

69
24



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EVALUACION COMPARATIVA DEL EFECTO PARASITICIDA SOBRE Costia necatrix DEL AJO (Allium sativum) Y DEL AZUL DE METILO EN TILAPIA (Tilapia spp.).

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A ;
CARLOS ANDRES GARCIA CUETO



ASESORES: M.V.Z. ESTELA ANA AURO ANGULO
M.V.Z. HECTOR SUMANO LOPEZ

MEXICO. D. F.

1989



OCT. 31 1989

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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.

I N D I C E

	Pag.
I RESUMEN	10
II INTRODUCCION.	11
III MATERIAL Y METODOS.	18
IV RESULTADOS.	21
V DISCUSION	23
VI LITERATURA CITADA	27

Evaluación comparativa del efecto parasiticida sobre Costia necatrix del ajo (Allium sativum) y del azul de metilo en tilapia (Tilapia spp.).

García Cueto Carlos Andrés.

Asesores: MVZ María Estela Ana Auro Angulo.

MVZ Héctor Sumano López.

I.- RESUMEN

El presente trabajo es un estudio comparativo del efecto parasiticida del ajo (Allium sativum) y del azul de metilo, sobre la Costia necatrix en la Tilapia Spp. Conocidas las características del ajo y su efecto parasiticidas, así como del azul de metilo se hizo una evaluación comparativa en Tilapia spp., y se realizó el siguiente tratamiento: a un lote de Tilapia se le administró ajo, a otro el azul de metilo y el último fungió como testigo. El método analítico utilizado, fue una prueba de χ^2 p/K muestras independientes y de "T" de student para muestras pareadas se encontró que el tratamiento con ajo contra Costia necatrix, resultó ser más efectivo y económico que el de azul de metilo no presentándose mortalidad en ambos tratamientos. De lo anterior se concluye que la utilización del ajo es una alternativa de bajo costo para las prácticas zootécnicas que requieren del control de la Costia necatrix.

II. - INTRODUCCION.

México, es un país que tiene un extenso potencial acuícola. Su superficie terrestre es de 1'972,546 Km2., sin contar las áreas insulares y los aproximadamente 10,000 Km. de litoral marino. El suelo montañoso y semidesértico en más de la mitad de su extensión territorial, la escases del terreno y lo extremo del clima, da como resultado la dificultad de alimentar al ganado (2).

Por fortuna su carácter montañoso produce que, en la mayoría de estas zonas, existan múltiples ríos que son susceptibles de explotación a través de la técnica de la acuicultura.

Dentro de la acuicultura desarrollada en nuestro territorio, contamos con cuatro especies de "TILAPIA", que son: T. mossambica, T. nilotica, T. melanopleura y T. hornorum, las que llegan a alcanzar un peso de más de 700 g. (13). En general, estas cuatro especies de Tilapia, tienen cuerpo oblongo, comprimido lateralmente y están cubiertas de escamas ctenoides de diversos colores según el ambiente y el estado sexual en que se encuentren (13).

La tilapia puede vivir en agua dulce o salobre, en especial en aguas tropicales de partes bajas, cabe aclarar que algunas especies pueden soportar el agua fría (13). Su madurez sexual se alcanza entre

las nueve semanas de vida, dependiendo de la temperatura del agua y de la especie en explotación, su reproducción se efectúa posteriormente en un lapso de cinco o seis semanas, en algunos casos nos enfrentamos al problema de sobrepoblación y tenemos que practicar el monosexocultivo (13).

En cuanto a la alimentación, estas especies son principalmente herbívoras, aún cuando no conocemos a profundidad los hábitos alimenticios de las especies mencionadas; algunas de ellas son relativamente omnívoras y se satisfacen con alimento artificial de origen vegetal y en algunos casos si no se les proporciona otra cosa aceptan el alimento animal (13). Todo lo anterior la convierte en una especie animal excelente para su explotación, si además es combinada con carpas comunes que también son herbívoras, bajo estas condiciones y sin necesidad de cuidados especiales, se pueden llegar a recolectar entre trescientos y quinientos kilogramos por hectárea al año. Con la cruce de diferentes especies se obtendrán nuevos híbridos de un solo sexo que engordan sin problemas de sobrepoblación, este método se conoce como monosexocultivo (11,13). Como es de esperar, toda explotación animal tiene sus problemas, las auspiciadas por la acuicultura no escapan a lo anterior, un problema común son las parasitosis, entre las más frecuente encontramos a la costiasis, la cual es provocada por la

