

68
24

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



EFFECTOS DEL EXTRACTO DE DICLOROMETANO CON EL Helenium Quadridentatum PARA EL TRATA- MIENTO DE SAPROLEGNIASIS EN TILAPIAS (Tilapia Mossambica)

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A ,
GABRIELA GARCIA CARNALLA

ASESORES: M.V.Z. HECTOR SUMANO LOPEZ
M.V.Z. ANA AURO DE OCAMPO

MEXICO, D. F.

1989

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

CONTENIDO

	Página
RESUMEN	1
INTRODUCCION.....	2
MATERIAL Y METODOS.....	6
RESULTADOS.....	14
DISCUSION.....	17
LITERATURA CITADA.....	19
CUADROS.....	22
FIGURAS.....	27

RESUMEN

GARCIA CARNALLA, GABRIELA. Efectos del extracto de Diclorometano con el Helenium Quadridentatum. para el tratamiento de Saprolegniasis en tilapias (Tilapia Mossambica) (bajo la dirección de Héctor Sumano López y Ana Auró de Ocampo).

Con objeto de buscar alternativas en la terapia de saprolegniasis en peces, se utilizaron 320 tilapias que se dividieron en 8 grupos con 4 réplicas cada uno de 10 individuos y se trataron con extracto de Diclorometano y Helenium Quadridentatum en dosis de 20ml/dfa, (lote A); 10ml/dfa (lote A'); 5ml/dfa (lote A''); 10ml/dfa con el blanco de Diclorometano (lote B); 3.5g/pecera de planta molida (lote C); 2g/l de Acriflavina en inmersión 20 seg/dfa (lote D); 375 ml/pecera de extracto acuoso (lote E) y el (lote F) sin tratamiento. Los resultados mostraron que hubo mortalidad del 85 al 100% en los grupos : A, A' y C.

El efecto sobre las células mucosas de todos los tratamientos fue de disminución significativa, excepto en el grupo tratado con extracto acuoso. El epitelio presentó integridad en los grupos A' y D, resultados que coinciden con la ausencia de cambios necróticos en dichos grupos. Se concluye que los efectos colaterales pesan más que la bondad del producto para el tratamiento de fungosis en peces.

INTRODUCCION

Es evidente que una de las prioridades del Médico Veterinario se refiere al aumento de la proteína de origen animal, especialmente en momentos en los que las presiones sociales y económicas hacen necesaria la optimización de las empresas pecuarias. Aunque en México la acuicultura había tenido un desarrollo precario hasta el inicio de la década de los 70' (*), - en la actualidad se ha postulado que este recurso puede solventar en buena medida la ya expresada necesidad de proteína de alta calidad (11). Al integrarse la acuicultura a la tendencia de explotación intensiva se generan una serie de necesidades de la salud encaminadas a mejorar la eficiencia de control y tratamiento de enfermedades entre las que destacan las parasitosis y las micosis.

Dentro de las enfermedades micóticas que afectan a la mayoría de los peces teleosteos y condroictios destaca la saprolegniasis, ésta es una enfermedad que como su nombre lo indica es producida por varios hongos del género Saprolegnia, como es el caso de la Saprolegnia Parasítica, S. Monoica, S. Mixta, S. Thureti (20, 22). Este hongo crece sobre los desperdicios orgánicos en los estanques como es el caso de huevos no fertilizados, materia alimenticia en descomposición (10, 20). La saprolegniasis afecta tanto a los huevecillos de los peces, como a la piel, branquias, aletas, orificios nasales, boca y ojos de los adultos (3, 4, 10, 15, 18, 20, 22) y

* Amplias perspectivas de desarrollo de la pesca dulceacuícola. Gaceta U.N.A.M. 3 (12): 1, 7, 27. (1985).

Órganos internos. Además de las lesiones que producen facilitan infecciones concurrentes. La saprolegniasis por sí misma reduce el índice de conversión alimenticia y debilita al animal haciendo improductiva la explotación piscícola. Las lesiones se caracterizan por ser manchas blanquecinas, amarillentas, verdosas o grisáceas de tipo focal, sobre la piel del pez, que suelen ser al inicio casi circulares, creciendo radialmente después hasta formar relieve en la periferia, cuando se observan bajo el agua tienen un aspecto algodonoso debido al micelio del hongo (9, 18, 19, 20). El hongo se establece en forma focal invadiendo el estrato esponjoso de la dermis y extendiéndose lateralmente sobre la epidermis, erosionándola a medida que avanza. La invasión relativamente superficial de la dermis conduce a un rápido desequilibrio en los fluidos orgánicos y a un fallo circulatorio periférico debido a la imposibilidad para mantener el volumen de sangre circulante. Las zoosporas se encuentran frecuentemente en las aguas dulces especialmente a temperaturas bajas; algunas especies pueden crecer en aguas salobres aunque con una salinidad mayor de 2.8‰ se limita la distribución de los saproligneaceos. Por consiguiente pueden ser afectadas todas las especies de peces de cualquier edad y medio ambiente (1, 5, 9, 18).

