

Nº 135
2EJ

**EVALUACION DEL EFECTO COSTICIDA DE CUATRO PRESENTACIONES
DEL TRUENO (Ligustrum japonicum) EN LA TILAPIA HIBRIDA
(Oreochromis sp).**

**Tesis presentada ante la División de Estudios Profesionales
de la
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
de la
Universidad Nacional Autónoma de México
para la obtención del título de
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

por

ERNESTO LOBATO LARA

**ASESORES: MVZ. Ana Auró de Ocampo
Dr. Manuel Jiménez Estrada**

México, D.F. Octubre de 1992





UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

CONTENIDO

	página
RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
MATERIAL Y METODOS	6
RESULTADOS	10
DISCUSION	11
LITERATURA CITADA	13
CUADROS	16

LOBATO LARA ERNESTO. Evaluación del Efecto Costicida de cuatro presentaciones del Trueno (Ligustrum japonicum) en la Tilapia Híbrida (Oreochromis sp). (Bajo la dirección de la MVZ. Ana Auró de Ocampo y del Dr. Manuel Jiménez Estrada).

El presente trabajo fue realizado en el Departamento de Acuicultura de la FMVZ de la UNAM.

Se realizó una evaluación del efecto costicida de cuatro presentaciones (extractos) de hojas de trueno (Ligustrum japonicum) sobre la Costia necatrix en Tilapia híbrida (Oreochromis sp) utilizando para el primer experimento 10 lotes de 5 tilapias cada uno, sometidas a los siguientes tratamientos: Lote 1: sin tratamiento ó control; del lote 2 al 10 con dosis de 1,2,5,10,15,20,25,30 y 35 g respectivamente de extracto crudo molido de hojas de trueno (Ligustrum japonicum) y para el segundo experimento se utilizaron 5 lotes de 5 tilapias cada uno, que fueron sometidos a los siguientes tratamientos: lote 1 sin tratamiento ó control; lote 2 tratado con extracto crudo molido de hojas de trueno (Ligustrum japonicum) 0.8 ml por litro de agua; lote 3 tratado con extracto liofilizado de hojas de trueno (Ligustrum japonicum) 0.1 ml por litro de agua; lote 4 tratado con extracto lipídico 1 de hojas de trueno (Ligustrum japonicum) 0.1 ml por litro de agua y el lote 5 tratado con extracto lipídico 2 de hojas de trueno (Ligustrum japonicum) 0.1 ml por litro de agua. El análisis estadístico utilizado para los datos obtenidos de los dos experimentos fue una prueba de X^2 , seguidos por la prueba de U. Mann Whitney. Dichas pruebas revelaron que la dosis de 0.8 g de hojas de trueno (Ligustrum japonicum) por litro de agua y la presentación del extracto crudo molido fueron las más apropiadas para el control de la Costia necatrix a nivel de acuario en Tilapia híbrida (Oreochromis sp).

INTRODUCCION

Debido al crecimiento de la población mundial, es necesario incrementar la producción de alimento para satisfacer las necesidades de proteína de origen animal (6,17,21). La ACUACULTURA en México es una alternativa, ya que cuenta con una gran variedad de especies de agua dulce que tienen un gran valor nutritivo y que pueden producirse a nivel rural (12,17,22).

Una de estas especies es la Tilapia, que es un pez de zonas bajas tropicales y que puede vivir en agua dulce o salobre. Su alimentación es principalmente herbívora (2,12,18,20,22).

En México se cuenta con cuatro especies de dos géneros que son: Oreochromis mossambica, Oreochromis nilotica, Oreochromis hornorum y Tilapia melanopleura (12,18).

Sin embargo, las explotaciones enfrentan ciertos problemas debido a la alta densidad de población en condiciones artificiales, la manipulación y deficiencias de oxígeno, pudiendo debilitar a los peces y propiciando así, las infecciones parasitarias (2,12,19).

Los parásitos externos son el principal grupo de organismos patógenos que afectan a los peces, disminuyen su capacidad natatoria y alteran su comportamiento, lo que los hace presa fácil de los depredadores. Una de las enfermedades parasitarias más frecuentes es la Costiasis, la cual es provocada por el protozoario flagelado Costia necatrix (Ichtyobodo necatrix) (1,4,12).