Costia necatrix (Ichtyobode necatrix). Este parásito podemos caracterizarlo como cosmopolita geográficamente y afecta a todas las especies de agua dulce. Es un pequeño parásito que mide de diez a quince micras de longitud y en cuyo estadio de nadador libre presenta una forma oval o arriñonada, con dos pares de flagelos de longitud desigual que provienen de una endidura que ocupa la mayor parte de su longitud corporal (6).

En su estadio de fijación al pez adulto, la costia es más cuneiforme y sus flagelos no son tan visibles. Penetra en las células epiteliales por una especie de gancho y se reproduce sobre la superficie corporal del pez, causando la necrosis de las células epidérmicas y una irritación e hipersecreción de la mucosa. La irritación provocada por la descamación produce manchas grises con exceso de cutícula, los peces infestados se frotan contra el sustrato perdiendo más escamas y abriendo camino a infecciones secundarias por bacterias y hongos. Ataca también las branquias, produciendo una congestión aguda y la muerte consiguiente del pez (15).

El tratar una enfermedad en una granja piscícola presenta problemas diferentes a los de una explotación avícola, ovina, bovina, porcina, etc., ya que el administrar un fármaco de manera eficiente en un líquido, presenta dificultades serias, como es el de mantener la dosis terapéutica a sus niveles óptimos, sin provocar una intoxicación durante el control del

problema clínico a tratar. Aunado a lo anterior, el repertorio farmacológico en tratamientos parasiticidas a utilizar en peces es muy reducido, siendo considerados actualmente como ideales: el azul de metilo y el verde malaquita (4,5); sin embargo el verde malaquita tiene inconvenientes muy serios, ya que el margen de seguridad que ofrece es muy reducido por ser altamente tóxico para los peces (3,4). En cambio el azul de metilo o azul de metileno se utiliza como colorante para el estampado de tejidos de fibras de algodón, así como, en trabajos de microscopía y bacteriológicos. En farmacología se utiliza como antiséptico débil, antihemorrágico o como antídoto de cianuro y talio (10). Si a los conceptos anteriores sumamos el alto costo de esos medicamentos, determinamos que se eleva seriamente el costo de producción. Comparativamente, el uso de esos medicamentos con el uso del ajo, se obtienen de éste mayores beneficios por lo que se refiere a estas especies.

Como una solución alterna a los problemas que presentan los fármacos de uso convencional, tenemos el uso de la herbolaria, el cual consiste en administrar un tratamiento efectivo a base de cortezas, frutos, flores, raíces o la planta completa, propia de una región o zona del país.

En nuestro país la medicina herbolaria se remonta a épocas prehispanicas teniendo por ello una gran riqueza, queda decir que en la mayoría de nuestras poblaciones éste es el tipo de tratamientos que prevalecen y tienden a seguirse; como apoyo a lo anterior, las dosis de uso común presentan un margen de seguridad mucho mayor que el producto químico, por lo cual el tratamiento naturista es aceptado fácilmente por el productor (17).

Una de las plantas a la que se le ha conferido ciertas propiedades curativas es el ajo (Allium sativum), que para nuestra cultura además de ser un condimento básico en su alimentación, se utiliza como: expectorante, vasodilatador, broncodilatador, rubefaciente, antihelmintico, hipotensivo, antirreumático y balsámico. (1,9,13).

Es lógico pensar que si el ajo funciona como antihelmintico, como lo demuestran en sus estudios Mojica (9) y Peña (10), tenga cierto poder parasiticida de uso externo, que es la propiedad que nos interesa en este trabajo, pero, antes de entrar en detalle, se hablará de esta planta :

La clasificación botánica del ajo es:

- División: fanerógamas.
Subdivisión: angiospermas.
Clase: monocotiledoneas.
Orden: lilíferas.
Familia: liliáceas.
Género: Allium sativum (11,12).