Dentro de la familia saprolignicea se clasifican 19 géneros aproximadamente, por sus estructuras reproductivas asexuales, Coker citado en (18) describió una forma de saprolegnia sexualmente estéril en la que se formaban esporangios

nuevos dentro de los que habian quedado vacíos y en los que -- las esporas salían independientemente con movimientos propios abandonando al esporangio, el mismo autor sugirió que esta -- forma era estéril, y en general parásitica dándole el nombre de Saprolegnia Parásitica, que aparte de ser uno de los patógenos más graves y el principal parásito de los peces, ataca también a otros vertebrados acuáticos como la rana (1,4,18).

Es evidente que un conocimiento integral del ecosistema de un estanque puede abatir notablemente la saprolegniasis. Sin embargo, el estado rústico en el que se encuentran la -- mayoría de las explotaciones acuícolas en nuestro país hace -- inoperante dicha observación y aunque se han ensayado múltiples tratamientos en los que destacan la acriflavina y el -- ácido undecilénico, aún no se ha logrado obtener un resultado de alta eficacia y quizá un factor de más importancia que el anterior sea el hecho de que los productores no aceptan de -- buen grado el uso de sustancias puras y que al parecer, preferieren adoptar una actitud pasiva ante el problema (11,18).

Es posible que una alternativa viable para este problema radique en la utilización de nuevos productos de baja -- toxicidad y alta eficacia. Al respecto, se ha informado de la actividad fungicida de un extracto de Tolueno-Acetato de Etilo, con la manzanilla Helenium Quadridentatum, de tal suerte se consideró de utilidad evaluar los efectos de dicho extracto sobre la saprolegniasis de tilapias (Tilapia Mossambica), una de las especies más afectadas (6,7,12). Conociendo que el Tolueno-Acetato de Etilo tiene efectos carcinogénicos, se

decidió utilizar otro solvente menos tóxico, como es el caso del Diclorometano, cuyos efectos colaterales ya se han evaluado en investigaciones realizadas en el Instituto de Química, encontrándose apto para su uso.*

HIPOTESIS

El extracto de Diclorometano, con el Helenium Quadri--dentatum (manzanilla) es capaz de suprimir a la Saprolegnia Parásitica de tilapias (Tylapia Mossambica) afectadas.

OBJETIVOS

Evaluar si el extracto de Diclorometano con el Hele--nium Quadridentatum (manzanilla) es capaz de suprimir a la (Saprolegnia Parásitica) de tilapias (Tylapia Mossambica).

* Comunicación personal con el Dr. Tirso Ríos Castillo. Académico del Instituto de Química de la U.N.A.M.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron 320 tilapias (Tylapia Mossambica) que se obtuvieron de la granja piscícola el Rodeo ubicada en el estado de Morelos, donde la Saprolegnia es enzoótica.

Los peces se alojaron en acuarios de 40 l, a los que se les depositó agua de clorinada y se les administró 2 litros de aire por minuto mediante una bomba Hagen* y un dispersor de piedra.

El método empleado para formular el extracto de Diclorometano con el Helenium Quadridentatum (manzanilla) es el siguiente:

Se pusieron a secar las ramitas de la manzanilla, tallo, hojas y flor en una área sombreada, para evitar que por radiación solar, se pierda el principio activo, una vez que ya se secó la manzanilla se trozó en pequeños fragmentos con tijeras o manualmente y después en un molinito se molieron con el fin de obtener pequeñísimos fragmentos casi pulverizados. Para este trabajo se utilizaron en promedio 900 g de la manzanilla ya molida, los cuales se depositaron en una columna de Silica-Gel a la que también se le agregaron 3 l. de Diclorometano, de tal manera que se mezclaron con la manzanilla; hecha esta mezcla se procedió a recolectar el filtrado, mismo que se vació en un rotavapor para separar por evaporación el Diclorometano del extracto de manzanilla y lo que se obtuvo del Diclorometano se volvió a depositar en la columna de Silica-

* British Crown Colony Hagen Co. of Hong Kong.

