



Universidad Nacional Autónoma
de México

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

“INMOVILIZACION DE CARPA (Ciprinus carpio), BAGRE
(Ictalurus punctatus) Y TILAPIA (Tilapia mossambica)
UTILIZANDO XILOCAINA MAS BICARBONATO DE SODIO”.

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
BIBLIOTECA - UNAM

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

SERGIO CARRASCO MEZA

ASESORES:

M. V. Z. HECTOR SUMANO LOPEZ

M. V. Z. RICARDO NAVARRO FIERRO



MEXICO, D. F.

1983



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.

JAN
1983
C347
e.d
P-t-83-142a

INDICE

	Pág.
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
MATERIAL Y METODOS.....	13
RESULTADOS.....	16
DISCUSION.....	30
CONCLUSIONES.....	32
LITERATURA CITADA.....	33

RESUMEN:

Se evaluaron dos soluciones anestésicas(xilocaína sola y xilocaína más bicarbonato de sodio) para lograr la inmovilización de carpas(Ciprinus carpio), bagres(Ictalurus punctatus) y tilapias(Tilapia mossambica)requerida durante las prácticas de manejo a que son sometidos los peces.

El método para anestesiarse a los animales fue el de inmersión en las soluciones para que el anestésico penetrara por difusión a través de las branquias, ya que es la manera más práctica de anestesiarse peces. La recuperación se realizó colocando a los peces en agua libre de anestésicos.

De las tres especies probadas, el bagre resultó ser más susceptible(250 mg/l), seguido por la carpa(350 mg/l) y finalmente por la tilapia(2000 mg/l).

La carpa y el bagre presentaron un tiempo de inducción similar. La tilapia presentó el tiempo de inducción más corto pero requirió una concentración muy alta de xilocaína.

La mezcla anestésica de xilocaína más bicarbonato de sodio redujo el tiempo de inducción en carpas y en algunos casos también en bagre y tilapia, además de que en esta última especie se logró la reducción de la concentración de xilocaína requerida para lograr el mantenimiento adecuado deseado fuera del agua(250 mg/l y 350 mg/l). Asimismo, se observó un incremento del tiempo de recuperación en las tres especies.

Debido a que se obtuvieron resultados más prácticos con la mezcla de xilocaína más bicarbonato de sodio que con la xilocaína sola, se recomienda la primera para lograr inmovilización en carpa, bagre y tilapia durante la realización de las prácticas de manejo a que son sometidos.

INTRODUCCION.

Es bien conocido que uno de los pilares de la práctica zootécnica es el manejo. Una adecuación óptima de este rubro resultará en un aumento proporcional de la producción de productos de origen animal. Los peces no escapan a esta consideración, y ya que su cultivo representa una fuente potencial de proteína de origen animal que debe ser aprovechada óptimamente, se debe tener especial cuidado para realizar las labores de manejo correspondientes. En particular, los peces se ven sometidos a una gran tensión ya que se les extrae de su medio natural para diversos procedimientos.

Las maniobras de manejo a que son sometidos los peces de un centro piscícola comercial incluyen el transporte, el marcaje, las biometrías rutinarias^(*) y, en el caso de los ejemplares destinados a la reproducción, el exprimido que se efectúa para la obtención de óvulos y espermatozoides.

En particular, el transporte no representa un gran problema si se lleva a cabo utilizando el equipo adecuado y si la calidad del agua y densidad de peces por volumen de agua son las correctas⁽¹¹⁾. En estos casos no es necesario utilizar anestésicos, pudiendo incluso ser contraproducente⁽¹⁰⁾.

En cuanto al manejo de los peces durante las biometrías rutinarias, el marcaje y el exprimido durante el desove manual, es importante señalar que se facilitan al utilizar anestésicos, evitando la tensión nerviosa, los movimientos bruscos que provoquen lastimaduras y el manejo forzado, con el que se causan lesiones por presión^(2,3,5,7).

En México, la práctica anestésica en peces requería de la importación de fármacos tales como el MS-222, la Quinaldina y otros. En 1980, Carrasco y col.⁽²⁾ implementaron un método---

(*) biometrías rutinarias: pesaje y medición de la longitud y altura de los peces para calcular la conversión alimenticia, el peso y tamaño promedio y la cantidad total de producción.

para inmovilizar peces utilizando xilocaína y bicarbonato de sodio. Dicho método satisface las necesidades anestésicas para la trucha arcoiris (Salmo gairdneri). Tiene la ventaja de ser un método sencillo que no representa peligro alguno para el anestesista, además de ser de fácil disponibilidad y bajo costo pues las sustancias empleadas se expenden en el país. Asimismo, tiene un tiempo de inducción (TI) (*) reducido, lo que resulta muy práctico; la mortalidad es mínima y depende casi exclusivamente del cuidado que tenga el manejador y de la condición física del pez. Sin embargo, los técnicos y piscicultores requieren de mayor evidencia experimental para su uso, ya que no se ha demostrado que sirva de igual forma en otras especies ícticas de agua dulce comercialmente importantes, por lo que aún se prefiere utilizar anestésicos caros o, bien, no usar ninguno.

Estas condiciones adquieren mayor relevancia si se toma en cuenta que la situación económica actual de México no permite que se realicen importaciones de productos no básicos-- como es el caso de los anestésicos para peces, lo cual permite y exige un mayor impulso y difusión de la tecnología nacional. Esta medida coloca al método de la xilocaína y bicarbonato de sodio en una posición preferencial entre las formas de inmovilización de peces en México. Sin embargo, es necesario que se investigue su uso en las diversas especies ícticas comercialmente importantes cultivadas en nuestro país.

Las experiencias obtenidas con la mezcla anestésica formada por xilocaína (350 mg/l) más bicarbonato de sodio (1 g/l) en trucha arcoiris presenta varias ventajas sobre muchos de los anestésicos usados en peces. Para mostrar ésto, se presenta en el Cuadro 1 un resumen comparativo de las características de varios anestésicos, con base en los reportes de McFarland y Klontz (8) Booke y col. (1) y Carrasco y col. (2).

(*) tiempo de inducción: tiempo que transcurre desde que el pez es introducido en la solución anestésica hasta que alcanza el nivel anestésico deseado, es más práctico mientras más reducido sea.

