



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EVALUACION DEL EFECTO INMOVILIZADOR DE
LOS EXTRACTOS HIDROSOLUBLE Y LIPO-
SOLUBLE DE LA FLOR DE COLORIN (ERYTHRINA
AMERICANA) EN CARPAS (CIPRINUS CARPIO)

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE;

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

ANTONIO VARGAS ECHEGOYEN

ASESORES: M.V.Z. ANA AURO A.
M.V.Z. HECTOR SUMANO L.





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.

CONTENIDO

| | Página |
|----------------------------|--------|
| Resumen ----- | 1 |
| Introducción ----- | 1 |
| Objetivo ----- | 7 |
| Materiales y métodos ----- | 8 |
| Resultados ----- | 11 |
| Cuadros ----- | 12 |
| Discusión ----- | 22 |
| Literatura citada ----- | 24 |

Vargas Echegoyen Antonio

Evaluación del efecto inmovilizador de los extractos hidrosoluble y liposoluble de la flor de colorín (*Erythrina americana*) en carpas (*Ciprinus carpio*) (Bajo la dirección de Ana Auró A. y Héctor Sumano L.)

Resumen

Conociendo que las flores del árbol de colorín (*Erythrina americana*) poseen alcaloides con actividad curariforme, se realizó una evaluación comparativa en 6 lotes de carpas con tratamientos de diferentes dosis y un lote testigo. El método estadístico utilizado fué un análisis de varianza por rangos de Kruskal-Wellis y contraste de medias de Tukey. Se encontró un mayor efecto del extracto liposoluble sobre el hidrosoluble; en ambos tratamientos los resultados fueron directamente proporcionales a la dosis. Hubo mortalidad en los tratamientos con extracto liposoluble a dosis elevadas. Los resultados permiten concluir que las infusiones de colorín son una alternativa de bajo costo para prácticas zootécnicas que requieran inmovilización.

Evaluación del efecto inmovilizador de los extractos hidrosoluble y liposoluble de la flor de colorín (*Erythrina americana*) en carpas (*Cyprinus carpio*).

INTRODUCCION

Cuando la producción pesquera se ha visto reducida por la sobrepesca, explotación de cuencas fluviales, contaminación o cualquier alteración del medio ambiente, se ha recurrido a la acuicultura como actividad compensatoria de las anteriores (8). Esta conlleva numerosas prácticas zootécnicas encaminadas a la mayor producción en el menor espacio y tiempo. Dichas prácticas incluyen manipulaciones directas del pez. Esto ha propiciado la creación de nuevas líneas de investigación; una de ellas es la anestesia en peces (15).

Es incierto en la actualidad si los peces sienten dolor o no. Los peces teleosteos como la carpa no poseen tracto espinotalámico, que en animales superiores se considera la vía principal por la que corren los impulsos nerviosos para reconocer el dolor. De cualquier forma deben existir otras vías por las cuales los peces sienten estímulos dolorosos. Algunos de los efectos fisiológicos de la anestesia en peces que se han demostrado son: la reducción de las catecolaminas circulantes lo que disminuye la tensión nerviosa, la hiperglucemia y la cuenta eritrocítica tiende a variar (5).

Los diferentes maniobras como el sexado, recolección de óvulos, toma de muestras sanguíneas, transporte o cualquier tipo de manipulación provocan tensión y movimientos bruscos de los peces, lo que obliga al piscicultor a realizar un manejo forzado, llegando a provocarles a menudo la muerte; o lesiones que por sí mismas son causantes de enfermedad o son predisponentes de ella (3,7).

Algunos efectos secundarios que se han observado en situaciones de tensión nerviosa en peces son: hemoconcentración, hipocalcemia y aumento de hemoglobina (5).

El efecto anestésico requerido para realizar maniobras de manejo de acuerdo a la clasificación de los cambios de conducta a varios niveles de anestesia en peces reportada por McFarland (14), es la "pérdida de reacción refleja", en la que se observe una inhibición de las reacciones de defensa y movimientos operculares muy leves. Para tener una visión clara de estos cambios se enlista dicha clasificación en el cuadro 1 (14).

Cuadro 1.- Clasificación de cambios de conducta a varios niveles de anestesia:

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

Para que la inmovilización en el pez se considere eficaz se debe tomar en cuenta la duración del mantenimiento del pez fuera del agua de acuerdo con la maniobra. El cuadro 2 presenta una relación de los tiempos de mantenimiento fuera del agua requerido para carpas en diversos procedimientos (6):

Cuadro 2.- Relación de los tiempos de mantenimiento fuera del agua para carpas en diversos procedimientos:

| Maniobra | Tiempo |
|--|--------------------|
| Sexado | 15 segundos |
| Masaje | 20 segundos |
| Toma de muestras sanguíneas | 30 segundos |
| Hipofisectomía | 30 segundos |
| Masaje para obtención de óvulos y semen | 60 segundos |
| Lavado de gónadas | 4 minutos |

Como es impráctico manejar una dosis inmovilizadora para cada uno de los tiempos anteriores, el estudio se puede basar en el tiempo máximo requerido que es de 4 minutos.