Gel, de forma tal que se obtuvo nuevamente el filtrado y se procedió a separar sus componentes mediante el Rotavapor, El filtrado se recolectó en un promedio de 72 horas tiempo que se requirió para extraer el concentrado de la manzanilla casi en su totalidad, ya que se concluyó este procedimiento cuando ya en el filtrado sólo se obtuvo el Diclorometano, esto se -- vio por la coloración del filtrado que al principio de la extracción era de color verde oscuro y al final se observó un color casi transparente. El concentrado que se obtuvo de la manzanilla en todos los filtrados separado del Diclorometano fue lo que se utilizó para los tratamientos que se llevaron a cabo en los diferentes grupos de peces.

El extracto acuoso de la manzanilla se realizó mediante la infusión de 3.5 g de la manzanilla y 500 ml de agua, -- mismos que se pusieron a hervir durante 5 minutos.

La distribución de los peces de acuerdo al tratamiento que se les dió fue la siguiente: Se formaron 8 grupos, cada grupo constaba de 40 peces divididos en 4 acuarios con 10 peces cada uno, de tal forma que tuvimos 320 peces en 32 lotes. Se decidió conformar los grupos de esta forma ya que disminuía el riesgo de perder el control de un grupo al presentarse problemas en los aeradores y de que murieran los peces, -- también por falta de energía eléctrica, por lo que se decidió contar con estos subgrupos como una reserva.

Para la infección experimental se laceró la piel de cada pez en un área de 2 cm de diámetro, exactamente por debajo de la aleta dorsal y detrás del borde posterior del opérculo,

procurando llegar hasta subdermis; una vez manejado a los animales, de esta manera se colocaron en los acuarios en los que previamente se cultivó la Saprolegnia en un sustrato orgánico alimento para tilapias que se dejó por un período de 7 días para el crecimiento del micelio y se esperaron 4 a 5 días sin cambiar el agua en lo que se infectaron los animales y se procedió a dar los tratamientos de la siguiente manera: cambiándoles el agua diariamente y manteniendo la temperatura a 20°C.

Grupos y Tratamientos.

Grupo A. Se trató con 20 ml/acuario/dfa de extracto de Diclorometano y manzanilla, estos 20 ml. se depositaban en los acuarios cuya capacidad es de 40 l.

Grupo A'. Se trató con 10 ml/acuario/dfa de extracto de Diclorometano y manzanilla, la cual se administró en igual forma que el grupo anterior.

Grupo A". Se trató con 5 ml/acuario/dfa de extracto de Diclorometano y manzanilla en igual forma.

Grupo B. Se trató únicamente con el Diclorometano a razón de 10 ml/acuario/dfa, el cual se depositó al acuario.

Grupo C. Se trató con la manzanilla molida a razón de 3.5 g/acuario/dfa, misma que se mezclaba en el agua.

Grupo D. Se trató con Acriflavina a dosis de 2 g/l. en inmersión rápida de 20 seg/dfa/11 días seguidos.*

Grupo E. Tratado con extracto acuoso de manzanilla a razón de 3.5 g de manzanilla y 500 ml de agua, esto se preparaba en forma de infusión dejándose hervir 5 minutos.

* Bovoflavina de Química Hoechst de México, S.A.

Grupo F. Este grupo sirvió como testigo, ya que no se realizó ningún tratamiento.

A excepción del grupo D donde se especifica la dosificación y duración del tratamiento, en los otros grupos, dichos tratamientos se dejaban durante 24 hs, posteriormente se cambiaba el agua, se mantenían otras 24 horas así y terminadas éstas se repetía el tratamiento hasta llegar a darles 5 tratamientos a cada grupo. Posteriormente se les mantuvo en agua -- limpia 15 días para proceder a sacrificarlos por medio de desmedulación, de acuerdo con la técnica de Amlacher (3); se cortó el área de la piel que fue lacerada y se fijó en formol al 10%. El diagnóstico se estableció mediante la necropsia y la identificación microscópica de las hifas aceptadas, su cultivo en Saboreaud y la ausencia de cuerpos fructíferos (1,16). Posteriormente se evaluó la respuesta de los 8 grupos con diferentes tratamientos.

Por tratarse de un trabajo experimental, se decidió -- probar diferentes dosis y empleos de la manzanilla. También se evaluó el efecto único del Diclorometano para ver si por sí solo podía actuar como antimicrobico, se utilizó Acriflavina -- cuyos efectos son ya conocidos y aceptados para tratar micosis, con el fin de comparar respuesta y costo de un tratamiento comercial y un tratamiento experimental con un principio -- natural.

Se realizó también un aislamiento e identificación de -- la Saprolegnia en medio de Saboreaud, donde se llevó a cabo -- una prueba de inhibición de crecimiento in vitro con el extrac

to de Diclorometano (Fig.4) y otra con la infusión acuosa --- (Fig. 3).

