



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
IZTACALA

ESTUDIO PRELIMINAR SOBRE LA EFICIENCIA
FUNGICIDA DEL Helenium quadridentatum EN LA
ELIMINACION DE MICOSIS OCASIONADAS POR
OOMYCETOS EN Salmo gairdneri RICHARSON Y
SU INOCUIDAD PARA LA DERMIS AFECTADA.

T E S I S

PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A :

LAURA ESTHER MARQUEZ LOPEZ

DIRECTOR DE TESIS:
M.V.Z. HECTOR SUMANO LOPEZ

MEXICO, D. F.

1990





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DEDICATORIAS .

A MI MADRE

BEATRIZ VIRGINIA POR SU CARIÑO
Y PORQUE GRACIAS A TI HE
LOGRADO MI REALIZACION
PROFESIONAL.

A MIS HERMANOS

E. FROYLAN Y ERICK R. POR SU
CARIÑO Y AYUDA.

A MIS AMIGOS

CON LOS QUE HE COMPARTIDO LA
ALEGRIA DE LOS TRIUNFOS Y LA
TRISTEZA DE LAS DERROTAS.

A TODOS MIS PROFESORES

PORQUE GRACIAS A USTEDES HE
LOGRADO UNA FORMACION
PRÓFESIONAL.

A TODOS LOS ANIMALES Y VEGETALES

QUE SACRIFICARON SU VIDA Y ME LEGARON EL CONOCIMIENTO.

EN ESPECIAL A LA TRUCHA "SIN COLITA"

Y COMPAÑERAS PORQUE SIN USTEDES NO SE HABRIA
REALIZADO NI TENDRIA IMPORTANCIA
LA PRESENTE TESIS.

A G R A D E C I M I E N T O S .

M.V.Z. HECTOR SUMANO LOPEZ.

M.V.Z. ANA AURO ANGULO.

POR SU DIRECCION Y ASESORIA EN LA REALIZACION DE ESTE TRABAJO.

BIOL. ANA BERTA MONTERO ROCHA.

POR SU ASESORIA Y APOYO. GRACIAS POR EL TIEMPO DEDICADO.

BIOL. AMALIA ARMIJO ORTIZ.

POR SU APOYO.

AL INSTITUTO DE BIOLOGIA, U.N.A.M.

M. EN C. FRANCISCO GONZALEZ MEDRANO

POR SU VALIOSA COLABORACION EN LA IDENTIFICACION Y RECOLECCION DE -
LA MANZANILLA (Helenium quadridentatum) EN EL MUNICIPIO DE AGUA FRIA ES-
TADO DE HIDALGO.

AL INSTITUTO DE QUIMICA, U.N.A.M.

Dr. TIRSO RIOS CASTILLO

POR SU VALIOSA COLABORACION EN LA REALIZACION DEL EXTRACTO DE DICLO-
RO METANO DE LA MANZANILLA Helenium quadridentatum.

AL DEPARTAMENTO DE HISTOLOGIA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, U.N.A.M.
POR SU COLABORACION EN EL PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS.

A LA SECRETARIA DE PESCA Y CENTRO ACUICOLA "El Zarco"
DONDE SE LLEVO A CABO ESTE PROYECTO.

I N D I C E .

RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
ANTECEDENTES.....	3
JUSTIFICACION.....	9
OBJETIVO.....	10
MATERIAL Y METODOS.....	11
HIPOTESIS.....	16
RESULTADOS.....	17
DISCUSION.....	24
CUADROS.....	28
APENDICES.....	30
BIBLIOGRAFIA.....	37

R E S U M E N .

Con el fin de encontrar opciones en el tratamiento contra micosis en trucha arcoiris (Salmo gairdneri), fueron utilizados 101 organismos divididos en 4 grupos, dichos peces se identificaron plenamente mediante mapas de infección, peso, sexo y altura. El tratamiento se efectuó con un cocimiento de Helenium quadridentatum de 25 y 30 g en 1000 ml, hasta evaporar 100 ml; aplicándose de la siguiente manera: LOTE I (21 organismos) los 900 ml de cocimiento se vertieron a -- una tina con 200 l originando una concentración de .14 ppm -- donde se mantuvieron de 15 a 30 minutos durante 15 días, LOTE II (50 organismos) los 900 ml de cocimiento se pusieron -- en botellas goteadoras, que vertían el cocimiento en un es-- tanque con un volumen de 4050 l de agua corriente con una -- concentración de .007 ppm, las 24 horas por 15 días, LOTE -- III (15 organismos) se trataron con azul de metileno a razón de 50 ppm en una tina con 200 l de agua por 15 minutos duran-- te 15 días, LOTE IV (15 organismos) fué el lote testigo sin-- tratamiento alguno. Los resultados indican que en el Lote I -- hubo la eliminación de la fungosis así como cicatrización -- mientras que en los Lotes II y III se obtuvieron resultados -- similares de mejoría pudiendo deberse a la concentración de -- cocimiento empleada. Se concluye que hay evidencias suficien-- tes que indican que el Helenium quadridentatum es capaz de -- ejercer un efecto antimicótico en peces Salmo gairdneri .

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

Se ha propuesto que las enfermedades se desencadenan -- cuando la interacción entre los organismos, los agentes infecciosos y el medio no estan en equilibrio (Lazaro, Chávez-1985). Al igual que en muchas explotaciones pecuarias, las especies ícticas, al ser sometidas a un intenso manejo para su explotación comercial, pierden el equilibrio natural que existe entre ellas y sus parásitos, disminuyendo su resistencia a la acción de los patógenos. De esta manera, los organismos están expuestos a condiciones ambientales adversas como son la sobrepoblación, las fluctuaciones bruscas de temperatura en el agua, el agotamiento por manejo y la intensa -- captura; son factores estos que actuan como tensores que predisponen a la enfermedad (Torre, de la 1985).

En todas las extensiones de agua, tanto dulce como marina, se han hallado mohos acuáticos que viven de desechos vegetales y animales. Dentro de la clase Oomycetes los géneros Saprolegnia y Achlya son los representantes de los hongos -- acuáticos, los cuales no solo son importantes como desintegradores, sino también y quizá de manera más patente, por su

carácter de parásitos. El género más estudiado es el de Saprolegnia, donde se encuentran diferentes especies que afectan tanto a los peces como a sus huevecillos causando grandes pérdidas entre estos organismos en extensiones naturales de agua, en los criaderos y estanques destinados a la piscicultura (Bardach, et al 1986; Torre, de la op cit).

La trucha arcoiris (Salmo gairdneri) es el salmónido -- más ampliamente cultivado con propósitos de pesca deportiva entre otros fines. Las mermas en la producción por infecciones con Oomycetos son incalculables y a pesar de que el hongo es vulnerable a la acción de penicilina y la estreptomicina, resulta impráctica su utilización a gran escala tanto -- por el costo como por los efectos antibióticos en el medio, ya que no se ha evaluado la magnitud del impacto ecológico -- con el uso de los mismos (Lazaro, Chávez 1985).

