

143
2ej.

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

**EVALUACION COMPARATIVA DEL EFECTO
NEMATODICIDA DEL AJO (Allium sativum)
Y DEL TARTRATO DE AMONIO Y POTASIO EN TILAPIA (Tilapia mossambica)**

T E S I S

Que para obtener el título de:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P r e s e n t a :

María Antonieta Mojica Sánchez

Asesores: M.V.Z. Ma. Estela Ana Auró Angulo
M.V.Z. Hector Sumano López

México, D. F.

1987



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 está 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.

C O N T E N I D O

	PAGINA
RESUMEN	1
INTRODUCCION.....	2
OBJETIVOS.....	6
MATERIAL Y METODOS.....	7
RESULTADOS.....	10
CUADROS.....	12
DISCUSION.....	15
LITERATURA CITADA.....	19

RESUMEN

MOJICA SANCHEZ MARIA ANTONIETA. Evaluación Comparativa del efecto nematodocida del ajo (Allium sativum) y del tartrato de amonio y potasio en Tilapia (Tilapia mossambica). (bajo la dirección de Ma. Estela Ana Auró Angulo y Hector Sumano López).

Trabajo realizado en el Departamento de Acuicultura de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. U.N.A.M.

Se evalúa el efecto nematodocida del ajo en tilapia, la estandarización de muestreo y la modificación de la Técnica de Stoll; básicamente consistió en evitar la eutanasia de los animales por medio de la estandarización en la recolección de heces con una metodología accesible en acuarios.

Se aprecia una ventaja de ajo sobre tartrato de amonio y potasio ($P < 0.05$) en la eliminación de huevecillos sobre todo a las setenta y dos horas pos-tratamiento, independientemente del número inicial de huevecillos. Lo que hace pensar que los resultados pueden ser reproducidos siempre y cuando se sigan las recomendaciones.

No se encontraron efectos colaterales o tóxicos que dificulten su empleo en explotaciones comerciales, además que el costo por tratamiento a favor de ajo hacen suponer que este tiene posibilidades de aplicación en la piscicultura.

INTRODUCCION

Desde sus inicios la acuicultura en sus diferentes modalidades: como actividad productiva, para consumo, como pesca deportiva o para acuariología, se ha enfrentado al problema de la patología consecutiva al manejo de grandes poblaciones y más aún a las limitaciones de la terapia médica. Primeramente por la dificultad en la dosificación individual, en segundo lugar por la labilidad de muchas especies piscícolas a los fármacos convencionales y en tercer lugar por la dificultad en alcanzar dosis terapéuticas en un medio que continuamente las diluye. Esto ha traído como consecuencia que la medicación se limite a tres o cuatro fármacos que erróneamente se han tomado como panacea; por ejemplo el Di-n-butyl tinóxido, el tetrafinol y el tartrato de amonio y potasio (9) y que por ello pocas veces son eficaces, además de que los límites entre dosis terapéutica y dosis letal están muy cercanos. Por otro lado, algunos productos pueden almacenarse en la grasa de los peces como los órgano-fosforados (6, 12) y por ello son un peligro para el consumidor.

En México no se ha legislado sobre el uso de fármacos diversos como herbicidas, pesticidas, anestésicos y muchos otros químicos para el tratamiento de enfermedades y parásitos en la acuicultura, por lo que su uso deberá restringirse en lo posible mientras no se realicen los estudios que garanticen, la seguridad e inocuidad de su empleo (1).

Algunos acuicultores tratan de evitar el uso de tratamientos químicos a menos que sea estrictamente necesario; empero,

resulta imposible evitar el uso de fármacos por completo y por lo tanto es aconsejable recurrir a ellos solo en casos indispensables.

Este panorama parecería ser siniestro si no se contara con una medicina alternativa que, si bien es muy antigua y carece de validación experimental, ha vuelto a resurgir gracias a la necesidad imperiosa de un medicamento más económico y que tenga menos efectos colaterales peligrosos: " la medicina tradicional " que, a base de productos vegetales en su estado natural, ha dado la posibilidad de una terapéutica más segura en peces. Es posible pues, que como miembros de un mismo phylum aunque con variantes fisiológicas, los peces podrían responder de manera similar al efecto de terapias tradicionales como es el caso del ajo que como nematodocida ha sido bien conocido desde hace años, también se sabe que tiene propiedades antibióticas, hipoglucemiantes, hipotensivas, antihelmínticas, carminativas, desinfectante intestinal, antirreumático, rubefaciente, balsámico y antimalórico. El ajo pertenece a la familia de las liliáceas del celta al, caustico, es herbacea, bulbosa de aproximadamente un metro de altura (2, 8).