CUADRO 1. COMPARACION DE LA CALIDAD ANESTESICO LOGRADA CON LOS FARMACOS UTILIZADOS EN PECES.

ANESTESICO	CONCENTRACION	CUALIDADES ANESTESICAS			VENTAJAS	DESVENTAJAS
		TI	MANTENIMIENTO(*)	TR(**)		
Bióxido de Carbono. (8)	200 ppm	1-2 min	bueno	5-10 min	Puede controlarse, en parte, el nivel anestésico.	Para mantener su concentración deben usarse ácido sulfúrico y bicarbonato de sodio.
Eter Dietílico. (8)	10-50 ml/l	2-3 min	regular	5-30 min	Barato	Volátil, inflamable, irritante e inestable.
Secobarbital. (8)	35 mg/l	30-60 min	bueno	3-5 hs	Buen mantenimiento por largos períodos.	Tiempos de inducción y recuperación muy prolongados.
Amobarbital. (8)	7-10 mg/l	30-60 min	bueno	3-5 hs	Buen mantenimiento por largos períodos.	Tiempos de inducción y recuperación muy prolongados.

(*) mantenimiento: estado de comportamiento del pez, en el nivel anestésico deseado.

(**) TR (tiempo de recuperación): tiempo que transcurre desde que el pez, después de haber sido anestesiado y colocado en agua libre de anestésico, hasta que recupera el equilibrio y movimientos normales.

CUADRO 1. COMPARACION DE LA CALIDAD ANESTESICO LOGRADA CON LOS FARMACOS UTILIZADOS EN PECES. (Cont.)

ANESTESICO	CONCENTRACION	CUALIDADES ANESTESICAS			VENTAJAS	DESVENTAJAS
		TI	MANTENIMIENTO	TR		
Urethano (8)	5-40 mg/l	2-3 min	bueno	5-10 min	Amplio margen de seguridad anestésica. Buen mantenimiento anestésico.	Carcinogénico para el manejador.
Hidrato de cloral. (8)	0.8-0.9 g/l	8-10 min	pobre	20-30 min		Pobre mantenimiento anestésico. Tiempo de inducción y de recuperación prolongados.
Alcohol amflico. (8)	0.5-1.25 ml/l	10-20 min	regular	20-90 min		Volátil, irritante. Tiempos de inducción y recuperación prolongados.
Tribromo etanol. (8)	4-6 mg/l	5-10 min	regular	20-40 min		Tiempo de recuperación prolongado. Regular mantenimiento anestésico.

CUADRO 1. COMPARACION DE LA CALIDAD ANESTESICO LOGRADA CON LOS FARMACOS UTILIZADOS EN PECES.(Cont.)

ANESTESICO	CONCENTRACION	CUALIDADES ANESTESICAS			VENTAJAS	DESVENTAJAS
		TI	MANTENIMIENTO	TR		
Clorobuta nol. (8)	8-10 mg/l	2-3 min	bueno	30-60 min	Buen mante nimiento anestésico.	Poco soluble en agua fría. Tiempo de re cuperación prolongado.
2-Fenoxieta nol. (8)	0.1-0.5 ml/l	10-30 min	regular	5-15 min		Escasamente soluble en agua. Tiempo de inducción prolongado. Regular man tenimiento anestésico.
4-Styrylpi ridina. (8)	20-50 mg/l	1-5 min	bueno	20-30 min	Buen mante nimiento anestésico.	Tiempo de recuperación prolongado.
Tricafina (8) Metanosul fonato(MS-222)	25-100 mg/l	1-3 min	excelente	3-15 min	Excelente mantenimien to anestési co.	Tóxico al usarse en agua salada o directa mente a la luz solar.

CUADRO 1. COMPARACION DE LA CALIDAD ANESTESICO LOGRADA CON LOS FARMACOS UTILIZADOS EN PECES.(Cont.)

ANESTESICO	CONCENTRACION	CUALIDADES ANESTESICAS			VENTAJAS	DESVENTAJAS
		TI	MANTENIMIENTO	TR		
Quinaldina (8)	0.01-0.03 ml/l	1-3 min.	regular	5-20 min	Amplia seguridad anestésica.	Antes de agregarlo en el agua debe disolverse en acetona, por lo que es irritante. Mantenimiento anestésico regular. El tiempo de recuperación puede llegar a ser prolongado.
Metil fen tinol. (8)	0.5-0.9 ml/l	2-3 min	regular	5-20 min		Inestable, olor acre y nocivo. Mantenimiento anestésico regular. El tiempo de recuperación puede ser prolongado.

CUADRO 1. COMPARACION DE LA CALIDAD ANESTESICO LOGRADA CON LOS FARMACOS UTILIZADOS EN PECÉS.(Cont.)

ANESTESICO	CONCENTRACION	CUALIDADES ANESTESICAS			VENTAJAS	DESVENTAJAS
		TI	MANTENIMIENTO	TR		
Bicarbonato de sodio. (1)	642 mg/l	5 min	regular	5-15 min	Buena seguridad anestésica.	Regular mantenimiento anestésico.
(*) Xilocaína y Bicarbonato de sodio. (2)	xilocaína: 350 mg/l bicarbonato de sodio: 1 g/l	25-50 seg	excelente durante prácticas rápidas de manejo.	3-8 min	Tiempos de inducción y recuperación reducidos. Excelente <u>man</u> tenimiento. Amplia <u>seguri</u> dad anestésica.	

(*) En trucha arcoiris.

Del Cuadro 1 se puede deducir que la mezcla de xilocaína y bicarbonato de sodio es una buena alternativa para la anestesia en peces. A continuación se describen algunas de las características importantes de estos fármacos desde el punto de vista anestésico.

La xilocaína (clorhidrato de lidocaína) es un polvo cristalino, muy soluble en agua, suele deprimir la respiración y no la circulación, y un efecto secundario es la somnolencia y los vahídos⁽⁹⁾. Resultados experimentales indican que la molécula no ionizada del anestésico es la responsable del efecto producido⁽⁴⁾. y la reducción de la ionización de las moléculas de xilocaína se logra al encontrarse en pH alcalino. Esta característica se puede apreciar mejor si se observan los datos de Feldman y col.⁽⁴⁾ que reportaron los siguientes porcentajes de no ionización de la lidocaína a diferentes pH:

pH	Porcentaje de no ionización
6	1.2
7	11.2
8	55.7

El bicarbonato de sodio es un polvo blanco, higroscópico y muy estable si se le guarda en un lugar seco y oscuro. En adición, tiene reacción alcalina y por mantener dicho pH en condiciones fisiológicas, se le considera una sustancia buffer. Se sabe que un pH alcalino mejora la acción de la xilocaína. Además libera CO₂ al contacto con el agua, lo que de por sí implica una cierta capacidad anestésica⁽¹⁾.