Dentro de la composición del ajo se debe destacar que la esencia de éste, está formada principalmente por disulfuro de dialilo, con menores cantidades de trisulfuro y polisulfuro. Al triturarse el ajo por escisión enzimática del disulfuro, resulta una substancia denominada "Alina", siendo todo lo anterior la fracción liposoluble. Como es de esperar, existe una fracción hidrosoluble que está constituida por la Alicina; ésta substancia tiene un alto poder bactericida contra bacterias gram (+) y gram (-), llegando a obtenerse de 1 mg de alicina el equivalente a 15 unidades internacionales de penicilina. (1,4,12).

Una vez, expuestas las características del azul de metileno, del ajo y su acción sobre la Costia necatrix podremos evaluar si el tratamiento con ajo crudo contra este parásito, es capaz de disminuir de manera más

eficiente la cuenta microscópica de la Costia necatrix, y comparativamente con el del tratamiento de azul de metilo en el mismo periodo de tiempo e igualdad de condiciones.

III.- MATERIAL Y METODOS.

Se utilizaron 9 acuarios de 40 l de capacidad, con agua dechlorada por aereación y por acción de una solución de tiosulfato de sodio al 30 %, provistas de una bomba de aire de 115 volts, 60 hz., 4 watts ^{1/}, con bombeo aproximado de 2,500 ml de aire por minuto y con dos bocas de alimentación. En cada acuario se colocaron 10 peces de 25 gramos de peso (biomasa de 250 g) aproximadamente. Dividiéndose en tres lotes, a cada lote de peces se le alimentó diariamente, durante todo el bioensayo, con una fórmula convencional de mantenimiento para peces ^{2/}; a razón del 2% de la biomasa total de cada lote, con el objeto de que mantuvieran un peso constante; para su control se registraron como: lote I, el tratado con ajo crudo; lote II, el tratado con azul de metilo; lote III sin tratamiento o testigo. Se realizaron dos réplicas.

Al lote I se le administró una dosis de 8 g de ajo por cuarenta litros de agua, "200 mg/l" (11,12).

Al lote II se le administró una dosis de 0.6 ml de azul de metilo por cada 40 l de agua ^{3/} (según indicaciones comerciales 0.015 ml/l).

Al lote III no se le administró ningún tratamiento.

- 1/ Marca Hagen inc. corp., Chicago, USA.
- 2/ Albamex alimento para mantenimiento.
- 3/ Concentración al 20%.

El muestreo para la búsqueda del parásito se llevó a cabo de la siguiente manera:

1.- Se colocaron los peces para su ambientación, durante 24 horas en los acuarios.

2.- Con pipeta terminal de 1 ml se tomaron 10 (diez) muestras de agua por acuario, cinco de la superficie y cinco del fondo (fig 1). 24 horas después de su ambientación se le consideró como día 0, a las 72 horas del día 0 se realizó el segundo muestreo y se aplicó el segundo tratamiento, a los 6 días del día 0 se verificó el tercer muestreo.

3.- Cada muestra se centrifugó a 1,200 r.p.m. durante cuatro minutos.

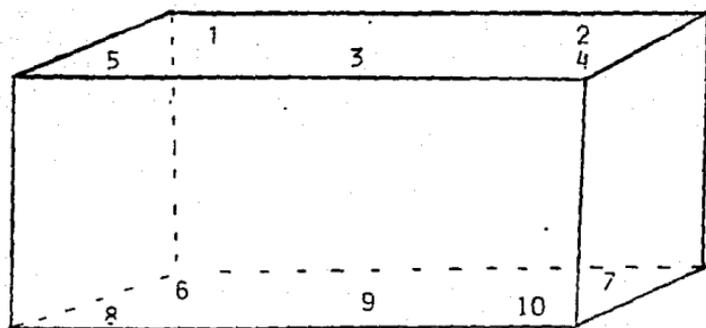
4.- Se tomaron 0.1 ml del fondo de la muestra ya centrifugada, depositándose en un portaobjetos y su correspondiente cubreobjetos.

5.- Se observó cada muestra al microscopio, con el objetivo seco débil, contándose el número de especímenes de Costia nectatrix mediante la técnica de conteo en greca. Lo anterior se realizó en los días 0,3,6.