Para evaluar la posibilidad de efectos colaterales dada la mortalidad observada en los grupos (A), (A^m) y (C), se realizó un estudio histopatológico de todos los órganos de los -- animales muertos y dos de cada grupo sacrificados con este objetivo.

Los métodos estadísticos utilizados para la evaluación de los resultados fueron un análisis de varianza de una sola entrada para un parámetro de intervalo, número de células mucosas/mm.:

$$Y_{ij} = M + T_j + E_{ij}$$

donde: Y_{ij} = número de células/mm

M = media general

T_j = efecto del *iésimo* tratamiento

E_{ij} = efecto del error aleatorio

Posteriormente se realizó la prueba de T de Dunnet, para contraste de medias entre los grupos tratados y el grupo testigo:

T de Dunnet.

$$D_j = Y_{1j} - Y_{2j} = (T_1 - T_2) + (e_{1j} - e_{2j})$$

Donde D = diferencia entre Tratamientos
+ diferencia entre errores.

T_1 = Tratamiento 1

T_2 = Tratamiento 2

e_{1j} = error aleatorio del tratamiento 1

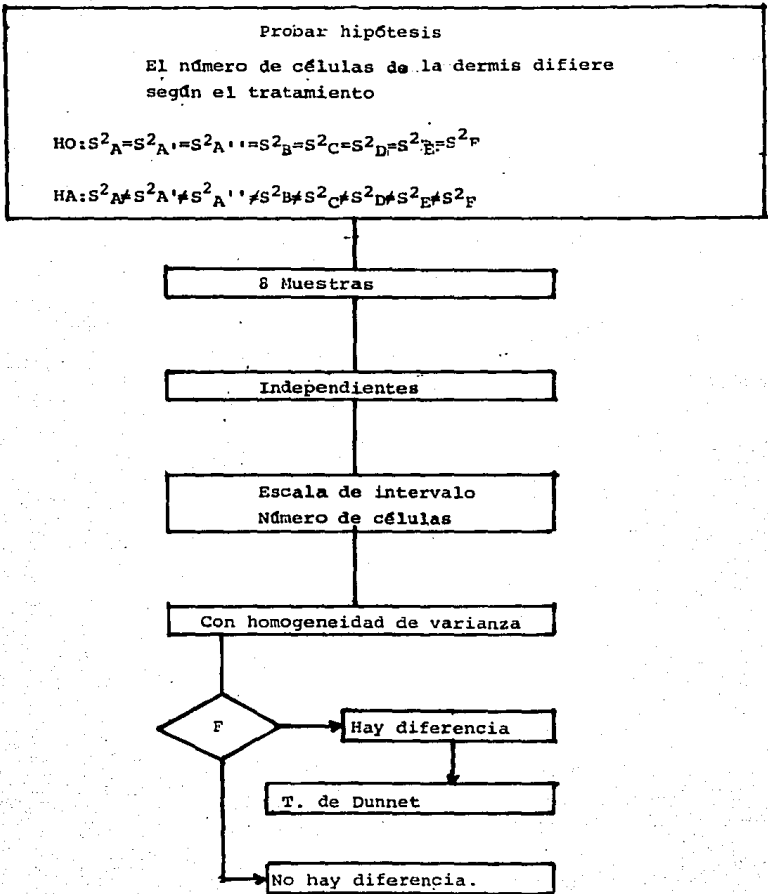
e_{2j} = error aleatorio del tratamiento 2

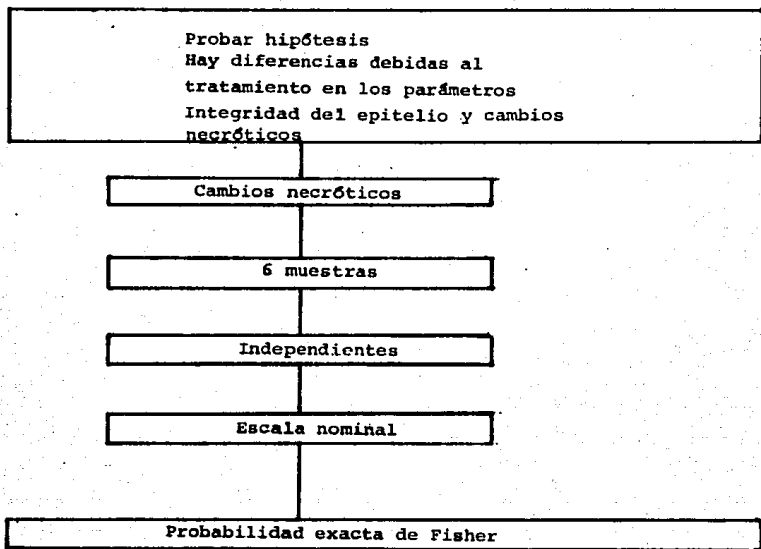
y $T_1 - T_2$ = diferencia entre tratamientos

$e_{1j} - e_{2j}$ = diferencia entre errores.

