



UNAP



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

MAESTRÍA EN ACUICULTURA

TESIS

**EFFECTO TOXICOLÓGICO Y ANTIPARASITARIO DEL EXTRACTO
ACUOSO Y DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS DE *Mansoa
alliacea* “AJO SACHA” EN ALEVINOS DE *Colossoma macropomum*
PROCEDENTES DE AMBIENTES CONTROLADOS,
REGIÓN LORETO, PERÚ**

**PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO EN
ACUICULTURA**

PRESENTADO POR: HUMBERTO ARBILDO ORTIZ

ASESORES : BLGO. JORGE LUIS MARAPARA DEL AGUILA, DR.

BLGA. AMANDA KAREN SILVA DE SOUZA, M.SC.

IQUITOS, PERÚ

2021



UNAP



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

MAESTRÍA EN ACUICULTURA

TESIS

**EFFECTO TOXICOLÓGICO Y ANTIPARASITARIO DEL EXTRACTO
ACUOSO Y DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS DE *Mansoa
alliacea* “AJO SACHA” EN ALEVINOS DE *Colossoma macropomum*
PROCEDENTES DE AMBIENTES CONTROLADOS,
REGIÓN LORETO, PERÚ**

**PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO EN
ACUICULTURA**

PRESENTADO POR: HUMBERTO ARBILDO ORTIZ

ASESORES : BLGO. JORGE LUIS MARAPARA DEL AGUILA, DR.

BLGA. AMANDA KAREN SILVA DE SOUZA, M.SC.

IQUITOS, PERÚ

2021



UNAP

Escuela de Postgrado "JOSÉ TORRES VÁSQUEZ"
Oficina de Asuntos Académicos



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS
005-2021-OAA-EPG-UNAP

Con **Resolución Directoral N° 0055-2021-EPG-UNAP**, se autoriza la sustentación de la tesis: "EFECTO TOXICOLÓGICO Y ANTIPARASITARIO DEL EXTRACTO ACUOSO Y DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS DE *Mansoa alliacea* "AJO SACHA" EN ALEVINOS DE *Colossoma macropomum* PROCEDENTES DE AMBIENTES CONTROLADOS, REGIÓN LORETO, PERÚ", teniendo como jurados a los siguientes profesionales:

Blgo. Enrique Rios Isern, Dr.	Presidente
Blgo. Luis García Ruiz, MSc.	Miembro
Blga. Emer Gloria Pizango Paima, MSc.	Miembro
Blgo. Jorge Luis Marapara del Aguila, Dr.	Asesor
Blga. Amanda Karen Silva de Souza, MSc.	Asesora

A los veintidos días del mes de enero del 2021, a las 11:00 horas, en la modalidad virtual zoom institucional de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, se constituyó el Jurado Evaluador y dictaminador, para escuchar y evaluar la sustentación de la tesis: "EFECTO TOXICOLÓGICO Y ANTIPARASITARIO DEL EXTRACTO ACUOSO Y DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS DE *Mansoa alliacea* "AJO SACHA" EN ALEVINOS DE *Colossoma macropomum* PROCEDENTES DE AMBIENTES CONTROLADOS, REGIÓN LORETO, PERÚ" presentado por el señor HUMBERTO ARBILDO ORTIZ, como requisito para obtener el **Grado Académico de Maestro en Acuicultura**, que otorga la UNAP de acuerdo a la Ley Universitaria N° 30220 y el Estatuto de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana.

Después de haber escuchado la sustentación y luego de formuladas las preguntas, éstas fueron:

.....
.....


El Jurado, después de la deliberación correspondiente en privado, llegó a las siguientes conclusiones, la sustentación es:

1. Aprobado como: a) Excelente () b) Muy bueno (X) c) Bueno ()
2. Desaprobado: ()

Observaciones :.....
.....
.....

A Continuación, el Presidente del Jurado, da por concluida la sustentación, siendo las...13:10 hrs... del veintidos de enero del 2021; con lo cual, se le declara al sustentante...epo... para recibir el **Grado Académico de Maestro en Acuicultura**.


Blgo. Enrique Rios Isern, Dr.
Presidente


Blgo. Luis García Ruiz, MSc.
Miembro


Blga. Emer Gloria Pizango Paima, MSc
Miembro

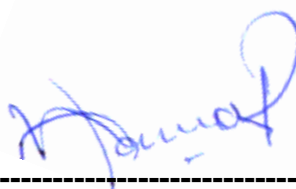

Blgo. Jorge Luis Marapara del Aguila, Dr.
Asesor


Blga. Amanda Karen Silva de Souza, MSc.
Asesora

TESIS APROBADA EN SUSTENTACIÓN PÚBLICA EL DÍA 22 DE ENERO DEL 2021 EN LA PLATAFORMA VIRTUAL ZOOM INSTITUCIONAL DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONÍA PERUANA, EN LA CIUDAD DE IQUITOS-PERÚ.



BLGO. ENRIQUE RÍOS IRSEN, Dr.
PRESIDENTE



BLGO. LUIS GARCÍA RUIZ, MGR.
MIEMBRO



BLGA. EMER GLORIA PIZANGO PAIMA, M.SC.
MIEMBRO



BLGO. JORGE LUIS MARAPARA DEL AGUILA, DR.
ASESOR



BLGA. AMANDA KAREN SILVA DE SOUZA, M.SC.
ASESORA

Dedicado a mis padres Rosendo y Marilin, y a mis hermanos.

A mi princesa Dannath Alessia, y Juleysi Alvez Robledo, son mis motivos de seguir adelante.

AGRADECIMIENTO

A Dios, por ser mi guía y darme la fuerza en los momentos más difíciles de mi formación profesional.

A la Escuela de Postgrado de una Universidad Nacional de la Amazonia, en especial a todos los profesores del Programa de Maestría en Acuicultura, MACA-III, en especial al Blgo. Juan Carlos Castro Gómez, Blgo. Luis Alfredo Mori Pinedo Dr., Blgo. Luis Campos Baca Dr., Enrique Ríos Irsen Dr., Blgo. German Murrieta Morey Dr., Blgo. Pedro Pérez Peña M.Sc., Blga. Rosa Ismiño Orbe M.Sc., Soc. Oscar A. Lozano Torres, Blgo. Javier del Águila Chávez y Blgo. Roberto Pezo Díaz Dr., gracias por sus conocimientos compartidos.

