECIMIENTOS	

RESUMEN

En este trabajo se trata de determinar la acción de la sal común sobre la piel de peces, como medida de control de ectoparásitos.

Con el fin de apreciar su efecto sobre la irrigación, el comportamiento de los linfocitos y las células epidérmicas secretorias, se dividieron dos lotes de 20 carpas de Israel de primer verano cada uno, y se aplicó una exposición prolongada (16h) a una solución débil de cloruro de sodio (0.2% p/v) a un lote, y se extrajeron en periodos progresivamente más largos (0.75, 1.5, 6, 16h) grupos de 3 a 4 ejemplares para su examen histológico. Se hizo paralelamente el mismo procedimiento con un grupo testigo, en el que no se adicionó sal al agua.

En los resultados no se observaron en ninguno de los ejemplares cambios vasculares apreciables, como tampoco en la cantidad de linfocitos en lamina propia y en la epidermis. En la epidermis se obtuvieron diferencias individuales muy amplias en la proporción de células serosas "llenas" con respecto al total de células serosas (CSL/CST), y en la cantidad de células mucinosas (CM).

Se trató de determinar que estas diferencias reflejaran en algún grado la pérdida de contenido secretorio (disminución de la proporción de células serosas llenas, y de la cantidad de células mucinosas), debido al tratamiento. Se analizó la diferencia mediante regresión lineal, y no encuentro diferencia importante entre ambos grupos (9.4265) de CSL/CST en la intersección con el eje de las ordenadas, pero poca en la pendiente de las rectas; y en cuanto a la cantidad de CM las rectas tuvieron la intersección en el mismo punto, pero gran diferencia en las pendientes, siendo mayor la del grupo testigo. Sin embargo las diferencias entre los tratamientos son menores que las diferencias mayores dentro de un grupo, lo cual es un indicio de que el tratamiento tiene escaso efecto en los

parametros evaluados, y este hecho exige una cantidad mayor de muestras para obtener estadísticamente conclusiones mas sólidas. Se describe la histología de la piel de la carpa de Israel (cortes sin escamas), y se revisa la información sobre mucinas, inmunología, uso de soluciones de sal común e importancia económica de la carpa de Israel (Cyprinus carpio var. specularis).

I.- INTRODUCCION

La carpa de Israel se introdujo en México desde hace tiempo, por el Sr. Obregón, y constituye uno de los cultivos con mejores expectativas de desarrollo. Si bien la mayoría de la gente no aprecia a estos peces por su sabor, se conocen métodos para hacerlos muy apetecibles. Sin embargo, el cultivo se ha hecho históricamente en países más septentrionales que el nuestro, y gran parte de las técnicas que usan allá no son igualmente funcionales acá, por lo que se hacen necesarios estudios para implantar métodos adecuados de manejo, reproducción, alimentación, etc.

El cultivo intensivo de peces tiene entre otros problemas el de las infestaciones con ectoparasitos, las cuales pueden afectar la producción, y llegan a causar mortalidades muy altas.

El tratamiento más popular para el control de las infestaciones con ectoparasitos en los peces de cultivo, es la inmersión de estos en soluciones de sal durante poco tiempo. Como esta práctica ofrece inconvenientes, tales como molestias y daño a los peces y bastante uso de mano de obra, se consideran como posibles sustitutos los baños prolongados en soluciones débiles de sal (13,14,23,35,36).

Se ha sugerido que estos tratamientos actúan sobre la secreción mucinosa, en vez o además del efecto tóxico sobre el parásito (10,38). Se intenta mediante un experimento observar el posible efecto sobre la piel de la carpa de Israel de una solución débil de sal (0.2% p/v) aplicada durante 16 horas, que es el tiempo promedio de duración de algunas maniobras de transporte de peces. El resultado ayudaría a evaluar este tipo de

tratamiento.

1.1.- Piscicultura y Sanidad Piscícola.

Se ha estimado que las pesquerías mundiales contribuyen a la alimentación humana con el 1% del total consumido, y que podríamos aspirar cuando mucho a quintuplicar esa cantidad, dada la capacidad finita de este recurso (42).

Por lo tanto la recolección y cacería indiscriminadas de organismos marinos como fuente de alimento puede llegar a disminuir su importancia relativa. Ofrece gran esperanza en cambio, el manejo de ambientes acuáticos de pequeña extensión, litorales o intracontinentales, para obtener de ellos la mayor productividad de alimento económicamente posible. Aunque en nuestra cultura tal procedimiento resultaría mas bien exótico, en realidad es tan antiguo como otras formas de agricultura, pues existen evidencias de su practica entre los chinos desde 2500 A.C., ademas de haber tambien claras muestras en las antiguas culturas de occidente (Roma, Egipto), y en México prehispánico, del uso de él (24). Actualmente se realizan explotaciones acuaculturales (del lat. agua - agua y cultura - cultivo) en varias regiones de todos los continentes, a varios niveles tecnológicos y económicos (5).

Las condiciones del cultivo, sobre todo las mas intensivas favorecen la presentación de enfermedades infecciosas, por la concentración de los peces y por el efecto que ello tiene en el agua que habitan.

Si bien la totalidad de las enfermedades infecciosas de los peces provienen de reservas silvestres, es en los peces de cultivo en los que se observan y reportan con más frecuencia (16).

Los tratamientos preventivos y curativos para las distintas enfermedades de los peces, constituyen una parte considerable del gasto de inversión

en las explotaciones piscícolas. Este gasto consiste en: a) el precio de reactivos y fármacos; b) cantidades variables de mano de obra; c) uso de instalaciones, agua y otros recursos para efectuar los tratamientos.

Ya que aún es escaso el conocimiento que tenemos sobre los agentes químicos de utilidad terapéutica y profiláctica, el cultivador debe ser bastante cuidadoso para evitar en lo posible la aparición de brotes de enfermedades, en vez de tener que combatirlos cuando ya se han presentado.

Esta bien demostrado el valor que tienen ciertas medidas para prevenir las enfermedades, tales como una nutrición enriquecida antes de periodos críticos, el control de las fuentes de ingreso y del drenaje del agua de los estanques, y el evitar el contacto de poblaciones de peces de distinto origen, sin un periodo de adaptación gradual (1,15). Todas estas precauciones, sin embargo, no son sustituto, sino complemento de la quimioterapia.

La carpa común es bastante resistente a condiciones de manejo muy duras, y por ello mismo las infecciones de tipo secundario no son tan comunes como en otras especies. A este hecho se suman otras dos circunstancias para hacer de esta especie una de las de mayor expectativa de crecimiento en el futuro próximo. La primera es que constituye un cultivo capaz de aprovechar materiales indigestibles para los monogástricos, por lo que realmente contribuye a la alimentación humana, a la vez que sirve como receptor de deshechos agropecuarios. La otra es que existe ya tecnología para desarrollar explotaciones de grandes dimensiones con alta rentabilidad.

1.2.- Histología de la piel de la carpa.

La piel de los teleosteos difiere considerablemente del modelo general de los mamíferos. Los motivos principales de ello son la vida acuática y el carácter poiquilotérmico de los peces. El papel protector de la piel parece ser de primera importancia, ya que la pérdida de su continuidad conduce invariablemente a infecciones, y en ocasiones a la muerte (2,15). La piel cubre la totalidad del cuerpo de la carpa, exceptuando los orificios naturales. Las escamas también están cubiertas con piel y en el caso de la variedad de Israel o carpa espejo, estas solo se encuentran en algunas regiones del tegumento, que son los lados de la línea dorsal media, y a lo largo de ambas líneas laterales, discontinuamente y también sobre la línea media ventral. Por esa razón, y porque es más usual encontrar lesiones en zonas sin escamas, las descripciones que preceden a este estudio se han hecho en regiones desprovistas de escamas.