Se han empleado algunos agentes capaces de producir algún estado de narcosis o anestesia en peces, por ejemplo: éter; amital sódico; metilpentinol; quinaldina; 4-estirilopiridina; 2-fenoxietanol; acepromazina; metanolsulfonato-tricaína; etil-M-aminobenzoato y otros. La mayoría de éstos tienen efectos colaterales indeseables como una elevada toxicidad, tendencia a provocar paro respiratorio en anestesia profunda con tasas de mortalidad altas; además de almacenarse y tener un efecto residual en la carne o canal. Por demás está mencionar su alto costo (2,10).

Como metodología clásica en la farmacognosia se ha recurrido en diversas investigaciones en esta área a una de las ramas de la medicina alternativa, la herbolaria para buscar alternativas terapéuticas y de manejo (11,17,19).

Con respecto a la sedación, se han aislado de las flores del colorín (*Erythrina americana*) dos alcaloides: la α -eritroidina y la β -eritroidina; estos compuestos son los responsables de la actividad hipnótica y de relajamiento muscular de los extractos de la flor (1).

En el siglo XIX se descubrió la acción paralizante de los extractos de semilla de colorín que producen un efecto semejante al del curare. El mérito de este descubrimiento, la utilidad medicinal y el aislamiento de los primeros alcaloides corresponde al Dr. Francisco Río de la Loza; sin embargo -como suele ocurrir en México-, el mérito histórico se le atribuye al francés Rey quien en 1883 publicó en el Journal de Therapeutique la acción paralizante. No obstante que el Dr. Fernando Altamirano había obtenido en 1888 uno de los alcaloides responsables del efecto curarizante al que llamó eritroidina, fué a Folkers en 1937 a quien se le reconoció como descubridor de la eritroidina del colorín (9).

Otros efectos farmacológicos que se le atribuyen al colorín son: antifebril (hojas y corteza); emenagogo (raíces); para tratamiento de picaduras de elecrán (jugo de los tallos); diurético (semilla, corteza y hojas); se menciona que "la corteza y los tallos se han utilizado para emborrachar peces"(20). Un autor menciona que tiene efecto alucinógeno (22).

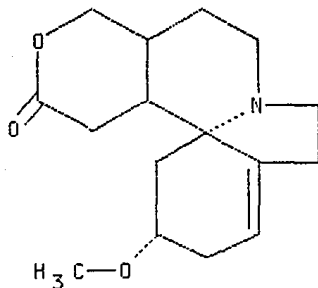
El árbol del colorín es rico en otros alcaloides, como erysoidina y la hypaforina que se encuentran en las semillas principalmente. También se ha encontrado que los alcaloides estan presentes tanto en material fresco como en el agua de cocción y la flor cocida (1).

Este árbol nativo de América tropical, mide hasta 9 m, tiene ramas espinosas; hojas trifoliadas con las hojas deltoideo-ovadas; flores rojas, con el estandarte angosto y pétalos pequeños; se producen en racimos cónicos y aparecen cuando la planta no tiene hojas; su fruto es una vaina de 10 - 13 cm con semillas rojas brillantes y venenosas, las flores son comestibles y la madera muy blanda. (12)



Erythrina americana Mill. (18)

Se menciona que la β -eritroidina como la tubocurarina tienen efecto antagonista de la acción nicotínica de la acetilcolina; esto es, que bloquea la actividad de la acetilcolina al nivel de la unión sináptica ganglionar. La β -eritroidina y su derivado Dihidro más activo producen un tipo de bloqueo neuromuscular no despolarizante similar al de la tubocurarina y se presume que posean un mecanismo de acción idéntico. Las eritroidinas son bien absorbidas después de la administración oral; atraviesan la barrera hematoencefálica y penetran fácilmente en la médula espinal, ejercen acción depresora sobre el encéfalo y, en la médula espinal bloquean la respuesta de las interneuronas de Renshaw a la acetilcolina liberada por las colaterales de los axones de los motoneuronas.(4)



Dihidro β -eritroidina

La carpa común o carpa de Israel (*Cyprinus carpio*) que también se le conoce como carpa espejo, se le encuentra en aguas quietas o que fluyen muy lentamente, no demasiado frías. El color es castaño verdoso en el dorso, que palidece en los costados, para llegar a ser blanco amarillento en el abdomen sus miótomos son gris rojizos y consistentes (16). Puede tolerar condiciones adversas. Procrea aproximadamente a los seis meses de edad. (2,23)

La elección de ésta especie se debe a la alta resistencia que ha mostrado para ser trabajada a nivel de acuario ya que, siendo una especie de aguas tibias, es factible disminuir su metabolismo disminuyendo la temperatura del agua y por tanto sus necesidades alimenticias, para trabajar con biomesas lo más estable posibles, dado que en términos de inmovilización uno de los parámetros más importantes a ser medidos es la dosificación que siempre es peso-dependiente.