A mis asesores Blgo. Jorge Luis Marapara del Águila Dr., y Blga. Amanda Karen Silva De Souza, M.Sc., por la revisión, sugerencias y comentarios en la elaboración del Plan de tesis y en la redacción del informe de tesis.

Al Blgo. Jorge Angulo Quintanilla, por apoyarme y guiarme en la extracción del aceite esencial de *Mansoa alliacea*.

Al Blgo. Carlos Chuquipiondo Guardia, representante de la ONG´s Amazon Research Center Ornamental of Fishes, por permitirme ejecutar el trabajo de tesis en sus instalaciones.

A Blga. Juleysi Alvez Robledo, Br. Luz Margarita Curinuqui López, Viviana Pérez Reátegui, y al Est. Jhin Avalos Báldeon, por el apoyo durante las actividades de ejecución de la presente tesis.

Al señor Cherry Huymacari, por apoyarme con el traslado de los alevinos de *Colossoma macropomum* y todas las demás personas que me apoyaron durante la ejecución de la tesis.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Páginas
Carátula	i
Contracarátula	ii
Acta de sustentación	iii
Jurado	iv
Dedicatoria	v
Agradecimiento	vi
Índice de contenido	vii
Índice de tablas	ix
Índice de gráficos	xi
Índice de ilustraciones	xii
Resumen	xiii
Abstract	xiv
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO	4
1.1 Antecedentes	4
1.2 Bases teóricas	6
1.3 Definición de términos básicos	22
CAPÍTULO II: VARIABLES E HIPÓTESIS	23
2.1 Variables y su operacionalización	23
2.2 Formulación de la hipótesis	24
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	255
3.1 Tipo y diseño de la investigación	25
3.2 Población y muestra	25
3.3 Técnicas e instrumentos	26
3.4 Procedimientos de recolección de datos	27
3.4 Técnicas de procesamiento y análisis de los datos	32
3.5 Aspectos éticos	33
CAPÍTULO IV: RESULTADOS	344

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	44
CAPÍTULO VI: PROPUESTA	51
CAPÍTULO VII: CONCLUSIONES	52
CAPÍTULO VIII: RECOMENDACIONES	53
CAPÍTULO IX: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54
ANEXOS	66
1. Estadística complementaria	677
2. Instrumento de recolección de datos	71
3. Otros	74

ÍNDICE DE TABLAS

		Páginas
Tabla 1	Clasificación taxonómica de <i>Colossoma macropomum</i>	6
Tabla 2	Especies de ectoparásitos de <i>Colossoma macropomum</i> registrados en diferentes localidades en Perú	9
Tabla 3	Composición fotoquímica de hojas <i>Mansoa alliacea</i> según solvente utilizado en la elaboración del extracto	14
Tabla 4	Composición fotoquímica del aceite esencia de hojas de <i>Mansoa alliacea</i>	15
Tabla 5	Concentraciones letales del diferentes fitoterapéuticos registrados en <i>Colossoma macropomum</i>	18
Tabla 6	Principales plantas utilizadas como fitoterapéuticos para el control de ectoparásitos en <i>Colossoma macropomum</i>	20
Tabla 7	Principales plantas quimioterapéuticos sintéticas para el control de ectoparásitos en <i>Colossoma macropomum</i>	21
Tabla 8	Tratamientos evaluados para la CL _{50-96h} de los fitoterapéuticos, extracto acuoso y aceite esencial de hojas de <i>Mansoa alliacea</i>	29
Tabla 9	Valores de la calidad de agua en los test prueba definitiva	29
Tabla 10	Porcentaje (%) de mortalidad de alevinos de <i>Colossoma macropomum</i> , expuesto a diferentes concentraciones del extracto acuoso de hojas de <i>Mansoa alliacea</i> , durante 96h	34
Tabla 11	Porcentaje promedio de mortalidad de alevinos de <i>Colossoma macropomum</i> , expuesto a diferentes concentraciones del aceite esencial de hojas de <i>Mansoa alliacea</i> , durante 96h	35
Tabla 12	Índices parasitológicos de monogeneos parásitos de alevinos de <i>Colossoma macropomum</i> después de exposición de 12 horas a diferentes concentraciones del extracto acuoso de <i>Mansoa alliacea</i>	39
Tabla 13	Índices parasitológicos de monogeneos parásitos de alevinos de <i>Colossoma macropomum</i> después de exposición de 24 horas a diferentes concentraciones del extracto acuosos de <i>Mansoa alliacea</i>	40
Tabla 14	Índices parasitológicos de monogeneos parásitos de alevinos de <i>Colossoma macropomum</i> después de exposición de 12 horas a diferentes concentraciones del aceite esencial de <i>Mansoa alliacea</i> .	40
Tabla 15	Índices parasitológicos de monogeneos parásitos de alevinos de <i>Colossoma macropomum</i> después de exposición de 24	41