Para controlar las micosis en general, se han probado -- un buen número de terapias, como la utilización del verde de malaquita, el azul de metileno, el nitrato de plata y otros fármacos con un éxito que ha sido solo parcial (Aguilera, No riega 1986; Alderman 1982; Lazaro, Chávez op cit; Roberts -- 1981; Torre, de la 1985; Watanabe, et al 1980).

Considerando el éxito de algunas terapias basadas en la medicina tradicional (Capaso, Balestrieri 1985; Dextreit, Abehsera 1983; González 1980; Labadie 1986; Peña, et al 1988; Sumano, et al 1987), se pensó procedente recurrir a la misma. Al respecto el Helenium quadridentatum conocida comunmente -- como "manzanilla" y "rosilla" ha mostrado efectos fungicidas notables en plantas (Watanabe, et al 1985) y se consideró -- prudente explotar dicha acción a nivel clínico.

A N T E C E D E N T E S .

En los peces las enfermedades micóticas más importantes son las micosis tegumentarias que provocan diversos Oomyce--tos entre los que destacan los Saprolegniales (Bolt, et al - 1980) que comprenden una diversidad de hongos acuáticos, muy similares (Bolt, et al op cit; Roberts 1981; Willoughby 1985 Woods, et al 1986) se les distingue por poseer un micelio aseptado, abundante, ramificado, comparable con una masa algo donosa en el agua; las hifas varían considerablemente de diámetro según las especies. Contienen celulosa como componente básico de su estructura, ausencia de quitina, zoosporas con dos tipos de flagelos diferentes y formación de dos tipos de zoosporas en algunas especies. Sus estructuras reproductivas se encuentran separadas de las hifas somáticas por septos -- (Bolt, et al op cit). Se reproducen en forma asexual cuando están afectando a los peces (Bolt, et al op cit; Woods, et - al 1986).

Las infecciones por Oomycetos en los peces, afectan --- principalmente la piel y las branquias (Lazaro, Chávez 1985)

aunque se pueden encontrar en aletas, orificios nasales, boca, ojos, etc. Estas infecciones son causadas por varios hongos pertenecientes a los géneros Saprolegnia, Achlya, Aphanomyces, Leptomitius y Phytium; de los que Saprolegnia (S. parasitica, S. monoica, S. mixta, S. thureti) y Achlya (A. poliandra, A. polifer) son los más frecuentes (Aguilera, Noriega 1986; Bardach, et al op cit; Bolt, et al op cit; Lazaro Chávez op cit; Roberts op cit; Woods op cit). Se han citado infecciones en órganos internos provocados por los géneros Saprolegnia y Achlya que se desarrollan en los peces débiles, - enfermos, con lesiones externas expuestas o muertos. También se desarrollan sobre los huevos muertos en los aparatos de - incubación pudiendo contaminar por contacto a los huevos sanos (Bolt, et al op cit; Roberts op cit; Willoughby op cit; - Woods, et al op cit).

Los peces suelen afectarse por la invasión del hongo a través de lesiones en la superficie corporal (Bardach, et al op cit; Roberts op cit). Las lesiones se presentan en forma de manchas blanquesinas grisáceas, amarillentas o verdosas, - sobre la piel del pez, que suelen ser al inicio casi circulares, creciendo después radialmente hasta formar un relieve - en la periferia. Cuando éste se observa bajo el agua tiene - un aspecto algodonoide debido al micelio del hongo que crece sobre la superficie y que al contacto con el aire se aglutina (Amlacher 1970; Bardach op cit; Bolt, et al op cit; Roberts op cit; Woods, et al op cit). El hongo se establece invadiendo el estrato esponjoso de la dermis y expandiéndose lateralmente sobre la epidermis, erosionandola a medida que avanza. La invasión relativamente superficial de la dermis - conduce a un rápido desequilibrio de los fluidos orgánicos y a un fallo circulatorio periférico debido a la imposibilidad para mantener el volumen de sangre circulante (Roberts 1981).

Las zoosporas se encuentran frecuentemente en las aguas

dulces, especialmente a temperaturas bajas (Roberts 1981) -- aunque en el caso de las zoosporas de Saprolegnia diclina, se encontró que la patogenicidad, desarrollo y número, dependen también de factores tales como el pH, la oxigenación y la presencia de pesticidas en el agua (Labadie 1986; Roberts op cit).

Algunas especies de Oomycetos pueden crecer en aguas salobres de estuarios, aunque con una salinidad mayor de 2.8‰ se elimina la distribución de los mismos. La temperatura tiene especial importancia en el desarrollo de parasitismo por micosis de peces, la mayor parte de las epizootias surgen a temperaturas bajas, no obstante el "estres" de altas temperaturas puede inducir a la invasión micótica, además de las ocasionadas por el traumatismo que puede darse a cualquier -- temperatura (Roberts 1981; Torre, de la 1985). En algunas especies se ha visto que la invasión cesa a una temperatura de 18°C (Bardach, et al 1986). Por consiguiente pueden ser afectadas todas las especies de peces de cualquier edad y ambiente (Aguilera, Noriega 1986; Lazaro, Chávez 1985; Torre, de la 1985).

En los peces, la infección depende de factores que influyen por una parte en el pez y por otra en el hongo, cuya combinación, más que la acción individual, conduce a la infección. Los hongos responsables de las micosis en los peces (Oomycetos) son generalmente patógenos secundarios (Amlacher 1970; Bolt, et al 1980; Roberts 1981; Woods, et al 1986), ya que las lesiones se observan después del manejo de los peces y posteriormente a traumatismos en la piel en condiciones de sobrepoblación, contaminación y asociación con enfermedades víricas o bacterianas (Roberts op cit).

En la mayoría de los casos crónicos, en los que la tensión del medio es grave, el micelio del hongo puede penetrar en la dermis e infiltrarse entre los planos fasciales inter-

miotomales (Aguilera, Noriega op cit; Amlacher op cit, Bar--dach, et al op cit; Roberts op cit). En dichas lesiones puede sobrevenir una infección bacteriana secundaria (Willoughby 1985; Woods, et al op cit).

El periodo evolutivo de la lesión varia en función de - las condiciones del medio. En los salmónidos puede presentar se la muerte en menos de 36 horas después de iniciada la infección (Roberts op cit; Torre, de la op cit).

Hasta hace algún tiempo no se consideraba a los Oomycetos como una enfermedad, pues se trataba más bien de parásitos de la debilidad, inofensivos para los peces que gozan de buena salud y que viven en un medio sano (Aguilera, Noriega-op cit; Roberts op cit).

Actualmente y de acuerdo con estudios realizados por algunos autores (Amlacher op cit; Willoughby op cit; Woods, et al op cit), las zoosporas de los Oomycetos especialmente Saprolegnia son capaces de atacar a peces físicamente sanos al igual que a los enfermos.