La piel puede dividirse en epidermis, dermis y subcutis. La capa más externa es la epidermis. Su grosor varía en cada parte del cuerpo, encontrándose más gruesa hacia la cabeza y adelgazándose hacia la cola. Se distingue la capa de Malpighi, la cual se compone del estrato germinativo, o basal, y el estrato espinoso. El primero se compone de células cilíndricas, con núcleo ovalado, rico en cromatina, y el otro estrato se divide en capa inferior, formada por células multangulares con núcleo ovalado y la superior, que coincide con la capa de células mucosas. Entre el estrato germinativo y el espinoso se encuentran linfocitos dispersos.

La siguiente es la capa superficial, de células mucosas. En realidad, hay células de secreción serosa, además de las mucosas. Este tipo de células puede encontrarse en actividad o "llenas", ricas en material secretorio; o bien "vacías" o en reposo, en las que se aprecia el núcleo, de tipo

epitelial y vacuolas periféricas. La morfología es variada, encontrándose con forma multangular, caliciforme y con formas de barril, de bastón y de vejiga. Se dice que las especies de peces que con pocas escamas tienen muchas glándulas mucosas (30), y las carpas no son la excepción de esta regla.

Las células de secreción mucosa dan reacción positiva con la técnica de PAS, con azul de alciano y con café de Bismarck; son holócrinas, a diferencia de lo que ocurre normalmente; tienen núcleo ovalado, generalmente plano y basal. Su secreción es pseudomucina (formada por mucopolisacaridos ácidos y neutros), y en forma de fibras que al contacto con el agua se hinchan constituyendo la sustancia viscosa.

Las células serosas son de reacción basófila con la coloración de hematoxilina y eosina, y su secreción es negativa a PAS, azul de alciano y café de Bismarck. Tienen contenido homogéneo y un solo núcleo (excepcionalmente dos). La capa plano-celular es la exterior de células aplastadas.

En la epidermis existen dispersos receptores sensoriales aferentes llamados "yemas gustativas", que constan de terminales nerviosas que se acomodan como las capas de una cebolla. Estos conectan con la capa basal y el "stratum papillare" de la dermis. No deben confundirse con la línea lateral, que constituye un órgano sensorial común en los peces.

La dermis, fundamentalmente tejido conectivo fibroso, tiene tres niveles, según la disposición de las fibras. La "membrana terminans" es muy delgada, homogénea, de estructura laminar fina con cromatóforos (queratoforos, iridocitos), melanocitos y células polimorfonucleares. También hay fibras elásticas dispuestas laxamente. Esta capa emite papilas hacia la epidermis. En seguida se encuentra el "stratum laxum".

que contiene varios tipos celulares, vasos sanguíneos y linfáticos, fibras nerviosas de las ramas gustativas y fibras de colágeno perpendiculares a la superficie. En verano pueden observarse de 3 a 6 capas de adipocitos, y a fines del invierno (en climas templados) estos se encuentran muy deprimidos. La siguiente capa es muy gruesa y sólida. Es el "stratum compactum", formado por haces de fibras de colágeno. Se ha citado una relación inversa entre el grosor del "stratum compactum" y la escamación (31). Bajo la dermis está el subcutis, formado por la "pars reticularis", de tejido fibroso y se continúa con los mioseptos de la masa muscular subyacente.

Las arterias, partiendo de los músculos, atraviesan el subcutis, y donde este hace límite con la dermis, manda ramificaciones hacia la dermis y hacia el subcutis (45). Las arterias que van hacia la dermis se anastomosan al nivel de las papilas, y de allí salen las arteriolas finales. Estas se congestionan en época de reproducción y también como consecuencia de condiciones ambientales desfavorables, y se hacen visibles desde el exterior del pez (45).

1.2.- Resistencia e Inmunidad.

Los mecanismos que protegen a los teleosteos de organismos parásitos o posibles invasores tienen una amplia diversidad. Destaca el sistema linfóide, responsable de la inmunidad adquirida, pero la mayoría de los sistemas o aparatos del organismo participan de alguna manera en esta tarea. Se resumirán en seguida los mecanismos de resistencia e inmunidad de los peces.

Los procesos de inmunidad natural o "resistencia" se distinguen por ser mas bien inherentes que inducidos, y constituyen las barreras inmediatas que encuentra cualquier organismo invasor.

Algunos fenómenos que se efectúan en los peces con propósitos diferentes a la defensa, también producen efectos de protección.

Tal es el caso de la secreción de jugo gástrico cuyo PH y enzimas son muy destructivos para muchas bacterias, virus y parásitos.

Otros mecanismos dirigidos especialmente a la defensa pero no específicamente en contra de algún organismo, se han reconocido en los peces (2,11,15,39,41), entre los que puede mencionarse a la inflamación, con la cual el pez intenta aislar al causante de un daño y permitir el inicio de la reparación (2). Esta respuesta es esencialmente similar a la de los mamíferos, consistiendo las principales diferencias en tiempo y magnitud (15). Las células inflamatorias asemejan bastante a sus contrapartes de los mamíferos, aunque en el caso de monocitos y macrófagos, así como de granulocitos, se ha usado una nomenclatura confusa por varios autores, debido a algunas diferencias morfológicas e histoquímicas con las células de los mamíferos (38). En las carcas se ha observado actividad fagocitaria en melanomacrófagos, en heterófilos y eosinófilos, al igual que en los trombocitos, aunque no se sabe si en estos últimos hay digestión posterior (39).

La fagocitosis es relativamente insensible a la temperatura, por lo que se vuelve mas importante a bajas temperaturas, cuando la respuesta especifica no es muy efectiva (41). En los teleosteos se han reconocido tambien mecanismos humorales inespecificos de defensa, en suero y en secreciones (2,15,16,21,26,34,37). Estos se han reconocido por comparaci3n con moléculas conocidas en los mamíferos. Hay reportes de hallazgos en teleosteos de complemento (2,15,21,37,40), del cual se piensa que tiene menos componentes que el de los mamíferos, es transferible entre especies mas o menos relacionadas, con excepciones, y que comparte ciertas características con el complemento de cove (15,39,40).

Se ha encontrado interfer3n en la sangre de peces 2 horas despues de haberlos inoculado con virus infeccioso (2,39), del cual se sabe que es especifico de especie. La lisozima se ha detectado en el suero, moco y en células fagocitarias (16,2,34,39). Al inocular una carpa con antígeno bacteriano, el nivel máximo de actividad lisozimica coincide con el pico de anticuerpos. Otras sustancias protectoras presentes en peces son las hemaglutininas naturales (no inmunoglobulinas) y la proteina C-reactiva (38).

La inmunidad adquirida, es la que puede ser inducida por algun agente, mediante la proliferaci3n de células ocupadas de ejecutar el proceso inmune. En ella se reconocen la actividad "humoral" y la "celular". De la primera puede responsabilizarse a los linfocitos tipo "B", y de la respuesta celular se encargan otras células de estrecha relación ontogénica con las anteriores y llamadas linfocitos "T" (2).

El sistema linfoide se encuentra en todas las clases de peces (10). Se localiza en el sistema retículo-endotelial, que es ontogénica y filogenéticamente mas antiguo (15). Los peces actinopterioides están en

una etapa intermedia de la evolución del sistema linforeticular. En este grupo se encuentra un timo bien desarrollado, un bazo, prónefros linfocitréticos, riñones hematopoyéticos, una amplia variedad de líneas celulares linfoides y plasmocíticas, además de una respuesta inmune vigorosa y anamnésica. No se encuentran, sin embargo, ganglios linfáticos, médula ósea, bolsa de Fabricio, ni poblaciones de células plasmáticas intestinales (15,16). La respuesta inmune es comparable a la que ocurre en mamíferos, si es ponderada con la temperatura a que ocurre. En carpas mantenidas a 24 C (temperatura óptima) se encontraron en bazo, prónefros y mesonefros células formadoras de placas de hemólisis (CFP) con el método de Jerne y Nordin, modificado por Rijkers et al (1980) a los 4 días después de ser inoculadas con eritrocitos de carnero. Las cantidades máximas de CFP en el bazo se alcanzaron a los 7 días y a los 8 en pró y mesonefros. En carpas mantenidas a 8 C se alcanzaron cantidades similares de CFP, aunque no fueron encontradas las primeras hasta los 57 días. Asimismo mientras que los peces mantenidos a 24 C pudieron ofrecer una respuesta anamnésica 50 veces mayor reinoculando al mes de la primera inyección, a 18 C la respuesta secundaria fue igual a la primaria. La depresión de la producción de anticuerpos al reducirse la temperatura no corresponde al abatimiento fisiológico general propio de los poiquilotermos, sino que hay etapas de la respuesta inmune más sensible a los cambios de temperatura (41).