	horas a diferentes concentraciones del aceite esencial de <i>Mansoa alliacea</i>	
Tabla 16	Eficacia de diferentes concentraciones del extracto acuoso <i>Mansoa alliacea</i> en el control de los parásitos monogéneos de <i>Colossoma macropomum</i>	41
Tabla 17	Eficacia de diferentes concentraciones del aceite esencial de <i>Mansoa alliacea</i> en el control de los parásitos monogéneos de <i>Colossoma macropomum</i>	42
Tabla 18	Análisis estadístico ANOVA y TUKEY de los valores de intensidad media y abundancia media de los monogéneos de <i>C. macropomum</i> , después de 12 horas de exposición a diferentes concentraciones del extracto acuoso de <i>Mansoa alliacea</i>	67
Tabla 19	Análisis estadístico ANOVA y TUKEY de los valores de intensidad media e abundancia media de los monogéneos en <i>C. macropomum</i> , después de 24 horas de exposición a diferentes concentraciones del extracto acuoso de <i>Mansoa alliacea</i>	67
Tabla 20	Análisis estadístico ANOVA y TUKEY de los valores de intensidad media y intensidad media en el control de los monogéneos de <i>Colossoma macropomum</i> , expuesto (12 horas) a diferentes concentraciones del aceite esencial de <i>Mansoa alliacea</i>	68
Tabla 21	Análisis estadístico ANOVA y TUKEY de los valores de intensidad media y abundancia media en el control de los monogéneos de <i>Colossoma macropomum</i> , expuesto (24 horas) a diferentes concentraciones del aceite esencial de <i>Mansoa alliacea</i>	68
Tabla 22	Análisis estadístico ANOVA y TUKEY de los valores de eficacia en el control de los monogéneos de <i>Colossoma macropomum</i> , expuesto (12 horas) a diferentes concentraciones del extracto acuoso de <i>Mansoa alliacea</i> .	69
Tabla 23	Análisis estadístico ANOVA y TUKEY de los valores de eficacia en el control de los monogéneos de <i>Colossoma macropomum</i> , expuesto (24 horas) a diferentes concentraciones del extracto acuoso de <i>Mansoa alliacea</i>	69
Tabla 24	Análisis estadístico ANOVA y TUKEY de los valores de eficacia en el control de los monogéneos de <i>Colossoma macropomum</i> , expuesto (12 horas) a diferentes concentraciones del aceite esencial de <i>Mansoa alliacea</i> .	70
Tabla 25	Análisis estadístico ANOVA y TUKEY de los valores de eficacia en el control de los monogéneos de <i>Colossoma macropomum</i> , expuesto (24 horas) a diferentes concentraciones del aceite esencial de <i>Mansoa alliacea</i>	70

ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Páginas
Gráfico 1 Producción de recurso hidrobiológico procedentes de acuicultura continental en Perú, según especies, 2019 – 2018 (TM) ⁵⁶	8
Gráfico 2 Producción de <i>Colossoma macropomum</i> , según departamento, 2019 – 2018 (TM) ⁵⁶	8
Gráfico 3 Curva de relación concentración-respuesta del extracto acuoso de <i>Mansoa alliacea</i> en alevinos de <i>Colossoma macropomum</i> , durante 96 h de exposición	36
Gráfico 4 Curva de relación concentración-respuesta del aceite esencial de <i>Mansoa alliacea</i> en alevinos de <i>Colossoma macropomum</i> , durante 96 h de exposición	36
Gráfico 5 Tendencia de la eficacia del extracto acuoso <i>Mansoa alliacea</i> contra monogeneos	42
Gráfico 6 Tendencia de la eficacia del aceite esencial <i>Mansoa alliacea</i> contra monogeneos	43

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

	Páginas
Ilustración 1	Ciclo de vida de los monogeneo ovíparos ⁷⁴ 11
Ilustración 2	Arbusto de <i>Mansoa alliacea</i> localizado en la Reserva Nacional Allpahuayo Mishana-RNAM 13
Ilustración 3	Alevinos en el fondo de las peceras (izquierda), y alteración en las aletas y prolongación de los labios (derecha) 35
Ilustración 4	Parásito <i>Anacanthorus spathulatus</i> identificado en <i>Colossoma macropomum</i> (A). Haptor con presencia de anclas (a). Complejo copulatorio (B) 37
Ilustración 5	Parásito <i>Notozothecium janauachensis</i> identificado en <i>Colossoma macropomum</i> (A). Haptor con presencia de anclas (a), barras (b) y ganchos (c). Complejo copulatorio (B) 38
Ilustración 6	Parásito <i>Mymarothecium tantaliani</i> identificado en <i>Colossoma macropomum</i> (A). Haptor con presencia de anclas (a), barras (b) y ganchos (c). Complejo copulatorio (B) 38

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto toxicológico y antiparasitario del extracto acuoso (EA) y aceite esencial (AE) de hojas de *Mansoa alliacea* en alevinos de *Colossoma macropomum*. Se colectaron 1000 alevinos, de un centro reproducción inducida, siendo trasladados a las instalaciones de la ONG's Amazon Research Center For Ornamental Fish. Para el efecto toxicológico se determinó la concentración letal media a 96 horas de exposición (CL_{50-96h}), siendo los alevinos sometidos a concentraciones de 0, 50, 100, 150 y 200 mL/L de EA y 0, 150, 250 y 350 mg/L de AE, en un sistema estático. Para el efecto antiparasitario se determinó la eficacia sobre los ectoparásitos monogeneos, siendo sometidos los alevinos a cuatro tratamientos del EA, 3 concentraciones (30, 60 y 90 mL/L) y un control; además, a cinco tratamientos con AE, 3 concentraciones (15, 35, 55 mg/L) y dos controles, en baños terapéuticos de 12 y 24 horas. La CL_{50-96h} del EA fue 188.43 mL/L y la CL_{50-96h} del AE fue de 78.6 mg/L. Se registró mayor porcentaje de eficacia sobre los monogeneos (*Anacanthorus spathulatus*, *Notozothecium janauachensis* y *Mymarothecium tantaliani*) en la concentración 90 mL/L del EA (63.85%) y 55 mg/L del AE (46.34%), ambos en baños terapéuticos de 24 horas de exposición. Los fitoterapéuticos evaluados tienen efecto antiparasitario en los alevinos de *Colossoma macropomum*, la cual depende de la concentración y del tiempo de exposición.

Palabras claves: monogeneos, fitoterapéutico, eficacia, dosis letal media.

ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the toxicological and antiparasitic effect of the aqueous extract (EA) and essential oil (EA) of *Mansoa alliacea* leaves in *Colossoma macropomum* fingerlings. 1000 fingerlings were collected from an induced reproduction center, being transferred to the facilities of the NGO's Amazon Research Center For Ornamental Fish. For the toxicological effect, the average lethal concentration was determined at 96 hours of exposure (LC50-96h), being the fingerlings subjected to concentrations of 0, 50, 100, 150 and 200 mL / L of EA and 0, 150, 250 and 350 mg / L AE, in a static system. For the antiparasitic effect, the efficacy on monogeneous ectoparasites was determined, the fingerlings being subjected to four AD treatments, 3 concentrations (30, 60 and 90 mL / L) and a control; in addition, to five treatments with EA, 3 concentrations (15, 35, 55 mg / L) and two controls, in therapeutic baths of 12 and 24 hours. The LC50-96h of EA was 188.43 mL / L and the LC50-96h of EA was 78.6 mg / L. A higher percentage of efficacy was recorded over the monogenates (*Anacanthorus spathulatus*, *Notozothecium janauachensis* and *Mymarothecium tantaliani*) in the concentration of 90 mL / L of EA (63.85%) and 55 mg / L of EA (46.34%), both in therapeutic baths of 24 hours of exposure. The phytotherapeutics evaluated have an antiparasitic effect on *Colossoma macropomum* fingerlings, which depends on the concentration and the exposure time.

