

PARASITISMO EN CABALLA *SCOMBER JAPONICUS* HOUTTUYN,
1782 Y JUREL *TRACHURUS SYMMETRICUS MURPHYI* NICHOLS, 1920
FRENTE A CHILE CENTRAL

PARASITISM IN CHUB MACKEREL *SCOMBER JAPONICUS* HOUTTUYN,
1782 AND JACK MACKEREL *TRACHURUS SYMMETRICUS MURPHYI*
NICHOLS, 1920 OFF CENTRAL CHILE

Luis Rodríguez¹, Luis Balboa² y Mario George-Nascimento³

RESUMEN

Se comparan las poblaciones e infracomunidades de parásitos metazoos de dos especies simpátricas de peces pelágicos frente a Chile central, para evaluar qué tanto se parecen. Ellos son la caballa *Scomber japonicus* y el jurel *Trachurus symmetricus murphyi*. Las muestras fueron tomadas durante el invierno de 1997. Se encontró un total de 13 taxa parasitarios en ambas especies de hospedadores, de los cuales 6 eran compartidos. De éstos, la abundancia y prevalencia de *Anisakis* tipo I y *Nybelinia* sp. eran mayores en la caballa, en tanto que *Rhadinorhynchus trachuri* lo era en jurel. En las infracomunidades, la riqueza y la abundancia total de parásitos eran mayores en la caballa, y aumentaban con la longitud total, pero no en el jurel. Los ejemplares de esta última especie eran de menor edad que los de caballa. Se discute la importancia de considerar la edad de los hospedadores al momento de comparar las características comunitarias de las fauna parasitaria de hospedadores simpátricos.

Palabras clave: Parasitismo, *Scomber japonicus*, *Trachurus symmetricus murphyi*, Chile.

ABSTRACT

The populations and infracommunities of metazoan parasites were compared in two sympatric marine fish species in the pelagic realm off central Chile: the chub mackerel *Scomber japonicus* and the jack mackerel *Trachurus symmetricus murphyi*. Samples were taken during winter 1997. Chub mackerel were older than jack mackerels in the samples. This may have affected some of the descriptive features of parasitism. For example, infracommunity richness and total parasite abundance were higher in the chub mackerel, and increased with host body size, but not in the jack mackerel. A total of 13 parasite taxa were found in both host species, 6 of which were shared. Among shared taxa, the abundance and prevalence of *Anisakis* Type I and *Nybelinia* sp. were much higher in the chub mackerel, whereas *Rhadinorhynchus trachuri* was more prevalent and abundant in the jack mackerel. The importance of considering the host age when comparing the parasite communities of sympatric host species is discussed.

Key words: Parasitism, *Scomber japonicus*, *Trachurus symmetricus murphyi*, Chile.

¹Colegio Alcántara Peñalolén, Avenida Grecia 8797, Santiago, Chile.

²Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Casilla 114-D, Santiago, Chile.

³Facultad de Ciencias, Universidad Católica de la Santísima Concepción, Casilla 297, Concepción, Chile.

INTRODUCCION

El grado de parentesco entre las especies de hospedadores suele ser el factor más importante para explicar las semejanzas en composición de la fauna de parásitos. La similitud en la dieta y ocupación del hábitat por los huéspedes también han sido frecuentemente mencionadas (George-Nascimento 1987, Brooks & McLennan 1993). Sin embargo, no siempre se ha encontrado, por ejemplo, que las variaciones en la composición de la dieta de los hospedadores se manifiesten en variaciones en el parasitismo (Rodríguez & George-Nascimento 1996, Balboa & George-Nascimento 1998). Esta ambigüedad en la importancia que puede tener la dieta en determinar la similitud del parasitismo se debe a que otros factores, tales como la conducta o la selección por tamaños de las presas, o el sexo de los hospedadores, pueden ser más importantes en una u otra parasitosis.