Este parásito se caracteriza por ser cosmopolita y afecta a todas las especies de agua dulce, mide entre 5 y 18 micras de longitud por 2.5 a 7.7 micras de ancho en cuyo estadio de nadador libre tiene forma oval o

arriñonada, con dos pares de flagelos de longitud desigual (1,4,9,23). La costia se reproduce sobre la superficie corporal del pez por bipartición, dando origen a dos células, causando hiperemia, hipersecreción de moco, hemorragias, necrosis de las células epidérmicas y trauma epitelial (6,11,20,26). Los peces infectados se frotan con el sustrato perdiendo más escamas y abriendo camino a infecciones secundarias por bacterias y hongos (4,27). Ataca también las branquias, produciendo una congestión aguda y la muerte subsiguiente del pez (21,27).

Específicamente para el tratamiento de la Costiasis se han utilizado soluciones de formol (15,19); verde malaquita (19,23); azul de metileno (23,26) y ácido acético (23), pero el margen de seguridad de estos productos es mínimo y su costo es muy elevado (9), por lo que en la actualidad la medicina tradicional ha resurgido como una alternativa para estos problemas (23,25).

Ya se cuenta con los primeros desparasitantes naturales como el Ajo (Allium sativum), y la Cebolla (Allium cepa) que actualmente se ha demostrado que tienen un buen efecto costicida, un alto margen de seguridad y bajo costo, por lo que es conveniente seguir buscando nuevos productos (17,23,25).

La Lila (Syringa vulgaris) se recomienda como un costicida (8,13), pero esta planta no existe en México. Como una alternativa puede ser el uso de las hojas del trueno (Ligustrum japonicum) que pertenece a la misma familia de las Oleaceas, ya que otras especies de esta familia contienen glucósidos (iridoides y/o secoiridoides) a los que se les atribuyen ciertas propiedades curativas para uso humano como son: antirreumática, purgante, laxante, hipotensivo, actividad antimicrobiana e

insecticida. Esta planta es originaria del Japón pero fue introducida y es muy común en México (7,8,16).

La clasificación botánica del Trueno (Ligustrum japonicum) es la siguiente:

FAMILIA Oleaceae
ORDEN Scrophylariales
CLASE Magnoliopsida
GENERO Ligustrum
ESPECIE L. japonicum Thunb (3)

Dentro de la composición de las hojas del Trueno (L. japonicum) se debe destacar que la esencia de éste, está formada principalmente por Glucósidos Secoiridoides que al parecer uno o varios de estos compuestos pudieran ser los responsables de un efecto costicida (8,10,14), que pudieran encontrarse en la presentación de extracto crudo molido, extracto liofilizado, extracto lipídico 1 y/o extracto lipídico 2 de las hojas de trueno (L. japonicum).

Con base en lo establecido anteriormente, se consideró pertinente llevar a cabo pruebas para determinar si existe efecto costicida de las hojas del Trueno (L. japonicum) y en qué presentación (extractos) de ésta se encuentra.

HIPOTESIS

El extracto crudo molido, el liofilizado y el extracto lipídico de las hojas del Trueno (L. japonicum) 1 y 2 eliminarán ó disminuirán el número de costias (Costia necatrix) en el agua de acuario que mantiene una población de Tilapia híbrida (Oreochromis sp.) infectados naturalmente con Costia necatrix.

OBJETIVOS

1. Probar el efecto costicida del extracto crudo molido, del liofilizado y de los extractos lipídicos 1 y 2 de las hojas del Trueno (*L. japonicum*).
2. Probar la inocuidad de las 4 presentaciones (extractos) del Trueno (*L. japonicum*) sobre Tilapia híbrida.

MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron 15 acuarios de 20 litros de capacidad con agua de clorada por aereación y por acción de una solución de tiosulfato de sodio al 3.0%, provistos de una bomba de aire* de 115 volts, 60 herts, 4 watts, con bombeo aproximado de 2,500 ml de aire por minuto y con una boca de alimentación. En cada acuario se colocaron 5 peces de 6 gramos de peso (Biomasa de 30 gramos) infectados naturalmente con Costia necatrix aproximadamente una semana antes para su aclimatación, los cuales fueron alimentados con una dieta comercial** a razón del 2% de su biomasa. El estudio se dividió en 2 experimentos. El primero se realizó para determinar si existe algún efecto costicida de las hojas de trueno. El segundo se realizó para determinar en qué presentación (extracto crudo molido, extracto liofilizado, extracto lipídico 1 y/o extracto lipídico 2) de las hojas de trueno se encuentra el efecto costicida. Para el registro de los lotes los tratamientos se distribuyeron de la siguiente forma:

EXPERIMENTO 1

Lote 1. Sin tratamiento ó control. Los lotes 2 al 10 fueron tratados con extracto crudo molido de hojas de trueno (L. japonicum) a dosis de 1, 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 g respectivamente, por cada 20 litro de agua.