Experimentos previos han demostrado que removiendo el - mucus del pez se logra un excelente medio para indicar la patogenicidad de los Oomycetos (Amlacher op cit; Roberts op -- cit; Willoughby op cit; Woods, et al op cit). Con estas exposiciones del pez al hongo se ha visto que los Oomycetos crecen más en el mucus antes de atacar al pez, por lo que se ha considerado que las células de los peces son responsables de su defensa. Alternativamente los hongos saprófitos han sido inactivados en el mucus (Woods, et al op cit).

Por otro lado es importante señalar que la industria de la acuicultura en México, se encuentra aún en una etapa de - desarrollo incipiente. En muchas explotaciones los peces crecen y se someten a engordas intensivas y programas reproductivos sin considerar programas antiparasitarios y de salud - en general (Aguilera, Noriega op cit). Esto se debe tanto a la relativa facilidad con la que crecen algunas especies co-

mo a la retisencia de los productores a usar productos químicos en sus explotaciones (Herwing 1979). Este problema se agudiza si se considera la escasa disponibilidad de productos farmacéuticos comerciales para la industria de la acuacultura (Varios Autores 1989). Para resolver esto se ha sugerido que se utilicen remedios tradicionales que culturalmente son mejor captados en nuestro medio (Peña, et al 1988). Algunas de estas alternativas ya han sido publicadas y a corto plazo pueden representar una alternativa viable para mejorar la eficiencia de las empresas piscícolas.

En México se conocen algunas plantas con efectos antifungales como el ajo (Allium sativum), el epazote (Chenopodium ambrosioides) entre otros (Dextreit, Abehsera 1989). Recientemente los japoneses (Watanabe, et al 1985) encontraron que una fracción del extracto liposoluble de la "manzanilla" Helenium quadridentatum poseía notables efectos antifungales. Esta planta se encuentra en los estados de Tamaulipas, Veracruz, Hidalgo y Edo. de México entre otros, con relativa abundancia (Matuda 1958).

J U S T I F I C A C I O N .

Al observar los resultados de las diferentes terapias - utilizadas contra Oomycetos las cuales, no han sido del todo óptimas en un 100%, se convino utilizar la infusión del Hele nium quadridentatum cuya capacidad antifungal fué probada -- con gran éxito en cultivos vegetales y de esta manera exten- der su utilidad hacia la piscicultura. Siendo esta una plan- ta mexicana cuya colecta no significa grandes esfuerzos para el futuro usuario se vio en ella una nueva opción para el -- problema que se presenta en el cultivo de trucha arcoiris y- que puede ser extensivo para otros cultivos.

O B J E T I V O .

Probar la eficiencia fungicida del Helenium quadridentatum en la eliminacion de Oomycetos en trucha arcoiris Salmo-gairdneri y su inocuidad para la dermis afectada.

M A T E R I A L Y M E T O D O S .

Para los tratamientos, la planta seca y molida se pesó en una balanza semianalítica, agregándose al recipiente para su ebullición con agua destilada en una parrilla eléctrica - con una cantidad de 25 y 30 g para los lotes I y II respectivamente hirviéndose por espacio de 10 minutos (evaporándose 100 ml), a fin de obtener la solución madre.

Para el Lote I se hirvieron 25 g de H. quadridentatum - en agua destilada (1000 ml) en un vaso de precipitados, para producir una solución madre al 0.555X en 900 ml y con una -- concentración final de 27,777 ppm. Luego se vació y se pasó por un colador con el fin de que solo el líquido estuviera - en contacto con los animales.

Para el Lote II se hirvieron 30 g de H. quadridentatum - en 1000 ml de agua destilada en un vaso de precipitados por 10 minutos, para producir una solución madre al 0.666X en -- 900 ml y con una concentración final de 33,333 ppm; pasando-se por un colador como en el caso anterior.

Las truchas a utilizar (Salmo gairdneri) se colectaron-

muestreando los estanques de la unidad acuicola "El Zarco"-tomando aquellos organismos que presentaban fungosis en no más del 30% de la superficie corporal, fueron capturados re-deando los estanques con una red de chinchorro luego separandolos mediante una red de cuchara. Se distribuyeron posteriormente en 4 estanques para su respectivo tratamiento. Los organismos a tratar fueron pesados en una báscula con escala de 0 a 10 Kg, en la cual se tenía una cubeta con capacidad de 20 litros, con agua previamente tarada en la que se colocaban los organismos y mediante una diferencia del peso de la cubeta y el agua con el peso total se obtenia el peso del pez. La medicion del animal se hizo mediante una cinta métrica (de 0 a 150 cm), para la altura y la loongitud total fué medido mediante un ictiómetro de 0 a 60 cm. El sexado fué de terminado mediante la observación de las características para machos y hembras (mandíbula inferior en el macho de mayor tamaño que la inferior en hembras), en el caso de animales inmaduros, observando el producto salido de la cloaca mediante una pequeña presión del vientre.

Durante la época de ensayo (Agosto-Septiembre) se tuvieron 16.2 ± 2.1 °C de temperatura y un pH de 7.2 ± 0.8 , estos son datos promedio de los estanques rectangulares del centro acuicola "El Zarco".

Los tratamientos fueron como sigue:

LOTE I: 20 individuos escogidos aleatoriamente y caracterizados individualmente con un peso promedio de 764.3 ± 364.7 g, un largo promedio de 38.7 ± 8.4 cm y una altura promedio de 9.0 ± 2.8 cm, siendo 15 hembras y 6 machos.

El cocimiento de Helenium quadridentatum se vertió en una tina plástica con capacidad de 300 l: a la que se le había agregado previamente 200 l de agua proveniente del estan-

que donde se encontraban los organismos a tratar originando una concentración de 0.14 ppm. Posteriormente se homogeneizó la mezcla mediante la agitación del agua y se capturaron a los peces mediante una red de cuchara para introducirlos por espacio de 15 minutos, que fué el tiempo en que comenzó la población a presentar signos de estrés y asfixia. Se aumentó el tiempo de exposición conforme lo soportaban hasta llegar a 30 minutos. El tratamiento fué constante durante 15 días.

LOTE II: 50 organismos escogidos aleatoriamente y caracterizados individualmente con un peso promedio de 1029.5 ± 503.3 g, un largo promedio de 44.7 ± 7.2 cm y una altura promedio de 10.0 ± 1.9 cm, siendo 38 hembras y 12 machos.

El estanque empleado fué de las siguientes dimensiones: 6m X 1.68m X 40cm X 56cm en desnivel. En su región anterior (entrada de agua) se colocó una garrocha de madera, que atravesaba al estanque por su ancho y pendiente de ella, se colocaron frascos plásticos con tapa de rosca y de presión a los cuales se les había hecho pequeños agujeros con una aguja de disección caliente para provocar el efecto de goteo. A los frascos se les agregó la solución madre al 0.666X en una cantidad de 225 ml completándose la capacidad del frasco gotero (250 ml) con agua del estanque quedando así una concentración final en el gotero igual a 0.592X, se taparon los frascos permitiendo así solo el efecto antes citado, originando una concentración final en el estanque de 0.007 ppm. El tratamiento fué constante durante las 24 horas por los 15 días de terapia y se hizo con una entrada de agua igual a 5 litros por segundo y un drenaje de igual volumen de agua siendo en un estanque rectangular y conteniendo 4,050 l.