El efecto anestésico requerido para realizar las maniobras de manejo anteriormente mencionadas, de acuerdo a la clasificación de cambios de conducta a varios niveles de anestesia en peces, reportada por McFarland y Klontz⁽⁸⁾, es la "pérdida de reacción refleja", en la que se observa una inhibición de las reacciones de defensa y movimientos operculares muy leves. Para tener una imagen más completa de estos cambios de conducta, se enlistan dicha clasificación en el Cuadro 2.

CUADRO 2. CLASIFICACION DE CAMBIOS DE CONDUCTA A VARIOS NIVELES DE ANESTESIA. (McFarland y Klontz⁽⁸⁾).

Normal	Reacciona a estímulos externos; equilibrio y tono muscular normales.
Sedación ligera	Ligera pérdida de reacción a estímulos táctiles y visuales externos; equilibrio normal.
Sedación profunda	Pérdida total de reacción a estímulos externos excepto presiones fuertes; ligero decremento en la frecuencia de los movimientos operculares; equilibrio normal.
Pérdida parcial del equilibrio	Pérdida parcial del tono muscular; nado errático; incremento en la frecuencia de movimientos operculares. Reacciona solamente a estímulos táctiles y vibrátiles fuertes.
Pérdida total del equilibrio	Pérdida total del tono muscular y del equilibrio; rápidos movimientos operculares; reacciona solamente a estímulos de presión fuerte.
Pérdida de reacción refleja	Pérdida total de reacción; movimientos operculares muy débiles; frecuencia cardiaca muy lenta.
Colapso medular	Los movimientos operculares cesan inmediatamente después de boquear, seguido por paro cardiaco.

Para que una anestesia para peces se considere eficaz se debe tomar en cuenta la duración del mantenimiento del pez fuera del agua de acuerdo con la maniobra. En el Cuadro 3 se presenta una relación de los tiempos de mantenimiento fuera del agua requerido para tres especies en diversos procedimientos:

CUADRO 3. TIEMPOS DE MANTENIMIENTO FUERA DEL AGUA REQUERIDOS PARA CARPA, BAGRE Y TILAPIA.

ESPECIE	MANIOBRA	TIEMPO REQUERIDO
CARPA	sexado	15 seg
	marcaje	20 seg
	biometría	30 seg
	hipofización	30 seg
	desove manual	60 seg
	lavado de gónadas	4 min
BAGRE	sexado	15 seg
	marcaje	20 seg
	biometría	30 seg
	hipofización	30 seg
	desove manual	60 seg
TILAPIA	sexado	15 seg
	marcaje	20 seg
	biometría	30 seg

Ya que sería impráctico manejar una dosis anestésica para cada uno de los tiempos de mantenimiento fuera del agua requeridos, los estudios anestésicos se pueden basar en el tiempo máximo requerido para cada especie. De esta forma se requieren los siguientes tiempos:

<u>ESPECIE</u>	<u>TIEMPO MAXIMO REQUERIDO</u>
Tilapia	30 seg
Bagre	60 seg
Carpa	4 min

HIPOTESIS:

La mezcla de xilocaína y bicarbonato de sodio es igualmente efectiva y segura para anestésiar carpa (C. carpio), bagre (I. punctatus) y tilapia (T. mossambica), como lo fue para la trucha arcoiris (S. gairdneri), tomando como punto de referencia el tiempo máximo de mantenimiento fuera del agua requerido para cada especie, de acuerdo con el Cuadro 3.

OBJETIVO:

Realizar pruebas de anestesia con xilocaína y bicarbonato de sodio en carpa (C. carpio), bagre (I. punctatus) y tilapia (T. mossambica) estableciendo curvas de dosis-respuesta anestésica y márgenes terapéuticos en cada uno de los tres casos, utilizando el máximo tiempo de mantenimiento fuera del agua requerido para la maniobra más prolongada en cada especie (Cuadro 3).

MATERIAL Y METODOS:

1) Obtención de las dosis efectivas y letales de xilocaína:

Se utilizaron ejemplares de carpas, bagres y tilapias con un peso de 100 a 150 g cada uno; cada especie fue tratada con soluciones, de 10 litros, de xilocaína en concentraciones de 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600,-- 650, 700 y 750 mg/l de agua. Cada una de las concentraciones-- fue probada en un lote de 30 peces, dentro de cajas de poliuretano de una capacidad de 20 l. El agua utilizada fué la misma en la que se encuentran normalmente los peces.

Los peces se colocaron, uno a uno, dentro de las-- cajas conteniendo las diferentes concentraciones de xilocaína;-- para cada concentración se usaron tres TI: 60 seg, 90 seg y 120 seg, empleando 10 peces para cada TI, al término de los cuales se sacaron del acuario y se midió el tiempo de mantenimiento adecuado fuera del agua (MAFA) (*) en cada especie, buscándose los siguientes tiempos:

Carpa: 4 min

Bagre: 60 seg

Tilapia: 30 seg

Posteriormente, se colocaron nuevamente los peces en su estanque y se midió el TR.

Para cada especie se ajustaron curvas de relación de la respuesta (MAFA) con la concentración de xilocaína y los TI empleados, buscando el efecto de ambos factores sobre el MAFA y la posible interacción de éstos, para lo cual se utilizó el análisis Logit⁽¹²⁾, estimando los parámetros por el método de verosimilitud máxima, mediante el paquete General Linear Interactive Modeling (GLIM).

El mismo procedimiento Logit se usó para evaluar la letalidad empleando como respuesta el número de peces muertos.

(*) MAFA: estado en el que el pez, estando fuera del agua, es fácilmente maniobrable.

Asimismo, se determinó la dosis efectiva mínima necesaria para obtener el MAFA requerido para cada especie, en el 50 y 99% de los casos, de acuerdo a los diferentes TI.