Ha. observaciones que permiten suponer que la respuesta celular se comporta de manera similar a la respuesta humoral ante cambios de temperatura (41).

Los órganos linfoides de los peces tienen marcadas diferencias con los de los mamíferos. Los riñones (pronefros y mesonefros) tienen funciones propias de órganos linfoides primarios, así como de órganos linfoides periféricos. Es decir, que pueden considerarse como análogos

filogenéticos de la médula ósea y de los ganglios linfáticos. El riñón craneal no tiene actividad excretoria en ningún teleosteo adulto.

El bazo es absolutamente prescindible en casi todas las especies en las que han efectuado esplenectomías experimentales, aunque realiza funciones de maduración y almacenamiento de eritrocitos y granulocitos. El timo, a juzgar por los resultados de timectomías en edades tempranas, se encarga de estimular linfocitos "T", y también se encuentran en él células productoras de anticuerpos (4,31,38). También se encuentran en la mucosa intestinal linfocitos en forma individual, o en grupos hasta de seis, entre las células epiteliales y la lamina propia (11).

En peces evolutivamente inferiores -entre ellos los precursores de los vertebrados superiores- se han encontrado anticuerpos de tipos similares a IgM y a IgG, y en ambos tipos cadenas con coeficientes de sedimentación variable entre especies (3,15). En salmonidos, carpas y otros teleosteos se ha descrito solo un tipo de inmunoglobulina, un poco más ligera que las IgM humanas. Se han identificado como tetrameros algo similares a las IgM de los humanos (2,7,17,22,34).

1.4.- Moco cutáneo.

Conviene explicar brevemente la naturaleza de las secreciones mucosas y algunas de sus propiedades. El estudio de la composición química del moco comienza cuando el médico inglés John Bostock observó en 1805, que el moco, la gelatina y la albumina eran cosas distintas. Gmelin (1820) demostró que el moco intestinal se precipitaba en ácido acético en frío. Scherer (1846) caracterizó a las mucinas en general por esa cualidad (20).

Desde entonces, debido a la amplia distribución en el reino animal de sustancias con cualidades estructurales similares, ha habido una multiplicidad enorme de términos, que ha dado lugar a gran confusión.

Mayer (1938) introdujo el término "mucopolisacárido" para describir a polisacáridos que contienen hexosaminas de origen animal que pueden ocurrir o bien en estado puro, o como sales de proteínas. El prefijo "muco" es para relacionar con "mucus", que es el término fisiológico usual para referirse a una secreción viscosa. El término se aplicó posteriormente a otros tipos de sustancias como glicoproteínas y glicolípidos, que luego fueron llamadas pseudomucinas. Ahora es común aplicar la palabra a los heteroglicanos que contienen residuos de ácido urónico y hexosamina (8). Spicer y sus colaboradores (1965) han propuesto una nomenclatura y clasificación muy prácticas. Comienza llamando genéricamente mucosustancia a los componentes del moco y de la sustancia amorfa intercelular. Estas deben caracterizarse nombrando su localización fisiológica y distinguirles como sustancias neutras, mucopolisacáridos, sulfomucinas y sialomucinas. Por costumbre, las mucosustancias de los tejidos conectivos se llaman mucopolisacáridos, y las de los epitelios, mucinas (28). Hay varios estudios sobre la composición de la mucina epidérmica de los peces (9,16,29,30,45). Se

dice que son similares a las de las secreciones de los mamíferos. Se han encontrado glicoproteínas que contienen ácido siálico (sialomucinas), mucopolisacáridos sulfatados (sulfomucinas), y mucosustancias neutras.

Se acepta que los métodos histoquímicos no dan información suficiente acerca de la naturaleza química de los constituyentes del moco (23), por lo que no deben mezclarse las nomenclaturas de uso químico y las histoquímicas.

En la bibliografía se dice muy poco acerca del significado biológico de las distintas mucosustancias. Un caso es el de Mittal y colaboradores (1975), que atribuyen a la presencia de sialomucinas en las células epidérmicas y en el moco de Channa striata la resistencia a lluvias prolongadas. Por otro lado, Jakowska (1963) cita un trabajo en el que se buscaron diferencias en la composición de aminoácidos del moco de especies muy relacionadas, unas susceptibles y otras no susceptibles a la invasión bacteriana (E. salmonicida), y no se encontraron.

En el moco cutáneo, se ha detectado por varios investigadores la presencia de lisozima, directa e indirectamente (16,28,34,35).

Harnel et al. en 1976 sugieren por primera vez la presencia de complemento en el moco epidérmico. Anderson (1974) menciona que aparte del mecanismo de continuo desgaste y sustitución del moco cutáneo, que arrastra detritos y organismos consigo, el moco posiblemente tenga lisozima, enzimas proteolíticas y niveles desfavorables (para invasores) de pH, y dice también que en la epidermis pueden observarse células neutrofílicas migratorias. Se han demostrado histoquímicamente también células productoras de proteínas básicas en Channa striata (31).

En cuanto a los mamíferos, no existe en ellos el moco cutáneo, pero se conoce en ellos un mecanismo de producción de anticuerpos secretorios (32), que en el moco intestinal se componen esencialmente de moléculas de tipo IgA (6), proveniente de los linfocitos y células plasmáticas de la

lámina propia intestinal. Esta molécula es un dímero, que además tiene una pieza secretoria, que le permite resistir a las condiciones gastrointestinales (pH ácido, y enzimas proteolíticas). En el moco intestinal de los teleosteos también se encuentran anticuerpos (18,22,27), aunque estos se comportan más bien como IgM, al igual que las inmunoglobulinas circulantes de esos peces. Se ha visto que tras la inoculación repetida por vía oral de antígenos de Vibrio anguillarum en la platija, se encontraron niveles más altos de anticuerpos en el moco intestinal que en el suero (20). No se han encontrado células plasmáticas en la lámina propia de los peces, pero sí linfocitos, tanto en la lámina propia como entre las células epiteliales intestinales (11). Fletcher y White (1973) citan a Sniezko, quien sugiere que los anticuerpos en el moco se debían a que los antígenos bacterianos eran transportados por leucocitos migratorios a bajo y pronefros y después de producidos los anticuerpos eran trasudados o secretados.

Algunos de los autores, sin embargo, parecen apoyar la posibilidad de la producción local de los anticuerpos (12,34,43), tanto en intestino como en la piel, dado que en ambos sitios se encuentran linfocitos (11,29), y hay trabajos en los que se afirma que estos son productores y secretores de anticuerpos, tal vez más importantes que las células plasmáticas (Ourth, 1980, citando a Manning y Turner, 1976). Tras inoculaciones parenterales de antígenos celulares en peces, se han detectado aglutininas y precipitinas en el moco cutáneo. Esto no contradice necesariamente la posibilidad de la producción local. Mas bien conduce a pensar que ambos procesos actúan simultáneamente, predominando alguno según el sitio de inoculación (18).

A los anticuerpos presentes en el moco, se ha atribuido la incompatibilidad que existe entre algunas especies (y entre individuos de una especie también) para estar en un mismo estanque o pecera (44).

debido a una actividad hemaglutinante del moco cutáneo detectada in vivo. Mas interesante resulta el reporte de Hildemann (1958, citado por Jokowska, 1963) del comportamiento de crías y padres del "discus", Symphysodon discus, en que las crías se alimentan del moco cutáneo secretado por los padres y que sin embargo no pudieron ser alimentados artificialmente debido a que morían pronto al ser separados de sus padres. lo cual no pudo resolverse hasta que además del alimento artificial, se pusieron antibióticos en el agua de la pecera. Por tanto puede tratarse de un sistema de transmisión de anticuerpos, análogo al calostro de los mamíferos. Se observó también que esta secreción responde al estímulo de la prolactina.