LOTE III: 15 organismos escogidos aleatoriamente y caracterizados individualmente con un promedio en peso de -

483.3 \pm 168.7 g, un promedio en largo de 37.7 \pm 5.3 cm y un promedio en altura de 7.2 \pm 1.6 cm; siendo 9 hembras y 6 machos.

Se separaron en una tercera parte del estanque que originalmente los contenía mediante una red plástica con marco de madera del ancho y profundidad del estanque (68X56 cm). - Estos peces fueron tratados con baños de inmersión con azul de metileno en dosis de 50 ppm por 15 minutos durante 15 días (Herwing 1979). Los baños se efectuaron en una tina de -- plástico con capacidad de 300 litros , agregándose solo 200l de agua extraída del estanque donde se encontraban los peces.

LOTE IV: 15 organismos escogidos aleatoriamente, identificados individualmente con un promedio en peso de 408.7 \pm 191.9 g, un promedio de largo de 42.0 \pm 9.5 cm y un promedio en altura de 6.59 \pm 1.1 cm; siendo 10 hembras y 5 machos.

Fueron el grupo control a los cuales no se les dio tratamiento alguno.

La identificación individual de los organismos se realizó con el objeto de que cada individuo fuera una unidad experimental ya que no hubo disponibilidad de réplicas ni de muestras heterogéneas teniéndose que trabajar como lo dispusieron en el centro acuícola. Dicha identificación se basó en mapas por áreas de erosión con dibujo anexo al registro de peso, longitud, altura y sexo de cada uno. La eutanasia de los animales se realizó por desmedulación de acuerdo con el método de Amlacher (Amlacher 1970). Las muestras tisulares se fijaron en formol buferado al 10% y se procesaron por la técnica de Hematoxilina y eosina (Varios Autores 1970).

Para la evaluación de las lesiones dérmicas debidas al hongo se definió la calificación subjetiva de la intensidad de la lesión, previa observación macroscópica como sigue:

INTENSIDAD DE LA LESION.

1%-5%	0.5-1 mm ² de superficie y epidermis involucrada - (eliminando manualmente el micelio el pez queda sano).
6%-10%	1-2 mm ² de superficie y necrosis de la epidermis- (aunque se elimine el micelio).
11%-15%	3-5 mm ² de superficie y necrosis de la epidermis- (aunque se elimine el micelio).
16%-20%	1 cm ² de superficie y dermis total necrosada.
21%-30%	3 cm ² de superficie y subdermis involucrada (hemorragias).
31%-40%	5 cm ² de superficie involucrando incipientemente- al músculo.
41%-50%	10 cm ² de superficie y músculo totalmente exteriorizado.
51%- ---	con necrosis muscular, exteriorizacion de diferentes viceras, superficies afectadas de diferentes- tamaños.

Al finalizar el tratamiento y por el método de 3 observadores independientes (ciego simple) cuyos valores se promediaron al final para tabular, evaluando así la recuperación (microscópicamente) de acuerdo con la siguiente tabla de recuperación subjetiva y poder hacer el análisis estadístico:

PORCENTAJE DE RECUPERACION.

20%	regeneración total de subdermis.
30%	25% de regeneración de la dermis.
40%	50% de regeneración de la dermis.
50%	75% de regeneración de la dermis.
60%	regeneración total de la dermis.
70%	25% de regeneración de epidermis.
80%	50% de regeneracion de epidermis.
90%	75% de regeneración de epidermis.

100% 100% de regeneración de epidermis.

La calificación de la intensidad fué independiente de -
la superficie total del cuerpo.

HIPOTESIS.

Ho: La recuperación de los organismos es independiente al ti
po de tratamiento y concentración.

Ha: La recuperación de los organismos es dependiente del tra
tamiento(s) y de la(s) concentración(es).

R E S U L T A D O S .

Basado en la imagen macroscópica que era la de un epitelio regenerado, se suspendieron los tratamientos en los 4 lotes al 15o. día de haberse iniciado.

Al compararse los grupos antes y después del tratamiento se encontraron diferencias en todos los lotes aún incluso en el lote Testigo (IV) que presentó las mínimas.

Observándose los lotes, el orden que siguieron a la respuesta de recuperación fué el siguiente en orden decreciente : 1) Lote I (inmersión) y Lote III (azul de metileno), 2) - Lote II (goteo) y 3) Lote IV (control).

La mortalidad observada fué de 2.12% y unicamente en el Lote II (goteo), de los 3 animales (n=50) se presentó la --- muerte por otras causas en 2 y en un pez se encontraba afectado de origen (lesiones ulceradas con hepatomas aflatoxicósicos).

En la evaluación de las lesiones en los organismos se contrastó su intensidad independientemente de su ubicación - mostrando aparentemente que el Lote I (inmersión) fué el que

funcionó mejor en la restauración de tejidos.

La imagen microscópica fué de tejido conjuntivo fibroso (cicatrización) en todas las áreas de pérdida tisular conjuntiva y muscular y reepitelización simple (sin faneras) en la mayoría de los casos.

No fueron necesarios los análisis de peso puesto que -- los animales no fueron alimentados durante todo el bioensayo por orden del jefe del centro.

En tanto que los análisis de crecimiento en longitud y altura tampoco se efectuaron por tratarse de animales adultos cuyo crecimiento es lento y a que el lapso del tratamiento es muy breve para darse diferencias .

(19)

L O T E I.

ORGANISMO	PRE-TRATAMIENTO	POST-TRATAMIENTO	
	ENFERMEDAD (%)	RECUPERACION (%)	ENFERMEDAD (%)
A	20	20	0
B	20	20	0
C	20	20	0
D	20	20	0
E	30	27	3
F	20	16	4
G	30	30	0
H	20	20	0
I	20	20	0
J	50	50	0
K	10	10	0
L	30	27	3
M	10	10	0
N	30	30	0
O	20	20	0
P	20	20	0
Q	20	20	0
R	20	20	0
S	20	20	0
T	30	30	0
U	30	27	3

(20)

L O T E II.