Posteriormente se compararon las curvas de efectividad(MAFA) y de letalidad(muerte) para estimar el margen terapéutico y el margen terapéutico cierto, de acuerdo con lo establecido como norma en Farmacología y que se resume en las siguientes fórmulas⁽⁵⁾:

$$MT = \frac{DL\ 50\%}{DE\ 50\%}$$

$$MTC = \frac{DL\ 1\%}{DE\ 99\%}$$

donde:

MT= Margen Terapéutico

DL= Dosis Letal

DE= Dosis Anestésica Efectiva

MTC= Margen Terapéutico Cierto

2) Reducción del TI obtenido con xilocaína mediante la adición de bicarbonato de sodio:

Se eligió una dosis de acuerdo a los resultados del primer punto, para cada especie; estas dosis fueron probadas en los mismos acuarios, disolviendo previamente 1 g de bicarbonato de sodio por litro de agua, con el fin de producir un incremento en el pH, y un aumento en la concentración de CO₂, observando si existe reducción en el TI y un mejor MAFA, así como alguna alteración en el TR.

La dosis de xilocaína, elegida para cada especie fue probada en lotes de 10 peces.

Posteriormente se usó un análisis de regresión para evaluar la influencia de la especie, dosis y el TI sobre el TR. El TI se transformó mediante el logaritmo natural para someterlo al análisis.

Después, para cada especie se hicieron análisis de regresión para determinar la influencia de TI sobre TR; en el caso de las tilapias se evaluaron en forma simultánea las dos dosis aplicadas y el TI, sobre el TR, ya que se aplicaron dos diferentes dosis, evaluándose después en cada una de las dos dosis el TI sobre el TR.

Este trabajo se realizó en el Centro Acuícola Zacapu, en Zacapu, Michoacán, y en el Centro Acuícola Zacatepec, en Zacatepec, Morelos.

RESULTADOS:

1) Dosis efectivas y letales de xilocaína:

A continuación se muestran los resultados obtenidos al utilizar las diferentes concentraciones de xilocaína en los e jemplares de las diferentes especies probadas.

Carpa :

CONCENTRACION DE XILOCAINA (mg/l)	NUMERO DEL PEZ	TIEMPOS DE INDUCCION (seg)								
		60			90			120		
		MAFA (seg)	TR (seg)	M(*)	MAFA (seg)	TR (seg)	M	MAFA (seg)	TR (seg)	M
100	1 al 10	NO SE OBTUVO RESPUESTA								
150	1 al 10	NO SE OBTUVO RESPUESTA								
200	1 al 10	NO SE OBTUVO RESPUESTA								
250	1	0	20		5	30		15	63	
	2	0	25		10	33		17	76	
	3	0	25		25	43		20	37	
	4	0	27		25	73		23	40	
	5	18	40		27	76		26	17	
	6	22	55		28	76		28	45	
	7	29	63		30	70		28	56	
	8	35	65		32	82		24	41	
	9	42	75		33	84		30	39	
	10	44	75		38	89		32	36	
300	1	5	0		0	0		40	165	
	2	7	8		10	30		49	180	
	3	7	3		10	26		60	125	
	4	9	10		14	28		66	120	
	5	15	6		15	14		68	267	
	6	17	5		16	21		77	236	
	7	20	3		25	17		24	303	
	8	20	8		28	13		240	265	
	9	22	10		33	30		240	197	
	10	24	12		35	39		240	316	
350	1	58	97		240	139		240	560	
	2	60	46		240	139		240	728	
	3	77	59		240	116		240	479	
	4	78	63		240	207		240	675	
	5	80	81		240	140		240	282	
	6	80	56		240	142		240	742	
	7	101	92		240	117		240	614	
	8	111	66		240	1961		240	555	
	9	111	77		240	210		240	293	
	10	240	108		240	176		240	729	

CONCENTRACION DE XILOCAINA (mg/l)	NUMERO DEL PEZ	T I E M P O S D E I N D U C C I O N (seg)								
		60			90			120		
		MAFA (seg)	TR (seg)	M	MAFA (seg)	TR (seg)	M	MAFA (seg)	TR (seg)	M
400	1	240	440		240	499		240	1374	
	2	240	418		240	603		240	1307	
	3	240	334		240	972		240	845	
	4	240	269		240	702		240	1131	
	5	240	198		240	963		240	1378	
	6	240	392		240	841		240	981	
	7	240	394		240	558		240	1384	
	8	240	435		240	660		240	1141	
	9	240	235		240	616		240	1380	
	10	240	200		240	1017		240	916	
450	1	240	184		240	120		240	776	
	2	240	185		240	139		240	1091	
	3	240	255		240	167		240	1420	
	4	240	260		240	209		240	1422	
	5	240	155		240	182		240	1442	
	6	240	272		240	188		240	1490	
	7	240	174		240	258		240	2750	
	8	240	136		240	131		240	3192	
	9	240	267		240	266		240	3557	
	10	240	192		240	143		240	3566	
500	1	42	190		240	239		240	170	
	2	0	160		240	240		240	190	
	3	0	196		240	242		240	202	
	4	0	242		240	191		240	554	
	5	0	185		240	447		240	682	
	6	0	173		240	867		240	754	
	7	0	300		240	937		240	767	
	8	0	271		240	1208		240		+
	9	0	170		240		+	240		+
	10	19	123		240		+	240		+
550	1	240	1175		240		+	240		+
	2	240	1684		240		+	240		+
	3	240		+	240		+	240		+
	4	240		+	240		+	240		+
	5	240		+	240		+	240		+
	6	240		+	240		+	240		+
	7	240		+	240		+	240		+
	8	240		+	240		+	240		+
	9	240		+	240		+	240		+
	10	240		+	240		+	240		+
600	1 al 10	240		+	240		+	240		+
650	1 al 10	240		+	240		+	240		+
700	1 al 10	240		+	240		+	240		+
750	1 al 10	240		+	240		+	240		+

Como puede notarse, el MAFA deseado (240 seg=4 min) se logró, en la totalidad de los peces probados, al utilizar las siguientes concentraciones a los TI marcados con una cruz.