Los datos anteriores dan idea de la importancia defensiva de los componentes del moco, aunque hacen falta datos mas precisos acerca de su papel in vivo.

1.5.- El uso de soluciones de sal

Una de las referencias más antiguas del uso de soluciones de sal como antiparasitarios parece ser la que hace Hickling (1971), de la publicación de Doroshév, en la que explica que pocos peces de agua dulce pueden vivir en agua de mar, y menciona que al mantener carpas chinas en agua de mar con salinidad letal para los parásitos, pero no para los peces fue un método efectivo de control para protozoarios ectoparásitos. Otro trabajo, el de Roth (1922), recomienda el aumento gradual de la concentración de sal durante 3 días, y luego puede mantenerse indefinidamente mientras sea necesario, para luego volver también gradualmente al agua dulce. Esta es la recomendación más cautelosa de todas las encontradas en la bibliografía (1,10,23,24,33,35,36,43). En la tabla I se resumen las indicaciones dadas en tales trabajos. En general, se puede concluir de allí que las concentraciones superiores al 1.5% p/v se deben aplicar por periodos de tiempo limitados, de duración máxima en proporción inversa a la concentración. Es posible que el mecanismo de transporte de iones contra un gradiente de concentración normalmente activo en el epitelio branquial de los peces marinos (4,25) se encuentra también en muchos de los peces de agua dulce, aunque con menor capacidad, o tal vez más fácilmente fatigable. Así, Phillips (1947) halló que la concentración sérica de sodio y cloro de truchas que fueron sumergidas durante 30 minutos en una solución de sal al 3% mostro solo un ligero aumento, y volvió rápidamente a la normalidad cuando fueron puestas en agua dulce. Al aumentar la exposición a 60 minutos fue mayor el incremento de sodio y cloro séricos, y produjo signos de malestar en los peces, pero todos volvieron a la normalidad al ponerlos en agua dulce de nuevo. Por otro lado, los peces en una solución al 5% mostraron malestar

a los 10 minutos, y a los 15 minutos había ocurrido una mortalidad del 50% (10). Se puede observar también, en los reportes revisados, que los peces más jóvenes, o más pequeños resisten menos las altas salinidades.

La efectividad de estos métodos parece depender de la toxicidad o el efecto en la osmolaridad y la gravedad específica de la sal sobre el parásito mismo. De acuerdo a investigaciones en Israel, las carpas mueren en 60 minutos en una sol. al 2.5%, mientras que la lamprea resultaba muy afectada en 25 minutos (14). Van Duijn recomienda también el uso de una o dos gotas de una solución fuerte de sal aplicada directamente sobre el cuerpo de *Argulus*, cuando este no puede desprenderse fácilmente del cuerpo del pez, y recomienda que la solución no toque al pez. Huel, al citar a Einsela (1963) y a Bank (1964) menciona que además del efecto parasiticida de los baños de sal, estos fortifican al pez y estimulan el apetito, y los recomiendan para uso rutinario antes de poblar los estanques.

El manual de Nelson (1979) incluye una recopilación de los trabajos publicados con anterioridad acerca de los tratamientos con cloruro de sodio, incluyendo un total de 27 recomendaciones distintas, que varían en concentración, en tiempo de aplicación, combinación con otros reactivos, etc. Aunque incluye datos de dudoso valor práctico, el mismo autor lo advierte, y también previene contra el uso de recipientes galvanizados. Menciona recomendaciones de soluciones de sal tan concentradas como 17.5% durante 3 min. diarios o tan diluidas como .002% por tiempo indefinido. Davis (1961) explica que soluciones débiles de los reactivos por tiempos prolongados pueden ser tan efectivos como los baños cortos con soluciones más fuertes, y con menos efectos detrimentales sobre el pez. Por otro lado, el trabajo ya mencionado de Roth, indica que el tratamiento resultó tóxico para la freza de carpas indias ($CL_{50}=0.55-0.75\%$).

La dificultad de realizar las inmersiones en soluciones de sal ha resultado también en una tendencia a utilizar lavados o los tratamientos prolongados (10.33,36). Plumb (35) también recomienda los tratamientos de solución salina a baja concentración (0.2-0.3%) y dice que su efecto es atribuible al aumento de secreción de las células mucinosas en el bagre.

Esta opinión parece confirmarla Davis, quien dice que se evita la formación de combinaciones insolubles de sulfato de cobre con el moco branquial cuando se añade sal a la solución de sulfato de cobre, ya que la sal remueve el moco.

Debido a la conveniencia de los tratamientos prolongados con soluciones débiles de sal, por su sencillez y economía, se decidió hacer este trabajo para estudiar el valor terapéutico real de ellos.

II.- OBJETIVO

Observar y evaluar los cambios histológicos que ocurran en un periodo de 16 horas posteriormente a la adición de cloruro de sodio al agua en una concentración de 0.2% p/v en la piel de "juveniles" de carpa de Israel.

III.- HIPOTESIS

Al aumentar el tiempo del tratamiento, los peces del lote tratado con cloruro de sodio no mostrarán cambios diferentes significativamente del lote testigo.

IV.- MATERIAL Y METODOS.

Se usaron 40 ejemplares de carpa de Israel de alrededor de 3 meses de edad, con un peso promedio de 102.5g. \pm 15g. procedentes del centro acuicola "La Rosa", ubicado en el municipio de Oral, Cepeda, Cosh. Esta población es de cercana ascendencia silvestre. Se agruparon, después de ayunar durante 24 horas en dos lotes iguales, uno con tratamiento de sal y otro lote "testigo", sin adición de sal. Los agrupamientos se hicieron totalmente al azar. Cada grupo se puso en una canaleta de fibra de vidrio con capacidad de 200 l. y durante las 24 horas previas al tratamiento se pasó constantemente agua a través de ellas (2 l/min.). Desde el momento del inicio se mantuvieron con el agua estancada y se bombeó aire con bombas para peceras de 40 galones (una en cada canaleta) durante el experimento. Antes, al inicio y al finalizar el experimento se tomó temperatura y muestras del agua para evaluar pH, oxígeno disuelto, conductividad eléctrica y concentración de cloruros.

De cada lote se extrajeron grupos de 4 ejemplares antes, a 45 min., a las 1:30 h., a las 6:00 h. y a las 16:00 h. de comenzado el experimento.

Hubieron 7 ejemplares cuyas muestras se perdieron por deshidratación.

Cada ejemplar fue sacrificado inmediatamente, al finalizar el tratamiento mediante golpe en la cabeza, y se tomaron muestras de piel del flanco izquierdo, a la mitad de la distancia entre la aleta dorsal y la línea lateral, en una zona sin escamas, y de medidas aproximadas de 1 cm de largo, 5 mm de ancho y 4 mm de espesor. Las muestras fueron fijadas en formol al 10%, amortiguado con acetato de sodio al 2%. Fueron deshidratadas y aclaradas con alcohol y xilol e incluidas en parafina con punto de fusión de 56 C. Se cortaron con un microtomo de navaja deslizable, con un espesor de 6 μ . y se montaron en un portaobjeto de 1

mm de espesor. De cada muestra se hizo un corte para colorear con hematoxilina y eosina (H-E), otro para reacción de ácido peryódico de Schiff (PAS) contrastada con hematoxilina y se conservó una muestra montada sin colorear para posteriores observaciones en caso necesario, y para estudios básicos de histología e histoquímica que se pretenden realizar posteriormente. Las coloraciones se hicieron según los métodos recomendados por Sheehan y Hrapchak (1980), cuidando que no se utilizaran sustancias solventes de mucinas.