Al igual que otras plantas, en nuestra medicina tradicional destaca el ajo por sus propiedades parasiticidas y entre los compuestos químicos del ajo común se encuentran los siguientes: aliina, alinasa (antibiótico), inulina, vitamina A, B, C y esencia. Así mismo la planta produce por destilación como promedio 0.25% de aceite esencial (2, 8).

Dentro de las especies acuicolas de más difusión en la acua

cultura en México se encuentre la tilapia , que por su capacidad de adaptación en las aguas mexicanas y facilidad de mantenimiento en acuario es la más indicada para ser utilizada como modelo experimental?

La tilapia fue introducida por primera vez en México en el año de 1964 procedente de E.U.A., debido a su gran resistencia y adaptabilidad a diversos medios ha hecho que este género se considere como uno de los mas importantes en la piscicultura mexicana. Actualmente es la especie que se cree más productiva en los estanques de reproducción la hembra puede iniciarse cuando tiene aproximadamente de unos 7 a 9 cm de longitud. Una pareja adulta de tilapias puede producir en un año aproximadamente 9000 peces, su cultivo no requiere de instalaciones complicadas y costosas (4). Son peces de agua caliente tropicales y en su mayoría son originarias de Africa, son tolerantes al agua salobre y aunque algunas no estan adaptadas a ésta, pueden prosperar y aun criarse en agua de mar, su taxonomía es:

Phylum - chordata

Sub-phylum - Gnathostomata

Clase - Osteichthya

Subclase - Actinopterygia .

Orden - Perciforme

Suborden - Cichlidae

Género - Tilapia y Sarotherodon

Especie - T. nilotica, T. mossambica, T. melanopleura
(10)

La importancia que tiene eliminar los nemátodos de los peces

*Secretaría de Pesca.: Manual Técnico para Cultivo de Tilapia.

es doble, por un lado con respecto al mismo ya que la infestación disminuye conversión alimenticia y lo debilita haciendolo objeto de otras enfermedades superpuestas, además de que las larvas de nemátodos se enquistan entre los miotomos del pez produciendo un mal aspecto y con ello un demérito en las infestaciones masivas, pues el pez no se vende. Y en segundo término aunque probablemente de una mayor importancia es el hecho de que existen nemátodos de peces cuyo hospedador definitivo es el hombre, produciendole enfermedad, tal es el caso de Anisakis spp productor de una nematodiasis zoonótica bien conocida (13). Asi pues, en este trabajo se pretende demostrar el efecto nematodida del ajo en peces. Considerando que se trata de un trabajo piloto que de a demostrar la hipotesis establecida; dará base a estudios posteriores que establezcan el principio activo determinante de dicho efecto.

OBJETIVOS

1).- Probar que el ajo es útil en el tratamiento contra nemátodos en peces.

2).- Hacer un estudio comparativo de efectividad y costo de un tratamiento convencional y un tratamiento tradicional a base de ajo.

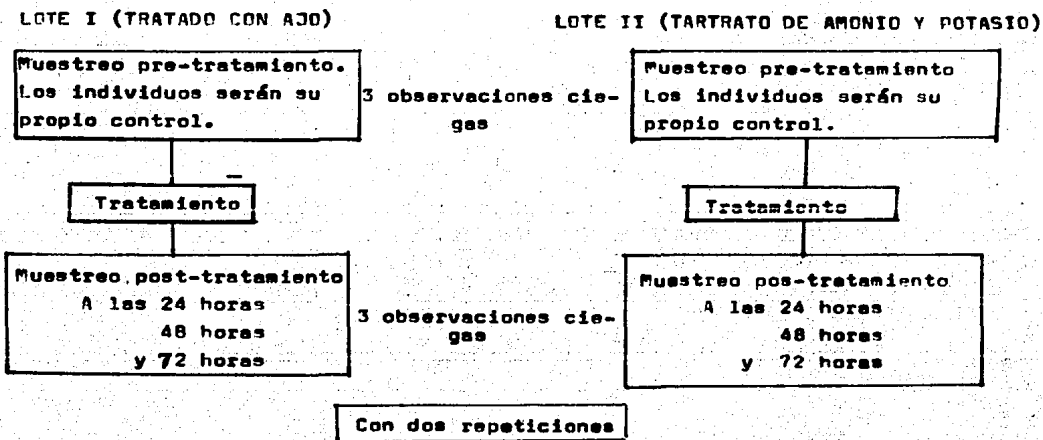
3).- Modificar la técnica del examen cuantitativo de Stoll utilizada en ovinos, para cantidades pequeñas de heces a nivel de acuario.