CONCENTRACION(mg/l)	TI(seg)		
	60	90	120
350		+	+
400	+	+	+
450	+	+	+
500		+	+

La dosis elegida para ser utilizada junto con bicarbonato de sodio fue la de 350 mg/l, debido a que fue la menor concentración en que se logró el MAFA deseado en la totalidad de los peces probados, no obstante que se haya requerido un TI de 90 seg, ya que éste se reduce notablemente al utilizar el bicarbonato de sodio.

Bagre:

CONCENTRACION DE XILOCAINA (mg/l)	NUMERO DEL PEZ	TIEMPOS DE INDUCCION (seg)								
		60			90			120		
		MAFA (seg)	TR (seg)	M	MAFA (seg)	TR (seg)	M	MAFA (seg)	TR (seg)	M
100	1	0	60		60	101		60	772	
	2	0	60		60	203		60	285	
	3	0	40		43	120		60	567	
	4	30	60		60	140		60	343	
	5	51	110		21	111		60	672	
	6	58	107		60	142		60	320	
	7	15	8		45	125		60	407	
	8	60	150		60	178		60	384	
	9	60	135		60	183		60	785	
	10	60	165		60	138		60	497	
150	1	60	190		60	125		60	110	
	2	60	111		60	54		60	165	
	3	60	301		60	58		60	170	
	4	60	124		60	372		60	168	
	5	60	206		60	166		60	193	
	6	60	315		60	77		60	180	
	7	60	346		60	153		60	180	
	8	60	163		60	319		60	127	
	9	60	352		60	374		60	190	
	10	60	297		60	355		60	170	
200	1	0	110		60	180		60	261	
	2	0	136		60	162		60	476	
	3	0	220		60	194		60	330	
	4	60	127		60	174		60	330	
	5	60	195		60	322		60	330	
	6	60	170		60	320		60	392	
	7	60	210		60	193		60	420	
	8	60	145		60	218		60	340	
	9	60	164		60	219		60	360	
	10	60	214		60	281		60	380	
250	1	60	385		60	510		60	383	
	2	60	312		60	949		60	423	
	3	60	633		60	1088		60	799	
	4	60	408		60	559		60	795	
	5	60	409		60	1085		60	431	
	6	60	543		60	908		60	432	
	7	60	490		60	908		60	610	
	8	60	600		60	1038		60	612	
	9	60	391		60	579		60	560	
	10	60	488		60	1060		60	860	

CONCENTRACION DE XILOCAINA (mg/l)	NUMERO DEL PEZ	TIEMPOS DE INDUCCION (seg)								
		60			90			120		
		MAFA (seg)	TR (seg)	M	MAFA (seg)	TR (seg)	M	MAFA (seg)	TR (seg)	M
300	1	60	391		60	639		60	567	
	2	60	278		60	752		60	568	
	3	60	435		60	678		60	634	
	4	60	435		60	764		60	640	
	5	60	309		60	680		60	675	
	6	60	335		60	687		60	720	
	7	60	292		60	686		60	721	
	8	60	388		60	615		60	750	
	9	60	385		60	997		60	1203	
	10	60	324		60	781		60	1275	
350	1	60	660		60	682		60	727	
	2	60	662		60	720		60	728	
	3	60	670		60	851		60	1018	
	4	60	1105		60	860		60	1080	
	5	60	1443		60	876		60	1389	
	6	60	1470		60	890		60	1420	
	7	60	1480		60	918		60	1579	
	8	60	1505		60	1020		60	1740	
	9	60	1685		60	1271		60	2415	
	10	60	3011		60	1280		60	3608	
400	1	60	824		60	2048		60	636	
	2	60	850		60	2160		60	650	
	3	60	1540		60	3078		60	670	
	4	60	1550		60	3360		60	695	
	5	60	1605		60	3480		60	707	
	6	60	2300		60	3840		60	796	
	7	60	3135		60	4080		60	796	
	8	60	4680		60		+	60	865	
	9	60	4860		60		+	60	968	
	10	60	5280		60		+	60	1020	
450	1	0	202		60	322		60	503	
	2	0	200		60	360		60	603	
	3	0	240		60	376		60	634	
	4	0	255		60	510		60	755	
	5	0	258		60	712		60	840	
	6	0	271		60	896		60	1080	
	7	42	199		60	981		60	1288	
	8	0	280		60	985		60	1476	
	9	60	207		60	988		60	1506	
	10	0	230		60	1072		60	1515	

CONCENTRACION DE XILOCAINA (mg/l)	NUMERO DEL PEZ	TIEMPOS DE INDUCCION (seg)								
		60			90			120		
		MAFA (seg)	TR (seg)	M	MAFA (seg)	TR (seg)	M	MAFA (seg)	TR (seg)	M
500	1	0	146		60	977		60	790	
	2	0	147		60	252		60	792	
	3	0	170		60	270		60	810	
	4	0	224		60	300		60	856	
	5	0	290		60	420		60	880	
	6	0	320		60	434		60	1040	
	7	0	198		60	431		60	1078	
	8	0	252		60		+	60		+
	9	0	310		60		+	60		+
	10	0		+	60		+	60		+
550	1 al 10	60		+	60		+	60		+
600	1 al 10	60		+	60		+	60		+
650	1 al 10	60		+	60		+	60		+
700	1 al 10	60		+	60		+	60		+
750	1 al 10	60		+	60		+	60		+

El MAFA deseado (60 seg) se logró, en la totalidad de los peces probados, al utilizar las siguientes concentraciones a los TI marcados con una cruz.

CONCENTRACION (mg/l)	TI (seg)		
	60	90	120
100			+
150	+	+	+
200		+	+
250	+	+	+
300	+	+	+
350	+	+	+
400	+		+
450		+	+

En este caso, aunque el MAFA deseado se logró desde la concentración de 100 mg/l, se presentaron ligeros movimientos al utilizar las concentraciones de 100, 150 y 200 mg/l, por lo que la dosis elegida para ser utilizada junto con bicarbonato de

sodio fue la de 250 mg/l, que fue la menor concentración en las que no se presentaron movimientos de los peces, específicamente a un TI de 90 seg, ya que aun en esta misma concentración a un TI de 60 seg se observaron algunos ligeros movimientos de los animales.