De cada corte se evaluaron los siguientes parámetros, mediante observación en microscopio compuesto:

1.- Cambios vasculares, apreciados semi-cuantitativamente, como sigue:

- (+) Apariencia normal, escasas arteriolas visibles, escasos linfocitos.
- (++) Congestión moderada, aumento de cantidad de arteriolas visibles, capilares muy notorios.
- (+++) Congestión, con infiltración perivascular de leucocitos.

2.- Cambios en células epidérmicas secretoras.

I.- Células serosas.- Cambios en la proporción entre células llenas y vacías expresado como células serosas llenas sobre células serosas totales.

II.- Células mucosas.- Cambios en las cantidades de células mucinosas.

Los resultados se analizarán mediante análisis de regresión lineal, y con comparación de bloques apareados.

V.- RESULTADOS Y DISCUSION

Observaciones Histológicas :- A la descripción hecha anteriormente, obtenida de fuentes bibliográficas, cabe añadir las siguientes observaciones:

Las células mucosas, en los cortes coloreados con H-E se observaron como espacios claros, con formas de pera, circulares o casi tubulares. Comparando estos cortes con otros, coloreados con PAS-hematoxilina puede notarse que en muchos casos estas células no son distinguibles del resto del epitelio con la coloración de H-E. Todas las glándulas mucosas, con muy pocas excepciones, se encontraron cerca de la superficie de la piel, anteriormente a las células serosas. Era muy notorio, en muchos casos, el conducto que las comunica al exterior. Siendo holócrinas, todas las glándulas que se encontraron contenían granulos de mucina (púrpura intenso con PAS hematoxilina). Las glándulas serosas se veían como grandes globulos en la parte media de la epidermis, con nucleo oval y en parte ocupadas con material hialino basófilo. Entre estas fueron apreciables algunas células llenas y otras vacías, lo cual tiene que ver con la cuantificación de este estudio. El "stratum laxum" está bien diferenciado del "stratum compactum", en casos típicos, aunque en ocasiones se encontraba en forma mas bien continuada.

Resultados.- Los analisis de las características fisico-químicas del agua se encuentran en la tabla II. Durante el experimento no se observaron macroscópicamente cambios vasculares apreciables en ninguno de los especímenes ni hubieron diferencias notables en los cortes microscópicos entre los grupos de distinto tiempo y tipo de tratamiento con respecto al aporte sanguíneo (Tablas III y IV). La distribución de linfocitos tampoco pareció ser modificada por el tiempo de tratamiento. Todas las

observaciones del tratamiento, fueron calificadas como (+), es decir, sin cambios aparentes respecto al tejido encontrado en animales sanos de la edad.

De las 33 muestras observadas, en todas se encontraron células glandulares serosas y mucinosas en la epidermis. Las diferencias máximas observadas fueron de 10 hasta 51 células serosas en un segmento de longitud comparable, y de 0 a 43 células mucosas en segmentos comparables.

La lista de las observaciones en un campo visual microscópico (40X8X) de cada muestra está en las tablas III y IV, mencionando a las células serosas llenas (CSL); células serosas vacías (CSV) y células mucosas (CM) presentes en determinado campo visual. La profundidad de campo puede introducir error en el tamaño del campo visual, pero este es mínimo.

Estos datos son comparados estadísticamente con el método de bloques apareados en cuanto a la variación de la proporción de células serosas llenas y total de células serosas, para intentar detectar modificaciones en esta variable. Se muestran los análisis en la tabla V. La media de las diferencias es -0.09184 y la varianza es 0.0136734 , o en otras palabras el intervalo de confianza en que $\alpha=0.05$ es $P(-0.649295, 0.485315) = 0.95$. La diferencia mayor dentro de un grupo es de 0.24 , y la mayor entre dos bloques de un mismo tratamiento es de 0.1834 . Esto parece indicar que la respuesta al tratamiento es menor que la variación atribuible a factores indefinidos, lo cual invalida cualquier conclusión tendiente a confirmar o rechazar la hipótesis, aunque indica que la variación atribuible a la totalidad de variables involucrados es bastante mayor que la variación debida al tratamiento solamente.

Al elaborar análisis de regresión lineal de ambos tratamientos, el resultado es igualmente decepcionante, ya que la suma de cuadrados debida a error (SSE) es bastante grande, comparada con la suma de cuadrados (variación) total. En las tablas VI y VII se observan las gráficas y la

cifras correspondientes.

En cuanto a la prueba de falta de concordancia con el modelo lineal (lack of fit), el resultado sería mas confiable si se hubieran hecho repeticiones de las observaciones. Aunque cada grupo consistió en 3 o 4 individuos, consideramos la mejor estimación como el promedio de todos, por lo que cada una de las repeticiones necesarias para indicarnos los grados de libertad consistiría en una réplica del experimento. Si se realizara podríamos distinguir dos componentes de la suma de cuadrados debidos a error (SSE): la suma de cuadrados debidos a error puro, y la suma de cuadrados debidos a falta de concordancia con el modelo lineal. Además, siendo dudosa una diferencia en los efectos del tiempo de tratamiento, no cabe realizar pruebas de significancia de estas diferencias. La grafica comparativa de ambos tratamientos esta en la figura 1.

Resulta entonces que en forma gruesa este tratamiento no pareció afectar el vaciamiento de las celulas serosas, si bien el diseño del experimento no resulto eficaz para demostrarlo estadísticamente, debido a la amplia distribución de frecuencia de los parametros.

La diferencia de tiempo (X) no parece afectar a la respuesta (Y). La diferencia en la intersección con el eje Y (9.4265) no resulta ser un dato confiable, debido al tamaño del error (diferencia de observaciones máxima y mínima dentro de cada parcela).

En las tablas VIII y IX se muestran los analisis de las cantidades observadas de celulas mucinosas, y la gráfica respectiva esta en la figura 2. Los resultados son igualmente inconclusivos, por los mismos motivos que los de las comparaciones de CSL/CST. En este caso no hubo diferencia en la intersección con el eje Y, pero si en la pendiente, con diferencia mayor en el grupo testigo, aunque con estos datos no podemos rechazar la hipótesis nula, ya que no sabemos si el efecto es muy pequeño

inexistente.

VI.- CONCLUSIONES

- 1.- El experimento realizado fue muy pequeño para ofrecer conclusiones sólidas, pero fue suficiente para demostrar que el efecto del tratamiento sobre la piel es muy escaso, por lo que puede no ser el más adecuado. Nos inclinamos a creer que el tratamiento, de ser efectivo, afecta más específicamente al parásito que al pec, por contar aquellos con mecanismos menos eficaces para regular su concentración de electrolitos.
- 2.- A pesar de que serían necesarios muestreos mayores, que darían mayor claridad y validez a los resultados del experimento, no los recomendamos. Se proponen, alternativamente los ensayos con fases infestantes de ectoparásitos, bajo diversos tratamientos.

Vii.- BIBLIOGRAFIA

1.- Smlacher, E. 1961

Manual de enfermedades de los peces

Ed. Acribia, Espana

2.- Anderson, D.P. 1974

Diseases of fishes. Book IV Immunology

Ed. by Sniezko, S.F. and Axelrod, H.E.

F.F.H.Publ. U.S.A.

3.- Asakawa, M. 1970

Histochemical studies of the mucus on the epidermis of eel Anguilla

JAPONICA

Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 36 (1) 93-97

4.- Bardach, J.E. Lagler, K.F. and Miller, R.L. 1962

Ichthyology

Wiley, U.S.A.

5.- Bardach, J.E., J.H. and McLarney, W.O. 1972

Aquaculture

Wiley Interscience, U.S.A.

6.- Bhattacharyya, G.K. and Johnson, R. 1977

Statistical concepts and methods

Wiley, U.S.A.

7.- Bradshaw, C.M. Richard, A.S. and Siegel, M.M. 1971

IgM antibodies in fish mucus

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 136: 1122-1124

8.- Brimacombe, J.G. and Webber, J.M. 1964

Mucopolysaccharides. Chemical structure, distribution and isolation.