Con base en éstos antecedentes, se pensó en utilizar a la carpa como especie experimental en bioensayos de inmovilización con flores de colorín para verificar su bondad en prácticas de masaje para obtención de productos seminales y óvulos así como para transporte.

Por otro lado, también es una de las cuatro especies ictiológicas que se explotan en México y en las cuales se llevan a cabo este tipo de prácticas; es rústica y económica.

Con respecto a la elección de la planta, ésta se basó principalmente en la disponibilidad que de ella se tiene en México, su rusticidad también es de suma importancia ya que no tiene problemas de siembra, su semilla es fértil y se puede propagar por medio de material vegetativo (12) de manera que, de probarse su bondad no habría peligro de extinción, situación que se debe tener en cuenta para cuidar el ecosistema.

El alto costo de los productos anestésicos o inmovilizadores de patente, sus reducidos límites de seguridad y sus efectos colaterales, justifican la búsqueda de alternativas de bajo costo en la medicina tradicional.

HIPOTESIS

Los extractos hidrosoluble y liposoluble de las flores del colorín inducen una inmovilización de las carpas dependiente de la dosis.

OBJETIVO

Evaluar si los extractos hidrosoluble y liposoluble son capaces de inducir inmovilización de carpas en forma dosis-dependiente.

MATERIAL Y METODOS

Previo a este trabajo se realizaron ensayos de ajuste de las dosificaciones a usar en cada tratamiento de tal manera que se observara una mínima respuesta.

Se utilizaron 60 especímenes de carpa de Israel *Ciprinus Carpio* de 10 g de peso $\bar{x} \pm 2.5$ g y se dividieron en 6 grupos de 10 individuos c/u, grupos que fueron colocados en acuarios de 20 l de capacidad con agua de clorada por aireación y un flujo constante de aire de 2000 ml/min mediante un aireador. Los peces fueron adaptados durante 24 h en agua a temperatura ambiente y se alimentaron durante todo el bioensayo con una fórmula convencional de mantenimiento* a razón de 2% de la biomasa total de cada lote diariamente en una sola administración (con objeto de que mantuvieran un peso constante).

La preparación de los extractos a utilizar fué la siguiente:

Se colectaron 2 kg de flor de colorín y se secaron en estufa a 40 C durante 3 días, se molieron finamente quedando un polvo color café con un peso de 650g.

Extracto liposoluble:

1.- 250 g de colorín en 2 litros de hexano. Se calentaron y agitaron a 50 C durante 2 horas.

2.- Se filtró con papel filtro y se obtuvo un líquido amarillo turbio.

3.- Se calentó el filtrado a 35 C con agitación durante 5 horas, hasta que quedó una pasta verde oscuro en la base del matríz.

4.- Para reconstituir se agregaron 100 ml de alcohol y 100 ml de agua destilada y se agitó durante 3 horas sin calentar.

Se obtuvo una solución de 200 ml de los extractos de 250 g de flor de colorín.

* Albamex. Alimento para mantenimiento de carpa.

Extracto Hidrosoluble:

- 1.- 250 g de colorín en 4 litros de agua destilada.
- 2.- Ebullición por 20 minutos.
- 3.- Se filtró con papel filtro en un matraz de Kitasato y embudo de Buchner.
- 4.- Se obtuvieron 1350 ml de los extractos de 250 g de flor de colorín, con color café oscuro, amargo y olor característico.

Tratamientos:

- El 1er. lote de peces fué el testigo.
- El 2o. lote de peces se trató con 10 ml de extracto liposoluble (12.5 g de colorín) por cada litro de agua del acuario.
- El 3er. lote de peces se trató con 20 ml de extracto liposoluble (25 g de colorín) por cada litro de agua del acuario.
- El 4o. lote de peces se trató con 25 ml de extracto liposoluble (31.25 g de colorín) por cada litro de agua del acuario.*
- El 5o. lote de peces se trató con 67.50 ml de extracto hidrosoluble (12.5 g de colorín) por cada litro de agua del acuario.
- El 6o. lote de peces se trató con el extracto hidrosoluble sin diluir (185.18 g de colorín).**

En todos los casos los peces se trataron independientemente.

* En las pruebas preliminares la dosis de 50 g produjo mortalidad del 100% por lo que para ajustar la siguiente dosificación se fué disminuyendo con intervalos de 0.25 g hasta llegar a 31.25 g que no produjo ninguna muerte.

** Las pruebas preliminares mostraron que el extracto acuoso a dosis de 25 g, 31.25 g, 50 g, 100 g, y 150 g no tuvieron efecto alguno por lo que se utilizó la concentración original de 185.18 g.