Tilápia:

CONCENTRACION DE XILOCAINA (mg/l)	NUMERO DEL PEZ	TIEMPOS DE INDUCCION (seg)								
		60			90			120		
		MAFA (seg)	TR (seg)	M	MAFA (seg)	TR (seg)	M	MAFA (seg)	TR (seg)	M
100	1 al 10	0	0		0	0		0	0	
150	1 al 10	0	0		0	0		0	0	
200	1 al 10	0	0		0	0		0	0	
250	1 al 10	0	0		0	0		0	0	
300	1 al 10	0	0		0	0		0	0	
350	1 al 10	0	0		0	0		0	0	
400	1 al 10	0	0		0	0		0	0	
450	1 al 10	0	0		0	0		0	0	
500	1 al 10	0	0		0	0		0	0	
550	1 al 10	0	0		0	0		0	0	
600	1 al 10	0	0		0	0		0	0	
650	1 al 10	0	0		0	0		0	0	
700	1 al 10	0	0		0	0		0	0	
750	1 al 10	0	0		0	0		0	0	
1000	1	0	0		0	0		0	0	
	2	0	0		0	0		0	0	
	3	0	0		0	0		0	0	
	4	0	0		0	0		0	0	
	5	0	0		0	0		0	0	
	6	0	0		30	40		0	0	
	7	0	0		0	0		30	107	
	8	0	0		30	50		30	135	
	9	0	0		0	0		0	0	
	10	0	0		0	0		0	0	
1500	1	0	0		0	0		30	524	
	2	0	0		0	60		30	550	
	3	0	0		30	180		30	555	
	4	0	0		30	195		30		+
	5	0	0		30	290		30		+
	6	0	0		30	300		30		+
	7	0	240		30	300		30		+
	8	0	0		30	328		30		+
	9	0	0		30		+	30		+
	10	0	0		0	25		30		+

CONCENTRACION DE XILOCAINA (mg/l)	NUMERO DEL PEZ	TIEMPOS DE INDUCCION (seg)								
		60			90			120		
		MAFA (seg)	TR (seg)	M	MAFA (seg)	TR (seg)	M	MAFA (seg)	TR (seg)	M
2000	1	30	60		30	298		30	2820	
	2	30	62		30	300		30		+
	3	30	85		30	335		30		+
	4	30	90		30	420		30		+
	5	30	120		30	436		30		+
	6	30	195		30	904		30		+
	7	30	222		30	995		30		+
	8	30	720		30		+	30		+
	9	30	750		30		+	30		+
	10	30		+	30		+	30		+

En este caso, el MAFA deseado (30 seg) no se logró al utilizar las concentraciones probadas en las otras dos especies, por lo que fueron incrementadas hasta 2000 mg/l, concentración en la cual se logró el MAFA deseado en el 90% de los peces utilizados, y en un solo TI (60seg). Dicha concentración es demasiado elevada, por lo que se prefirió utilizar las dosis elegidas para carpa (350 mg/l) y para bagre (250 mg/l) para probarlas agregando bicarbonato de sodio.

Para cada especie se evaluó el efecto de la dosis y el TI, así como la interacción entre éstos, presentándose aquí las dosis estimadas de acuerdo a los factores que resultaron significativos ($p < 0.05$).

a) Carpas:

Se encontró un efecto significativo ($p < 0.05$) de la dosis sobre el MAFA, no así del TI. Para la letalidad, tanto la dosis, el TI, como la interacción dosis-TI, fue significativa. En el Cuadro 4 se resume el resultado del análisis realizado en el caso de carpas.

CUADRO 4. DOSIS EFECTIVAS, LETALES Y MARGENES TERAPEUTICOS, DE ACUERDO A LOS DIFERENTES TI EN CARPA.

DOSIS	FACTORES SIGNIFICATIVOS (p<0.05)	NIVEL DE LA DOSIS	TIEMPOS DE INDUCCION(seg)		
			60	90	120
EFFECTIVA (MAFA)	DOSIS	50%	337.51	337.51 *	337.51 *
	DOSIS	99%	398.20	398.20 *	398.20 *
LETAL (muerte)	DOSIS	1%	460.25	403.25	254.75
	INTERACCION DOSIS-TI	50%	544.90	525.50	475.00
MARGEN TERAPEUTICO			1.61	1.55	1.40
MARGEN TERAPEUTICO CIERTO			1.15	1.01	0.63

(*) Para dosis efectiva, el efecto de TI no fue significativo, por lo que las dosis estimadas son iguales para los tres TI analizados.

b) Bagre:

El Cuadro 5 contiene los resultados del análisis para bagres, como puede verse, las dosis efectivas 50% no pudieron estimarse, lo cual se debe a que la respuesta(MAFA) fue alta, aun en las concentraciones más bajas empleadas. Por lo tanto, tampoco el margen terapéutico pudo calcularse.

CUADRO 5. DOSIS EFECTIVAS, LETALES Y MARGENES TERAPEUTICOS, DE ACUERDO A LOS DIFERENTES TI EN BAGRE.

DOSIS	FACTORES SIGNIFICATIVOS (p<0.05)	NIVEL DE LA DOSIS	TIEMPOS DE INDUCCION(seg)		
			60	90	120
EFFECTIVA (MAFA)	DOSIS	50%	*	*	*
	INTERACCION DOSIS-TI	99%	725.24	343.45	189.05
LETAL (muerte)	DOSIS	1%	407.50	402.59	397.57
	TI	50%	501.66	496.70	491.74
MARGEN TERAPEUTICO			*	*	*
MARGEN TERAPEUTICO CIERTO			0.56	1.17	2.10

(*) No se puede estimar con precisión, ya que aun en las concentraciones más bajas la respuesta fue alta.

c) Tilapia:

Para la tilapia, las concentraciones usadas originalmente (100 a 750 mg/l) no tuvieron efecto apreciable, por lo que se aumentaron las concentraciones, empleándose 1000 mg/l, 1500 mg/l y 2000 mg/l, además de las anteriores, y cada una a los tres TI mencionados.

Tanto para la efectividad, como para la letalidad el efecto de la dosis y el TI fue significativo, como puede verse en el Cuadro 6. Es importante notar que algunas de las dosis estimadas resultan de la extrapolación de los datos obteni

dos experimentalmente. ACUERDO A LOS DIFERENTES TI EN TILAPIA.