Elsevier Publishing Co., U.S.A.

9.- Bucke, D. 1972

Some histological techniques applicable to fish tissues.

In: Diseases of Fishes

Ed.by: Maudesley-Thomas. L.E.

Acad. Press, U.S.A. pp. 153-189

10.- Davies, H.S. 1953

Culture and diseases of game fishes

Univ of Calif. Press., U.S.A.

11.- Davina, J.H.M., Rijkers, G.T. and Rombout J.H. 1980

Lymphoid and Non-lymphoid cells in the intestine of cyprinid fish.

In: Dev and Differ of Vert Lymphocytes.

Elsevier / North Holland Medical Press., Holland.

12.- Dobson, C. 1966

The demonstration of antibodies in the intestinal mucus of sheep infected with Resorphaostomum colombianum by means of the percutaneous anaphylaxis test.

Aust J. Biol. Sci. 19: 339-340

- 13.- Dogiel, V.A., Petrushevski, G.K. and Polyanski, V.I. 1970
Parasitology of fishes.
T.F.H. Publ., U.S.A.
- 14.- Duljin, C. van. 1970
Diseases of fishes.
Ilfie Books, England.
- 15.- Finn, J.P. 1970
Vet. Bull. 40 (12):873-886.
- 16.- Fletcher, T.C. and Grant, P.T. 1968
Glycoproteins in the external mucous secretions of the plaice, Pleuronectes platessa and other fishes.
Biochem. J. 106:12P.
- 17.- Fletcher, T.C. and Grant, P.T. 1969
Immunoglobulins in the serum and mucus of the plaice (Pleuronectes platessa).
Biochem. J. 106:65P.
- 18.- Fletcher, T.C. and White, A. 1973
Antibody production in the plaice (Pleuronectes platessa) after oral and parenteral immunization with V. anguillarum antigens.
Aquaculture 1:417-428
- 19.- Gelzard, E.A., Kraft, S.C. and Fitch, F.W. 1967
Immunoglobulin A localization in rectal mucosal epithelial cells.

Science 157: 930-931

20.- Gottschalk, A. 1966

Glycoproteins. Their composition, structure and function.
Elsevier Publishing Co. U.S.A.

21.- Harrel, L.W., Etlinger, M.H. & Hodgins, H.O. 1975

Humoral factors important in resistance of salmonid fish to bacterial disease II. Anti-Vibrio anguillarum activity in mucus and observations on complement.

Aquaculture. 7: 363-370

22.- Harris, J.E. 1972

The immune response of a ciprinid fish to infections of the acantocephalan Pomphorhynchus laevis.

Int. J. Parasitol 2: 459-463

23.- Hickling, C.F. 1971

Fish Culture

Faber & Faber, London Engl.

24.- Huet, M. 1972

Textbook of fish culture. Breeding and cultivation of fish

Chapter XV. Enemies and Diseases of Fish

Fishing News Books, Ltd. England

25.- Hughes, G.M. and Morgan, M. 1971

The structure of fish gills in relation to their respiratory function.

Biol. Rev., 98: 419-475

26.- Jakovsika, S. 1933

Mucus secretion in fish - A-note.

Ann. N.Y. Acad. Sci., 103: 458-462

27.- Kennedy, C.R. and Walker, P.J. 1939

Evidence for an immune response by dace Lepiscus leuciscus, to infections by the cestode Garyophyllaceus laticeps.

J. Parasitol., 3: 579-582

28.- Lillie, R.D. and Fullmer, H.M. 1977

Histopathologic technic and practical histochemistry.

McGraw-Hill Book Co., 1th. ed.

29.- Mittal, A.K. and Banerjee, T.K. 1974

Structure and keratinization of the skin of a fresh water teleost Dactylopus notosternus.

J. Zool. Lond., 174: 341-355

30.- Mittal, A.K. and Banerjee, T.K. 1975a

Histochemistry and the structure of the skin of a murrel Channa striata (Bloch 1797) I. Epidermis.

Can. J. Zool. 53: 844-852

31.- Mittal, A.K. and Banerjee, T.K. 1975b

Histochemistry and the structure of the skin of a murrel Channa striata (Bloch 1797) II. Dermis and Subcutis.

Can. J. Zool. 53: 853-858

32.- Morilla Gonzalez, A. 1981

Inmunología del cerdo:

En: Diagnostico de las enfermedades del cerdo

Ed. por Ramirez Necochea, R. y Piñón Aguado, C.

33.- Nelson, H. 1979

Handbook of drugs and chemicals used in the treatment of fish diseases

Charles C. Thomas, Publ. Springfield, IL, U.S.A.

34.- Gurth, D.D. 1980

Secretory IgM, lysozime and lymphocytes in the skin mucus of the channel catfish Ictalurus punctatus.

Dev. and Comp. Immunol 4: 65-74

35.- Paperna, I. 1980

Parasites, infections and diseases of fish in Africa

CIFA Technical paper No. 7. FAO, Rome.

36.- Plumb, J.A. 1979

Principal diseases of farm raised catfish.

Southern Cooperative Series No. 225 U.S.A.

37.- Reichenbach-Klinke, H.H. 1977

Tratado sobre histopatología de los peces.

Ed. Acribia, España.

38.- Rijkers, G.T. 1981

Introduction to fish immunology.

Dev. and Comp. Immunol. 5: 527-534

39.- Rijkers, G.T. 1982

Non lymphoid defence mechanisms in fish:

Dev. and Comp. Immunol. 6: 1-10

40.- Rijkers, G.T. and Muiswinkel, W.B. 1977

The immune system of fish. The development of cellular and humoral responsiveness in the rosy barb.

In: Developmental Immunobiology.

Ed. by: Solomon, J.E. and Horton, J.E.

Elsevier, U.S.A.

41.- Rijkers, G.T., Wiegmanck, J.A. and Osterum, R. van. 1980

Temperature dependence of humoral immunity in carp.

In: Aspects of developmental and comparative immunology.

Pergamon Press, England.

42.- Russel-Hunter, W.D. 1970

Productividad acuática

Edit. Acirbia, Espana

43.- Sheehan, D. and Hrapchak, B. 1980

Histotechnology

2nd. Ed. Mosby, St. Louis, U.S.A.

44.- Smith, A.C. 1977

Reactions of fish red blood cells with mucus and sera from other fish.

Calif. Fish & Game 63 (1): 52-57

45.- Szabo, J. y Frigli, M. 1927

Estudio histológico de la piel de carpa (*Cyprinus carpio*)

Magyar Allatorvosok Lapja Agosto: 517-520

46.- Texas State Fish & Game Commission 1977

A syllabus of fish diseases

Special publication U.S.A.

47.- Wedemeyer, G.A., Meyer, F.P. and Smith, L. 1976

Diseases of fishes, Book V: Environmental stress and fish diseases.

Ed. by: Snieszko, S.F. and Axelrod, H.F.

T.F.H. Publ. U.S.A.