La capacidad inmovilizadora de los extractos se realizó estableciendo una relación de dosis-respuesta. Las variables se basan en lo descrito por McFarland (15) y que se resumen a continuación:

- a) Modificación del patrón de nado.
- b) Modificación de la ubicación de nado.
- c) Inmovilidad.
- d) Ausencia de respuesta a estímulos como el peso del aro.
- e) Tiempo de inducción.
- f) Tiempo de inmovilización.
- g) Mortalidad.

Los parámetros subjetivos (a,b,c,d) se calificaron como:

| | |
|-----|-------------------|
| - | No hubo respuesta |
| X | Mínimo |
| XX | Regular |
| XXX | Máximo |

Los parámetros de intervalo (e,f) se calificaron como unidades absolutas.

Para el análisis estadístico de los parámetros de intervalo se utilizó un análisis de varianza de una sola entrada (método de Fisher citado por Toothaker,) y contrastes de medias de Tukey (21).

RESULTADOS:

Como se puede observar en los cuadros 3,4,5,6,7 y 8 los tratamientos aplicados determinaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) sobre todo debidas al extracto liposoluble (lote 4) y al hidrosoluble (lote 6) que fueron directamente proporcionales a la dosis (31.25 g/l y 185.1 g/l respectivamente).

Con respecto a las respuestas obtenidas con las infusiones acuosas, estas parecen no tener un efecto inmovilizador o estar muy reducido a la dosis de 12.5 g/l pero el aumento en la concentración de la misma a 185.1 g/l produjo efectos estadísticamente significativos ($P < 0.05$).

Algunos de los cambios de comportamiento observados durante los tratamientos y que se tomaron en cuenta para la calificación de los parámetros fueron:

La excitación que presentaron los peces al momento de recibir los extractos, varió de un individuo a otro; los peces nadaron hacia atrás, (que no es normal en ésta especie), se observó una pérdida del equilibrio, la mayoría de los peces tendieron a mantenerse suspendidos en el fondo con la cabeza hacia abajo y la aleta caudal hacia arriba. Los peces tratados con todas las dosificaciones de ambos extractos mostraron oscurecimiento de la piel.

Todas las observaciones se hicieron comparando con un pez control del lote testigo.

CUADROS

Los parámetros de los cuadros 3 al 6 se calificaron de la siguiente manera:

| | | | |
|-----|---|---|-------------------|
| - | = | 0 | No hubo respuesta |
| x | = | 1 | Mínimo |
| xx | = | 2 | Regular |
| xxx | = | 3 | Máximo |

Cuadro 3.- Modificación del patrón de nado.

| Lote 1 testigo | Extracto liposoluble | | | Extracto hidroal soluble | |
|-------------------|----------------------|------------------|-------------------|--------------------------|--------------------|
| | lote 2 12.5g/l | lote 3 25g/l | lote 4 31.5g/l | lote 5 12.5g/l | lote 6 185.1g/l |
| | 2 | 1 | 3 | 0 | 2 |
| | 0 | 3 | 2 | 0 | 2 |
| | 0 | 3 | 1 | 0 | 1 |
| | 0 | 3 | 3 | 0 | 1 |
| | 2 | 1 | 3 | 0 | 2 |
| | 2 | 1 | 3 | 0 | 1 |
| | 1 | 0 | 2 | 0 | 3 |
| | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 |
| | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 |
| | 1 | 0 | 3 | 0 | 1 |
| | $\Sigma R_2=209.5$ | $\Sigma R_3=268$ | $\Sigma R_4=392$ | $\Sigma R_5=902$ | $\Sigma R_6=310$ |

$$\text{Kruskall - Wallis} = \frac{12}{N(N+1)} \times \frac{\sum \sum j^2}{n_i} - 3(N+1) = 23.363$$

La probabilidad de hallar un número mayor o igual a 23.363 es menor a 0.001 por lo que existen diferencias estadísticamente significativas debidas al tratamiento, sobre todo para los lotes 4 y 6.

Cuadro 4.- Modificación de la ubicación de nado.

| Lote 1 testigo | Extracto liposoluble | | | Extracto hidrosoluble | |
|-------------------|----------------------|------------------|-------------------|-----------------------|--------------------|
| | lote 2 12.5g/l | lote 3 25g/l | lote 4 31.5g/l | lote 5 12.5g/l | lote 6 185.1g/l |
| | 2 | 1 | 3 | 0 | 1 |
| | 0 | 3 | 2 | 0 | 2 |
| | 0 | 3 | 1 | 0 | 2 |
| | 0 | 3 | 3 | 0 | 1 |
| | 2 | 1 | 3 | 0 | 2 |
| | 2 | 1 | 3 | 0 | 3 |
| | 1 | 0 | 2 | 0 | 1 |
| | 0 | 1 | 1 | 0 | 3 |
| | 1 | 0 | 2 | 0 | 1 |
| | 0 | 0 | 3 | 0 | 2 |
| | $\Sigma R_2=203$ | $\Sigma R_3=263$ | $\Sigma R_4=383$ | $\Sigma R_5=95$ | $\Sigma R_6=331$ |

$$\text{Kruskall - Wallis} = \frac{12}{N(N+1)} \times \frac{\sum \sum j^2}{n_i} - 3(N+1) = 23.777$$

La probabilidad de hallar un número mayor o igual a 23.777 es menor a 0.001 por lo que existen diferencias estadísticamente significativas debidas al tratamiento, sobre todo para los lotes 4 y 6.