PRE-TRATAMIENTO		POST-TRATAMIENTO	
ORGANISMO	ENFERMEDAD (%)	RECUPERACION (%)	ENFERMEDAD (%)
1	20	20	0
2	20	20	0
3	30	27	3
4	20	20	0
5	30	27	3
6	30	24	6
7	30	24	6
8	20	20	0
9	20	20	0
10	20	20	0
11	30	27	3
12	30	27	3
13	30	27	3
14	30	27	3
15	30	24	6
16	20	20	0
17	30	30	0
18	30	30	0
19	30	27	3
20	30	27	3
21	30	24	6
22	30	24	6
23	20	20	0
24	20	20	0
25	30	21	9
26	30	24	6
27	10	10	0

PRE-TRATAMIENTO		POST-TRATAMIENTO	
ORGANISMO	ENFERMEDAD (%)	RECUPERACION (%)	ENFERMEDAD (%)
28	40	0	40
29	30	27	3
30	30	27	3
31	20	20	0
32	30	30	0
33	30	27	3
34	20	20	0
35	10	10	0
36	30	24	6
37	30	27	3
38	30	27	3
39	30	27	3
40	30	27	3
41	30	27	3
42	30	21	9
43	30	27	3
44	30	21	9
45	30	24	6
46	20	20	0
47	30	24	6
48	30	30	0
49	20	20	0
50	30	21	9

L O T E III.

PRE-TRATAMIENTO		POST-TRATAMIENTO	
ORGANISMO	ENFERMEDAD (%)	RECUPERACION (%)	ENFERMEDAD (%)
1	20	20	0
2	10	10	0
3	20	20	0
4	20	18	2
5	20	16	4
6	30	27	3
7	10	10	0
8	20	18	2
9	30	27	3
10	20	18	2
11	20	20	0
12	10	10	0
13	20	20	0
14	30	27	3
15	20	20	0

L O T E IV.

PRE-TRATAMIENTO		POST-TRATAMIENTO	
ORGANISMO	ENFERMEDAD (%)	RECUPERACION (%)	ENFERMEDAD (%)
1	20	0	20
2	20	0	20
3	10	6	4
4	20	6	14
5	20	6	14
6	20	6	14
7	20	0	20
8	20	6	14
9	20	0	20
10	20	0	20
11	20	0	20
12	20	0	20
13	10	6	4
14	20	6	14
15	20	0	20

D I S C U S I O N .

Uno de los aspectos positivos de este ensayo radica en haber utilizado un brote natural de micosis producida por *Oomycetos*. Además, de que la invasión de la piel y el grado de avance de la enfermedad era heterogéneo por lo que resultar un modelo natural para desafiar la supuesta capacidad antimicótica del Helenium quadridentatum.

En cuanto a las razones que se argumentaron en el centro acuicola "El Zarco" para no alimentar a los peces se basaron primeramente en el miedo a realizar bioensayos y representa por lo tanto uno de los principales obstáculos para transformar un conocimiento etnobotánico a uno etnofarmacológico (Herwing 1979). Sin embargo, aún con este obstáculo se encontraron resultados positivos.

El análisis estadístico y la observación simple de los resultados indica una franca mejoría en el Lote I y III, superior incluso al observado en el Lote II lograndose una reducción de las lesiones y una implantación del proceso cic-

trizal. Aunque la estadística indica que en orden, fué más - bondadoso el efecto del azul de metileno que el del Helenium quadridentatum en forma de goteo. Esto puede deberse en primer lugar a que la concentración en el baño de inmersión es mayor (0.14 ppm), mientras que en el de goteo fué menor (0.-007 ppm). Es factible que elevando la concentración en el -- tratamiento por goteo se obtengan resultados superiores al - del azul de metileno el cual ha mostrado efectos adversos co laterales como disminución de la capacidad reproductiva (Her nandez 1979).

En trabajos anteriores con H. quadridentatum se observó una mortalidad del 100% debido a los efectos tipo coli nergicos observados en este producto por el alcaloide chapuzina (García 1989) de la planta seca completa (picada), sin embargo en nuestro bioensayo, a nivel de estanqueria estos - efectos no se observaron debido a que aparentemente dicho al caloide es termolabil ya que tanto en el trabajo de acuario como en este, el cocimiento acuoso de H. quadridentatum fué inocuo.

La muerte de un individuo en el Lote II se fundamenta - en la presencia de grandes hepatomas aflatoxigénicos que tenía al pez en un estado de caquexia. Los otros individuos mu ertos en el Lote II murieron al segundo día del tratamiento, la necropsia no mostró más que ligera degeneración grasa hepática y la muerte se presentó de manera súbita con nado en decúbito lateral primeramente y en decúbito dorsal posterior mente. La comunicación personal con los encargados del cen tro acuicola indican que muchos de los individuos mueren de esta manera sin aparente explicación, en estanques no trata dos.

Es posible que las muertes de algunos de estos organis mos sean debidas a predisposición a niveles residuales de a flatoxinas (Amlacher 1970).

Aunque pueden considerarse los resultados obtenidos en este ensayo como alentadores y capaces de ejercer un efecto antimicótico superior al de otros tratamientos ya establecidos, se requiere la evaluación toxicológica del cocimiento de Helenium quadridentatum para recomendar su uso a mayor escala. Más aún, las concentraciones utilizadas en este bioensayo (0.14, 0.007 ppm) fueron establecidas de manera empírica por lo que resulta congruente pensar en la necesidad de llevar a cabo pruebas de dosis respuesta que permitan evaluar tanto la eficacia máxima de este cocimiento como su margen terapéutico (Sumano, Ocampo 1987).

También puede resultar recomendable evaluar el impacto del cocimiento del Helenium quadridentatum sobre la ecología de estanques cerrados.

Habitualmente se contempla en el proceso de farmacognosia convencional la extracción de principios activos y la caracterización del mecanismo de acción (op cit). Sin embargo esta visión de la utilización de plantas para fines médicos no es única; en muchos países se ha adoptado la utilización de extractos de plantas completas para el tratamiento de enfermedades por ejemplo, se utiliza la zábila como cicatrizante (Sumano, et al 1987), la hoja de sen como laxante (Sumano Ocampo 1987). y en la cultura China representa la principal forma de curar (Sumano, Zendejas 1981). Por tanto los resultados derivados de este ensayo preliminar puede tener una -- proyección práctica a corto plazo ya que la metodología es -- relativamente sencilla y la disponibilidad de la planta amplia. Los ensayos preliminares con derivados más purificados de Helenium quadridentatum hasta obtener cuatro pseudoguaianolidos (quadridenin, thurberilin, temulin y 6-O-angeloylplenolin) (Watanabe, et al 1985), brindaron resultados poco alentadores y aumentaron la toxicidad del extracto a niveles poco prácticos, incompatibles con su utilización (García 1989).

Debe acentuarse que el efecto del H. quadridentatum es exclusivamente fungicida (Watanabe, et al 1985), sin embargo este efecto, al eliminar el agente causante hace que el organismo responda favorablemente con un proceso de cicatrización como se puede observar en el % de recuperación post-tratamiento donde el Lote tratado por inmersión con H. quadridentatum mostró los mejores resultados en porcentajes de restauración tisular, demostrando que el organismo actúa homeostáticamente tras la eliminación del agente agresor.