Keywords: monogenean, phytotherapeutic, efficacy, medium lethal dose.

INTRODUCCIÓN

Colossoma macropomum, es un pez que se viene cultivando en la acuicultura del continente Suramericano, en los países de Bolivia, Brasil, Colombia, Perú, Ecuador, Guayana y Venezuela¹. En Perú *C. macropomum* “gamitana” es la principal especie cultivada en Amazonía, seguido de *Brycon cephalus* “sábalo cola roja”, *Piaractus brachypomus* “paco” y *Arapaima gigas* “paiche”; según los datos estadísticos del Ministerio de la Producción la cosecha de *Colossoma macropomum* procedente de la acuicultura se ha sextuplicado, de 299 t en 2015 a 1986 t en 2016².

La producción en Perú de *C. macropomum* es a través de cultivos semi-intensivo, en estanques de tierra puede llegar a pesar 1 kg a más, en 8 a 12 meses de cultivo, dependiendo de la densidad y la alimentación³. El incremento de la producción se debe a la disponibilidad de paquetes tecnológicos generados por las instituciones del estado como Fondo para el Desarrollo Pesquero (Fondepes), Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana (IIAP), Universidades entre otras instituciones.

Sin embargo, en los últimos años en la región Loreto se vienen registrando casos de infestaciones producidas por ectoparásitos, principalmente, monogeneos⁴⁻⁸, copépodos^{9,10} y protozoarios^{4,11}; llegando a registrarse en algunos casos altas mortalidades en los cultivos^{9,10}. Recientemente se registraron 30% de mortalidad en cultivo de juveniles para *Colossoma macropomum* debido a una elevada infestación por protozoario *Piscinoodinium pillulare*¹². Los ectoparásitos presentes en las branquias de *Colossoma macropomum* generan trastornos inflamatorios, fusión lamelar, hiperplasia del epitelio, atrofia lamelar, entre otros trastornos¹³.

Actualmente, para el control de los ectoparásitos que afectan a los peces negativamente se vienen utilizando diversos productos sintéticos como: negovon⁽¹⁴⁾, formalina(formol)^{15,16} permanganato de potasio¹⁵, verde de malaquita¹⁶, sulfato de cobre¹⁷, Parazinquantel, Levamisol^{17,18}, mebendazol¹⁹,

eugenol²⁰, etc. Sin embargo, estos productos sintéticos pueden ser perjudiciales para los peces, porque los residuos químicos se acumula en tejidos de los organismos y contaminan el ambiente acuático²¹⁻²³.

A nivel mundial hay una tendencia para el empleo de fitoterapéuticos para el control de parásitos en cultivo de peces en ambientes controlados; siendo Brasil uno de los países de la cuenca amazónica quien viene investigando el empleo de fitoterapéuticos, mediante extracto acuoso, aceite esencial, resina y látex. Entre las principales plantas investigadas en Brasil se encuentran: *Lippia*²⁴, *Lippia alba*²⁵, *Lippia origanoides*²⁵, *Lippia sidoides*²⁶, *Mentha piperita*²⁷, *Adenocalymna alliaceu*²⁸, *Chenopodium ambrosioides*²⁹, *Terminalia catappa*³⁰, *Ocimum gratissimum*³¹, *Ficus insipida*³², *Baxia orellana*³³, *Copaefera officinalis*³⁴, *Pterodon emerginatus*³⁴, las cuales demuestran tener efectos antiparasitarios para el control de ectoparásitos y endoparásitos,

En Perú existe una megadiversidad de plantas medicinales con propiedades antiparasitarias y con resultados favorables en el control de parásitos humanos³⁵; sin embargo, son escaso los estudios sobre el uso de plantas medicinales como fitoterapéuticos para el control de ectoparásitos en peces procedentes de piscicultura, principalmente en *Colossoma macropomum*. Asimismo, en Perú las investigaciones sanitarias en cultivo de *Colossoma macropomum* está enfocado a la identificación taxonómica de los parásitos^{36,37}, relación de los factores ambientales³⁸, y algunos estudios sobre efectos patológicos¹³ y hematológicos³⁹.

Una planta que se viene utilizando por presentar diversos efectos medicinales para el control de fiebre, reumatismo y dolor de estómago³⁵ es *Mansoa alliacea* "ajos sacha". Al evaluar aceite esencial de *Mansoa alliacea* se registraron compuestos alildisulfóxido, alcaloides, allina, allicina, disulfuropropilalilo, estigmasterol, flavonas, sulfuro de dialil, sulfuro de dimetilo, sulfuro de divinilo y dos naftaquinonas citotóxicas: 9-matoxy-&-lapachona y 4-hidroxy-9-metoxi-&-lapachona⁴⁰. En cambio, el extracto acuoso presenta compuesto como alcaloides, azúcares reductores, fenoles y taninos⁽⁴¹⁾.

Según, la literatura revisada, el aceite esencial y el extracto acuoso de *Mansoa alliacea* presentan propiedades antibacterianas⁴², antiparasitarias⁴³, insecticidas⁴⁴ y antiinflamatorias; además, actividad alelopáticas⁴⁵. En peces está comprobado que el extracto acuoso de hojas controla a parásitos monogéneos de *Piaractus brachypomus*⁴⁶ y *Otocinclus affinis*⁴³. Recientemente, fue evaluado el extracto alcohólico de *Mansoa alliacea* como estimulante para el desempeño productivo, fisiología e inmunidad de alevinos de *Arapaima gigas*, con resultados positivos⁴⁷.

En general para utilizar un fármaco en el control de patógenos de peces y determinar sus efectos en hospederos, se deben realizar test de toxicidad^{32,48}. Los resultados de test de toxicidad proporcionan información para cada especie, estadio y edad del pez, y grupo de parásito.