Cuadro 5.- Ausencia de respuesta a estímulos

| Lote 1 testigo | Extracto liposoluble | | | Extracto hidrosoluble | |
|-------------------|----------------------|------------------|-------------------|-----------------------|--------------------|
| | lote 2 12.5g/l | lote 3 25g/l | lote 4 31.5g/l | lote 5 12.5g/l | lote 6 185.1g/l |
| | 0 | 1 | 2 | 1 | 0 |
| | 0 | 2 | 2 | 1 | 3 |
| | 0 | 2 | 1 | 0 | 3 |
| | 0 | 1 | 3 | 1 | 1 |
| | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 |
| | 2 | 1 | 1 | 1 | 0 |
| | 2 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 |
| | 0 | 1 | 2 | 0 | 1 |
| | 0 | 1 | 3 | 0 | 0 |
| | $\Sigma R_2=165$ | $\Sigma R_3=260$ | $\Sigma R_4=369$ | $\Sigma R_5=195$ | $\Sigma R_6=285$ |

$$\text{Kruskall - Wallis} = \frac{12}{N(N+1)} \times \frac{\sum \sum j^2}{n_i} - 3(N+1) = 12.360$$

La probabilidad de hallar un número mayor o igual a 12.360 es menor a 0.05 por lo que existen diferencias estadísticamente significativas debidas al tratamiento, sobre todo para los lotes 4 y 6.

Cuadro 6.- Inmovilidad

| Lote 1 testigo | Extracto insoluble | | | Extracto hidrosoluble | |
|-------------------|--------------------|------------------|-------------------|-----------------------|--------------------|
| | lote 2 12.5g/l | lote 3 25g/l | lote 4 31.5g/l | lote 5 12.5g/l | lote 6 185.1g/l |
| | 1 | 1 | 2 | 0 | 0 |
| | 0 | 2 | 1 | 0 | 2 |
| | 0 | 3 | 1 | 0 | 1 |
| | 0 | 2 | 1 | 0 | 1 |
| | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| | 1 | 0 | 2 | 0 | 0 |
| | 1 | 0 | 1 | 0 | 2 |
| | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 |
| | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 |
| | 0 | 0 | 3 | 0 | 2 |
| | $\Sigma R_2=188$ | $\Sigma R_3=287$ | $\Sigma R_4=376$ | $\Sigma R_5=130$ | $\Sigma R_6=293$ |

$$\text{Kruskall - Wallis} = \frac{12}{N(N+1)} \times \frac{\sum \sum j^2}{n_i} - 3(N+1) = 17.54$$

La probabilidad de hallar un número mayor o igual a 17.54 es menor a 0.005 por lo que existen diferencias estadísticamente significativas debidas al tratamiento sobre todo para los lotes 4 y 6.

Cuadro 7.- Tiempo de inducción (en minutos).

| Lote 1 testigo | Extracto liposoluble | | | Extracto hidrosoluble | |
|-------------------|----------------------|-----------------|-------------------|-----------------------|--------------------|
| | lote 2 12.5g/l | lote 3 25g/l | lote 4 31.5g/l | lote 5 12.5g/l | lote 6 185.1g/l |
| >23* | 10 | 10 | 5 | >23 | 17 |
| >23 | >23 | 5 | 6 | 21 | 3 |
| >23 | 2 | 5 | 8 | >23 | 10 |
| >23 | >23 | 6 | 10 | >23 | 8 |
| >23 | >23 | 5 | 15 | 15 | 8 |
| >23 | 7 | 6 | 13 | 18 | 14 |
| >23 | 8 | 8 | 8 | >23 | 7 |
| >23 | 8 | 7 | 10 | >23 | 10 |
| >23 | 13 | 14 | 7 | >23 | 15 |
| >23 | 5 | 9 | 8 | >23 | 8 |
| $\mu = 24$ | $\mu = 12.5$ | $\mu = 7.5$ | $\mu = 9$ | $\mu = 22.2$ | $\mu = 10$ |
| $\Sigma = 240$ | $\Sigma = 125$ | $\Sigma = 75$ | $\Sigma = 90$ | $\Sigma = 22.2$ | $\Sigma = 100$ |

* El valor >23 es un valor empírico tomado del valor más grande en los grupos tratados.