EXPERIMENTO 2

Lote 1. Sin tratamiento ó control.

Lote 2. Tratados con extracto crudo molido de hojas de trueno (L. japonicum). 0.8 ml por litro de agua.

* Marca Hegen Inc. Corp., Chicago, USA.

** Marca Purina Aqualine.

- Lote 3. Tratado con extracto liofilizado de hojas de trueno (L. japonicum). 0.1 ml por litro de agua.
- Lote 4. Tratado con extracto lipídico 1 de hojas de trueno (L. japonicum). 0.1 ml por litro de agua.
- Lote 5. Tratado con extracto lipídico 2 de hojas de trueno (L. japonicum). 0.1 ml por litro de agua.

En ambos experimentos, el manejo de los lotes durante 5 días fue el siguiente:

EXPERIMENTO 1

- a) Obtención de 150 g de extracto crudo molido de hojas de trueno (L. japonicum).

EXPERIMENTOS 1 Y 2

- a') Toma de muestra para conteo parasitológico mediante pipeteo de 0.1 ml del agua del fondo del acuario diariamente*.
- b) Conteo de Costias en portaobjetos previa inmovilización y tinción de la muestra con Azul de Metileno*.
- c) Registro del número obtenido, expresado en porcentaje.
- d) Administración del tratamiento.
- e) Alimentación de los peces.
- f) Manejo estadístico de Resultados.

1. METODO DE OBTENCION DEL EXTRACTO CRUDO MOLIDO**

- a) Se obtuvo una muestra fresca de 500 g de hojas de trueno (L. japonicum).

* Técnica de la Bióloga Elva Lázaro Chavez (Comunicación personal).

** El método de obtención del extracto crudo molido, el liofilizado y el extracto lipídico 1 y 2 se llevaron a cabo en el instituto de química de la UNAM.

- b) Se le añadió 1 litro de agua destilada y se picó.
- c) Se filtró y se obtuvo una muestra de 800 ml (extracto crudo molido).
- d) Se tomó una muestra de 300 ml de extracto crudo molido y se refrigeró (5).

2. METODO DE OBTENCION DEL EXTRACTO LIOFILIZADO**

Se tomaron tres muestras de extracto crudo molido de 100 ml cada una y se depositaron en bolas esmeriladas para integrarlo al sistema de liofilización dejándose ahí por un espacio de aproximadamente 10-12 horas (5).

3. METODO DE OBTENCION DE LOS EXTRACTOS LIPIDICOS 1 y 2**

Extracto Lipídico 1:

- a) Se tomó una muestra de 100 ml de extracto crudo molido, se depositó en un embudo de separación y se le añadieron 300 ml de un solvente orgánico (Cloruro de Metilo), se agitó bien y se dejó que se separara la solución (5).

Extracto Lipídico 2:

- a') Se tomó una muestra de 300 ml de un solvente orgánico (Acetato de Etilo) la cual se depositó en un embudo de separación y se le añadió una muestra de 100 ml de extracto crudo molido, se agitó bien y se dejó que se separara la solución.
- b) Se separaron los solventes en un matraz cada uno.
- c) Se filtraron los solventes y se colocaron en Baño María.
- d) Obtenidas las muestras se pesaron (5).

** El método de obtención del extracto crudo molido, el liofilizado y el extracto lipídico 1 y 2 se llevaron a cabo en el instituto de química de la UNAM.

Para los 10 primeros lotes se llevó a cabo un análisis de χ^2 y posteriormente se hizo un análisis pareados de U. de Mann Whitney (24,28).

Para los 5 lotes del 2º experimento se utilizó el análisis de χ^2 con un diseño factorial de 5x5, donde la primera variable es tratamiento y la 2ª variable es tiempo y posteriormente se hicieron contrastes pareados por una U. Mann Whitney (24,28).

RESULTADOS

Los resultados obtenidos de los conteos de la Costia necatrix incluyen valores porcentuales que se pueden observar en el cuadro número 1. En los lotes 8 y 9 se llegó al menor número de costias con las dosis 25 g por 20 litros de agua y 30 g por 20 litros de agua respectivamente.

En cuanto a la presentación (extractos) de las hojas de trueno (Ligustrum japonicum) que tuvo menor número de costias fue el extracto crudo molido. Los datos plasmados en el cuadro no. 1 se analizaron mediante el método estadístico de X^2 (24,28), cuyo resultado arrojó la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos empleados ($P < .001$).

Posteriormente, se realizó un análisis estadístico más sensible, denominado U. de Mann Whitney (24,28), cuyo resultado arrojó la existencia de diferencias estadísticamente significativas en los lotes 8 y 9 ($P < .007$) respectivamente (Cuadros no. 2 y 2').

