

34
24



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA**

**EVALUACION DEL EFECTO PROMOTOR DEL
CRECIMIENTO DEL SULFATO DE COBRE
EN TILAPIA HIBRIDA (Oreochromis sp).**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

ALEJANDRO BERNAL CASTILLO

ASESORES: M.V.Z. MARCELA FRAGOSO C.
M.V.Z. MA. ESTELA ANA AURO DE O.
M.V.Z. LUIS OCAMPO CAMBEROS

México, D. F.

1991

FALLA DE ORIGEN



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

CONTENIDO

	<u>Páginas</u>
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
HIPOTESIS Y OBJETIVOS.....	9
MATERIAL Y METODOS.....	10
RESULTADOS.....	12
DISCUSION.....	18
CONCLUSIONES.....	20
LITERATURA CITADA.....	21

RESUMEN

BERNAL CASTILLO ALEJANDRO. EVALUACION DEL EFECTO PROMOTOR DEL CRECIMIENTO DEL SULFATO DE COBRE EN LA TILAPIA HIBRIDA (Oreochromis sp). Asesorado por: M.V.Z. Marcela Fragoso C, M.V.Z. Ma. Estela Ana Auró de O y M.V.Z. Luis Ocampo Camberos.

El presente trabajo de experimentación se realizó con el fin de evaluar los efectos de promoción del crecimiento de diferentes niveles de cobre (Cu) como sulfato de cobre (CuSO₄), suplementado en el alimento de la tilapia híbrida (Oreochromis sp) a nivel de acuario, aportando con esto, otra opción para incrementar la producción de proteína de origen animal en un menor tiempo y a bajo costo, fortaleciendo así el mejoramiento de la nutrición humana.

El sulfato de cobre se ha utilizado como promotor del crecimiento en los animales domésticos, sobre todo en cerdos y pollos en los cuales se han obtenido resultados favorables, así pues, este trabajo se enfoca al uso de dicho promotor del crecimiento a dosis de 25mg/kg, 37.5mg/kg y 50mg/kg, obteniéndose los mejores resultados con la dosis de 37.5mg/kg, dando así una alternativa más en la producción de proteína de origen animal, ofreciendo una posible solución para incrementar la productividad piscícola y consecuentemente hacer de la tilapia una excelente fuente de proteína de origen animal.

INTRODUCCION

En tiempos remotos el hombre se alimentaba de los granos y frutas que recolectaba en los bosques y selvas primitivos; pero su población creció, y él tuvo que aprender a cultivar la tierra. Hace unos cuantos siglos todavía, ese hombre escalaba los árboles para hurtarles a los nidos de las aves los huevos y pichones que incluían en su dieta; las aves escasearon y entonces tuvo que convertirse en avicultor criando patos, pavos, gansos y gallinas para disponer de esos necesarios alimentos. Todavía hasta muy cerca del siglo pasado, grandes manadas de búfalos y cérvidos salvajes recorrían las praderas y eran acosados por el hombre, que aprovechaba sus pieles para abrigarse y su carne para comer, conduciendo casi a su exterminio, de modo que el cazador tuvo que atenerse a la ganadería en establos, apriscos y dehesas la carne de rumiante que consumía y las pieles que ocupaba. Hasta casi en la actualidad, el hombre que consumía peces era un depredador anárquico que bajo etiqueta de pescador, extraía de los mares, lagos y rios lo que de cualquier especie comestible de estos pululaba en ellos y se ponía a su alcance. (12,13,16)

La cría de organismos acuáticos, ha sido practicada por milenios y pese a la antigüedad de la acuicultura, la contribución de las aguas mundiales a la dieta humana todavía se debe en gran medida, a la pesca y recolección de peces y moluscos a partir de la existencia de especies silvestres. (1,13,17)

En la actualidad la acuicultura representa una fuente importante de producción de alimento para satisfacer la creciente demanda mundial de proteína. En muchas partes del mundo, especialmente en los países en vías de desarrollo, se están comenzando a realizar proyectos de acuicultura (8), pero ni la acuicultura ni ningún otro método de producción alimenticia será una panacea para los problemas nutricionales humanos, pero todos pueden y deben contribuir si lo que se pretende es abatir el fantasma del hambre. La acuicultura puede ser una contribución importante para la nutrición en muchas partes del mundo, en virtud tanto de su gran productividad en muchas situaciones, como por el hecho de que las cosechas acuáticas son principalmente cosechas de proteína.