Cuadro 7.- (Continuación)

Análisis de varianza

$$A = \sum x_i^2 = 15678$$

$$C = \frac{(\sum x_i)^2}{N} = 12098.4$$

$$B = \frac{\sum (\sum x_i)^2}{n} = 5760 + 1562.5 + 562.5 + 810 + 4928.4 + 1000 = 14623.4$$

| Fuente de variación | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Cuadrados medios | Prueba F calculada |
|--------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------|------------------|--------------------|
| Entre grupos (debida al tratamiento) | B - C 14623-12098.4= = 2525 | K - 1 6 - 1 = = 5 | 505 | 25.87 |
| Entre grupos (debida al error) | A - B 15678-14623.4= = 1054.6 | N - K 60 - 6 = = 54 | 19.52 | |
| Total | A - C 15678-12098.4= = 3579.6 | N - 1 60 - 1 = = 59 | | |

$$F_t = 2.40 \quad \alpha = 0.05$$

$F_c = 25.87 > 2.40$, ∴ existen diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

Cuadro 7.- (Continuación)

Contraste de medias de Tukey (21)

$$DMSR = 0 \sqrt{\frac{CM \text{ Error}}{n}} = 4.20 \sqrt{\frac{19.52}{10}} = 5.86$$

DMSR = Diferencia mínima significativa real

Q= De la table "Valores críticos de Q"

 μ = Media ϕ = versus

Si $\mu_a - \mu_b = X < DMSR \rightarrow$ no hay diferencia estad. significativa
 Si $\mu_a - \mu_b = X > DMSR \rightarrow$ si hay diferencia estad. significativa

- $1\phi 2 = 11.5 > 5.86 *$
 $1\phi 3 = 16.5 > 5.86 *$
 $1\phi 4 = 15.0 > 5.86 *$
 $1\phi 5 = 01.8 < 5.86$
 $1\phi 6 = 14.0 > 5.86 *$
 $2\phi 3 = 05.0 < 5.86$
 $2\phi 4 = 03.5 < 5.86$
 $2\phi 5 = -9.7 > 5.86 * \dagger$
 $2\phi 6 = 02.5 < 5.86$
 $3\phi 4 = -1.5 < 5.86 \dagger$
 $3\phi 5 = -14.7 > 5.86 * \dagger$
 $3\phi 6 = -2.5 < 5.86 \dagger$
 $4\phi 5 = 13.2 > 5.86 *$
 $4\phi 6 = -1.0 < 5.86 \dagger$
 $5\phi 6 = 12.2 > 5.86 *$

* Existen diferencias estadísticamente significativas porque

 $\mu_a - \mu_b > DMSR$.

† La prueba de Tukey se distribuye de manera normal por lo que los valores contrastantes carecen de signo.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Cuadro 8.- Tiempo de inmovilización (en minutos).

| Lote 1 testigo | Extracto liposoluble | | | Extracto hidrosoluble | |
|-------------------|----------------------|-----------------|-------------------|-----------------------|--------------------|
| | lote 2 12.5g/l | lote 3 25g/l | lote 4 31.5g/l | lote 5 12.5g/l | lote 6 185.1g/l |
| 0 | 4 | 4 | 3 | 0 | 0 |
| 0 | 0 | 4 | 2 | 0 | 4 |
| 0 | 0 | 3 | 2 | 0 | 4 |
| 0 | 0 | 6 | 2 | 0 | 4 |
| 0 | 0 | 4 | 3 | 0 | 0 |
| 0 | 4 | 5 | 4 | 0 | 0 |
| 0 | 3 | 0 | 6 | 0 | 4 |
| 0 | 0 | 3 | 4 | 0 | 0 |
| 0 | 0 | 0 | 4 | 0 | 2 |
| 0 | 0 | 0 | 4 | 0 | 3 |
| $\mu = 0$ | $\mu = 1.1$ | $\mu = 2.4$ | $\mu = 3.4$ | $\mu = 0$ | $\mu = 2.3$ |
| $\Sigma = 0$ | $\Sigma = 11$ | $\Sigma = 24$ | $\Sigma = 34$ | $\Sigma = 0$ | $\Sigma = 23$ |

Análisis de varianza

$$A = \sum x_i^2 = 368$$

$$C = \frac{(\sum x_i)^2}{N} = 141.06$$

$$B = \frac{\sum (\sum x_i)^2}{n} = 0 + 12.1 + 57.6 + 115.6 + 0 + 52.9 = 238.2$$

| Fuente de variación | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Cuadrados medios | Prueba F calculada |
|--------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------|------------------|--------------------|
| Entre grupos (debida al tratamiento) | B - C 238.2 - 141.06 = = 97.14 | K - 1 6 - 1 = = 5 | 19.42 | 8.09 |
| Entre grupos (debida al error) | A - B 368 - 238.2 = = 129.8 | N - K 60 - 6 = = 54 | 2.40 | |
| Total | A - C 368 - 141.06 = = 226.94 | N - 1 60 - 1 = = 59 | | |

$$F_t = 2.40 \quad \alpha = 0.05$$

$F_c = 8.09 > 2.40$. ∴ existen diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$).