4).- Evaluar comparativamente el efecto nematodocida entre el ajo y el tartrato de amonio y potasio.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron dos acuarios de 40 litros de capacidad con agua de clorada por aireación y provistos de una bomba de aire Hagen* de 115 Volts 60 Hz 4 Watts con bombeo aproximado de 2,500 ml de aire por minuto, con dos bocas de alimentación. Cada acuario dio alojamiento a 25 peces (biomasa aproximada de 500 g). El acuario se registró como lote I (el tratado con ajo) cuatro dientes de ajo de 2g perfectamente molido con el alimento). Y el segundo lote II (tratado con tartrato de amonio y potasio, a dosis de 1.5 mg / litro).

El diseño experimental se esquematiza de la siguiente manera.



* Rolf C. Hagen (U.S.A.) Corp.

El muestreo se llevó a cabo de la siguiente manera:

1.- Se situaron los acuarios de 40 litros de capacidad con agua de clorada por aireación a temperaturas de 20°C y se colgaron los peces, dejándolos 24 horas para su ambientación.

2.- Con red de cuchara se barrió el piso del acuario para recoger heces diariamente por tres días.

3.- Estas se colocaron en un frasco (0.1 g) procurando decantar la mayor parte del líquido o quitarlo con pipeta Pasteur.

4.- Se agregó 1ml de solución salina saturada, y se mezcló perfectamente por medio de perlas de vidrio pequeñas.

5.- Se colocó 0.1 ml de esta mezcla en un portaobjetos y se colocó un cubreobjetos, se contaron al microscopio todos los huevecillos, por medio de la técnica de lectura en greca (I4). Dada la dilución el número de huevecillos contados se multiplicó X 100 y esto da la cantidad en un gramo. Esto se hizo por duplicado diario por tres días.

Analisis Estadístico:

Dado que los grupos de peces no tienen la misma cuenta basal (pre-tratamiento), no se pueden utilizar los valores absolutos, por lo que se convierten a valores relativos y se tiene que realizar una prueba de U de Mann-Whitney, que es la homóloga de la prueba T de Student pero para escala ordinal (7) de acuerdo con el siguiente diagrama de flujo:

OBJETIVO

Probar hipótesis de que el tratamiento con ajo disminuye la cuenta de huevecillos de nemátodos más que el tratamiento con Tartrato de amonio y K

$$H_0 = S_1^2 = S_2^2$$

$$H_a = S_1^2 \neq S_2^2$$

2 muestras de
6 casos c/u

Independientes

Escala ordinal

U de Mann-Whitney

RESULTADOS

Los resultados de nuestra técnica modificada en los conteos experimentales se encuentran resumidos en los cuadros I, II y III (12, 13, 14)

Aunque la carga inicial de huevecillos no fue igual en las unidades experimentales el análisis estadístico empleado nos permitió evaluar y dar resultados estadísticamente significativos.

En el lote que recibió tratamiento a base de ajo la diferencia entre la carga de huevecillos inicial es muy grande, sin embargo a las 48 horas de iniciado el primer tratamiento está carga disminuye bruscamente y la diferencia entre ambos tratamientos disminuye ($P < 0.08$) manteniéndose así para que a las 72 horas del segundo tratamiento se llegue a la ausencia total de huevecillos, se aprecia un efecto marcado por tiempo de exposición y no por cantidad de ajo ya que la diferencia entre el número de huevecillos inicial fué considerable.

En cuanto al lote tratado con tartrato de amonio y potasio se inició con valores inferiores a los del tratamiento anterior, así como una marcada diferencia entre las repeticiones ($P < 0.08$) en este caso se detectó presencia de huevecillos a las 72 horas tanto en el primero como en la segunda repetición. En valores absolutos y unidades porcentuales, los conteos de huevecillos no presentan un efecto debido a tiempo ya que la disminución es lenta y uniforme sin llegar a la ausencia total de huevecillos pensando que la dosificación pudiera no ser la adecuada.

De los resultados obtenidos se aprecia un efecto significativo ($P < 0.05$) a favor de ajo y por la diferencia entre el número de huevecillos, hacen pensar que el tiempo es determinante en la efectividad.