A este respecto se debería hacer notar que ciertos organismos acuáticos pueden ser mejores convertidores de alimentos básicos que los rumiantes, aves y cerdos. (1)

Por otro lado se considera que la producción animal tiene, mediante el empleo de aditivos en el alimento, el fin de aumentar la ganancia de peso, reducir el consumo de alimento, mejorar la eficiencia alimenticia, y mejorar la apariencia del alimento y su palatabilidad.

Dentro de las sustancias que se adicionan a los alimentos de los animales se encuentran: A) Estimulantes del crecimiento: Antibióticos, compuestos esenciales y hormonas. B) Tratamientos para prevenir enfermedades: Antibióticos, antimicóticos, antihelmínticos, etc. (7,12)

Los promotores del crecimiento deben reunir las siguientes características para poder ser empleados en la industria animal: Utilizarse específicamente para la nutrición animal, poseer un poder anabólico a dosis nutricionales, tener baja toxicidad, no poseer efectos teratogénos, cancerígenos, embriotóxicos, antigénicos, alergénicos ni cualquier otro que ponga en peligro la salud del hombre o de los animales, que ejerza una acción favorable sobre la flora intestinal, no ser empleado con fines terapéuticos, no ser absorbido por el tracto intestinal, que no forme metabolitos dañinos y que sea estable durante largo tiempo. (7,18)

Dentro del grupo de promotores del crecimiento se ha venido utilizando desde hace tiempo el sulfato de cobre, cuyas principales características se describen a continuación: Son cristales grandes, transparentes, solubles en 3.5 partes de agua a 15 C y en una parte de agua hirviendo, insolubles en alcohol. A 100 C el sulfato de cobre pierde 4 moléculas de agua; el resto del agua de cristalización (una molécula) no se desprende hasta cerca de los 200 C . El sulfato de cobre anhidro es casi blanco, absorbe el agua con avidez y se emplea por esto para deshidratar los líquidos, como por ejemplo el alcohol, en los cuales no es soluble. En sus soluciones acuosas está el sulfato cúprico hidrolizado en parte, a consecuencia de lo cual presentan dichas soluciones reacción ácida. Con un exceso de amoniaco dan las soluciones del sulfato de cobre

una coloración azul intensísima, debido a la formación de un compuesto cuprí-amoniaco; si al líquido se le añade entonces una cantidad suficiente de alcohol, se separan cristales transparentes de color azul intenso, que corresponde a la fórmula $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4\text{SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ y que se habían usado antiguamente en Francia con el nombre de Cuprum Sulfuricum Ammoniatum. Las soluciones de este compuesto contienen el ion complejo bivalente $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4$. (9,17)

El cobre es necesario para la transferencia del O_2 por medio de una cascada de enzimas de tal manera que la energía esté disponible para las funciones vitales del cuerpo, sin sobrecalentamiento de los tejidos por una rápida oxidación. El Cu también está involucrado en la mielinización de las fibras nerviosas y en la producción de las proteínas, se almacena primariamente como metalotioneína y como una dismutasa superoxidica y es transportado primariamente como celuloplasmina o como proteínas de bajo peso molecular (péptidos y aminoácidos). (2)

El efecto del cobre sobre los rendimientos puede ser debido a un efecto bacteriostático y a propiedades bactericidas similares a las observadas en los antibióticos. Algunos autores reportan que la simple adición de cobre produce cambios en la concentración total de microorganismos anaeróbicos y aeróbicos, que pueden producir efectos sobre el tipo de microflora intestinal y afecta el comportamiento de los animales. (3)

Estos mejores rendimientos son el producto de una mejor utilización de los alimentos por parte de los animales que consumen dietas con aditivos. También se ha demostrado que uno de los principales efectos de este tipo de compuestos es producir un adelgazamiento de la pared intestinal, al disminuir la irritación causada por las bacterias patógenas, lo que permite una mejor absorción de los nutrientes. (4)

Otro modo de acción que se ha propuesto se relaciona con la colitaurina hidrolasa en el intestino delgado, ya que se ha demostrado que varios antibióticos reducen la actividad de esta enzima, la cual se asoció con un mejoramiento en la ganancia de peso y en la conversión alimenticia.