Actualmente se desconoce el efecto toxicológico del uso de *Mansoa alliacea* en *Colossoma macropomum*; asimismo, del uso en control de ectoparásitos monogéneos. Por lo que nos planteamos la siguientes preguntas: ¿Cuál será el efecto toxicológico del extracto acuoso y del aceite esencial de *Mansoa alliacea* en alevinos de *Colossoma macropomum*?, ¿Tendrá un efecto antiparasitario el extracto acuoso y aceite esencial de *Mansoa alliacea* contra los ectoparásitos presentes en los alevinos de *Colossoma macropomum*?

En este contexto la presente investigación tuvo como objetivo general, evaluar el efecto toxicológico y antiparasitario del extracto acuoso y aceite esencial de *Mansoa alliacea* “ajo sachá” en el control de ectoparásitos monogéneos de alevinos de *Colossoma macropomum*, una especie de importancia comercial en la piscicultura. Contribuyendo con los resultados el incremento de información del uso de fitoterapéuticos en la acuicultura peruana.

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes

En 2020, desarrollaron una investigación de tipo experimental, nivel explicativo y diseño cuantitativo, que incluyeron como población de estudio a adultos de *Otocinclus affinis*. En la investigación determinaron la concentración letal media (CL₅₀₋₉₆) y la eficacia del formol y extracto acuoso de hojas de *Mansoa alliacea* en el control de parásitos monogéneos y el trabajo concluyó que la CL_{50-96h} fue de 0.1 mL/L para el formol y 14.01 mL/L para el extracto; asimismo, los mejores valores de eficacia fueron registrados en las concentraciones de 0.03 mL formol/L, 1 mL EAHAS/L + 0.02 formol/L y 1 mL EAHAS/L + 0.03 formol/L⁴³.

En 2016, desarrollaron una investigación de tipo experimental, nivel explicativo y diseño cuantitativo, que incluyeron como población de estudio a juveniles de *Colossoma macropomum*. En la investigación determinaron la actividad antiparasitaria del aceite esencial de *Lippia sidoides*, en el control de los monogéneos: *Anacanthorus spathulatus*, *Notozothecium janauachensis* y *Mymarothecium boegeri*. En el trabajo concluyeron que el experimento *in vitro* en las concentraciones de 320 y 160 mg/L expuestos a 10 minutos y 1 hora fueron efectivos al 100% en el control de los monogéneos; asimismo, la concentración de 80 y 40 mg/L expuestos en 3 a 6 horas. Por otro lado, los baños de corta duración de 60 (10 mg/L) y 15 (20 mg/L) minutos en test *in vivo* no fueron efectivos para el control de *Ichthyophthirius multifiliis* y los monogéneos²⁴.

En 2016, desarrollaron una investigación de tipo experimental, nivel explicativo y diseño cuantitativo, que incluyó como población de estudio a alevinos de *Colossoma macropomum*. En la investigación evaluaron el aceite esencial de *Lippia alba* en test *in vivo* e *in vitro* sobre los ectoparásitos de alevinos de *C. macropomum*. En el trabajo concluyeron que las concentraciones de 1280 g/L y 2560 mg/L son eficaces en un 100% en baños

de 20 minutos en test *in vitro*. En el test *in vivo* las concentraciones de 100 mg/L y 150 mg/L registraron eficacia de 40.7% y 50.3% en el control de *Ichthyophthirius multifiliis* y 14% de eficacia en los monogeneos, en peces expuestos a 100 mg/L⁴⁹.

En 2016, desarrollaron una investigación de tipo experimental, nivel explicativo y diseño cuantitativo, que incluyó como población de estudio a los alevinos de *Colossoma macropomum*. En la investigación evaluaron el aceite esencial de *Lippia organoides* en test *in vitro* e *in vivo*, sobre los ectoparásitos, en las concentraciones de 230, 160 y 40 mg/L. En el trabajo concluyeron que la eficacia en el control del 100% de los monogeneos se registra en 20, 60 minutos y 6 horas de exposición en test *in vitro*. En test *in vivo* las concentraciones 20 mg/L (60 minutos) y 40 mg/L (30 minutos) registraron baja eficacia en el control de los monogeneos (*Anacanthorus spathulatus*, *Notozothecium janauachensis* y *Mymarothecium boegeri*) y del protozooario (*Ichthyophthirius multifiliis*). Asimismo, observaron que el aceite esencial de *Lippia organoides* causa efecto anestésico en los peces²⁵.

En el 2016, desarrollaron una investigación de tipo experimental, nivel explicativo y diseño cuantitativo, que incluyó como población de estudio a los alevinos de *Arapaima gigas*. En el trabajo evaluaron el efecto antihelmíntico del aceite esencial de *Mentha piperita* (0, 80 160 y 320 mg/L) en el control de *Dawestrema cycloancistrum* y *Dawestrema cycloancistrioides*. En el trabajo concluyeron que la eficacia depende de la dosis; asimismo, la concentración letal (CL50-4h) registrada fue de 38 mg/L, siendo la concentración de 20 mg/L donde no registró mortalidades²⁷.

En 2009, desarrollaron una investigación de tipo experimental, nivel explicativo y diseño cuantitativo, que incluyó como población de estudio a alevinos de *Piaractus brachypomus*. En la investigación evaluaron la eficacia de los extractos acuosos de hojas de *Manso alliacea* “ajo sachá”, *Croton lechleri* “sangre de grado”, *Piper aduncum* “cordoncillo” y *Spondias mombin* “uvos” en control de monogeneos de *Anacanthorus* sp. de *Piaractus brachypomus* y en el trabajo concluyeron que la concentración 120 ml del extracto acuoso de *Mansoa alliacea* es eficaces en el control de los

monogéneos a diferencia de las otras plantas; asimismo, registraron 100% de sobrevivencia de los alevinos después de los bioensayos⁽⁴⁶⁾.