Ahora bien en el tratamiento con ajo el costo fue a razón de \$ 2,000.00 kg de ajo, si tomamos en cuenta que se usarán 8 g por cada lote y este se repitió hacen un total de 16 g por tratamiento teniendo un costo total de \$ 32.00 por medicación en comparación con tertrato de amonio y potasio que su costo por mg utilizado fue de \$ 11.66 nos da un total de \$ 700.00 por tratamiento. Por los resultados obtenidos es atractiva la comparación desde el punto de vista económico para su aplicación a nivel comercial.

CUADRO I

Valores absolutos de conteos de huevecillos de nemátodos en el grupo con ajo y en el tratado con tartrato de amonio y potasio, y en sus repeticiones.

	<u>LOTE I</u>		<u>LOTE II</u>		
	AJO		TARTRATO DE AMONIO Y POTASIO		
	\bar{R}_1	\bar{R}_2	\bar{R}_1	\bar{R}_2	
PRETRATAMIENTO	5,400	17,900	3,000	1,300	
1	24 hrs.	4,300	17,900	2,200	1,000
	48 hrs.	1,400	2,900	1,800	800
	72 hrs.	950	2,000	1,000	600
TRATAMIENTO					
2	24 hrs.	200	600	800	400
	48 hrs.	100	300	600	200
	72 hrs.	0	0	200	100

* R_1 = repetición 1

* R_2 = repetición 2

CUADRO II

Valores relativos del conteo de huevecillos de nemátodos
en los grupos tratados con ajo y tartrato de amonio y potasio

		<u>LOTE I</u>		<u>LOTE II</u>	
		AJO		TARTRATO DE AMONIO Y POTASIO	
		VALORES RELATIVOS %		VALORES RELATIVOS %	
		\overline{R}_1	\overline{R}_2	\overline{R}_1	\overline{R}_2
PRETRATAMIENTO		100.00	100.00	100.00	100.00
1	24 hrs.	79.62	78.85	73.33	76.92
	48 hrs.	25.92	12.77	60.00	61.53
	72 hrs.	17.59	8.81	33.33	46.15
<u>TRATAMIENTO</u>					
2	24 hrs.	3.70	2.64	26.66	30.76
	48 hrs.	1.85	1.32	20.00	15.38
	72 hrs.	0.00	0.00	6.66	7.69

* R_1 = repetición 1

* R_2 = repetición 2

CUADRO III

Resultados de la prueba de U' de Mann-Whitney y su significación estadística.

Lote I \mathcal{L}	Lote II	1a Repetición
Σ Rango I = 30	Σ Rango II = 48	P < 0.08
Lote I \mathcal{L}	Lote II	2a Repetición
Σ Rango I = 29	Σ Rango II = 49	P < 0.06
Lote I \mathcal{L}	Lote II	1a + 2a Repeticiones (acumulado)
Σ Rango I = 113	Σ Rango II = 187	P < 0.02

DISCUSION

Resulta evidente que la utilización de ajo eliminó por completo el conteo de huevecillos y de manera comparativa resultó ser superior al tratamiento con tartrato de amonio y potasio. Estos resultados pueden considerarse de gran valor, no tanto por la utilización práctica de ajo en explotaciones comerciales, sino debido a que a partir de esta observación experimental se justifica la realización de pruebas seriadas para la determinación de el o los principios activos del ajo. Si se considera que la mayoría de los compuestos que contiene el ajo ya han sido caracterizados químicamente (8) resulta lógico pensar que el efecto nematodocida logrado en este ensayo, podrá reproducirse con facilidad en futuros bioensayos con los químicos aislados.

Aunque este estudio probó únicamente extracto crudo del ajo los resultados alentadores seguramente justificarán el bioensayo para la generación de tecnología propia. Esta última consideración adquiere relevancia especial si se toma en cuenta el exorto de Mahler en 1967 (9) en el seno de la OMS referente a la necesidad de considerar a la medicina tradicional dentro de los programas de investigación de los países en vías de desarrollo.