Los estudios llevados a cabo con animales libres de gérmenes, el uso de técnicas de laboratorio definidas y la aplicación de pruebas con alimento controlado, han proporcionado un entendimiento claro de los cambios que se producen en el tracto intestinal y sus bacterias asociadas, así como el mismo animal. Mientras que los modos precisos de acción de las sustancias promotoras del crecimiento permanecen sin ser entendidos completamente, es bastante claro que el mejoramiento en el rendimiento se logra principalmente por la manipulación de los grandes números de bacterias que se encuentran en el tracto intestinal .

Idealmente un promotor del crecimiento no debe destruir las poblaciones de bacterias del tracto intestinal ya que esto conduciría a la aparición de bacterias de superinfección

y sobrecrecimiento, lo que produciría inevitablemente diarrea de serias consecuencias en los animales. (20)

La poca o mucha absorción gastrointestinal del cobre normalmente está regulada por las reservas corporales, inicialmente es transportado en el suero unido a la albúmina y posteriormente, más firmemente unido a la alfa celuloplasmina donde se intercambia un su forma cúprica . La bilis es la vía excretora normal y juega un papel primario en la homeostasis del cobre . La mayor parte del cobre se almacena en el hígado y en la médula ósea donde puede estar unido con la metalotioneina. (10)

La tilapia es un ciclido muy resistente a aguas de baja calidad, así como también son resistentes a enfermedades, posee la cualidad de convertir eficientemente material orgánico, desechos de productos animales o vegetales y proteína de alta calidad, tiene una gran aceptación comercial por su sabor y textura, es de fácil manejo, presenta buena aceptación al alimento artificial y crecimiento eficiente bajo condiciones controladas.

Se les considera como peces de aguas calientes tropicales, la mayoría de las cuales son originarias de Africa. El rango óptimo de temperatura para su desarrollo es de 25 a 30 C. Todas son sensibles a las bajas temperaturas, con un límite letal de 9 a 13 C, dependiendo de la especie (8). Estos organismos se desarrollan en aguas lénticas, someras o turbias de fondo lodoso y toleran altas salinidades.

Son omnívoros, puesto que su alimentación se basa en el consumo de zooplancton, insectos y vegetales acuáticos, y en alimentos artificiales como harinas y granos. (7)

Los individuos de éste género son incubadores bucales maternos ya que los huevecillos se quedan en la boca de la hembra por 3 o 5 días. (7,8)

La desventaja más grande de estos peces dentro de los estanques es su temprana reproducción. Llega a su madurez sexual al medir de 8 a 9 cm cuando tiene de 2 a 3 meses de edad, por lo tanto, para la engorda solo se recomienda una población monosexual de machos. (1,8)

En la mayoría de los casos la duración del período de crecimiento es determinada (dentro de un cierto intervalo; de 120 a 180 días) por el propio piscicultor tomando en cuenta los siguientes factores: a) Peso mínimo de los peces comerciales. Esto puede cambiar con el tiempo a través de una modificación en los hábitos y difiere de una región a otra, pero es por lo general constante en las mismas, por ejemplo para la tilapia su peso comercial (peso de plato) fluctúa entre los 150 y 200 gr (peces más grandes obtienen precios más altos por kg), y b) Tasa promedio de crecimiento individual de los peces. Esta estará influenciada por el tamaño de los peces en crecimiento, la densidad de almacenamiento y régimen de alimentación. (8)

Con base en estos antecedentes se diseñó un bioensayo encaminado a evaluar el efecto de promotor del crecimiento del sulfato de cobre en tilapia híbrida.

HIPOTESIS

El sulfato de cobre producirá tilapias de mayor peso en un tiempo establecido.

OBJETIVOS

Evaluar si el sulfato de cobre es un promotor del crecimiento en tilapia híbrida y que ha dosis promotoras del crecimiento no produce efectos colaterales tóxicos.

Probar que el sulfato de cobre reduce el número de células inflamatorias en el intestino y consecuentemente el grosor de su pared favoreciendo la absorción de nutrientes.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

MATERIAL Y METODOS

Se utilizarón 40 tilapias híbridas, divididas en cuatro grupos de 10 animales cada uno, los cuales se colocaron en acuarios de 40 litros de capacidad, provistos de agua declorada y de aereación (2000ml/min), se ambientaron por un período de 48 horas (previamente se desparasitaron con ajo fresco molido en dosis de 200mg/lt de agua durante 3 días como se recomienda en otros trabajos (7), posterior a su ingreso se identificaron individualmente por inyección intracutánea de tinta india de acuerdo con un mapa preestablecido empíricamente.