48.- Van Muiswinkel, W.B., Rijkers, G.T. and Frederix-Wolters, E.M.H. 1980

The haemolytic plaque assay in carp (*Cyprinus carpio*)

Immun. Methods-30: 79-86

F A D L A I

EL USO DE SOLUCIONES DE SAL EN EL CONTROL DE ECTOPARASITOS

ELTOPARASITOS	RECOMENDACIONES	REFERENCIAS
PROTOZOARIOS:		
<u>Ichtyophthirius m.</u>	10.0% (a partir de agua de mar)	113.23
	10.0% (mezcla 3.5:1.5 de NaCl y MgSO4)	113
	10.7%	113
	10.5% periodos prolongados, igual que anteriores	123
	10.2% hasta 1.5%	123
	13% inmersión hasta observar malestar	110
<u>Costia n.</u>	11.5% 1-1.5 hrs carpas; 2% 1-1.5 hrs salmonidos	124
	11% 30 min	124
	15% 5 min	114
<u>Childonella sp.</u>	11.5% 1-1.5 hrs carpas; 2% 1-1.5 hrs salmonidos	124
	11% 15-30 min	114
	Metodo Roth. o soluciones mas debiles	114
	10.05% 4 o 5 dias	135
	13% inmersión corta	110
<u>Trichodina sp.</u>	11.5% 1-1.5 hrs carpas; 2% 1-1.5 hrs salmonidos	124
	11% 15-30 min	114
	Metodo Roth. o soluciones mas debiles	113
	10.5% tiempo prolongado	123
	13% inmersión corta	110
<u>Scyphidia sp.</u>	11.5% 1 hr.	110
<u>Odinium sp.</u>	13-5% inmersión de corto tiempo	114
	10.13% + 0.003% KMnO4	114
TREMATODOS:		
<u>Gyrodactylus sp.</u>	12.5% 5-15 min.	114
	15% 5 min.	113
	1-2% poco tiempo (no afecta a G. cichlidarum).	135
<u>Dactylogyrus sp.</u>	12.5% 5-15 min.	114
CRUSTACEOS:		
<u>Lernaea sp.</u>	10.75-1.1% 2 a 3 sem, si la temp > a 14 C	114
	12.5% 25 min	114
	13-5% 1 hr.	123
<u>Argulus sp.</u>	11 o 2 gotas de Sol.Fuerte de sal sobre parasito	114
HIRUDINEA:		
(SANGUIJUELAS)		
<u>Piscicola sp.</u>	12.5% 1 hr	135.3

METODO DE ROTH.- Se aplica el primer día 0.7% NaCl al agua, al 2do día se incrementa la concentración hasta 1.1% y al tercer día hasta 1.3%, y se puede mantener indefinidamente en este nivel. Para retornar al agua dulce, se invierte el proceso. Amlacher (1961) recomienda solo un baño de 20 min en una sol. 1-1.5% para varios ectoparasitos. Plumb (1979) considera las inmersiones en soluciones fuertes (2-3%), y las aplicaciones prolongadas en sol. débiles (0.2-0.3%) como útiles para el control de la mayoría de los ectoparasitos.

T A B L A II

CARACTERISTICAS FISICO-QUIMICAS DE LAS MUESTRAS DE AGUA

MUESTRAS	p H	O D ppm	COND. ELEC. micro ohms	CLORUROS ppm
LOTE TESTIGO PREVIO	7.4	5.0	950	23.7
LOTE TRATADO PREVIO	7.6	5.0	950	23.7
LOTE TESTIGO INICIO	7.5	5.0	1000	23.7
LOTE TRATADO INICIO	7.5	4.9	2950	357
LOTE TESTIGO FINAL	7.3	4.8	1030	26.3
LOTE TRATADO FINAL	7.4	4.8	3100	378

T A B L A III

DATOS DERIVADOS DE LAS OBSERVACIONES MICROSCOPICAS DE LOS CORTES (*)

GRUPO TESTIGO

No.	TIEMPO	LINF.	VASC	CSL	CSV	CM	CSL/CSV
1.00	0.00	+	+	10.00	3.00	10.00	.77
2.00	0.00	+	+	18.00	2.00	12.00	.90
3.00	0.00	+	+	18.00	5.00	1.00	.76
4.00	0.75	+	+	9.00	3.00	25.00	.75
5.00	0.75	+	+	23.00	2.00	10.00	.92
6.00	0.75	+	+	17.00	3.00	14.00	.85
7.00	0.75	+	+	13.00	5.00	19.00	.72
8.00	1.50	+	+	13.00	5.00	7.00	.72
9.00	1.50	+	+	16.00	8.00	1.00	.67
10.00	1.50	+	+	15.00	5.00	24.00	.75
11.00	6.00	+	+	8.00	9.00	3.00	.47
12.00	6.00	+	+	11.00	4.00	27.00	.73
13.00	6.00	+	+	15.00	7.00	13.00	.68
14.00	13.00	+	+	24.00	6.00	15.00	.80
15.00	13.00	+	+	19.00	6.00	14.00	.73
16.00	13.00	+	+	7.00	3.00	12.00	.70

(*) EN LOS CAMPOS OBSERVADOS CON OBJETIVO DE 40 X ACROMATICO Y OCULAR DE 10 X , CRUZADOS DIAMETRALMENTE POR LA EPIDERMIS.

T A B L A IV

DATOS DERIVADOS DE LAS OBSERVACIONES MICROSCOPICAS DE LOS CORTES

GRUPO TRATADO

No.	TIEMPO	LINFS.	VASC	CSL	CSV	CM	CSL/CSV
1.00	0.00	+	+	31.00	3.00	22.00	.91
2.00	0.00	+	+	14.00	1.00	10.00	.83
3.00	0.00	+	+	22.00	6.00	10.00	.79
4.00	0.00	+	+	18.00	7.00	27.00	.70
5.00	0.75	+	+	12.00	1.00	24.00	.82
6.00	0.75	+	+	14.00	7.00	4.00	.67
7.00	0.75	+	+	15.00	3.00	26.00	.81
8.00	0.75	+	+	11.00	3.00	5.00	.68
9.00	1.50	+	+	10.00	3.00	20.00	.77
10.00	1.50	+	+	20.00	2.00	14.00	.81
11.00	1.50	+	+	16.00	3.00	8.00	.73
12.00	1.50	+	+	19.00	3.00	22.00	.86
13.00	6.00	+	+	42.00	9.00	0.00	.82
14.00	6.00	+	+	10.00	1.00	43.00	.91
15.00	6.00	+	+	14.00	1.00	23.00	.83
16.00	16.00	+	+	9.00	3.00	7.00	.75
17.00	16.00	+	+	28.00	1.00	12.00	.96

TABLA V

COMPARACION POR EL METODO DE BLOQUES APAREADOS

SCL / SCT

PAR	GRUPO TESTIGO	GRUPO TRATADO	DIFERENCIA (D _i)	D _i - \bar{D}	(D _i - \bar{D}) ²
1	0.81	0.83	-0.02	0.07184	0.0051609
2	0.81	0.76	-0.05	-0.14184	0.0201185
3	0.71	0.8175	-0.1075	-0.01566	0.0002452
4	0.8266	0.8906	-0.06	-0.16616	0.0276177
5	0.7333	0.866	$\frac{-0.1327}{-0.4092}$	-0.02966	$\frac{0.0008816}{-0.0546939}$
			$D_i/\sum_{i=1}^n D_i =$	-0.09164	

$$s_p^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (D_i - \bar{D})^2}{n-1} = 0.0136734$$

$$P(\bar{D} - t_{\alpha/2} \frac{s_p}{\sqrt{n}} < \mu < \bar{D} + t_{\alpha/2} \frac{s_p}{\sqrt{n}}) = 1 - \alpha = 0.95$$

$$P(-0.649295, 0.485615) = 0.95$$

TABLA II
ANALISIS DE REGRESION LINEAL (CSL / CST vs. tiempo)
GRUPO TRATADO

X	Y	X ²	Y ²	XY	C + BX	Residual
0.75	76	0.5625	5776	57	80.5605	- 4.5605
1.5	81.75	2.25	6683.06	80.9049	80.9049	0.6451
6	88.66	36	7860.6	62.9713	62.9713	5.6887
18	86.6	324	7527.36	87.6633	87.6633	- 1.9633
24.25	332.01	294.8125	27647.02	2080.62		.01