En este estudio informamos de la fauna parasitaria de 2 especies de peces marinos del ámbito pelágico. El objetivo es indagar en qué medida se parece el parasitismo de 2 especies simpátricas de hospedadores: la caballa *Scomber japonicus* Houttuyn, 1782 (Pisces: Scombridae) y el jurel *Trachurus symmetricus murphyi* Nichols 1920 (Pisces: Carangidae), concurrentes en los lances efectuados por la flota pesquera pelágica de Chile centro-sur. Ambas especies tienen dietas similares (Gallardo *et al.* 1980, Arancibia & Meléndez 1987, Serra 1991), aunque pertenecen a familias distintas, por lo que sus faunas parasitarias también podrían ser medianamente parecidas.

Hay varios registros parasitológicos en el jurel en el Océano Pacífico Sudoriental. Ellos indican la presencia de por lo menos 16 taxa parasitarios, con variaciones geográficas y ontogénicas en magnitud y composición (Aldana *et al.* 1995; Cattán & Videla 1976; George-Nascimento *et al.* 1983; George-Nascimento & Arancibia 1992; Oliva 1994). En cambio, no hay estudios que describan el parasitismo de la caballa en aguas territoriales de Chile. La mayoría de los registros de parásitos en especies congénéricas provienen de otras latitudes, y analizan la morfología, microhábitat y variación geográfica de ectoparásitos monogéneos de la familia Mazocraeidae (Arandas-Rego *et al.* 1985; Rohde & Watson 1985; Mamaev & Parukhin 1986; Rohde 1989; Abaúnza *et al.* 1995).

Este estudio permite ilustrar las dificultades encontradas al intentar hacer algo tan

simple como comparar el parasitismo entre especies potencialmente alternativas de hospedadores, ya que otras variables de los hospedadores, tales como la edad, hábitat ocupado, etc., pueden resultar ser más o menos relevantes que lo esperado.

MATERIALES Y METODOS

En julio de 1997 se recolectaron 77 ejemplares de caballa *Scomber japonicus* y 100 de jurel *Trachurus symmetricus murphyi* al momento del desembarque en Talcahuano. Estos habían sido capturados en forma conjunta en lances efectuados en la zona de pesca pelágico-costera frente a Chile central (36°41' S; 73°04' W). Los procedimientos empleados para la búsqueda, recolección, preservación y determinación taxonómica del material parasitario han sido descritos en otros estudios similares (e.g., George-Nascimento & Arancibia 1992). En la determinación taxonómica de los parásitos de las caballas se consideró consultas a Yamaguti (1959; 1961; 1963a; 1963b), Schell (1970), Rohde (1985; 1989), Mamaev & Parukhin (1986) y Nasir & Fuentes-Zambrano (1983).

En cada taxon parasitario se determinó la prevalencia (porcentaje de hospedadores parasitados en la muestra) y la abundancia (número promedio de individuos parásitos por hospedador examinado) (Margolis *et al.* 1982). En las infracomunidades de parásitos, es decir, en el conjunto de taxa parasitarios dentro de cada individuo hospedador (Holmes 1990), se determinó la abundancia (número total de individuos parásitos), y la riqueza (número de taxa parasitarios).

A cada individuo hospedador se le determinó la longitud total, en cm. En primera instancia se evaluó a través de una prueba de Wilcoxon si había diferencias en la edad de los hospedadores, deducida esta última de transformar su longitud total según las estimaciones del crecimiento publicadas para ambas especies (Aguayo & Steffens 1987, Nekrasov 1994). Para evaluar en qué medida la longitud total del hospedador podría ser relevante para interpretar las posibles diferencias en el parasitismo en ambas especies de hospedadores se realizaron análisis estadísticos basados en pruebas no paramétricas, o mediante pruebas paramétricas basadas en los datos transformados a la secuencia ordinal (Conover 1980, Zar 1984).