6.- Para evitar la posible potencialización de los tratamientos, el agua de los 9 acuarios se cambió el día 3.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

FIGURA 1



SITIOS DE LA TOMA DE MUESTRAS, ESQUEMA DEL ACUARIO.

Los datos tanto del primero como del segundo tratamiento fueron registrados, con lo cual, se permitió realizar una comparación proporcional con base en un análisis estadístico consistente en la realización de una tabla de contingencia p/K muestras, un análisis de varianza y una "T" de student para muestras pareadas. (8,14,16).

IV.- R E S U L T A D O S.

Las cuentas basales (Día 0) de los tres lotes, así como las cuentas obtenidas en los días 3 y 6 se presentan en el cuadro número I, del que se deduce la acción que tuvo el uso del ajo sobre la Costia necatrix. En el primer tratamiento a las setenta y dos horas de iniciado, la reducción de la población de este parásito fué del 94% a comparación del azul de metilo que sólo tuvo un 33% de efectividad , lo anterior se puede observar en las gráficas I y II.

Los datos capturados en el cuadro I sirvieron también como base para realizar un cuadro comparativo de las frecuencias calculadas y observadas, resultando un valor para la tabla de contingencia de χ^2 abajo del percentil 0.001, dicha tabla tuvo cuatro grados de libertad; por lo que el resultado de la tabla de contingencia es terminante al haber una posibilidad contra mil de que un resultado se repita, lo anterior se puede observar en el cuadro II.

Con el propósito de descartar un posible error de observación en el grupo tratado con ajo, se efectuó un análisis de varianza, siendo los resultados favorables a la frecuencia calculada, eliminando con ello el error de observación (cuadro III).

La diferencia resultante del estudio anterior, fué estadísticamente significativa, y se procedió a realizar

una "T" de student, con el fin de comprobar la necesidad de aplicar un segundo tratamiento de ajo, considerando las siguientes variables: Basal vs. Día 3, Basal vs. Día 6, Día 3 vs. Día 6 aplicándoles a las confrontaciones un grado de libertad igual al 0,05. El resultado de este estudio es indicativo de que no es necesario aplicar un segundo tratamiento, ya que la diferencia estadísticamente significativa solo se presentó en las dos primeras variables, es decir, entre Basal vs. Día 3 y Basal vs. Día 6, más no así para el Día 3 vs. Día 6, como es posible observarlo en el cuadro IV .

Concluimos que el ajo es mas efectivo contra la Costia necatrix que el azul de metilo (94% vs. 33%), ya que fué necesaria una sola aplicación.

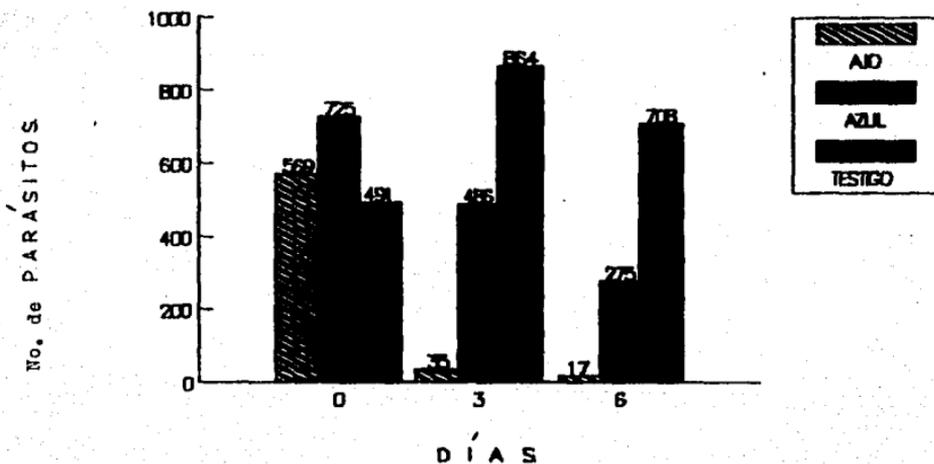
C U A D R O 1

NUMERO DE PARASITOS (*Costia necatrix*) OBSERVADOS EN LOS DIAS 0,3 Y 6, DONDE EL AJO vs. AZUL DE METILO vs. TESTIGO = X2 PARA MUESTRAS INDIVIDUALES (MEDIA DE MUESTRAS).