1.2 Bases teóricas

1.2.1 *Colossoma macropomum* y estadísticas de producción

Colossoma macropomum está distribuida en la cuenca del Amazonas y del Orinoco⁵⁰, en los países de Bolivia, Brasil, Colombia, Perú, Ecuador, Guayana y Venezuela^{1,51}. En Perú se encuentra en diferentes ríos de la región Loreto y Ucayali⁵¹. En ambientes naturales puede llegar a pesar 30 kg y medir 100 cm de longitud⁵², siendo considerado el segundo pez de escama de mayor tamaño en Suramérica

El cuerpo de *Colossoma macropomum* tiene un comprimido, con coloración negruzca en la región dorsal y verde oscuro a amarillento en la región ventral. En ambiente natural alcanza su madurez sexual a los cuatro años y las hembras producen 100 000 óvulos por cada kilogramo de peso de pez vivo⁵³. Es de hábito alimenticio omnívoro, en estadios de larvas y juveniles consumen zooplancton, los adultos consumen frutos, hojas y semillas⁵¹.

La clasificación taxonómica de *Colossoma macropomum* se describe en la tabla 1.

Tabla 1. Clasificación taxonómica de *Colossoma macropomum*

Reino	Animalia
Phylum	Chordata
Clase	Actinopterygii
Orden	Characiformes
Familia	Serrasalminidae
Genera	<i>Colossoma</i>
Especie	<i>Colossoma macropomum</i>
Nombre común	Cachama

La extracción del recurso *Colossoma macropomum* del ambiente natural en la región Amazónica disminuyó drásticamente (1984 a 2007),

debido a la mayor presión de pesca⁵⁴. En este contexto, se ha promovido el cultivo de *Colossoma macropomum* en ambientes controlados (piscicultura), siendo densidad de siembra de 1 a 2 peces/m². Para el engorde se utiliza peces de 30 a 50 g. Los peces de aproximadamente 3 g tienen que pasar por una precría con un tiempo de duración de 45 a 60 días, siendo alimentados con alimento balanceado con elevado contenido de proteína, en forma “*ad libitum*”⁵³. En estanque de tierra *Colossoma macropomum* puede vivir y alimentarse a temperatura de 25 a 30 y oxígeno de 3 a 5 mg/L⁵⁵.

La piscicultura en la Amazonía peruana está representada por cinco especies de peces, tres de hábitos omnívoros (*Piaractus brachypomus* “paco”, *Colossoma macropomum* “gamitana” y *Prochilodus nigricans* “boquichico”) y dos de hábitos carnívoros (*Arapaima gigas* “paiche” y *Brycon cephalus* “sábalo”). Siendo *Colossoma macropomum* y *Piaractus brachypomus* las especies principales en la producción acuícola en la Amazonia; según, los datos estadísticos del ministerio de producción (PRODUCE), entre los años 2009 y 2018 (Gráfico 1 y 2) las dos especies mencionadas registraron una producción de 7 515 TM y 7 524 TM, incrementándose la producción de *Piaractus brachypomus* a partir del 2015 (Gráfico 2). Por el contrario, *Colossoma macropomum* registró un descenso de más del 40% el año 2018 (952 TM) en comparación con la producción del 2016 (1863 TM)⁵⁶

Colossoma macropomum se viene cultivando en seis regiones del Perú, siendo el departamento de Loreto el principal productor, seguido del departamento de San Martín, el cual tiene una tendencia a seguir incrementando su producción.

Ámbito / Especie	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Total	44 317	89 021	92 201	72 293	125 693	115 269	90 976	100 191	100 455	134 355
Continental	14 837	17 320	23 609	29 564	40 068	38 683	45 758	58 771	61 028	70 164
Boquichico	27	36	15	35	56	6	9	31	58	29
Camarón Gigante de Malasia	11	15	13	11	20	78	21	34	26	29
Carachama	1	22	6	7	10	5	4	9	6	3
Carpa	15	19	8	19	6	2	4	4	5	4
Gamitana	564	680	522	453	531	504	299	1 863	1 047	952
Paco	75	101	130	299	443	453	825	1 390	1 624	2 184
Pacotana	12	3	12	17	15	9	219	11	35	14
Paiche	3	48	422	637	94	55	135	142	218	295
Tilapia	1 261	2 013	2 423	3 174	3 840	4 610	3 250	2 950	3 042	2 164
Trucha	12 817	14 250	19 962	24 762	34 992	32 923	40 946	52 245	54 878	64 372
Sábalo	49	114	95	46	58	37	33	87	84	113
Otros	2	19	0	102	3	1	12	4	6	4

Gráfico 1. Producción de recurso hidrobiológico procedentes de acuicultura continental en Perú, según especies, 2019 – 2018 (TM)⁵⁶

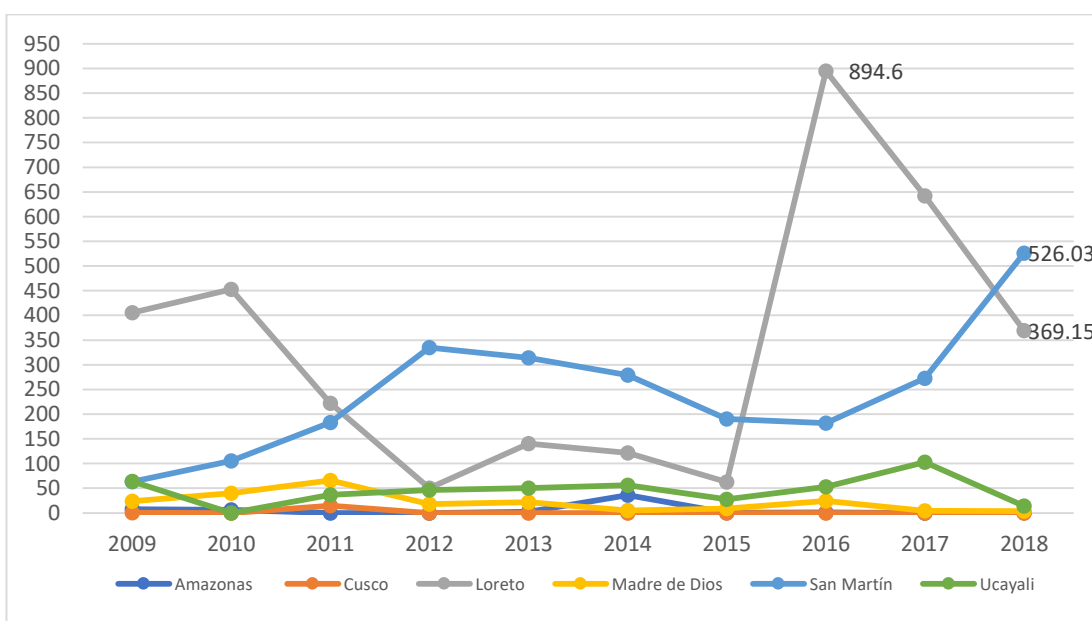


Gráfico 2. Producción de *Colossoma macropomum*, según departamento, 2019 – 2018 (TM)⁵⁶.