DISCUSION

Analizando los resultados obtenidos a través de las pruebas estadísticas, se puede observar que en el Experimento 1, las dosis de extracto crudo molido de hojas de trueno (L. japonicum) en las que se obtuvo mejor efectividad fueron las de 25 g y 30 g por 20 litros de agua respectivamente y que en el segundo experimento, la presentación como extracto crudo molido fue la que mejor se comportó de las cuatro presentaciones analizadas, por lo que la dosis más apropiada para el control de la Costia necatrix a nivel de acuario en tilapia híbrida (Oreochromis sp) es la de 25 g por 20 litros de agua. Otro criterio importante para determinar que la dosis de 25 g por 20 litros de agua es la ideal, es la de utilizar la dosis menor por su manejo y porque se utiliza por lo tanto menor cantidad de hojas de trueno (L. japonicum).

Cabe hacer una comparación entre los productos naturales con efecto costicida. El ajo (Allium sativum) como reporta en sus estudios García Cueto (9), utiliza una dosis única de 200 mg/litro de agua; Rubio Bezias (23) reporta en sus estudios para la cebolla (Allium cepa) una dosis de 400 mg/litro de agua y en los estudios realizados para las hojas de trueno, se establece una dosis de 0.8 g/litro de agua, por lo que la dosis de hojas de trueno es la más alta, pero si se establece la comparación de acuerdo con su disponibilidad, tenemos que mientras la cebolla y el ajo es de uso humano se competirá para su obtención en la acuicultura y el trueno solamente es una planta de ornato, por lo que su disponibilidad para la acuicultura será única.

Entre los medicamentos utilizados para el tratamiento de la costiasis, encontramos que el azul de metileno y el verde de malaquita han

mostrado toxicidad en Carpa (Cyprinus carpio), trucha (Salmon gairdneri) y en peces vivíparos de ornato; el azul de metileno ha mostrado toxicidad en las plantas acuáticas a una concentración de 4 ppm, provocando desequilibrio en el ecosistema acuático (13).

Por lo anteriormente expresado, se concluye que la utilización de las hojas de trueno (L. japonicum) constituye una alternativa de fácil manejo y disponibilidad para el control de la Costia necatrix.

LITERATURA CITADA

1. Amlacher, J.E.: Textbook of fish Disease. T.F.H. Publications, USA, 1970.
2. Bardach, E.J., McLarney, O.W. y Ryther, H.J.: Acuicultura, Crianza y Cultivo de organismos Marinos y de Agua Dulce. A.G.T. 1986.
3. Cronquist, A.: The evolution and classification of flowering plants. Ed. ALLEN PRESS, Inc. Lawrence, Kansas, USA. Publication The New York Botanical Garden Bronx, New York, USA., 1988.
4. Dogiel, A.V., Petrusheuski, K.G. and Polyanski, I.Y.: Parasitology of Fishes. T.F.H. Publications, London, 1970.
5. Domínguez, Xorge: Métodos de investigación fitoquímica. Ed. LIMUSA. México, 1973.
6. Drummond, S.S.: Cría de la Trucha. Ed. ACRIBIA. España, 1988.
7. Font, P.: Plantas medicinales. El Dioscorides Renovado. 9a. ed. Ed. LABOR. Barcelona, España, 1985.
8. Fukuyama, Y.; Koshino, K., Hasegawa, T., Yamada, T. and Nakagawa, K.: New secoiridoid glucosides from Ligustrum japonicum. Planta Médica 53:427-431 (1987).
9. García, C.A.: Evaluación Comparativa del efecto parasiticida sobre Costia necatrix del Ajo (Allium sativum) y del Azul de Metilo en Tilapia (Tilapia sp.). Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 1989.
10. Grayson, H.: Iridanes. Natural Product Reports. 7(4):340-347 (1990).