Otro aspecto relevante que cabe destacar es el hecho de que el lote tratado con ajo no presentó ningún signo de toxicidad o de rechazo al alimento aunque inicialmente los animales se agruparon en una esquina de la pecera. Por el contra-

rio los animales tratados con tartrato de amonio y potasio perdieron el equilibrio a pesar de que la dosis fué adecuada a lo estipulado en la literatura (9). Esto habla del reducido márgen terapéutico del tartrato de amonio y potasio (9). por añadidura, un analisis de costos revela que el tratamiento con ajo hasta eliminar los huevecillos de parásitos tiene el costo total de \$ 32.00 por medicación, mientras que el costo final con tartrato de amonio y potasio hasta reducir los huevecillos a 7.69 % fue de \$ 700.00 lo que arroja una diferencia de \$ 668.00 pesos a favor del ajo.

En cuanto a la técnica utilizada, las modificaciones que se hicieron al Método de Stoll (14) fuerón únicamente cuantitativas, dado que la cantidad de heces que puede recogerse mediante red de cuchara es muy limitada , pero el resultado obtenido satisface ampliamente desde el punto de vista práctico y humanitario puesto que evitamos la eutanasia forzosa que se venia realizando rutinariamente para el análisis coproparasitoscópico en peces (3,13). Además es conveniente hacer notar que dicho método funciona bien a nivel de acuario pero que en estanquería no requiere realizarse in situ; sino que muestras aleatoriamente la población y se pueden hacer subpoblaciones representativas que se coloquen en acuarios con fines diagnósticos y de control pos-terapéutico sin necesidad de muestrear fondo de estanque.

Además el método es sumamente sencillo y éste no requiere ningún equipo especial, ya que en este bioensayo la pipeta de

Mac donald exigida en el método original se sustituyó satisfactoriamente con una pipeta Pasteur.

Sin embargo cabe decir que uno de los inconvenientes del tratamiento con ajo a nivel de acuario fué para el operador el fuerte olor que a los animales no pareció afectar, ni hubo aparente modificación en la palatabilidad del alimento, pero en estanque abierto el olor se disipa fácilmente.

La disponibilidad del ajo en forma natural, la facilidad de manejo para el tratamiento solo implica dos dosificaciones a tres días de distancia entre ambos, y el notable efecto lítico en huevos de nemátodos nos estimula a seguir otros estudios encaminados como se dijo ántes a la consecución y utilización de la fracción específica que provoca éste efecto y o a la obtención de la dosis terapéutica mínima del extracto crudo para fines de ahorro, ya que consideramos que éste es únicamente un trabajo piloto que dé fundamento a los estudios ántes mencionados.



Diagrama esquemático de Allium sativum.

LITERATURA CITADA

- 1.- AGUILERA, H.P.: Que es la Acuicultura ?. Fondepeca. México, D.F., 1985.
- 2.- ALFONSO, H.N.: Contribución al estudio de la calidad de algunas variedades de ajo mexicano. Tesis de licenciatura Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1982.
- 3.- AMLACHER, E.: Textbook of Fish Diseases. Conroy, D.A. and Herman, R.L., Editors. T.F.H. Publications, Inc., Jersey City. 1970.
- 4.- BALFOUR, H.Y.: Cultivo de Peces Comerciales, Limusa, México, D.F., 1982.
- 5.- BARDACH, J.N.: Acuicultura, Crianza y Cultivo de Organismos Marinos y de Agua Dulce. A.G.T. Editor, México, D.F. 1985.
- 6.- BODDIE, G.F.: Métodos de Diagnóstico en Medicina Veterinaria 4a. ed. Labor, México, D.F., 1965.
- 7.- CABEDO, L.D., GARCIA, H.R. y MENDEZ, J.R.: Principios de Investigación Médica. D.I.F., México, D.F. 1977.
- 8.- CASARETT, L.J.: Toxicology, Macmillan Publishing, New York, 1975
- 9.- GAMBOA, S.E.: El aceite esencial del ajo, desde el punto de vista farmacéutico. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 1979.
- 10.-HERWING, N.: Handbook of Drugs and Chemicals Used in Treatment of Fish Diseases. Charles, C. Thomas, Springfield, Illinois, 1979.

- 11.-JOSE MARIA, T.: Manual de Técnicas de Parasitología Veterinaria. Limusa, México, D.F. 1973.
- 12.-PRESBITERO, A.P.: Caracterización histopatológica en la intoxicación crónica por Triclorfón en Tilapia (Tilapia mossambica). Tesis de licenciatura, Facul. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1984.
- 13.-ROBERTS, R.J.: Patología de los Peces. Mundi- Prensa, Barcelona, España, 1982.
- 14.-STOLL, N.R.: On Methods of counting nematoda ova in sheep Dung, Parasitology, 22, 1930.