La prevalencia y abundancia de los taxa presentes en ambas especies de hospedado-

Tabla 1. Número total de individuos parásitos recolectados (n), prevalencia (%) y abundancia (A) de 13 taxa parasitarios encontrados en 77 *S. japonicus* y 100 *T.s. murphyi* capturados frente a Talcahuano, Chile.
Total number of parasites collected (n), prevalence (% of fish infected) and abundance (average per examined fish) of 13 taxa parasite in 77 *S. japonicus* and 100 *T.s. murphyi* caught off Talcahuano, Chile.

PARASITOS	<i>S.japonicus</i>			<i>T.s.murphyi</i>		
	n	%	A (de)	n	%	A (de)
CRUSTACEA						
<i>Ceratothoa</i> spp.	18	12,9	0,23(0,67)	17	9,0	0,17(0,55)
<i>Lernantropus trachuri</i>	0			15	12,0	0,15(0,44)
MONOGENEA						
<i>Kuhnia scombri</i>	103	35,0	1,32(2,24)	0		
<i>Kuhnia sprostonae</i>	13	14,3	0,19(0,51)	0		
NEMATODA						
<i>Hysterothylacium</i> sp.*	30	23,3	0,35(0,77)	0		
<i>Anisakis</i> Tipo I*	30	23,3	0,39(1,14)	5	5,0	0,05(0,22)
<i>Anisakis</i> Tipo II*	97	16,8	1,26(5,41)		0	
<i>Contracaecum</i> sp. *	3	3,9	0,04(0,34)		0	
<i>Pseudoterranova</i> sp. *	6	6,5	0,08(0,32)	2	2,0	0,02(0,14)
ACANTHOCEPHALA						
<i>Corynosoma</i> sp*	3	2,6	0,04(0,34)	0		
<i>Rhadinorhynchus trachuri</i>	13	12,9	0,17(0,55)	48	30,0	0,48(0,88)
CESTODA						
<i>Nybelinia</i> sp.*	61	19,5	0,81(2,66)	3	3,0	0,03(0,17)
<i>Hepatoxylon trichiuri</i> *	1	1,3	0,01(0,19)	1	1,0	0,01(0,19)
TOTAL	378	89,6	4,90(6,23)	91	49,0	0,91(1,25)

(de) = desviación estándar

(*) = Estado larval

res fueron comparadas por medio de la prueba de Ji-cuadrado y análisis de la varianza no-paramétrico de una vía, respectivamente. Para este análisis fueron considerados sólo los taxa con prevalencias superiores al 4%.

Se aplicó un análisis de la varianza no-paramétrico de una vía para comparar la riqueza y la abundancia infracomunitarias entre especies de hospedadores. Además, se evaluó la significancia estadística de la correlación entre la longitud total y la abundancia parasitaria, para cada uno de los taxa, y con la abundancia total y la riqueza infracomunitarias.

RESULTADOS Y DISCUSION

Según las ecuaciones de crecimiento publicadas para ambas especies de peces, los ejemplares de caballa de la muestra tendrían más de 7 años de edad, en tanto que los de jurel no superarían los 4 años (Aguayo & Steffens 1987, Nekrasov 1994). Esto puede explicar en gran medida que la riqueza y abundancia infracomunitarias resultaran ser mayores en la caballa (Tablas 1 y 2). En la caballa se recolectaron un total de 378 individuos parásitos pertenecientes a 12 taxa,

mientras que en el jurel se recolectaron sólo 91 individuos pertenecientes a 7 taxa (Tabla 1). Estas diferencias entre especies de hospedadores en abundancia total y riqueza de taxa parasitarios, no son tan evidentes cuando se comparan individuos de edad similar (ver George-Nascimento & Arancibia 1992).