Se realizó también un análisis de Probabilidad Exacta de ---
Fisher, para los parámetros nominales, integridad del epitelio
cutáneo y cambios necróticos.

De acuerdo con el siguiente diagrama de flujo.





RESULTADOS

Como se observa en el cuadro número 1, los grupos tratados con 20 ml del extracto de Diclorometano y manzanilla y el de la planta molida presentaron 100% de mortalidad y el grupo tratado con 10 ml de extracto de Diclorometano y manzanilla presentó 82.5%.

El análisis de varianza realizado para comprobar si hubo o no diferencia estadísticamente significativa en el número de células mucosas/mm (cuadro 2), mostró que todos los grupos difirieron significativamente del control excepto el grupo (E), tratado con el extracto acuoso y que la mayor diferencia mostrada por la prueba de T de Dunnet se presentó en los grupos A' (tratado con 10 ml. del extracto de Diclorometano y manzanilla) y el grupo B (tratado con 10 ml. del blanco de Diclorometano), en orden decreciente pero significativamente diferente, siguieron el grupo A" (tratado con 5 ml. del extracto de Diclorometano y manzanilla) y el grupo D tratado con acriflavina ($P < 0.05$) como se observa en el cuadro 3.

En cuanto a la prueba de Probabilidad Exacta de Fisher, realizada para los parámetros de integridad del epitelio y cambios necróticos como se observa en los cuadros 4 y 5 los resultados fueron como sigue:

Los grupos A" y D (tratados con 5 ml del extracto de Diclorometano con manzanilla y Acriflavina respectivamente), mostraron diferencias cuando se contrastaron contra todos los demás grupos excepto cuando se contrastaron entre sí, tanto

para el parámetro integridad del epitelio, cuya imagen fue la más normal, como para el parámetro cambios necróticos en el epitelio, grupos éstos dos en los que no se presenta con cambios necróticos.

Cambios Macroscópicos y Microscópicos en los diferentes grupos.

En el grupo A macroscópicamente se observaron hemorragias en la base de las aletas, también había congestión pasiva generalizada en todos los órganos parenquimatosos, microscópicamente en hígado había congestión y desnaturalización protefca del citoplasma, en branquias se observó la presencia de telangiectacia, corazón sin cambios patológicos aparentes (S.C.P.A), en riñón se observó congestión, lesiones producidas por metales pesados.

En el grupo A' microscópicamente se observó desnaturalización de la protefna citoplasmática, zonas con cambios picnóticos en el núcleo alrededor de los vasos sanguíneos. En la piel se observó zonas de hialinización del epitelio, en branquias había hiperplasia generalizada de lamelas secundarias, en encéfalo congestión, bazo y riñón S.C.P.A., en intestino se observó la presencia de gran cantidad de huevos de nemátodos y esquizontes de esporozoarios, sólo se observó inflamación de la mucosa.

En el grupo A" macroscópicamente se observaron hemorragias en la base de las aletas, congestión pasiva aguda en todos los órganos parenquimatosos, microscópicamente se observó hiperplasia generalizada de las lamelas branquiales.

en hígado se observó desnaturalización de la proteína citoplasmática, zonas de cambios picnóticos en el núcleo alrededor de los vasos sanguíneos.

En el grupo (E) microscópicamente se observó congestión de órganos parenquimatosos, hiperplasia de lamelas bronquiales y esteatosis hepática.

En el grupo (F) S.C.P.A. en todos los órganos.

En el grupo (B) se observó microscópicamente ligera -- hiperplasia de la punta de las lamelas primarias.

DISCUSION

De acuerdo con los resultados obtenidos es factible reconocer que al igual que lo informado por Keisuke, W; Yukio, O.; Masakasu, M; and Tom, J.M.: 1985 (12), el extracto obtenido con Diclorometano y Helenium quadridentatum tiene actividad fungistática. Este efecto fungistático se manifiesta tanto en los desaffos in vitro (figura 4), contra el hongo identificado con el género *Saprolegnia* como en la eficacia que demostró in vivo (figura 2) al reducir las lesiones inducidas por el hongo, a diferencia de lo observado en el desaffo in vitro e in vivo donde se utilizó extracto acuoso de (Helenium Quadridentatum) observándose un nulo efecto (figuras 1 y 3).