FACTORES SIGNIFICATIVOS (p<0.05)		NIVEL DE LA DOSIS	TIEMPOS DE INDUCCION(seg)		
			60	90	120
DOSIS EFECTIVA (MAFA)	DOSIS	50%	1674.77	1385.56	1096.33
	TI	99%	2097.50	1809.04	1519.00
DOSIS LETAL (muerte)	DOSIS	1%	1751.42	1228.92	706.47
	TI	50%	2548.73 *	2026.37 *	1503.99
MARGEN TERAPEUTICO			1.52	1.46	1.37
MARGEN TERAPEUTICO CIERTO			0.83	0.67	0.46

(*) Son valores calculados en base a los parámetros estimados, pero debe tenerse en cuenta que el resultado está fuera del rango observado experimentalmente.

2) Xilocaína combinada con bicarbonato de sodio.

En el Cuadro 7 se muestran los resultados obtenidos al probar las dosis de xilocaína elegidas para cada especie, agregando bicarbonato de sodio a una concentración de 1 g/l.

CUADRO 7. RESULTADOS OBTENIDOS AL PROBAR LAS DOSIS DE XILOCAINA ELEGIDAS PARA CADA ESPECIE AGREGANDO BICARBONATO DE SODIO.

C A R P A (350 mg/l)				B A G R E (250 mg/l)				T I L A P I A (250 mg/l)				T I L A P I A (350 mg/l)			
NUMERO DEL PEZ	TI (seg)	MAFA (seg)	TR (seg)	NUMERO DEL PEZ	TI (seg)	MAFA (seg)	TR (seg)	NUMERO DEL PEZ	TI (seg)	MAFA (seg)	TR (seg)	NUMERO DEL PEZ	TI (seg)	MAFA (seg)	TR (seg)
1	40	240	452	1	80	60	692	1	118	30	300	1	84	30	328
2	41	240	455	2	80	60	695	2	120	30	308	2	85	30	330
3	48	240	793	3	82	60	720	3	135	30	310	3	85	30	582
4	51	240	798	4	88	60	723	4	160	30	316	4	85	30	615
5	55	240	800	5	90	60	725	5	167	30	320	5	86	30	676
6	56	240	802	6	90	60	729	6	200	30	496	6	90	30	695
7	56	240	806	7	91	60	800	7	203	30	498	7	90	30	702
8	58	240	900	8	93	60	812	8	203	30	550	8	92	30	730
9	60	240	994	9	93	60	820	9	240	30	560	9	94	30	733
10	60	240	996	10	95	60	825	10	242	30	560	10	95	30	733

Al comparar los resultados de estas pruebas con los obtenidos usando xilocaína sola, se observó lo siguiente en cada una de las especies :

Carpa: Al utilizar la mezcla de xilocaína más bicarbonato de sodio se observó una reducción del TI y un incremento del TR.

Bagre: El TI fue similar en las dos pruebas y el TR se incrementó en algunos casos al utilizar la combinación de xilocaína más bicarbonato de sodio.

Tilapia: Al utilizar la mezcla de xilocaína (a las dos dosis elegidas) más bicarbonato de sodio, se logró el MAFA deseado, el cual no se obtuvo al utilizar xilocaína sola. Y, haciendo una comparación entre las dos dosis elegidas (250 y 350 mg/l) se observó un TI menor y un TR mayor al utilizar la dosis de 350 mg/l.

Evaluación de la influencia de la especie, dosis y el TI, sobre el TR:

Examinando los datos en su conjunto ($n=39$) se detecta un efecto altamente significativo ($p<0.01$) de las variables: especie, dosis, TI, y un efecto cuadrático de TI, esto al analizar el efecto simultáneo de todas ellas a través de un modelo de regresión. $r^2=0.85$.

Determinación de la influencia de TI sobre TR en cada especie:

Carpa: Se encontró una correlación de 0.95 ($p<0.01$) entre TR y TI, mientras que una regresión lineal de TI sobre TR resultó altamente significativa ($p<0.01$), permitiendo explicar el 90.7% de la variación del TR a través del TI.

Bagre: En el caso del bagre, la regresión es altamente significativa ($p<0.01$) lográndose explicar el 73.4% de la varianza de TR al conocer TI, aunque este valor es menor que el conseguido para carpas (90.7%), es alto, sobre todo si se toma en cuenta el número de observaciones ($n=10$).

Tilapia: Al evaluar las concentraciones aplicadas a las tilapias (250mg/l y 350 mg/l) en forma simultánea con el TI, se encontró que ambos efectos son altamente significativos ($p<0.01$), explicando entre ambos factores el 60.0% de la variación en TR.

Al examinar sólo los casos en que se usó la dosis de 250 mg/l, se ajustó una regresión altamente significativa ($p < 0.01$) estimándose que el 90.9% de la varianza de TR está reflejada en TI.

Analizando los casos en que se utilizó la dosis de 350 mg/l, la regresión fué significativa ($p < 0.05$) estimándose que el TI explica el 55.7% de la varianza de TR.

En el Cuadro 8 se muestra el resumen del análisis de los factores que influyen en TR.

CUADRO 8. RESUMEN DE ANALISIS DE LOS FACTORES QUE INFLUYEN EN TR.

ESPECIE	DOSIS (mg/l)	n	VARIABLES EN LA REGRESION	SIGNIFICANCIA DE LA REGRESION	r^2
CARPA, BAGRE Y TILAPIA		39	ESPECIE; DOSIS TI; TI ²	$p < 0.01$	85%
CARPA	350	10	TR; TI	$p < 0.01$	90.7%
BAGRE	250	10	TR; TI	$p < 0.01$	73.4%
TILAPIA	250 350	19	DOSIS TI; TR	$p < 0.01$	60.0%
TILAPIA	250	9	TI; TR	$p < 0.01$	90.9%
TILAPIA	350	10	TI; TR	$p < 0.05$	55.7%

DISCUSION.

Los resultados obtenidos indican claramente que la xilocaína es capaz de producir anestesia en carpa, bagre y tilapia, con márgenes de seguridad ciertos que varían dependiendo del TI, como se observa en los Cuadros 4,5 y 6.