La ontogenia de los hospedadores es una variable importante para entender las variaciones en la magnitud del parasitismo en el jurel (George-Nascimento *et al.* 1983; George-Nascimento & Arancibia 1992; Aldana *et al.* 1995), y también lo es en la caballa. De hecho, en la caballa, la prevalencia y abundancia de *Anisakis* tipo I, *Kuhnia scombri* y *Kuhnia sprostonae*, (Fig. 2), y la riqueza y abundancia infracomunitarias aumentan con la longitud total del hospedador (Coeficiente de correlación de Spearman, $r_s = 0.36$, $P = 0.0012$; $r_s = 0.43$, $P = 0.0001$, respectivamente, Fig. 3). Estos resultados indican que hábitats más grandes podrían albergar más individuos o especies de parásitos que hábitats más pequeños. En el jurel, ni la abundancia de ningún taxon ni la riqueza de taxa parasitarios estaban significativamente correlacionadas con la longitud total del hospeda-

Tabla 2. Estadísticos descriptivos simples (mín= mínimo, máx= máximo, X= promedio, d.e.= desviación estándar) y los resultados de un análisis de la varianza de una vía de la riqueza y de la abundancia infracomunitaria en *S. japonicus* y *T.s. murphyi* capturados en la zona de pesca frente a Talcahuano, Chile central (n= Tamaño muestral, F= estadístico y p= probabilidad).

Simple descriptive statistics (mín= minimum, máx= maximum, X= arithmetic mean, d.e.= standard deviation) and results of one-way ANOVAs of the richness and abundance in infracommunities of *S. japonicus* and *T. s. murphyi* caught off Talcahuano, central Chile (n= sample size, F= statistic, and p= probability).

HOSPEDADOR	n	mín	máx	X	d.e	F	p
RIQUEZA							
<i>S. japonicus</i>	77	0	6,0	1,68	1,11	67,06	0,0001
<i>T. s. murphyi</i>	100	0	3,0	0,60	0,71		
ABUNDANCIA							
<i>S. japonicus</i>	77	0	45,0	4,94	6,48	84,24	0,0001
<i>T. s. murphyi</i>	100	0	6,0	0,89	1,24		

dor (Fig. 4 y 5), lo que puede deberse a la comparativamente menor edad de los jureles en las muestras de ambas especies.

Seis taxa eran compartidos entre ambas especies de hospedadores (Tabla 1). De ellos, 2 tenían mayor prevalencia y abundancia en la caballa y 1 en el jurel (*Anisakis* Tipo I, $c^2=11,4$, g.l.= 1, $P<0,005$, *Nybelinia* sp., $c^2=11,1$, g.l.= 1, $P<0,005$, y *Rhadinorhynchus* sp., $c^2=6,2$, g.l.= 1, $P=0,012$, respectivamente).

Aunque ambas especies de hospedadores sean sintópicas, la alta especificidad de algunos parásitos (p. ej.: *Kuhnia* spp.) determina que parasiten sólo a la caballa. Otros taxa, sin embargo, son menos específicos, como *Ceratomyxa* sp. En la caballa, los taxa de mayor prevalencia y abundancia fueron, en orden decreciente, *Kuhnia scombr*, *Hysterothylacium* sp.,

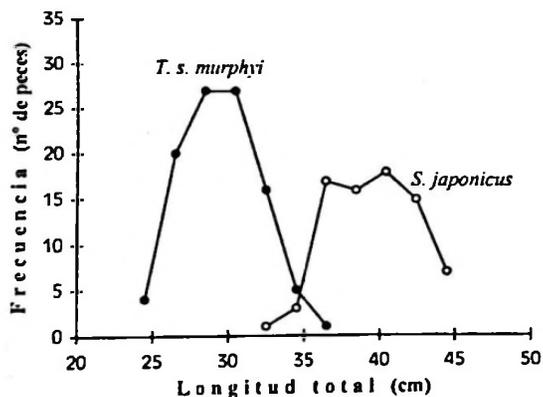


Fig. 1: Distribución de frecuencias de la longitud total (cm) de *Scomber japonicus* y *Trachurus symmetricus murphyi* capturados frente a Talcahuano, Chile central. (Puntos blancos= *S. japonicus*. Puntos negros= *T.s. murphyi*).
Frequency distributions of total body length (cm) of *Scomber japonicus* (white) and *Trachurus symmetricus murphyi* (black) caught off Talcahuano, central Chile.