Sin embargo, la toxicidad del extracto obtenido, debido probablemente al alcaloide Chapuzina limita su uso para fines prácticos. Se ha informado que el alcaloide Chapuzina tiene un marcado efecto en la disminución de la excitabilidad nerviosa y en la contractilidad muscular, y causa un efecto colinérgico tipo Atropina por lo que se había usado como antiespasmódico pero produce paro cardíaco por sus mismos efectos, como fue reportado en (2, 14) y comprobado con este bioensayo en los peces tratados con el extracto de Diclorometano y Helenium Quadridentatum a razón de (20 y 10 ml) al igual que en los peces tratados con la planta molida donde se observaron efectos similares además de pérdida postural e incoordinación así como todas las alteraciones ya mencionadas en el capítulo de resultados, por lo tanto estas propiedades hacen su uso peligroso e -

inapropiado, aunque sus efectos son en 100% comparables a los del colorante de Acridina que no tiene efectos colaterales, su alto costo puede limitar su uso.

Es evidente que la relación eficacia inocuidad favorece el uso del colorante de Acridina, considerando que el paso --- inicial en la obtención de nuevos fármacos no siempre brinda moléculas eficaces e inocuas, y es posible creer que si se caracteriza la estructura química y se modificara la molécula se podrían generar nuevas alternativas.

No resulta novedoso señalar que la metodología constituye una de las formas de trabajo de la farmacognosia, o bien -- según Labadie (13) un estudio con características etnómedicas tenía significancia en función de que un extracto con Diclorometano y una planta nativa del país logre una eficacia por lo menos similar a la del colorante de Acridina contra la saprolegniasis de los peces.

Asimismo, de acuerdo con lo descrito por Labadie (13) el paso precedente es purificar e identificar el mecanismo de -- acción del extracto obtenido, para entonces proceder a la manipulación del efecto antimicótico.

También resultaría de utilidad evaluar la eficacia del - extracto de Diclorometano con el Helenium Quadridentatum como inhibidor del crecimiento en medios de cultivos para células de mamíferos, como es el cultivo de embriones, cultivo de fibroblastos, y asimismo el uso de este producto, una vez determinado su espectro puede permitir el crecimiento de monocultivos de hongos (figura 4).

LITERATURA CITADA

- 1.- Ainsworth, G.C.: Dictionary of the fungi, 6th Ed. Cam--
brian News Ltd. Great Britain, 1971.
- 2.- Aguilar, C. Carmen.: Plantas Tóxicas de México, 1a. Ed --
Instituto Mexicano del Seguro Social. México, D.F., 1982.
- 3.- Armlacher. E.: Textbook of fish. Diseases. T.F.H. Publi-
cations, Inc. Nueva Jersey, U.S.A., 1970.
- 4.- Borowiecka, E.: Fungal diseases of fish in Poland. Rew.
Med. and Vet. Micology, 38: 43-46 1982.
- 5.- Burke, J.F.: Fisiología de la infección de heridas en:
Cicatrización e Infección de las heridas. Teoría y Prác-
tica Quirúrgica. Ed. por Hunt, T.K. 243-254, El Manual
Moderno. México, D.F. 1983.
- 6.- Chiej, R.: Guía de Plantas Medicinales. Grijalbo. Barce--
lona, España, 1983.
- 7.- García. R.H.: Enciclopedia de Plantas Medicinales, 5a.
ed. Posada, México, D.F. 1984.
- 8.- Hernández, L.D.: Elementos de la Probabilidad Estadística.
1a. ed. Fondo de Cultura Económica. México, D.F.,
1976.
- 9.- Huet, M.: Textbook of fish culture, 3rd. ed. Fishing
News Books Ltd. Great Britain, 1979.

- 10.- Huet, M.: Tratado de Piscicultura, 2a. ed. Mundi-Prensa España. 1978.
- 11.- José T. de la Torre Rojas. Evaluación de cuatro diferentes tratamientos en la terapia de Saprolegniasis en peces de acuario. Tesis Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1986.
- 12.- Keisuke, W; Yukio, O.; Masakasu, M; and Tom, J.M.: --- Structure and Fungicidal Activity of Four Pseudoguaianolides Isolated From (Helenium Quadridentatum Labill). -- Journal of Agricultural and food Chemistry. Vol. 33: -- pp. 83-86. 1985.
- 13.- Labadie, R; P.Problems and possibilities in the use of - traditional drugs. J. Ethnopharmacol 1986 Mar; 15 (3): -- 221-230.
- 14.- Martínez, M.: Las Plantas Medicinales de México, S.A. -- ed. Botas, México, D.F. 1969.
- 15.- Nelson, J. S.: Fishes of the world, A. Willey Interscience Publications, U.S.A., 1969.
- 16.- Onchoterena, Isaac. Técnicas histológicas usadas en el laboratorio. México, Instituto de Biología, 1935.
- 17.- Reichenbach, H.; y Klinke, N.: Claves para el diagnóstico de las enfermedades de los peces. Acriba, Zaragoza, España, 1976.
- 18.- Roberts, R.J.: Patología de los peces, Mundi-Prensa, Madrid 1981.