11. Heinz, H.R.: Enfermedades de los peces. 2a. ed. Ed. ACRIBIA, España, 1982.
12. Hopher, B.: Cultivo de los Peces Comerciales. Ed. LIMUSA, México, 1985.
13. Herwig, N.: Handbook of Drugs and Chemicals used in the Treatment of Fish Diseases. A Manual of Fish Pharmacology and Materia Medica. Ed. CHARLES C. THOMAS PUBLISHER, Illinois, USA, 1979.
14. Inoue, K., Nishioska, T., Tanahashi, T. and Inouye, H.: Three secoiridoid glucosides from Ligustrum Japonicum. Phytochemistry 21(9):2305-2311 (1982).
15. Mawdesley, T.L.: Diseases of Fish. Academic Press, London, 1972.
16. Navarro, O.A.: Empleo de los productos naturales como fuente de intermediarios sintéticos (Boschnalósido). Tesis de Maestría en Ciencias Químicas (Química Orgánica). Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 1991.
17. Peña, H.T.: Evaluación del efecto nematodícida de los extractos hidrosoluble y Liposoluble del Ajo (Allium sativum) en Carpa (Cyprinus carpio). Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 1988.
18. Pérez, S.L.: Piscicultura, Ecología, Explotación e Higiene. Ed.EL MANUAL MODERNO, México, 1982.
19. Reichenbach, H.H.: Clave para el diagnóstico de las Enfermedades de los peces. Ed. ACRIBIA, España, 1976.
20. Ribelin, W. and Migaki, G.: Pathology of Fishes. The University of Wisconsin Press. Wisconsin, USA, 1975.

21. Roberts, R.J.: Patología de los Peces. Mundi Prensa, España, 1981.
22. Rubin, R.: Manual Práctico de Piscicultura Rural. 3a. Edición. Ed. CECSA, México, 1985.
23. Rubio, B.A.: Evaluación del efecto costicida de la cebolla picada fresca (Allium cepa) en Tilapia híbrida (Oreochromis sp.). Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 1991.
24. Siegel, S.: Estadística no paramétrica. Ed. Trillas, 3a ed., México, 1978.
25. Sumano, L.H., Auró, A.A. y Ocampo, C.L.: Utilización del Ajo (Allium sativum) como antihelmíntico en Tilapia (Sarotherodon mossambicus). Vet. Mex. 19:359-362 (1988).
26. Soulsby, L.J.: Parasitología y Enfermedades Parasitarias en los animales domésticos. 7a. Edición. Ed. Interamericana, México, 1987.
27. VanDuijn, C.: Diseases of Fish. Life Books. London, 1973.
28. Wayne, W.D.: Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud. Ed. Limusa, 1a ed. México, 1983.

CUADRO No. 1

NUMERO DE COSTIAS DEL PRIMER EXPERIMENTO EXPRESADO EN PORCENTAJE

DIAS	LOTES									
	CONTROL	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
2	588.3	80.95	419.65	166.6	26.38	107.14	56.08	45.37	447.2	34.76
3	500	38.88	77.34	19.04	0.48	20	7.14	16.66	8.33	45.1
4	77.7	60.3	31.19	33.03	101.98	0	8.46	20.37	0	9.72
5	144.44	0	16.66	128.57	35.26	0	14.28	0	0	18.02

CUADRO No. 2

PRUEBA DE U. DE MANN WHITNEY DE LAS DIFERENTES DOSIS DEL EXPERIMENTO No. 1

P	P	P	P	P	P	P	P	P
1 vs 2 .14	2 vs 3 .37	3 vs 4 .37	4 vs 5 .23	5 vs 6 .29	6 vs 7 .54	7 vs 8 .45	8 vs 9 .37	9 vs C .007**
1 vs 3 .14	2 vs 4 .23	3 vs 5 .37	4 vs 5 .10	5 vs 6 .3	6 vs 7 .54	7 vs 8 .23	8 vs 9 .007**	
1 vs 4 .095	2 vs 5 .54	3 vs 6 .23	4 vs 5 .04	5 vs 6 .23	6 vs 7 .37	7 vs 8 .007**		
1 vs 5 .27	2 vs 6 .45	3 vs 7 .07	4 vs 5 .07	5 vs 6 .17	6 vs 7 .02**			
1 vs 6 .54	2 vs 7 .3	3 vs 8 .15	4 vs 5 .04	5 vs 6 .02**				
1 vs 7 .45	2 vs 8 .26	3 vs 9 .07	4 vs 5 .10					
1 vs 8 .45	2 vs 9 .22	3 vs C .04**						
1 vs 9 .35	2 vs C .015**							
1 vs C .007**								

* $\alpha = 0.05$

** = Diferencias Estadísticamente Significativas.

C = Control

CUADRO 2'

PRUEBA DE U. DE MANN WHITNEY DE LAS CUATRO
PRESENTACIONES DE LAS HOJAS DE TRUENO (Ligustrum japonicum)
EXPERIMENTO No. 2

P	P	P	P
1 vs 2 .14	2 vs 3 .37	3 vs 4 .37	4 vs C .10
1 vs 3 .14	2 vs 4 .23	3 vs C .047**	
1 vs 4 .095	2 vs C .015**		
1 vs C .005**			

* α = 0.05

** = Diferencias Estadísticamente Significativas.

C = Control