Cuadro 8.- (Continuación)

Contraste de medias de Tukey (21)

$$DMSR = Q \sqrt{\frac{CM\text{Error}}{n}} = 4.20 \sqrt{\frac{2.40}{10}} = 2.05$$

DMSR = Diferencia mínima significativa real

Q = De la table "Valores críticos de Q"

 μ = Media ϕ = versus

| |
|--|
| Si $\mu_a - \mu_b = X < DMSR \rightarrow$ no hay diferencia estad. significativa |
| Si $\mu_a - \mu_b = X > DMSR \rightarrow$ si hay diferencia estad. significativa |

$1\phi 2 = -1.1 < 2.05^\dagger$

$1\phi 3 = -2.4 > 2.05^{*\dagger}$

$1\phi 4 = -3.4 > 2.05^{*\dagger}$

$1\phi 5 = 0 < 2.05$

$1\phi 6 = -2.3 > 2.05^{*\dagger}$

$2\phi 3 = -1.3 < 2.05^\dagger$

$2\phi 4 = -2.3 > 2.05^{*\dagger}$

$2\phi 5 = 1.1 < 2.05$

$2\phi 6 = -1.2 < 2.05^\dagger$

$3\phi 4 = -1 < 2.05^\dagger$

$3\phi 5 = 2.4 > 2.05^*$

$3\phi 6 = 0.1 < 2.05$

$4\phi 5 = 3.4 > 2.05^*$

$4\phi 6 = 1.1 < 2.05$

$5\phi 6 = -2.3 > 2.05^{*\dagger}$

* Existen diferencias estadísticamente significativas porque

 $\mu_a - \mu_b > DMSR$. \dagger La prueba de Tukey se distribuye de manera normal por lo que los valores contrastantes carecen de signo.

Discusión

Como puede observarse en los resultados, una concentración de 185.1g/l en el extracto acuoso, produjo un efecto de inmovilización suficiente y apropiado para las prácticas zootécnicas establecidas; sin embargo, debe tomarse en cuenta en primer lugar que el peso de cada individuo fué aproximadamente $1.28 \text{ g} \pm 0.148$, por lo que en bioensayos posteriores es indispensable manejar pesos superiores para demostrar realmente que la dosificación es peso-dependiente y que no esté sujeta al grado de desarrollo del sistema nervioso central de los peces.

Una de las limitantes que se encontraron en éste trabajo fué el alto costo de extracción de la fracción liposoluble ya que para la producción final de 200 ml de extracto se utilizaron 2 litros de hexano con un costo actual de \$30,000 el litro, sin embargo existen opciones de extracción con éter u otros disolventes de grasas contando con el equipo apropiado para evitar el peligro de que estalle y que reduciría el costo de extracción sobre todo a niveles industriales.

Conviene hacer notar, que en éste bioensayo se observó en las pruebas preliminares toxicidad aguda; esto coincide con los resultados de Maksabedian (11). Por supuesto, se trabajó con especies diferentes a las mencionadas en la literatura (perros), pues la toxicidad fué puesta de manifiesto en poiquilotermos acuáticos. En las dosis utilizadas en la prueba formal no se observó ningún caso de toxicidad.

En todos los resultados el oscurecimiento de la piel notado durante el tratamiento es normal que se presente en todos los peces teleosteos bajo condiciones de anestesia. Se ha documentado que dicha reacción es mimética propia de éstos animales como homeostasis directa pues los fotorreceptores retinianos durante la anestesia se hallan deprimidos, lo que induce a una visión más oscura del entorno, estímulo que, vía nerviosa y humoral llega a las células melanoforéticas cutáneas que se expanden para oscurecer y que se mimetice con el ambiente (13).

Quizá sea de utilidad considerar a éste fenómeno como un parámetro que denota cierto grado de depresión neural. En particular en las carpas éste fenómeno fué muy notable; no se cuantificó el tiempo que duró dicho oscurecimiento pero fué casi paralelo al tiempo de recuperación.

Dentro de ésta línea de investigación también se requerirá la inmersión continua a diferentes dosis para probar la bondad del extracto para el transporte de peces ya que además de la inmovilización, pudiera tener utilidad en reducir la mortalidad de peces en el transporte.

Es necesario hacer énfasis en la disponibilidad del colorín, árbol que se encuentra en casi todos los climas de México y no requiere grandes cuidados debido a su rusticidad. Su época de floración abarca toda la primavera (12).