- 19.- Rubin, R.R.: La piscifactoría, 3a. ed. Compañía Editorial Continental. México, D.F.1979.
- 20.- Berez, S. , .L.: Piscicultura, El Manual Moderno. México, D.F. 1982.
- 21.- Siegel, S.: Estadística no paramétrica. Trillas, México, D.F. 1978.
- 22.- Smith, S.; Armstrong, R.; and Rimmer, J.J.: Influence of environmental factors on zoospores of Saprolegnia diclina. Transactionsof Bristish Micological Society, 82: 413-421. 1984.

CUADRO # 1

PORCENTAJE DE MORTALIDAD EN LOS GRUPOS TRATADOS
CON 20 y 10 ml DEL EXTRACTO DICLOROMETANO Y
MANZANILLA Y 3.5 gs/PECERA/DIA DE MANZANILLA.

<u>A</u>	<u>A'</u>	<u>C</u>
100%	82.5%	100%

CUADRO # 2

NUMERO DE CELULAS MUCOSAS/mm, LOS VALORES CORRESPONDEN AL PROMEDIO DE LOS 2 ANIMALES OBSERVADOS Y LAS TRES OBSERVACIONES INDEPENDIENTES, EXCEPTO EL GRUPO A' (21)

<u>A'</u>	<u>A''</u>	<u>B</u>	<u>D</u>	<u>E</u>	<u>F</u>	
1.5	4.5	1.4	4.5	6	8	
2	3.8	.2	5.2	9	9	
1	3	.3	4.3	4	8	
3	4.1	.8	3.2	7	6.5	
$\bar{X}= 1.875$	$\bar{X}=3.85$	$\bar{X}=.675$	$\bar{X}=4.3$	$\bar{X}=6.5$	$\bar{X}=7.875$	$\bar{X}=4.179$

$$FT = 4.50 \quad \alpha = 0.01$$

FC: 23.469 > 4.50 Por tanto existen diferencias estadfisticamente significativas.

CUADRO # 3

ANALISIS DE T DE DUNNET PARA EL NUMERO DE CELULAS MUCOSAS/mm
(21).

	FT	FC
A vs F = - 7.58	2.76	< 7.58*
A' vs F = - 5.085	2.76	< 5.085*
B vs F = - 9.0968	2.76	< 9.0968*
D vs F = - 4.5168	2.76	< 4.5168*
E vs F = - 1.7372	2.76	> 1.7372 N.S.

N.S. = No significativo

* = significativo

CUADRO # 4

INTEGRIDAD DEL EPITELIO Y RESULTADO DE LA PRUEBA DE PROBABILIDAD EXACTA DE FISHER, PROMEDIO 3 OBSERVACIONES DE 2 -- ANIMALES POR GRUPO, EXCEPTO GRUPO A. (8).

<u>A'</u>	<u>A''</u>	<u>B</u>	<u>D</u>	<u>E</u>	<u>F.</u>
1/7	7/8	0/8	8/8	2/8	2/8

A' vs A'' = Hay diferencia.

A' vs B = No hay diferencia.

A' vs D = Hay diferencia.

A' vs E = No hay diferencia.

A' vs F = No hay diferencia.

A'' vs B = Hay diferencia.

A'' vs D = No hay diferencia.

A'' vs E = Hay diferencia.

A'' vs F = Hay diferencia.

D vs F = Hay diferencia.

D vs F = Hay diferencia.

E vs F = No hay diferencia.

CUADRO # 5

CAMBIOS NECROTICOS Y RESULTADO DE LA PRUEBA DE PROBABILIDAD EXACTA DE FISHER PROMEDIO DE TRES OBSERVACIONES DE 2 ANIMALES POR GRUPO EXCEPTO GRUPO A. (8).

<u>A'</u>	<u>A''</u>	<u>B</u>	<u>D</u>	<u>E</u>	<u>F</u>
6/7	1/8	8/8	0/8	7/8	8/8

A' vs A'' = Hay diferencia.
 A' vs B = No hay diferencia.
 A' vs D = Hay diferencia.
 A' vs E = No hay diferencia.
 A' vs F = No hay diferencia.

A'' vs B = Hay diferencia.
 A'' vs D = No hay diferencia.
 A'' vs E = Hay diferencia.
 A'' vs F = Hay diferencia.