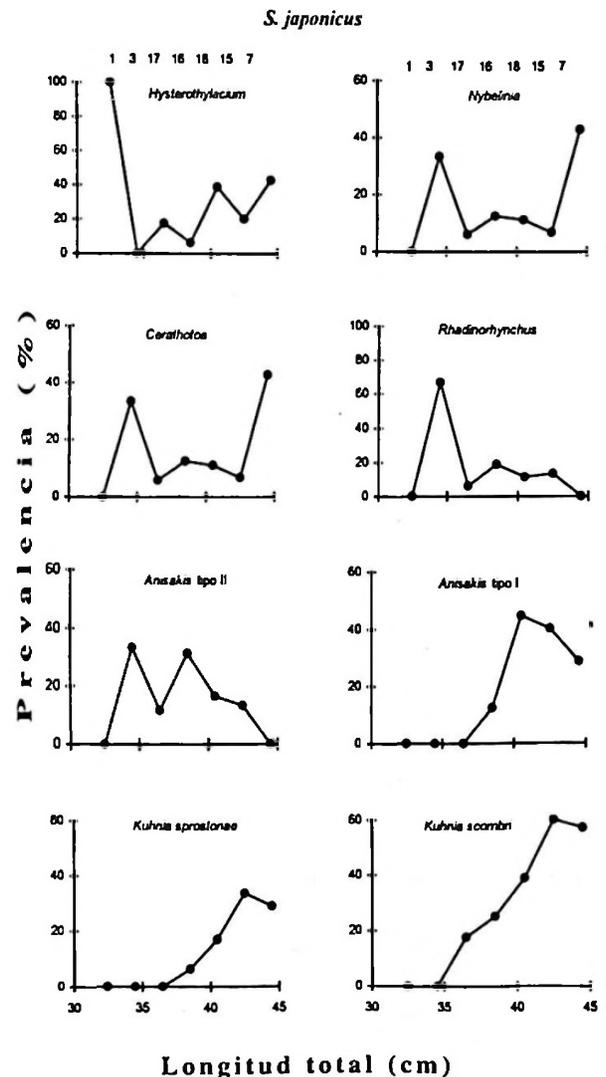


Fig. 2: Relación entre la prevalencia (%) con la longitud total (cm), para los 8 taxa más prevalentes presentes en 77 *S. japonicus*.
Relationship between the prevalence (%) of 8 parasite taxa according to total body length (cm) of 77 *S. japonicus*.

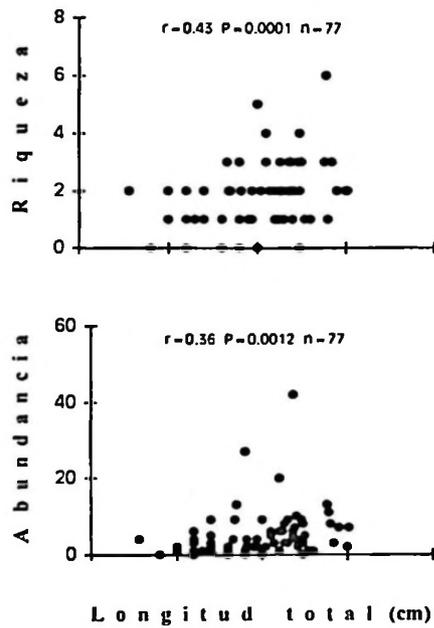


Fig. 3: Relación entre la riqueza (número de taxa) y abundancia (número total de parásitos) infracomunitarias con la longitud total (cm) de *S. japonicus*. Relation between richness (number of taxa) and abundance (total number of parasites) in infracommunities according to total body length (cm) of *S. japonicus*.