No obstante se necesitan cálculos botánicos especializados para estimar el potencial de éste recurso biótico y no exponer este especie a depredación. Más aún, sería prudente llevar a cabo estudios de potencia de las diferentes partes de la planta con el fin de optimar la extracción de los alcaloides, y determinar cual es el alcaloide responsable del efecto o si se trata de la actividad conjunta de varios alcaloides.

La medicina tradicional es una alternativa que puede beneficiar a la población de manera inmediata y a bajo costo. En la medicina tradicional mexicana es común el uso de infusiones para el tratamiento de enfermedades o como paliativos, por lo que es factible la utilización de infusiones de flor de colorín en explotaciones rústicas (9).

Es por todo esto que de acuerdo con los resultado obtenidos se propone realizar las mismas pruebas en animales de diferentes tallas y pesos para comprobar si el efecto inmovilizante es dosis dependiente o talla - peso dependiente.

A pesar de las limitaciones antes mencionadas, los objetivos del trabajo se consiguieron y se puede sugerir que la hipótesis fué verdadera.

LITERATURA CITADA.

- 1.- Aguilar, Ma. I., Giral, F. y Espejo, D.: Alkaloids from the flowers of *Erythrina americana*. Phytochem., 20: 2061-2062 (1981).
- 2.- Belfour, H. y Pruginin, Y.: Cultivo de Peces Comerciales. Limusa, México, D.F., 1985.
- 3.- Booke, H.E., Hollender, B. and Lutterbie, G.: Sodium Bicarbonate an inexpensive fish anaesthetic for field use. Prog. Fish Cult., 40: 11-13 (1978).
- 4.- Bowman, W.C. y Rend, M.J.: Farmacología, Bases Bioquímicas y Patológicas. Aplicaciones Clínicas. 2a. ed. Interamericana, México, D.F., 1984.
- 5.- Brown, L.A.: Anesthesia in Fish. In: The Veterinary Clinics of North America. Edited by Stoskopf, M.K., 315-328. W.B. Saunders, Philadelphia, 1988.
- 6.- Carrasco, M. S.: Inmovilización de carpa (*Cyprinus carpio*), bagre (*Ictalurus punctatus*) y tilapia (*Tilapia mossambica*) utilizando xilocaína mas bicarbonato de sodio. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1978.
- 7.- Carrasco, M.S., Sumano, L.H. y Ocampo, C.L.: La xilocaína como auxiliar para el manejo durante el desove manual de trucha arco iris (*Salmo gairdneri*). Vet. Mex., 13: 61-64 (1982).
- 8.- Juárez, P. R. y Palomo, M. G.: Acuicultura CECSA, México, D.F., 1985.
- 9.- Lozoya, X. y Lozoya, M.: Flora Medicinal de México. Primera Parte: Plantas Indígenas. IMSS, México, D.F., 1982.
- 10.- Lumb, W.V. y Jones, E.W.: Anestesia Veterinaria CECSA, México, D.F., 1973.
- 11.- Meksebedian, R. J.: Estudio del efecto terapéutico del alcaloide de las hojas de *Erythrina americana* en cáncidos. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1978.
- 12.- Martínez, M.: Catálogo de Nombres Vulgares y Científicos de Plantas Mexicanas. Fondo de Cultura Económico, México, D.F., 1984.
- 13.- McFarland, W.: A study of the effects of anesthetic on the behaviour and physiology of fishes. Publications of the Institute of Marine Science University of Texas, 6: 23 - 25 (1959).

- 14.- McFarland, W.: The use of anesthetics for the handling and the transport of fishes. Calif. Fish Game, 46: 407 - 431 (1960).
- 15.- McFarland, W. and Klonts, G.W.: Anesthesia in Fishes Fed. Procc., 28: 1535 - 1540 (1969).
- 16.- Meyer, V.: El Pescado y los Productos de la Pesca. Acribia. Zaragoza, España, 1978.
- 17.- Mojica, S. M.A.: Evaluación comparativa del efecto nematocida del ajo (*Allium sativum*) y del tartrato de amonio y potasio en tilapia (*Tilapia mossambica*). Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1987.
- 18.- Morton, J.F.: Major Medicinal Plants. Charles C. Thomas Publisher. Springfield, Ill., USA, 1977.
- 19.- Peño, H. N.T.: Evaluación del efecto nematocida de los extractos hidrosoluble y liposoluble del ajo (*Allium sativum*) en carpa (*Ciprinus carpio*). Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1988.
- 20.- Roig, M. J. T.: Plantas Medicinales, Aromáticas o Venenosas de Cuba. Vol. II Ministerio de Agricultura, La Habana, 1945.
- 21.- Toothaker, L.R.: Introductory Statistics for the Behavioral Sciences. McGraw-Hill, New York, 1986.
- 22.- Welter, H. L.: Medical Botany. John Wiley & Sons, New York, 1977.
- 23.- Young, J.Z.: La Vida de los Vertebrados. 3a. ed. Omega, Barcelona, España, 1980.