Se pesaron individualmente y las biomásas por grupo fueron homogenizadas previo al bioensayo, los peces fueron alimentados con una dieta balanceada * proporcionándoles el 3% de su biomasa diariamente en dos administraciones de la siguiente manera:

GPO 1: Dieta balanceada con 25 mg de sulfato de cobre/kg.

GPO 2: " " " 37.5 mg " " " " .

GPO 3: " " " 50 mg " " " " .

GPO 4: Solo dieta balanceada (control).

Los animales de cada grupo se pesaron individualmente cada semana, el mismo día se verificó la práctica de limpieza rutinaria de acuarios, si un individuo moría dentro de las primeras tres semanas del bioensayo se sustituía por otro del

* Dieta preparada especialmente en el departamento de Acuicultura.

mismo peso que se incluía en el experimento, si la muerte era después de la 3ra semana, se sustituía pero ya no se incluía.

La duración total del bioensayo fué de 12 semanas , cada pesaje se registró para hacer una curva de crecimiento.

Por necesidades especiales se realizó un análisis bromatológico del alimento proporcionado a los peces.

Al finalizar el experimento se sacrificaron dos individuos de cada grupo experimental, para analizar la pared intestinal y determinar el número de células inflamatorias y establecer la relación entre el número de éstas y el efecto de las diferentes dosis del sulfato de cobre en la flora intestinal.

La prueba estadística que se utilizó fué un análisis de Kruskal Wallis con medidas relativas porcentuales para homogenizar el peso basal individual.

RESULTADOS

Como puede observarse en el cuadro No.1 en la prueba estadística de Krushkal Wallis, hubo diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.10$) debidas al tratamiento, los rangos obtenidos muestran que el tratamiento que proporcionó las mejores conversiones alimenticias fueron aquellas del grupo 2 (37.5mg/kg de CuSO_4) y que el grupo que dió las peores conversiones fué al que se disificó con 50mg/kg de CuSO_4 (grupo 3), incluso peores que el grupo control no tratado, el cual se encontró perfectamente paralelo al grupo 1 (tratado con 25 mg/kg de CuSO_4); En el cuadro No. 2, del estadístico, eliminando al grupo 3, se pudo observar que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos 1, 2 y el control.

En el cuadro No.3 se listan los resultados del análisis químicos inmediato: método A.O.A.C. químico proximal del alimento proporcionando a los peces en estudio.

En el cuadro No. 4 se describe el número de heterófilos contados en 10 vellosidades de dos animales por grupo tomados al azar, los cuales presentaron esteatosis hepática e inclusiones eosinofílicas en las células tubulares renales.

CUADRO N° 1

Ganancia de peso para los grupos 1,2,3, y control en porcentaje y el resultado del análisis de Krushkal Wallis.

GRUPOS

N° de Pez	1 (25mg/KgCuSO4) (%)	2(37.5mg/KgCuSO4) (%)	3 (50mg/KgCuSO4) (%)	CONTROL (%)
1	50	130	83	54
2	151	183	51	85
3	51	56	71	112
4	113	124	45	60
5	102	63	69	109
6	134	202	48	113
7	53	61	79	62
8	74	61	37	69
9	135	159	67	137
10	150	88	75	185
$\text{ESTADISTICO H} = \frac{12}{N(N+1)} \times \frac{\sum r_j^2}{n} - 3(N+1)$				$H = 6.5$ $P < 0.10$

CUADRO N° 2

Ganancia de peso para los grupos 1,2, y control en porcentaje y el resultado del análisis de Krushkal Wallis.

GRUPOS

N° de Pez	1 (25mg/KgCuSO4) (%)	2 (37.5mg/KgCuSO4) (%)	CONTROL (%)
1	50	130	54
2	151	183	85
3	51	56	102
4	113	124	60
5	102	63	109
6	134	202	113
7	53	61	62
8	74	61	69
9	135	159	173
10	150	88	185
<p>ESTADISTICO $H = \frac{12}{N(N+1)} \times \sum \frac{r_j^2}{n} - 3(N+1)$ $H = 0.39$ $P > 0.90$</p>			

CUADRO N° 3

Análisis químico inmediato: Método A.O.A.C. químico proximal.