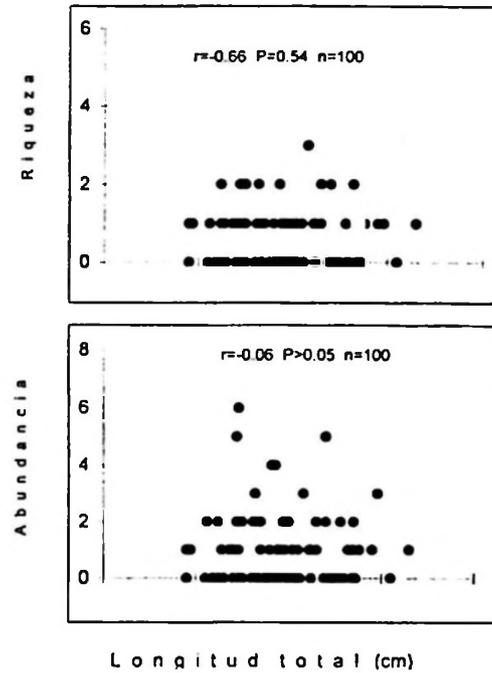


Fig. 5: Relación entre la riqueza (número de taxa) y abundancia (número total de parásitos) infracomunitarias con la longitud total (cm) de *T. s. murphyi*. Relation between the richness (number of taxa) and abundance (total number of parasites) in infracommunities according to total body length (cm) of *T. s. murphyi*.

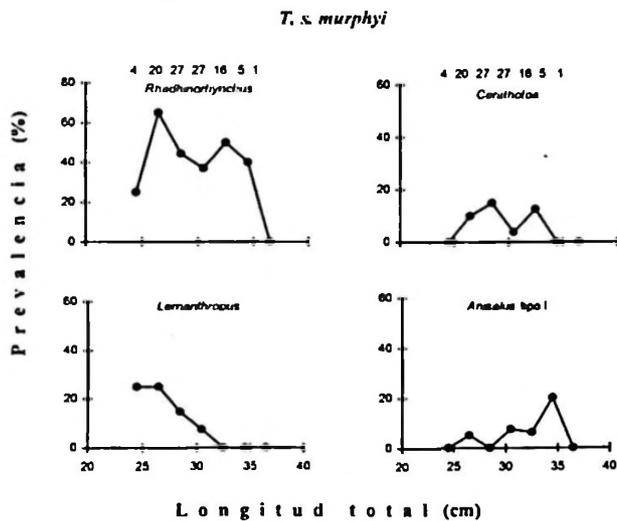


Fig. 4: Relación entre la prevalencia (%) con la longitud total (cm), para los 4 taxa más prevalentes presentes en 100 *T. s. murphyi*. Relationship between the prevalence (%) of 4 parasite taxa according to total length (cm) of 100 *T. s. murphyi*.

Anisakis Tipo I, *Nybelinia* sp., *Anisakis* Tipo II y *Kuhnia sprostonae* (Tabla 1, Fig. 2). En cambio, en el jurel eran *Rhadinorhynchus trachuri*, *Lernanthropus trachuri* y *Ceratothoa* sp. (Tabla 1, Fig. 4).

La composición taxonómica de la parasitofauna de la caballa se parece a lo registrado en el Océano Atlántico (Arandas-Rego & Santos 1983, Cremonte & Sardella 1997). Los monogéneos del género *Kuhnia* son típicos del ambiente pelágico costero y han sido registrado en distintas localidades geográficas en escómbridos de la misma especie o especies congénéricas. La mayoría de estos estudios muestran prevalencias superiores al 30% (Arandas-Rego *et al.* 1985; Abaunza *et al.* 1995; Rohde & Watson 1985; Mamaev & Parukhin 1986), lo que confirma que es un parásito con un amplio rango de distribución.