B vs D = Hay diferencia.
 B vs E = No hay diferencia.
 B vs F = No hay diferencia.
 D vs E = Hay diferencia.
 D vs F = Hay diferencia.
 E vs F = No hay diferencia.

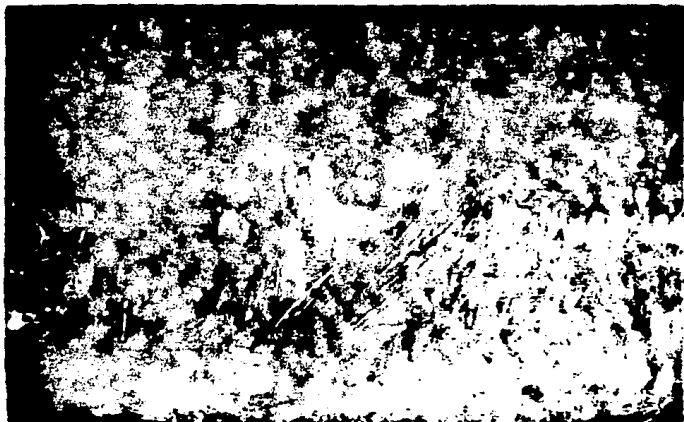


FIG. # 1 Tilapia que muestra una lesión avanzada de Saprolegniasis en el sitio de la laceración.

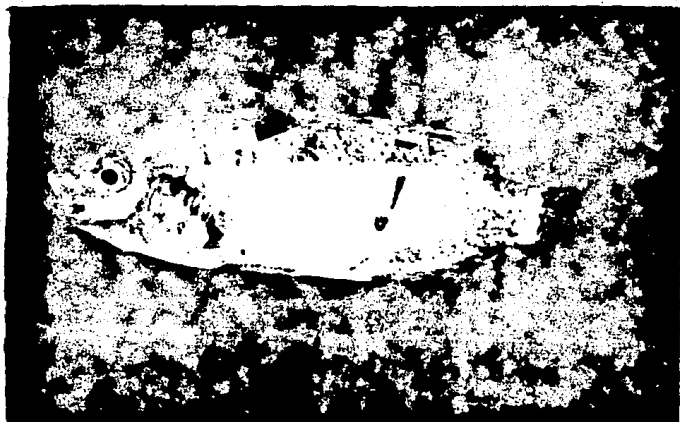


FIG. # 2 Tilapia que muestra una lesión en proceso de curación de Saprolegnia en el sitio de laceración.

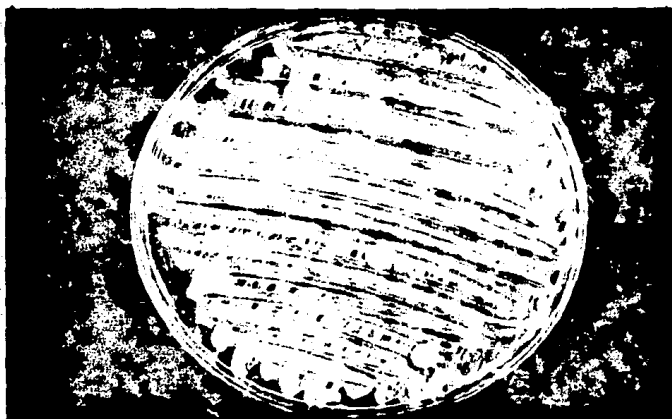


FIG. # 3 Cultivo de Saprolegnia mostrando el nulo efecto del extracto acuoso de Helenium Quadridentatum.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

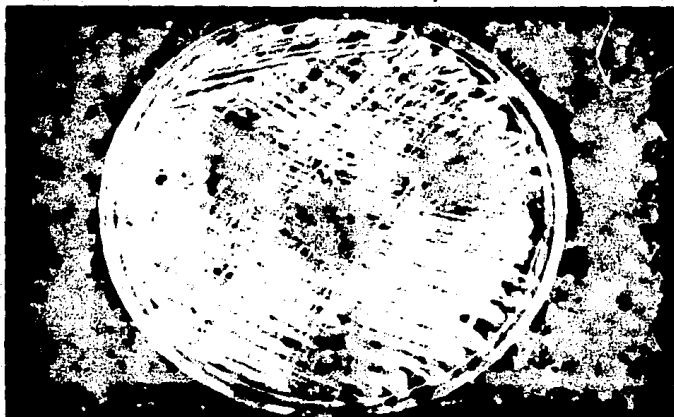


FIG. # 4 Cultivo de Saprolegnia mostrando un notable efecto inhibitor del extracto de Diclorometano y Helenium Quadridentatum.