Por todo lo anteriormente mencionado se ha hecho necesaria la investigación de antifungales los cuales esten al alcance de los piscicultores y que pueda, obtenerse del mismo lugar donde se encuentre el problema, la solución, sin que esta perjudique a la postre el ecosistema donde se realiza dicha explotación, de acuerdo a esto se creyó conveniente utilizar una planta mexicana (Helenium quadridentatum) que ya ha sido utilizada en Japón con fines fungicidas en cultivos vegetales (op cit) pero no se ha utilizado con los mismos fines para animales y mucho menos en la acuicultura. Siendo -- que esta planta es mexicana, nuestros piscicultores podrán tener un "remedio" a los ataques de hongos en sus peces sin que se vea disminuida su economía además de no ser requeribles más que los principios de herbolaria (cocimientos e infusiones) que por nuestros orígenes son de la mayoría campesina conocidos y con lo cual la ciencia estará más en contacto en el momento de un problema dando una solución en que el piscicultor campesino se vea identificado y el acuacultor -- profesional vea en la medicina tradicional una solución que no dañe a la naturaleza.

CUADRO 1.

RESULTADO DE LA t DE Student PARA % DE RECUPERACION
EN LOS DIFERENTES GRUPOS TRATADOS.

LOTE	t DE TABLAS	t CALCULADA	ALFA
I	2.086	12.62	0.05
II	2.04	5.40	0.05
III	2.145	12.70	0.05
IV	2.145	3.50	0.05

CUADRO 2.

RESULTADOS DEL ANALISIS DE Krushkall Wallis PARA LOS PORCENTAJES DE RECUPERACION DE LOS GRIPOS TRATADOS.

LOTE	SUMATORIA DE RANGOS.	PROMEDIO DE RANGOS.
I	1,490.5	70.97
II	2,592.0	51,84
III	840.5	56.03
IV	127.0	8.46

$Kw = 90.7044$ que queda en el percentil 0.001

Por lo tanto existen diferencias en los porcentajes de recuperacion debidos al tratamiento.

APENDICE 1.

CARACTERISTICAS TAXONOMICAS DEL

Helenium quadridentatum

Son hierbas o subarbustos con hojas alternas y capítulos de mediano tamaño, solitarios y flojamente corimbosos, flores amarillas. Capítulos radiados, con flores dimorfas, - las femeninas o neutras líguladas, dispuestas en series; las del disco tubulosas, hermafroditas; o bien capítulos coideos por ausencia de flores marginales. Involucro hemisférico formado por 1-2 series de brácteas poco apretadas, las exteriores herbáceas las interiores frecuentemente membranosas. Receptáculo convexo o semigloboso, desnudo. Corolas de las flores femeninas líguladas, con lígula tridentada o pentadentada en el limbo. Anteras auriculadas o semisagitadas en la base. Ramas del estilo de las flores hermafroditas truncadas y con una coronita de pelos en la punta. Aquenio turbinado seniceo velludo o raramente casi glabros. Papos formado por 5-8 páleas terminadas en una arista o algunas veces casi múticas alrededor de 40 sp, todas americanas. Para el Estado de México tenemos reportadas: H. scorzoneraefolia y H. quadridentatum Labill (Matuda, E. 1958).

REINO: PLANTAE

SUBREINO: EMBRIOFITAS

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: ASTERIDAE

ORDEN: ASTERALES

FAMILIA: ASTERACEAE

GENERO: Helenium

ESPECIE: quadridentatum Labill. (Cronquist, A. 1968; Cronquist, A. 1981).



FOTO 1: PLANTA HELENIIUM QUADRIDENTATUM.

APENDICE 2.

CARACTERISTICAS TAXONOMICAS DE LA TRUCHA ARCOIRIS

Salmo gairdneri

La familia Salmonidae se caracteriza por poseer menos de 190 escamas en una serie longitudinal. Aleta dorsal y anal generalmente con 11 radios, con pequeñas manchas oscuras y generalmente redondas en el cuerpo. Como característica de la especie tenemos que no posee mandíbula inferior. -- Longitud cefálica, más de 3.5 veces la longitud patrón. El extremo posterior de las mandíbulas por lo general no sobrepasa la parte posterior del ojo. Una banda roja, más o menos intensa y bien marcada, donde el operculo hasta la aleta caudal. Muy distribuidas artificialmente. (Alvarez del V. 1970).

REINO: ANIMALIA
PHYLUM: CHORDATA
SUBPHYLUM: VERTEBRATA
SUPERCLASE: GNATHOSTOMATA
CLASE: TELEOSTOMI
SUBCLASE: ACTINOPTERYGII
INFRACLASE: TELEOSTEI
SUPERORDEN: ISOSPONDYLI
ORDEN: CLUPEIFORMES
SUBORDEN: SALMONOIDEI
FAMILIA: SALMONIDAE
GENERO: Salmo
ESPECIE: gairdneri Richarson.



FOTO 2: TRUCHA (SALMO GAIRDNERI) EN REGENERACION

APENDICE 3.

PROCESAMIENTO DEL Helenium quadridentatum .

La planta empleada (Helenium quadridentatum), fué colectada en el municipio de Agua Fria en el Estado de Hidalgo, - México. Es denominada en la región como rosilla o planta del estornudo, aunque en otras regiones se le conoce como manzanilla y rosetilla. La colecta de la planta* fué completa, es decir se obtuvo la raíz, tallo etc, jalandose del suelo fácilmente.

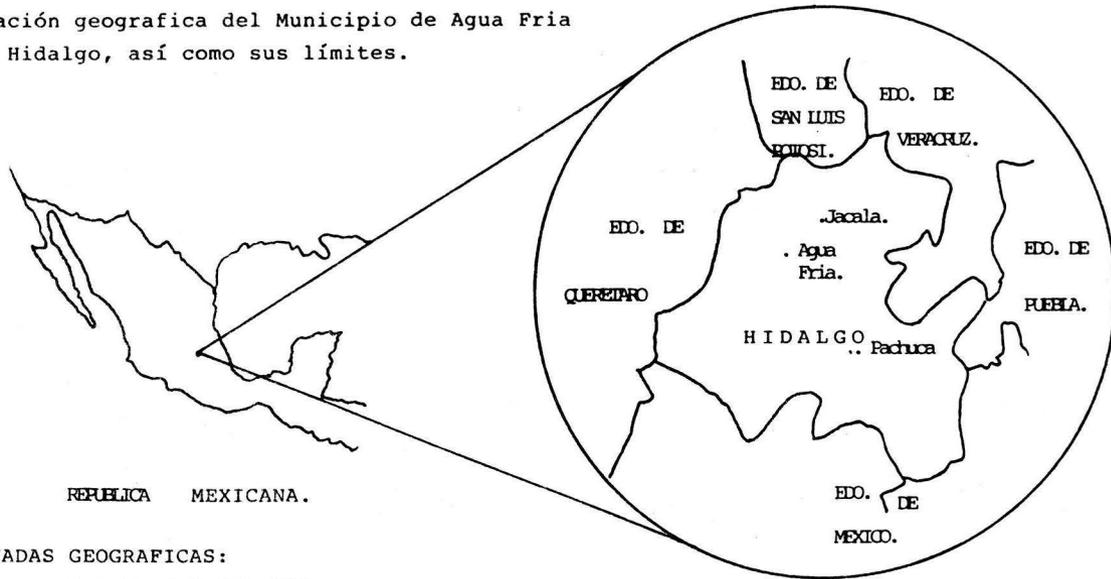
Una vez colectada y transportada al lugar de secado, -- fué lavada para eliminar la tierra, se esparció en una superficie cubierta de papel absorbente el cual también cubrió la planta y se efectuó el secado sin sol (Watanabe, et al 1985), cambiandose el papel absorbente para mayor eficacia y prevención de hongos parásitos por humedad. Ya seca la planta se - molió en un molino manual por completo, pasandose por lo menos dos veces para obtener así pequeños trozos, los cuales - se utilizarían para la infusión.