Sin embargo, no todas las especies probadas en este trabajo resultaron igualmente susceptibles a la acción anestésica de la xilocaína, como es el caso de la tilapia, que requirió un 800% más de xilocaína en comparación con el bagre, y un 571.42% más al compararla con la carpa; y en el caso del bagre que presentó una notable susceptibilidad a la xilocaína, siendo suficiente un 71.42% de la concentración requerida para carpa y un 17.50% de la requerida para tilapia.

El TI necesario para lograr el MAFA deseado, al usar xilocaína sola, fue similar en carpa y bagre (90 seg), siendo menor que el TI requerido para trucha(120 seg)⁽²⁾, y en el caso de la tilapia el TI fue de 60 seg aunque con la desventaja de que se requirió una concentración demasiado elevada(2000 mg/l). Estos TI son mayores que los logrados con otros anestésicos como el MS-222 y la quinaldina⁽⁸⁾. Sin embargo, la adición de bicarbonato de sodio lo reduce casi en un 50% en el caso de la carpa y también en algunos casos en el bagre y la tilapia.

Además, en el caso de la tilapia, la adición de bicarbonato de sodio resultó en una reducción de la concentración de xilocaína necesaria para lograr el MAFA deseado. Esta reducción del TI se debe a la capacidad anestésica del bicarbonato de sodio, ya que libera bióxido de carbono al contacto con el agua⁽¹⁾, y probablemente a que facilita la disociación de los anestésicos locales, promoviendo su efecto⁽⁴⁾.

El menor TI logrado al agregar bicarbonato de sodio hace preferir la utilización de la mezcla anestésica formada por xilocaína más bicarbonato de sodio, sobre el uso de la xilocaína sola.

Asimismo, la adición de bicarbonato de sodio provocó un incremento en el TR en las tres especies de peces probadas, lo cual puede deberse a que el efecto anestésico logrado, en este caso, es más profundo.

En la práctica piscícola se requieren anestésicos con un TI corto, debido a la gran cantidad de animales que se manipulan, un MAFA suficiente para facilitar su manejo y evitar lastimaduras, un TR corto y un margen terapéutico amplio, además de que no resulte peligroso para el manejador. La mezcla anestésica formada por xilocaína y bicarbonato de sodio cumple aún mejor con estos requisitos, siendo sólo comparable con los mejores anestésicos utilizados en peces, como son elMS-222 y la quinaldina (8).

Pero, además de esto, la mezcla anestésica formada por xilocaína y bicarbonato de sodio ofrece las ventajas de fácil disponibilidad y bajo costo, por lo que se recomienda su utilización para lograr inmovilización de peces durante las labores rutinarias a que son sometidos, reduciéndose considerablemente la mortalidad y el gasto por concepto de anestésicos.

CONCLUSIONES:

- 1) La xilocaína es capaz de producir anestesia en carpa, bagre y tilapia, ofreciendo gran seguridad.
- 2) El bagre presenta gran susceptibilidad a la acción anestésica de la xilocaína, requiriendo 250 mg/l, la carpa requiere 350 mg/l, y la tilapia presenta menor susceptibilidad ya que requiere 2000 mg/l.
- 3) El TI es similar en carpa y bagre, siendo menor que el requerido en truchas, y la tilapia presenta el TI más corto, aunque requiere una concentración muy alta de xilocaína.
- 4) La adición de bicarbonato de sodio (1 g/l) reduce considerablemente el TI en carpa y también en algunos casos, en bagre y tilapia. En esta última especie también se redujo la concentración de xilocaína (a 250mg/l y 350 mg/l) requerida para lograr el MAFA deseado.
- 5) La adición de bicarbonato de sodio a la xilocaína incrementa el TR.
- 6) Se recomienda la utilización de xilocaína mas bicarbonato de sodio sobre el uso de la xilocaína sola, ya que se obtienen TI más cortos.

LITERATURA CITADA.

1. Booke, H.E.; Hollender, B. and Lutterbie, G.: Sodium bicarbonate an inexpensive fish anesthetic for field use. Prog. Fish Cult. 40 (1), 11-13 (1978).
2. Carrasco, M.S.; Sumano, L.H. y Ocampo, C.L.: La xilo caína como auxiliar para el manejo durante el desove manual en trucha arco iris (Salmo gairdneri). Vet.Mex. 13(2), 61-64 (1982).
3. Carrasco, M.S.: Cultivo de trucha arco iris. Memorias del Segundo Ciclo de Conferencias sobre Temas del Sector Agropecuario, del 11 de abril al 31 de mayo de 1983. Instituto Nacional de Capacitación Agropecuaria. México D.F. (en prensa).
4. Feldman, S.; De Francisco, M. and Cascella, P.J.: Activity of local anesthetic agents in goldfish. J. Pharm. Sci., 64 (10), 1713-1715 (1975).
5. Ghittino, P.: Piscicoltura e Ittiopatología. Vol. I. Piscicoltura. Edizioni Rivista di Zootecnia, pp. 65. Roma, Italia. (1969).
6. Goodman, L.S. and Gilman, A.: The Pharmacological Basis of Therapeutics. 5th ed. Mac Millan Publishing Co. Inc. pp. 25-28. New York, N.Y. (1975).
7. Huet, M.: Tratado de Piscicultura. 2a ed. Ediciones Mundi-Prensa. pp. 692, Madrid, España. (1978).
8. McFarland, W. and Klontz, G.W.: Anesthesia in fishes. Fed. Proc., 28 (4), pp. 1535-1540 (1969).
9. Meyer, J.; Booth, N.H. and McDonald, L.E.: Veterinary Pharmacology and Therapeutics. 4th ed. The Iowa State University Press, pp. 327. Ames Iowa. (1977).

10. Rodman, D.T.: Anesthetizing and air-transporting young white sturgeons. Prog. Fish Cult., 25, pp. 71-78(1963).
11. Vollman-Schipper, F.: Transporte de peces vivos. Editorial Acribia, pp. 20-21. Zaragoza, España.(1978).
12. Weisberg, H.; Anderson, S.; Auquier, A.; Hauck, W.; Oakes, D.; Vandaele, W.: Statistical Methods for Comparative Studies. Techniques for Bias Reduction. pp. 161-177, ed. John Wiley & Sons., U.S.A. (1980).

SE IMPRIMIO EN



523-33-13

523-58-56

TORRES ADALID 1228-3

MEXICO 12 D.F.