En el caso del jurel, hay varios estudios en Chile acerca de su fauna parasitaria (Cattan & Videla 1976; George-Nascimento *et al.* 1983; George-Nascimento & Arancibia 1992; Oliva 1994). Al respecto, la alta prevalencia y abundancia del acantocéfalo *Rhadinorhynchus trachuri* encontrada en este estudio es similar a lo registrado por Oyarzún (1992) y por George-Nascimento & Arancibia (1992) en jureles de

YOYARZÚN, J (1992) Comparación de la fauna de parásitos metazoos del jurel *Trachurus murphyi* Nichols 1920 en dos zonas de pesca del norte de Chile. Tesis, Departamento Biología Marina, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Católica del Norte, 74 p.

pequeña talla o bien capturados en áreas de pesca alejadas de la costa (oceánicas). Sin embargo, se desconoce si su presencia está o no relacionada con el fenómeno climático conocido como "El Niño".

LITERATURA CITADA

- ABAUNZA P., B. VILLAMOR & J PEREZ (1995) Infestation by larvae of *Anisakis simplex* (Nematoda: Ascaridae) in horse mackerel, *Trachurus trachurus*, and Atlantic mackerel, *Scomber scombrus*, in ICES Divisions VIIIb, VIIIc and IXa (N-NW of Spain). *Scientia Marina* 59: 223-233.
- AGUAYO M. & H. STEFFENS (1987) Edad y crecimiento de *Scomber japonicus* del norte de Chile. *Investigación Pesquera* (Chile) 33: 61-76.
- ALDANA M., J. OYARZUN & M. GEORGE-NASCIMENTO (1995) Isópodos parásitos como indicadores poblacionales del jurel *Trachurus symmetricus murphyi* (Nichols, 1920) (Pisces: Carangidae) frente a las costas de Chile. *Biología Pesquera* 24: 23-32.
- ARANCIBIA H. & R. MELÉNDEZ (1987) Alimentación de peces concurrentes en la pesquería de *Pleuroncodes monodon* Milne Edwards. *Investigación Pesquera*, Chile 34: 113-128.
- ARANDAS-REGO A. & C. P. SANTOS (1983) Helminto-fauna de cavalas, *Scomber japonicus* Houtt., do Rio de Janeiro. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro 78: 443-448.
- ARANDAS REGO A., M. CARVALHO-VARELA, M. MENDONCA & M. AFONSO-ROQUE (1985) Helminto-fauna da sarda (*Scomber scombrus* L.) peixe da costa continental portuguesa. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro 80: 97-100.
- BALBOA L. & M. GEORGE-NASCIMENTO (1998) Variaciones ontogenéticas y entre años en las infra-comunidades de parásitos metazoos de dos especies de peces marinos de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 71: 27-37.
- BROOKS D. & D. McLENNAN (1993) *Parascript*. Parasites and the language of evolution. Smithsonian Institution Press, Washington. 429 pp.
- CATTAN P. & N. VIDELA (1976) Presencia de larvas de *Anisakis* sp. en el jurel *Trachurus murphyi* Nichols, 1920 (Algunas consideraciones sobre su relación con el granuloma eosinofílico en el hombre). *Boletín Chileno de Parasitología* 31: 71-74.
- CONOVER W. (1980) *Practical nonparametric statistics*. 2nd. Edition, John Wiley & Sons Inc., New York. 493 pp.
- CREMONTE F. & N. SARDELLA (1997) The parasitofauna of *Scomber japonicus* Houttuyn, 1782 (Pisces: Scombridae) in two zones of the Argentine Sea. *Fisheries Research* 31:1-9
- GALLARDO V., H. BUSTOS, A. ACUÑA, L. DIAZ, V. ERBS & R. MELÉNDEZ (1980) Relaciones ecológicas de las comunidades bentónicas y bentodemersales de la plataforma continental de Chile central. Informe Final. Convenio Subsecretaría de Pesca. Universidad de Concepción, 325 p.