En Perú el incremento de la producción de *Colossoma macropomum* se debe al desarrollo de protocolos para reproducción inducida, la cual asegura la obtención de larvas, postlarvas y alevinos^{57,58}. Asimismo, por la fácil adaptación al cautiverio, aceptación de raciones comerciales, rusticidad

en el manejo, resistencia a enfermedades, dominio de su ciclo de vida y alimento balanceado⁵⁹.

1.2.2 Ectoparásitos en *Colossoma macropomum*

En especímenes de *Colossoma macropomum* procedentes de ambientes naturales y controlados se han registrado especies de ectoparásito, perteneciente a cinco filos (Platyhelminthes, Ciliophora, Myxozoa, Mastigophora e Arthropoda). En el filo Platyhelminthes se registraron a diez especies de monogeneos, *Anacanthorus penilabiatus* Boeger, Husak e Martins (1995), *Anacanthorus spathulatus* Kritsky, Thatcher e Kayton (1979), *Linguadactyloides brinkmanni* Thatcher & Kritsky (1983), *Mymarothecium boegeri* Cohen e Kohn (2005), *Notozothecium euzeti* Kritsky, Boeger & Jégu (1996), *Notozothecium janauachensis* Belmont-Jégu, Domingues & Martins (2004), *Mymarothecium peruvianus* Cayulla (2019), *Mymarothecium tambopatensis* (2019), *Mymarothecium iiapensis* Morey, Aliano & Grandez (2019). En la tabla 2, se muestra los ectoparásitos de *Colossoma macropomum* registrado en Perú.

Tabla 2. Especies de ectoparásitos de *Colossoma macropomum* registrados en diferentes localidades en Perú.

Especies	Localidad (Dpto.)	Referencia
Monogeneos		
<i>Anacanthorus penilabiatus</i>	Madre de Dios	Cayulla, 2018 ³⁷
<i>Anacanthorus</i> sp.	Loreto	Vargas <i>et al.</i> , 2016 ¹³
<i>Anacanthorus spathulatus</i>	Loreto, San Martín y Madre de Dios	Sánchez <i>et al.</i> , 2009 ⁶⁰ ; Soberón <i>et al.</i> , 2014 ³⁹ ; Arbildo <i>et al.</i> , 2016 ³⁶ ; Cayulla, 2018 ³⁷ , López ⁶¹
Dactylogyridae	Loreto	Bances <i>et al.</i> , 2013 ³⁸ ; Alcántara <i>et al.</i> , 2015 ⁶²
<i>Dactylogyrus</i> sp.	Ucayali y Loreto	Paredes, 1983 ⁶³ ; Tantaleán <i>et al.</i> , 1985 ⁶⁴
<i>Linguadactyloides brinkmanni</i>	Loreto	Sánchez <i>et al.</i> , 2009 ⁶⁰ ; Arbildo <i>et al.</i> , 2016 ³⁶
<i>Mymarothecium</i> sp 1.	Loreto	Arbildo <i>et al.</i> , 2016 ³⁶
<i>Mymarothecium iiapensis</i>	Loreto	Murrieta <i>et al.</i> , 2019 ⁶⁵
<i>Mymarothecium peruvianus</i>	Madre de Dios	Cayulla, 2018 ³⁷
<i>Mymarothecium</i> sp. 2	Loreto	Arbildo <i>et al.</i> , 2016 ³⁶
<i>Mymarothecium tambopatensis</i>	Madre de Dios	Cayulla, 2018 ³⁷

Especies	Localidad (Dpto.)	Referencia
Monogeneos	Madre de Dios	Cayulla, 2018 ³⁷
<i>Mymarothecium tantaliani</i>	Madre de Dios	Cayulla, 2020 ⁶⁶
Protozoarios		
Myxobolidae	Loreto	Bances <i>et al.</i> , 2013 ³⁸
<i>Ichthyophthirius multifiliis</i>	Loreto	Murrieta <i>et al.</i> , 2018 ⁶⁷
<i>Piscinoodinium</i> sp.	Loreto	Vargas <i>et al.</i> 2015 ⁶⁸
<i>Piscinoodinium pillulare</i>	Loreto	Arbildo <i>et al.</i> , 2020 ⁶⁹
Copépodos		
<i>Ergasilus</i> sp.	Loreto	Vargas <i>et al.</i> , 2015 ⁶⁵
<i>Gamidactylus jaraquensis</i>	San Martín	López, 2020 ⁶¹
<i>Neoergasilus japonicus</i>	San Martín	Marques <i>et al.</i> , 2018 ⁷⁰
<i>Perulernea gamitanea</i>	Loreto	Paredes, 1983; Mathews <i>et al.</i> , 2011 ⁷¹ ; Arbildo <i>et al.</i> , 2019 ⁹

Dentro de los ectoparásitos que generan grandes pérdidas económicas en cultivo de *Colossoma macropomum* se encuentran, parásitos monogeneo. Estos monogeneos son parásitos platelmintos, la mayoría de las especies son ectoparásitos y algunos endoparásitos; tienen como principal hospedero a los peces, y unos cuantos pueden parasitar el tracto digestivo y la vejiga urinaria de quelonios y anfibios. Algunas especies han sido reportadas como ectoparásitos de crustáceo e hipopótamo⁷².

Los parásitos monogeneos en peces de agua dulce y marinos pueden localizarse en la piel, aletas, y branquias¹⁵; tienen un ciclo de vida directo y no necesitan hospederos intermediarios; en altas densidades de cultivo se multiplican rápidamente¹⁵. En peces de agua dulce la familia Gyrodactylidea y Dactylogiridae son las predominantes, siendo su producción vivíparos y ovíparos^{73,74}. En la ilustración 1, se muestra el ciclo de vida de los monogeneos ovíparos.