(%)	Base Humeda (%)
Materia seca	93.94
Humedad	6.06
Proteína cruda (N=6.25)	36.08
Extracto etereo	8.39
Cenizas	12.08
Fibra cruda	2.70
Extracto libre de N	34.74
T.N.D.	76.68
E.D.Kcal/Kg. (aprox)	3380.67
E.M.Kcal/Kg. (aprox)	2771.86

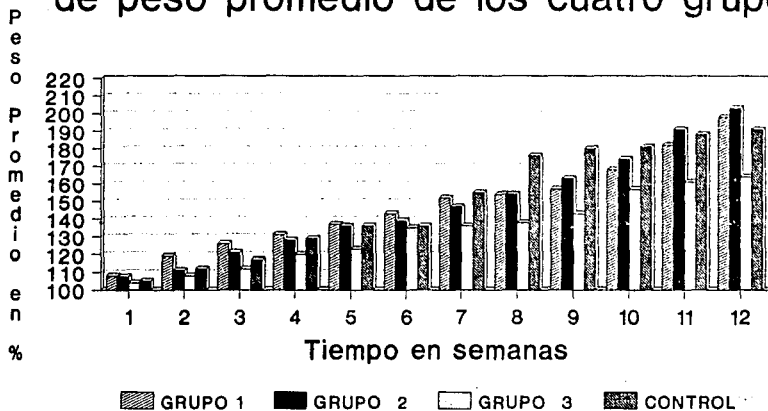
CUADRO N° 4

Número de heterófilos contados en 10 vellosidades de 2 animales por grupo tomados al azar.

GRUPO	N° de Heterófilos
1	61
2	24
3	264
Control	10

GRAFICA 1

Gráfica de los valores porcentuales de peso promedio de los cuatro grupos



GRUPO 1 (Sulfato de cobre 25 mg/kg)
GRUPO 2 (Sulfato de cobre 37.5 mg/kg)
GRUPO 3 (Sulfato de cobre 50 mg/kg)

DISCUSION

Los resultados de este trabajo difieren del preliminar de promoción del crecimiento en tilapia híbrida , ya que en aquel durante las 12 semanas hubo una notable diferencia entre los grupos tratados, siendo esta diferencia positiva a favor del grupo 2 (37.5 mg de CuSO_4/kg de alimento), sin embargo hay que hacer notar que en el trabajo preliminar ** no se tuvo grupo control y que el grupo tratado con 50 mg de CuSO_4/kg de alimento también fué el de menores resultados.

En el trabajo de Gatlin y Wilson (6), el requerimiento dietario mínimo determinado en bagre fué de 0.5 mg de cobre total por kilogramo de dieta, dosis extras de cobre entre 16 y 40 mg produjeron supresión del crecimiento; una dosis de 0.1 mg de CuSO_4 por litro en trucha fué tóxica (14), debido a los efectos hemolíticos y consecuentemente hepatopatógenos de CuSO_4 , por lo que se recomienda que en estudios posteriores se lleven a cabo evaluaciones hematológicas para comprobar los efectos tóxicos del cobre en sangre.

La imagen histopatológica del hígado de todos los animales tratados, mostró esteatosis que podría atribuirse al tratamiento de no ser porque el grupo control también la presentó por lo que se realizaron estudios bromatológicos del alimento, mostrando un excelente balance nutricional de acuerdo con los requerimientos propios de la especie, por lo que se supone que la lesión se deba a enranciamiento de la

** Comunicación personal de la Dra. Marcela Fragoso C.

grasa, recomendándose que para posteriores estudios se realicen análisis de rancidez periódicos.

Las lesiones encontradas en el riñón han sido referidas por Roberts, R.J. (15), como debidas a la presencia de metales pesados que junto con la proteína producen una reacción tintorea eosinófila en tubulos renales, dado que el grupo control también presentó estas inclusiones, debe atribuirse a los metales pesados en el agua de origen, en el agua de los acuarios o en el alimento sugiriendo que sería conveniente para comprobarlo, muestrear el agua y el alimento con el fin de rastrear dichos metales pesados.