	L O T E I. (AJO).	L O T E II. (AZUL DE METILO).	L O T E III. (TESTIGO).
D / I A O	14 30 53 63 34 128 67 96 94 23 <hr/> 569 = 100%	80 100 110 44 18 55 12 130 126 50 <hr/> 725 = 100%	10 29 200 70 62 55 69 29 15 2 <hr/> 491 = 100%
D / I A 3	8 4 4 3 1 1 1 4 5 4 <hr/> 35 = 6.16%	33 40 25 33 21 80 69 71 73 41 <hr/> 486 = 67.03%	25 58 70 102 62 245 62 110 120 15 <hr/> 864 = 177%
D / I A 6	0 2 3 6 1 2 2 1 0 0 <hr/> 17 = 3.0%	23 18 15 8 30 60 17 15 79 10 <hr/> 275 = 37.4%	18 44 135 86 62 150 66 70 68 9 <hr/> 708 = 144%

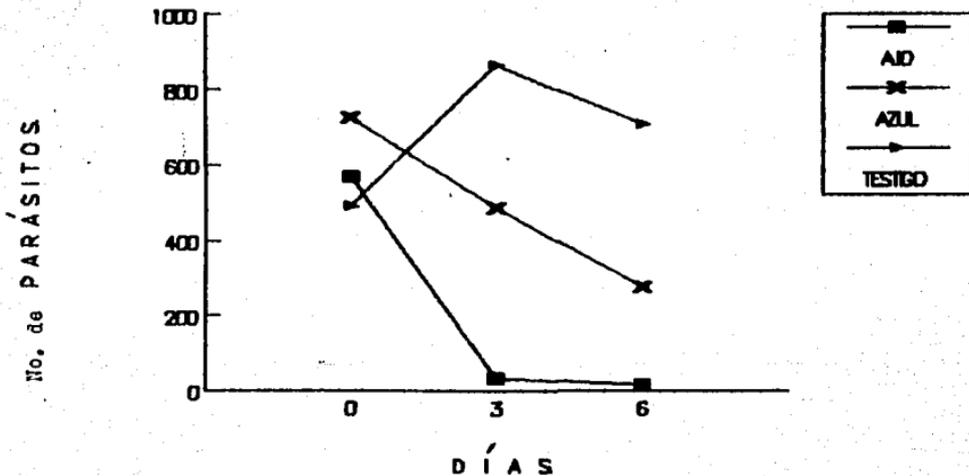
GRÁFICA 1

EFLUJO PARASITICIDA DEL AZO Y DEL AZUL DE METILO
CONTRA LA Gostia necatrix EN TILAPIA (Tilapia spp.)



GRÁFICA 2

EFFECTO PARASITICIDA DEL AJO Y DEL AZUL DE METILO
CONTRA LA Costia necatrix EN TILAPIA (Tilapia spp.)



CUADRO 2

TABLA DE CONTINGENCIA PARA χ^2 .

	B A S A L.	A J O.	AZUL DE METILO.	TESTIGO.	S U M A.
D I A O	F o.	100	100	100	300
	F t.	242	454.4	933.08	---
D I A 3	F o.	6.16	67.03	177	250.19
	F t.	201.83	378.9	840.9	---
D I A 6	F o.	3	37.93	144.19	185.12
	F t.	149.34	280.4	576.23	---
T O T A L	F o.	109.16	204.96	421.19	135.31

$V_o = 4.$

DONDE:

- F o. = FRECUENCIA OBSERVADA.
- F t. = FRECUENCIA CALCULADA (TABLAS).
- V o. = GRADOS DE LIBERTAD.

TABLA DE CONTINGENCIA PARA χ^2 .

$$\chi^2 = \frac{\sum (F_o. - F_t.)^2}{F_t.} = 2751.5 *$$

* ESTE VALOR SE HALLA POR DEBAJO DEL PERCENTIL 0.001, POR LO TANTO HAY DIFERENCIA ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVA.

CUADRO 3

RESULTADO DEL ANALISIS DE VARIANZA PARA CONTRASTE
DE VALORES DEL LOTE TRATADO CON AJO.