La planta se encuentra en la colección del Herbario Nacional del Instituto de Biología de la U.N.A.M. con fichas - No: 149529, 257876, 238242, 258685, 145319, 34026, 34025, -- 243482, 261777, 312127, 34118, 34117, 34080, 270450, 215395, 232864. Familia 280 (Compuestas).

(*) La identificación y recolección de la planta (Hele-
nium quadridentatum) fué supervisada por el M.en C.
F.González Medrano del I. de Biología de la U.N.A.M.

A P E N D I C E 4.

Localización geográfica del Municipio de Agua Fria
Edo. de Hidalgo, así como sus límites.



REPUBLICA MEXICANA.

COORDENADAS GEOGRAFICAS:

Lat N. 20° 58' 27"

Long W. 99° 12' 37"

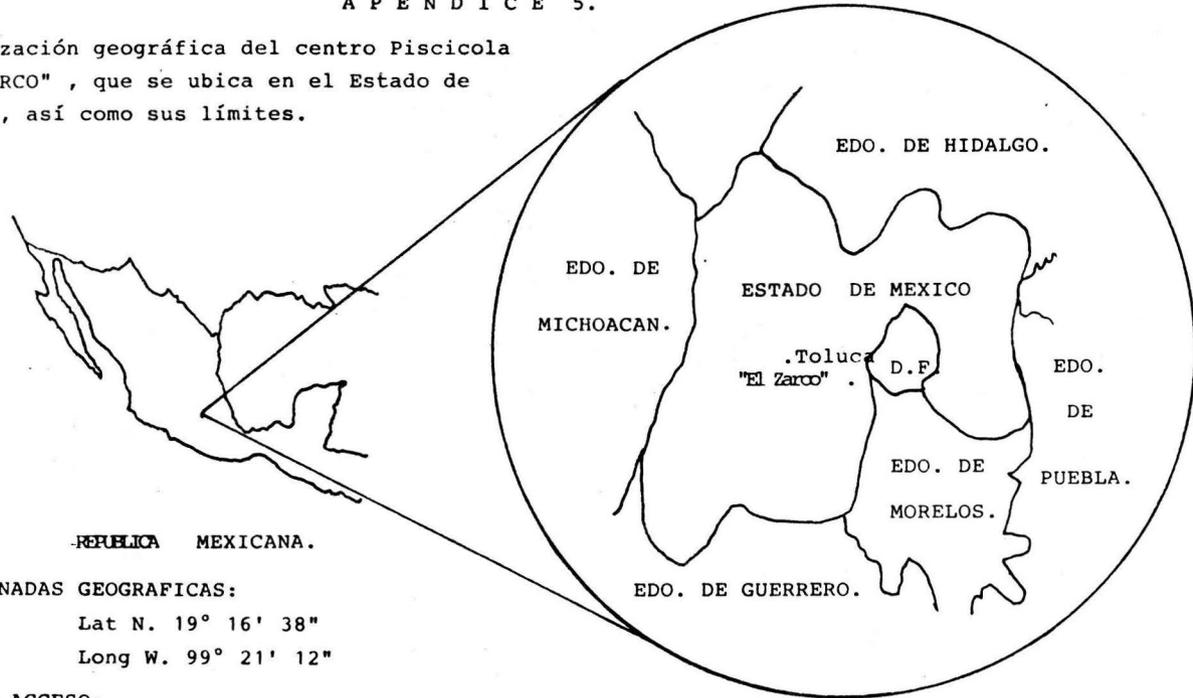
VIA DE ACCESO:

Carretera Federal No. 85

México a Tamazuchale y Ciudad Valles.

A P E N D I C E 5.

Localización geográfica del centro Piscícola
"EL ZARCO" , que se ubica en el Estado de
México, así como sus límites.



REPUBLICA MEXICANA.

COORDENADAS GEOGRAFICAS:

Lat N. 19° 16' 38"

Long W. 99° 21' 12"

VIA DE ACCESO:

Carretera Federal No. 15

México - Toluca.

APENDICE 6.

G L O S A R I O .

- Aflatoxicósicos.- Producido por toxinas de hongos como Penicilium y otros (aflatoxinas).
- Antera.- Parte del estambre que produce el polen. Está colocada en la punta del filamento y está formada por dos lóbulos, cada uno contiene dos sacos que producen una gran cantidad de granos de polen.
- Aquenio.- Fruto pequeño, seco de una sola semilla que no se abre al madurar, y en el que la cubierta de la semilla no se adhiere al pericarpio. Los de las compuestas proceden de un ovario bicarpelar e ínfero.
- Bráctea.- Hoja modificada que se desarrolla debajo de una flor o inflorescencia, puede ser palida o coloreada. Las que subtienden la inflorescencia se llaman involucro.
- Capítulo.- Inflorescencia típica de la familia de las compuestas. Esta formada por un gran número de flósculos sin pedúnculo, insertados en el extremo plano y discoidal del pedúnculo y esta rodeado por un anillo de brácteas estériles, el involucro.
- Caquexia.- Grado de delgadez extrema.
- Carpelo.- Organo parecido a una hoja que lleva óvulos en el borde; unidad estructural de un pistilo compuesto.
- Coción.- Agregar las partes de una planta en la ebullición del agua y retirandola del fuego a los 2 minutos.
- Colinergico.- Efecto semejante al de la acetilcolina.
- Corimbo.- Inflorescencia con pedúnculos florales de diferentes tamaños siendo el más bajo el más largo. Es to forma un ramillete plano de flores al mismo nivel.
- Corola.- Término colectivo para los pétalos de las flores. En la formula floral se indican con el simbolo C.
- Decoción.- Término empleado para indicar que las partes de una planta se agregan al agua luego de su ebullición retirandola del fuego y evitando su evaporación.
- Dimorfas flores.- Flores masculinas y femeninas.
- Estres.- Fase de agotamiento en el síndrome general de adaptación.
- Faneras.- Derivados dérmicos.