X = horas = var. independientes

Y = CSL / CST = var. dependiente

$$\bar{X} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n X_i = 6.0625$$

$$\bar{Y} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n Y_i = 83$$

$$S_x^2 = \sum (X_i - \bar{X})^2 = \sum X_i^2 - n\bar{X}^2 = 147.7975$$

$$S_y^2 = \sum (Y_i - \bar{Y})^2 = \sum Y_i^2 - n\bar{Y}^2 = 91.02$$

$$S_{xy} = \sum (X_i - \bar{X})(Y_i - \bar{Y}) = \sum X_i Y_i - n\bar{X}\bar{Y} = 67.87$$

$$\hat{\beta} = \frac{S_{xy}}{S_x^2} = 0.4592$$

$$\hat{\alpha} = \bar{Y} - \hat{\beta}\bar{X} = 80.2901$$

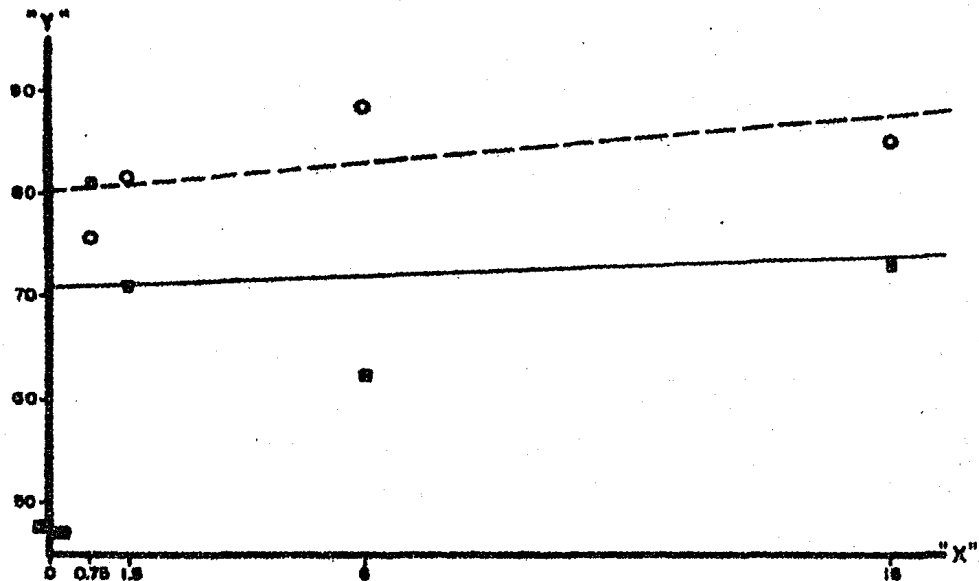
$$SSE = S_y^2 - \hat{\beta}^2 S_x^2 = 137.8347$$

TABLA XII

ANALISIS DE REGRESION LINEAL (CSL/CST vs. tiempo)
GRUPO TESTIGO

X = Horas	Y = CSL/CST	X ²	Y ²	XY	$\hat{C} + \hat{A}X$	Residual
0.75	61	0.5625	3721	45.75	70.939387	10.08
1.5	71	2.25	5041	106.5	71.089075	-0.0891
6	68.66	36	4706	411.96	71.9875	-9.3275
10	73.23	100	5363	732.3	73.984	-0.654
24.25	267.65	588.0625	20905	1716.49		-0.0106

\bar{X} = 6.0825
 \bar{Y} = 72
 Sx^2 = 147.7875
 Sy^2 = 169
 Sxy = 29.01
 \hat{A} = .19265
 \hat{C} = 70.7896
 SEE = 163.10769



GRUPO TESTIGO ———— $Y = 70.7896 + (0.1998 \cdot X)$
 GRUPO TRATADO - - - - - $Y = 80.2101 + (0.4082 \cdot X)$

FIGURA I.— Líneas de regresión entre la variable independiente (tiempo) y la respuesta (CSL/CST) de los grupos testigo y tratado. Se observa una diferencia en los puntos de intersección con el eje de las ordenadas pero la mayor diferencia entre el dato mayor y el menor dentro de una parcela (estimación de error) es bastante grande, lo cual invalida cualquier inferencia posible.

TABLA VIII
ANALISIS DE REGRESION LINEAL (cm vs. tiempo)
GRUPO TESTIGO

X	Y	X ²	Y ²	XY	$\hat{a} + \hat{b}x$	Residual
0.75	17	0.5625	289	12.75	10.5553	6.4647
1.5	10.66	2.25	113.6356	15.99	11.0120	-0.35205
6	14.33	36	205.3489	85.98	13.6727	0.4573
16	13.66	256.250	186.5956	218.56	20.2297	-6.5697
24.30	55.65	594.0125	794.5601	335.28		0.0025

\bar{x} = 6.0825
 \bar{y} = 13.9120
 s_x^2 = 147.7975
 s_y^2 = 20.3495
 s_{xy} = 93.9609
 \hat{b} = 0.6387
 \hat{a} = 10.0586
 SEE = 39.3849

TABLA IX
ANALISIS DE REGRESION LINEAL (cm vs tiempo)
GRUPO TRATADO

X	Y	X ²	Y ²	XY	$\hat{C} + \hat{S}X$	Residual
0.75	14.75	0.5625	217.5625	11.0625	10.3477	4.4022
1.5	16.25	2.25	264.0625	24.375	10.6455	8.6045
6	9.50	36	90.25	57.00	12.43206	-3.1020
16	9.50	256	90.25	152	16.90216	-6.90216
24.35	49.85	294.8125	658.9239	243.4175		0.02525

- X = 6.0625
- Y = 12.4575
- S_X² = 147.7975
- S_Y² = 38.4156
- S_{XY} = 98.678
- \hat{C} = 0.39701
- \hat{S} = 10.05
- SEE = 16.1204

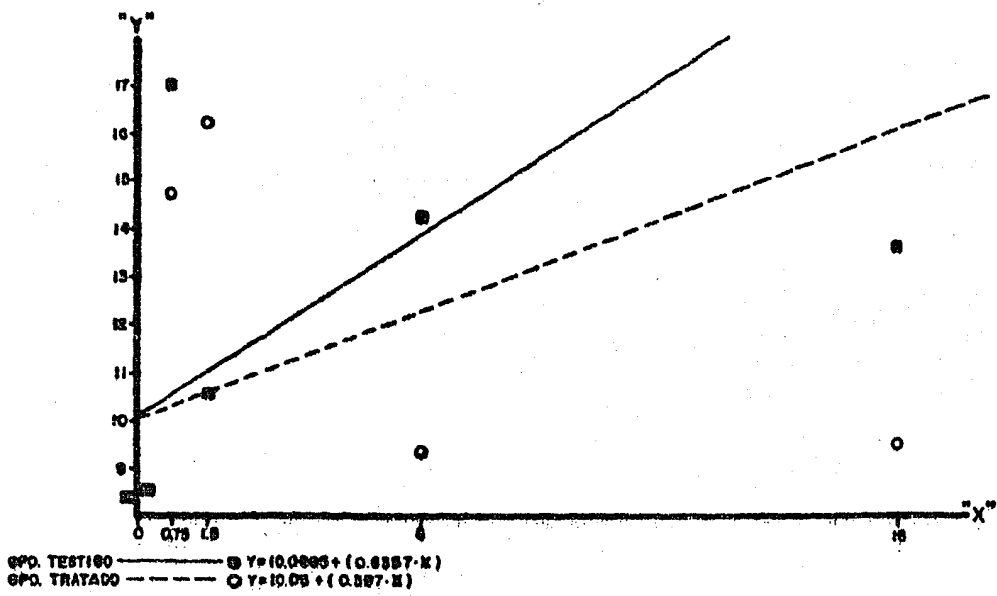


FIGURA II.— Líneas de regresión entre la variable independiente (tiempo) y la respuesta (cantidad de cm) de los grupos testigo y tratado. La intersección con el eje de las ordenadas de ambas líneas es igual para ambas rectas, pero la pendiente es mayor para el grupo testigo. Al igual que la comparación entre las rectas que estiman la respuesta de CSL/CST, el error invalida cualquier posible conclusión.

AGRADECIMIENTOS

Para hacer posible la realización de este proyecto, intervinieron de manera sobresaliente:

El personal del Centro Acuícola "La Rosa", de la delegación Coahuila de la Secretaría de Pesca, el departamento de Histopatología de la U.A.M.-X, y el departamento de Patología de la FES-C.

Con todos ellos, estoy en deuda.