F V.	S C.	V.	C M.	F.
ENTRE GRUPOS TRATADOS.	B-C = 22,134.6	K-1 = 2	11,067.3	24.26
DENTRO DE GRUPOS (ERROR)	A-B = 12,316.2	N-K = 27	456.15	----
T O T A L.	A-C = 34,450.8	N-1 = 29	----	----

Fc. = 24.26

Ft. = 3.35

Ft. = 3.25 < 24.26 POR LO TANTO, EXISTE UNA DIFERENCIA
ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVA.

DONDE:

FV. = FUENTE DE VARIACION.

SC. = SUMA DE CUADRADOS.

V. = GRADOS DE LIBERTAD.

F. = PRUEBA DE FISHER.

Ft. = FRECUENCIA CALCULADA (TABLAS).

Fc. = FRECUENCIA OBSERVADA.

CM. = CUADRADOS MEDIDS.

C U A D R O 4

RESULTADOS DE LA "T" DE STUDENT PARA MUESTRAS PAREADAS
EN LOS CONTRASTES DEL LOTE TRATADO CON AJO.

VARIABLES:

DIA 0 (BASAL) vs. DIA 3.
DIA 0 (BASAL) vs. DIA 6.
DIA 3 vs. DIA 6.

RESULTADOS:

DIA 0 vs. DIA 3 $T_c. = 4.73 > T_t. = 2.262*$
DIA 0 vs. DIA 6 $T_c. = 2.59 > T_t. = 2.262*$
DIA 3 vs. DIA 6 $T_c. = 1.04 < T_t. = 2.262$

ALFA = 0.05

* EXISTE UNA DIFERENCIA ESTADISTICAMENTE
SIGNIFICATIVA.

DONDE:

$T_c.$ = "T" OBSERVADA.
 $T_t.$ = "T" CALCULADA (TABLAS).
ALFA = LIMITE DE CONFIABILIDAD.

V.- D I S C U S I O N .

Como pudo observarse en los resultados, una dosis única de 200 mg/l de ajo crudo, produce un efecto parasiticida del 96%, suficiente y apropiado para el control Costia necatrix, sin embargo, debe tomarse en cuenta que la biomasa utilizada fué de 250 g, (10 peces por acuario), por lo que en bioensayos posteriores es indispensable manejar biomasas superiores para demostrar plenamente que la dosificación usada no es peso-dependiente y que no esta sujeta al grado de desarrollo físico de los peces.

En el tratamiento con ajo, el procedimiento de aplicación fué machacar el vegetal y depositarlo en el agua, sin ser necesario otro cuidado que el de mantener el nivel de agua. Disminuyendo con ello, el problema a niveles muy aceptables, teniendo las siguientes ventajas su utilización: nula toxicidad, bajo costo y su alta resistencia a la descomposición. Durante el bioensayo la mortalidad fue nula, pero ésta puede presentarse al utilizarse azul de metilo o verde malaquita y de no tenerse el control adecuado sobre la cantidad aplicada, en una explotación de tipo comercial, es posible que se presente una mortalidad elevada, dada la toxicidad de estas substancias.

Aunado a lo anterior es conveniente resaltar que económicamente el uso del ajo, tiene un costo menor que

el azul de metilo. Sólo se necesitaron 8 g (base húmeda) por tratamiento con un costo de \$40.00 por acuario en comparación con el azul de metilo que reportó un costo de \$84.00 por acuario para noviembre de 1988.

Es conveniente aclarar que en el presente estudio no se utilizó proceso químico alguno para el tratamiento con ajo, con el fin de demostrar su carácter herbolario y su utilización en medicina veterinaria, evitándose el uso de solventes y el riesgo que ello representa al poder intoxicar a los peces, como lo demostró Maksabedian (7).

Al comparar la efectividad entre un tratamiento naturista a los que utilizan extractos químicos del ajo como son los aplicados por Mojica y Peña (11,12), la diferencia obtenida en favor del tratamiento naturista fué superior al reportar el uso del ajo crudo un 94%, a comparación del 65% reportado por Peña (12), y del 75% publicado por Mojica (11).