Patterson (11), Cisneros, et al (5) y Campabadal (3,4,), demostraron que en cerdos y pollos la suplementación con CuSO_4 aumenta la eficiencia alimenticia, en pollos a dosis de 200 a 800 ppm y aumenta la ganancia de peso y la conversión alimenticia en cerdos a dosis 150 mg de cobre por kilogramo de dieta, efectos que definitivamente no se pudieron observar en tilapia híbrida presumiblemente por toxicidad, por lo tanto se rechaza nuestra hipótesis.

CONCLUSIONES

No hubo efecto promotor del crecimiento con sulfato de cobre a dosis de 25 mg/kg y 37.5 mg/kg, la dosis de 50 mg/kg fué la tóxica, por lo que se rechaza nuestra hipótesis.

En conclusión se sugiere seguir evaluando el efecto promotor del crecimiento del sulfato de cobre en futuros estudios tomando como base este trabajo, con dosis menores a nivel de acuario para que así se pueda ver el efecto real del sulfato de cobre como promotor de crecimiento en peces.

LITERATURA CITADA

1. Bardach, J.E., Ryther, J.H y McLarney, W.O.: Acuicultura: Crianza y Cultivo de Organismos Marinos y de Agua Dulce. AGT. México. 1986.
2. Brewer, N.R.: Comparative metabolism of copper. J. Am. vet. med. Ass. 190: 654-658 (1987).
3. Campabadal, H.C y Lost, A.J.: Utilización del sulfato de cobre en la alimentación de lechones. Cienc. Vet. (Costa Rica), 6: 99-103 (1984).
4. Campabadal, H.C y Lost, A.J.: Utilización del cobre como agente estimulador del crecimiento en la alimentación de cerdos. Cienc. Vet. (Costa Rica), 7: 3-7 (1985).
5. Cisneros, G.F., López, J., Romano, M.J.L y Fragoso, M.: Efecto de niveles altos de cobre dietético en el pollo en crecimiento. Téc. Pec. Méx., 50: 142-150 (1896).
6. Gatlin, D.M. and Wilson, R.P.: Dietary copper requirement of fingerling channel catfish. Aquaculture, 54: 277-285 (1986).
7. Guzmán, O.L.: Efecto promotor del crecimiento del ajo (Allium sativum) en tilapia híbrida (Oreochromis sp.). Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 1990.
8. Heper, B y Prugini, Y.: Cultivo de Peces Comerciales. LIMUSA, México, D.F., 1988.

9. Hutchinson, E.: Química. Los Elementos y sus Reacciones. 2a. ed. Reverté, México, D.F., 1968.
10. Klaassen, D.C., Amdur, O.M and Doull, M.C.J.: Toxicology: The Basic Science of Poisons. 3rd ed. McMillan, London, 1980.
11. Patterson, D.C.: Effects of dietary inclusion of copper sulphate, avoparcin and carbadox/sulphadimidine supplements on the performance of pigs weaned at 25 days. Anim. Prod., 38: 487-493 (1984)
12. Peña, H.N.T.: Evaluación del efecto nematocida de los extractos hidrosolubles y liposolubles del ajo (Allium sativum) en carpa (Cyprinus carpio). An. Inst. del Mar y Limn., 1: 243-250 (1988)
13. Pérez, S.L.A y Auró, A.O.: Enfermedades de importancia en Piscicultura Comercial. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., 1989.
14. Reinchenbach-Kline, H.: Trabajos sobre histipatología de los peces. ACRIBIA, Zaragoza, España, 1977.
15. Roberts, J.R.: Patología de los peces. Mundi-Prensa, Madrid, España, 1981.
16. Rubin, R.R.: Manual Práctico de Piscicultura rural. 3a ed. C.E.C.S.A., México, D.F., 1985.
17. Sevilla, H.L.M.: Introducción a la Acuicultura. 3a ed C.E.C.S.A., México, D.F., 1988.

18. Sumano, L.H y Ocampo, C.L.: Farmacología Veterinaria. McGraw-Hill, México, D.F., 1988.
19. Thoms, H.: Química Aplicada a la Farmacología. 7a ed. Labor, México, D.F., 1986.
20. Walton, J.H.: Modo de acción y aspectos de seguridad de los promotores del crecimiento. Avic.Prof., 7: 101-106 (1990).