- Glabro.- Desprovistos absolutamente de pelo o vello.
- Hepatomas.- Tumores o cancer del hígado.
- Inflorescencia.- Colección de flores con un tallo común ca da flor sale, generalmente de la axila de una hoja o bráctea. Se clasifican por la forma de ramificación.
- Infusión.- Acto de cocimiento de las partes de una planta - desde el calentamiento del agua hasta su ebullición.
- Involucro.- Estructura protectora. Se observa comunmente en las angiospermas con inflorescencias condensadas - en forma de anillo de brácteas ubicado por debajo de la inflorescencia.
- Lígula.- Estructura como cinta dentada formada por la prolongación de un lado del tubo de la corola en ciertos flósculos de las compuestas. Los dientes in dican el número de pétalos fundidos. En los capítulos de las compuestas, cada una de las corolas.- Gamopétalas y zigomorfas, tridentadas o quitadentadas, que poseen las flores de la periferia ó de toda la inflorescencia. dícese así porque semejan una lengüecita.
- Múcticas.- Se aplica a los órganos sin punta ó sin arista -- terminal.
- Necrosis.- muerte celular.
- Páleas.- Escamitas ó escamas que existen en el receptáculo paleáceo que las tiene.
- Papos.- Anillo de pelos, escamas o dientes que componen el cáliz en las flores compuestas. Persisten en el fruto y contribuyen a la dispersión de las semillas por el viento.
- Patogenia.- Modo de acción de un agente para producir enfermedad.
- Pedunculo.- Tallo principal que soporta la inflorescencia.
- Receptaculo.- Punta del tallo de las flores angiospermas - donde se insertan los otros órganos. La forma como se desarrolla el receptaculo determina la posición del gineceo en relación a las otras partes - florales si es en forma de cúpula o platillo, el gineceo es súpero y si es en forma de frasco es -ífero.

B I B L I O G R A F I A .

- Aguilera, H.P. y Noriega, C.P.; La trucha y su cultivo, Fondepesca, México, D.F., 1986.
- Alderman, D.J.; In vitro testing of fisheries chemotherapeutans, Journal of Fish Diseases, 1982. 5(113-123)
- Alderman, D.J.; Comparative investigation of the effects of fungicides on SAPROLEGNIA PARASITICA and APHANOMYCES AS TACI, Transaction of the British Mycological Society, - 1984. 83(2) (313-318)
- Alvarez del Villar; Claves de identificacion de peces, CNEB-Continental, México, 1970.
- Alvarez del Villar, Los Cordados, origen, evolucion y hábitat de los vertebrados. CNEB Continental, México, 1981. (99, 100, 108, 110)
- Amlacher, E.; Textbook of Fish Disease, TFH Publications Jersey City, New Jersey, 1970.
- Bardach, J.E., Ryther, J.A., McLaren, W.O.; Acuacultura AGT Editor, S.A. México, 1986. (327-366)
- Bolt, H.C., Alexopoulos, C.J., Delevorias, T.; Morphology of Plants and Fungi, Harper Internacional Edición. New ---

- York, 1980. (634, 642, 646)
- Capaso, F., Balestrieri, N.M.; Actualidad de las plantas medicinales, Medicina Tradicional, 1985. 803(10) (53-61)
- Cronquist, A.; The evolution and classification of Flowering Plants, Thomas Nelson and Sons LTD, Great Britain, 1968.
- Cronquist, A.; An integrated system of classification of flowering plants, Columbia Press, E.U., 1981.
- Dextreit, R. and Abehsera, M.; Nuevo tratado de Medicina Natural, EDAF Ediciones Distribuciones, Madrid 1983. (46).
- E.U.; Manual de procedimientos Histopatológicos de las Fuerzas armadas, [s,1] [s. ed], 1970.
- Fuller, N.J. et al; Botánica, Interamericana, México 1983. - (336-38)
- García, C.G.; Efectos del extracto de Diclorometano con el HELENIUM QUADRIDENTATUM para el tratamiento de saprolegnias en tilapias (TYLAPIA MOSSAMBICA). Tesis Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 1989.
- González, F. y González, S.; Notas sobre el uso de las plantas medicinales en las comunidades rurales del Edo. de Nuevo León, Medicina Tradicional 1980. 3(10) (23-32)
- Hernández, L.O.; Elementos de probabilidad y estadística, -- Fondo de Cultura Económica, México 1979.
- Herwing, N.; Handbook of drugs and chemicals used in the treatment of fish disease, Charles C. Thomas, E.U. 1979. - (5)
- Labadie, R.P.; Problems and possibilities in the use of traditional drugs, Journal of Ethnopharmacology, Elsevier Scientific Publisher, Ireland Ltd. 1986. 15(221-230)
- Lazaro, E. y Chávez, M.; Substancias desinfectantes y drogas de utilidad en las piscifactorias, Manual de Usos, AGT-editor, México 1985. (11-17)
- Matuda, E.; Las compuestas del Estado de México, Gob. del Es

- tado de México. Dir. de Recursos Naturales. Toluca Méx. 1958.
- Peña, N., Auró, A., Sumano, L.H.; A comparative trial of gastric, its extract and ammonium-potassium tartrate as anthelmintics in carp, Journal of Ethnopharmacology, 1988. 24(199-203)
- Roberts, R.J.; Patología de los peces, Mundiprensa, España - 1981. (237-61)
- Siegel, S.; Estadística no paramétrica, Trillas, México, D.F. 1978.
- Sumano, L.H., et al; Eficacia cicatrizante de varios medicamentos de patente la zábila y el propoleo. Rev. Vet. -- Moex. 1987. 5(18) (33-37)
- Sumano, L.H., Ocampo, C.L.; Farmacología Veterinaria. Mc --- Graw Hill, México 1987.
- Sumano, L.H., Zendejas, P.F.; Acupuntura Veterinaria, Memorias del primer curso de acupuntura veterinaria. División de Estudios de Posgrado. F.M.V.Z., U.N.A.M. México 1981.
- Torre, R.J. de la ; Evaluación de 4 diferentes tratamientos en terapia de saprolegniasis en peces de acuario. Tesis Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 1985.
- Varios Autores; Diccionario de especialidades farmacéuticas, PLM. [s,l], 1989.
- Watanabe, K., et al; Structure and fungicidal activity of four pseudo-guanolides isolated from HELENIUM QUADRIDENTATUM L. Journal of Agri. Ch. 1985. (33-83)
- Wilson, C.L., Loomis, W.E.; Botánica, UTHERA, México 1980.--- (411-14, 639-40, 647-666)
- Willoughby, L.G.; Rapid preliminary screening of SAPROLEGNIA of Fish. Journal of Fish Disease 1985. 8(5)
- Woods, L., Willoughby, L.G., Breakes, G.W.; Preliminary evidence for inhibition of SAPROLEGNIA fungus in the mucus of brown trout, SALMO TRUTTA L., following experimental-challenge, Journal of Fish Disease, 1986. 9(6)