Por otra parte, en la Ciudad de México es fácil adquirir el azul de metilo, sin embargo en provincia o en lugares alejados de centros industriales o grandes ciudades, el obtener esta sustancia es difícil y puede acarrear grandes problemas, pues se puede comprar contaminado o sin la concentración adecuada. Aunado a lo anterior el azul de metilo, así como el verde malaquita, al ser soluciones químicas, tienden a precipitarse,

oxidarse o sufrir cualquier cambio, como es la alteración de la concentración al agregar simplemente agua. A diferencia, el ajo tiene una resistencia alta a la putrefacción o a la descomposición; lo anterior se demuestra fácilmente al visitar cualquier centro de acopio de este producto, lugar donde permanece almacenado simplemente en cajas hasta por un año, sin señas visibles de putrefacción o de haber mermado su poder parasiticida, del que solamente es necesario el machacarlo y depositarlo en el agua en cantidad adecuada para que surta efecto. La principal desventaja que se observó para su uso fué: Un ligero rechazo que consistió en un repliegue de los peces al lado opuesto en donde fué depositado el ajo, mismo que desapareció a las 24 horas de que fué depositado éste, concordando una vez mas con Peña (12).

Con fundamento en los resultados reportados en el presente trabajo, se desprende como conclusión, que los beneficios del uso del ajo contra la Costia necatrix, son mayores, así como su mayor efectividad sobre el azul de metilo, su bajo costo, su sencillo procedimiento de uso y la fácil obtención dado su carácter herbolario en cualquier parte de la República. Estadísticamente la diferencia fué notable, lo que origina el fomento a su investigación, así como su utilización, que permitirá un costo menor en el control de los diversos problemas clínicos y una mejor calidad de los alimentos generados

por la acuacultura, en beneficio de la economía nacional.

VI.- LITERATURA CITADA

- 1.- 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, D.F. .1982.
- 2.- ANDRADE, V.F.: Geografía Uno. TRILLAS, México, D.F., 1975.
- 3.- BODDIE, G.F.: Métodos de diagnóstico en medicina veterinaria. 4a. ed. LABOR, México, D.F., 1965.
- 4.- GAMBOA, S.E.: El aceite esencial de ajo, desde el punto de vista farmacéutico. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1979.
- 5.- HAW, DESLEY, T.L.: Diseases of fish. ACADEMIC PRESS, London, 1972.
- 6.- JOYN, L.; LOM, J.: Etude cytologique, Systématique et pathologique d' Ictyobodo necator (Henneguy, 1883) Pinto, Zooflagelle F. Protozool., 16:703-19 , 1928.
- 7.- MAKSABEDIAN, R. J.: Estudio del efecto terapéutico del alcaloide de las hojas de Erythrina americana en caninos. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, D.F., 1978.
- 8.- MENDEL HALL, W.: Introducción a la probabilidad, a la estadística. 5a. ed., WADSWORTH INTERNATIONAL IBEROAMERICANA, Springfield, E.U., 1982.
- 9.- MENDEZ, J.S.; BALLESTEROS, N.: Problemas y política económicos de México I, INTERAMERICANA, México, D.F. 1986.
- 10.- MIAL, LL.S.: Diccionario de Química; ATLANTE, México, D.F., 1943.
- 11.- MOJICA, M.A.: Evaluación comparativa del efecto nematodocida del ajo (Allium sativum) y del tartarato de amonio y potasio en Tilapia (Tilapia mosambica). Tesis de licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 1987.
- 12.- PEÑA, N.T.: Evaluación del efecto nematodocida del ajo (Allium sativum) en carpa (Cyprinus carpio). Tesis de Licenciatura, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1988.
- 13.- PEREZ SALMERON; L.A.: Piscicultura: Ecología, explotación, higiene, MANUAL MODERNO. México D.F., 1982.
- 14.- PIERSON, E.S.; HARLEY, H.O.: Biometric tables for

estadísticos Vol. I; CAMBRIDGE. London.1975.

15.- ROBERTS, R.J.: Patología de los peces, EDICIONES MUNDI-PRENSA. Madrid, España, 1981.

16.- SNEVEGER, E. COCKRAN, J.: Método estadístico aplicado a la Biología, OMEGA, México, D.F.,1958.

17.- WAGNER, P.: Plantas medicinales y remedios caseros. 3ra. ed. AURORA. México, D.F.,1952.