- GEORGE-NASCIMENTO M. & H. ARANCIBIA (1992) Stocks ecológicos del jurel (*Trachurus symmetricus murphyi* Nichols) en tres zonas de pesca frente a Chile, detectados mediante comparación de su fauna parasitaria y morfometría. *Revista Chilena de Historia Natural* 65: 453-470.
- GEORGE-NASCIMENTO M., J. CARVAJAL & H. ALCAINO (1983) Ocurrence of *Anisakis* sp. larvae in the Chilean jack mackerel, *Trachurus murphyi* Nichols 1920. *Revista Chilena de Historia Natural* 56: 31-37.
- GEORGE-NASCIMENTO, M. (1987) Ecological helminthology of wildlife animal hosts from South America: a literature review and a search for patterns in marine food webs. *Revista Chilena de Historia Natural* 60: 181-202.
- HOLMES J (1990) Helminth communities in marine fishes. En: Howell MJ (eds) *Parasites communities: patterns and processes*: 101-130. Chapman & Hall, London.
- MAMAIEV YU L., & A. M. PARUKHIN (1986) Description of two new monogenean species of genus *Kuhnia* Sproston, 1945 (Mazocraeidae) and notes on the genus composition. *Helminthologia* 23: 23-30.
- MARGOLIS L., G. W. ESCH, J. C. HOLMES, A. M. KURIS & G. A. SCHAD (1982) The use of ecological terms in parasitology (report of an ad hoc committee of the American Society of Parasitologists). *Journal of Parasitology* 68: 131-133.
- NASIR P. & J. FUENTES ZAMBRANO (1983) Algunos trematodos monogenéticos venezolanos. *Revista di Parasitologia* 44:335-380
- NEKRASOV V. (1994) Edad y ritmo de crecimiento. En: *Biología y Pesca Comercial del Jurel en el Pacífico Sur*. 43-45. D. Arcos y A. S. Grechina (eds). Editora Aníbal Pinto S.A., Concepción.
- OLIVA M. E. (1994) Parasites of the Chilean jack mackerel *Trachurus symmetricus murphyi* (Pisces: Carangidae). *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 89: 363-364.
- ROHDE K. & N. WATSON (1985) Morphology, microhabitats and geographical variation of *Kuhnia* spp. (Monogenea: Polyopisthocotylea). *International Journal for Parasitology* 15, 5: 569-586.
- ROHDE K. (1989) *Kuhnia sprostonae* Price, 1961 and *K. scombercolias* Nasir & Fuentes Zambrano, 1983 (Monogenea: Mazocraeidae) and their microhabitats on the gills of *Scomber australasicus* (Teleostei: Scombridae), and the geographical distribution of seven species of gill Monogenea of *Scomber* spp. *Systematic Parasitology* 14: 93-100.
- RODRIGUEZ L. & M. GEORGE-NASCIMENTO (1996) La fauna de parásitos metazoos del bacalao de profundidad *Dissostichus eleginoides* Smitt, 1898 (Pisces: Nototheniidae) en Chile central: aspectos taxonómicos, ecológicos y zoogeográficos. *Revista Chilena de Historia Natural* 69: 21-33.
- SCHELL S. C. (1970) *How to know the trematodes*. WMC Brown Co. Pub. 355 p.
- SERRA R. (1991) Important life history aspects of the Chilean jack mackerel, *Trachurus symmetricus murphyi*. *Investigación Pesquera* 36 :67-83.
- YAMAGUTI S. (1959) *Systema Helminthum* II. The cestodes of vertebrates. Interscience Publishers, London. 860 pp.

- YAMAGUTI S. (1961) *Systema Helminthum* III. The nematodes of vertebrates. Interscience Publishers, London. 1261 pp.
- YAMAGUTI S. (1963a) *Systema Heminthum* V. Acanthocephala. Interscience Publishers, London. 423 pp.

- YAMAGUTI S. (1963b) Parasitic copepoda and branchiuran of fishes. Interscience Publishers, London. 1104 pp.
- ZAR J. (1984) *Biostatistical analysis*. 2nd Edition, Prentice-Hall Inc, Englewood Cliffs, New York. 718 pp.