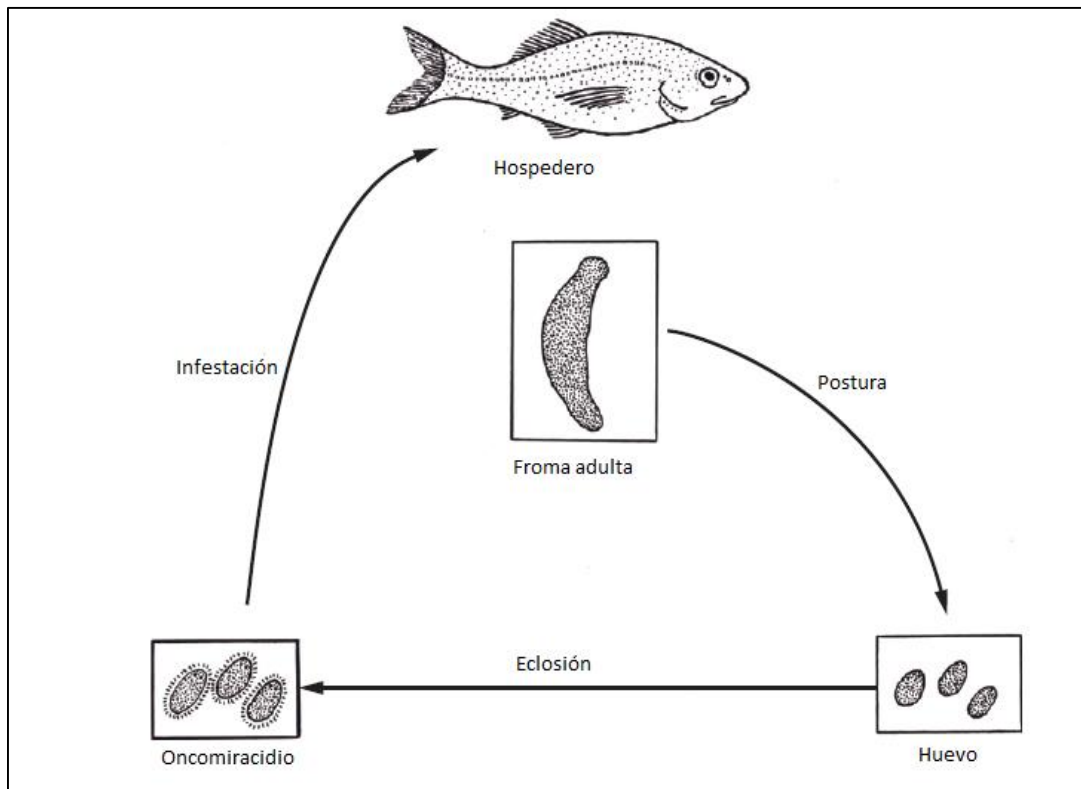


Ilustración 1. Ciclo de vida de los monogeneo ovíparo ⁷⁴

La característica principal de los monogeneos es el haptor que es un órgano de fijación, la cual está formado por ganchos, barras, ancla; que son estructuras esclerotizadas y de importancia en identificación taxonomía para llegar a especie^(3,75).

El grado de patogenicidad de parásitos monogeneos está relacionada con: la especie de parásito, local de infestación, número de individuos colectados en los peces y tipo de alimentación¹⁵. La mayoría de las especies se alimentan de mucus y células epiteliales, sin embargo, otras especies pueden alimentarse de sangre⁷³. El monogeneo *Anacanthorus spathulatus* produce una respuesta inflamatoria muy leve⁷⁶, en otros casos puede inducir la disminución de la capacidad respiratoria del hospedero⁷⁷; mientras que, *L. brinkmanni* estimula el desarrollo de un proceso inflamatorio severo, rico en macrófagos y linfocitos, existiendo una relación entre el parásito y el tejido⁷⁶.

1.2.3 *Mansoa alliacea* “ajo sacha”

A) Aspecto botánico y distribución

Mansoa alliacea es un arbusto que puede medir más de 3 m de altura, tiene color característico a ajos o cebolla. Las hojas son bifolioladas, con folíolos abovados y zarcillo trífido³⁵, inflorescencia axilares en forma de racimos o panículas⁷⁸ (Ilustración 2). El periodo de floración ocurre de 2 a 20 días, y sin ocurrencia de la fructificación⁷⁹. *Mansoa alliacea* se encuentra ubicado taxonómicamente en⁸⁰:

- **Reino** : Plantae
- **División** : Tracheophyta
- **Clase** : Magnoliopsida
- **Orden** : Lamiales
- **Familia** : Bignoniaceae
- **Tribu** : Bignonieae
- **Género** : *Mansoa*
- **Especie** : *M. alliacea* (Lam.) A.H. Gentry
- **Nombre común** : Ajo sacha (Perú y Ecuador), cipo-d'alho, cipo-alho, cipó-de-Alho, alho– damata (Brasil), y bejuco de ajo (Venezuela)⁸¹.

Mansoa alliacea, se encuentra distribuida en Sudamérica Tropical, Brasil, Ecuador, Perú, Guyana y Costa Rica. En Perú, se puede encontrar en los departamentos de Amazonas, Huánuco, Loreto, San Martín³⁵.



Ilustración 2. Arbusto de *Mansoa alliacea* localizado en la Reserva Nacional Allpahuayo Mishana-RNAM.

B) Usos

Mansoa alliacea es utilizada como medicina tradicional en Amazonia, siendo aprovechada corteza, hojas, tallo y raíz^{82,83}, para el tratamiento de reumatismo, artritis, presión arterial, contra arteriosclerosis, fiebre, dolor de cabeza, tónico^{35,83}. Asimismo, tiene actividad biológica como antioxidante, antifúngica, antibacterial, antiinflamatorio, larvicida, antiplasmodial⁸¹.

C) Composición fitoquímica

Mansoa alliacea presenta 76.1% de humedad, 7.9% de proteína, 1.3% de extracto etéreo, 2.8% de ceniza, 10.9% de fibra cruda y 11.8% de carbohidratos⁽⁸⁴⁾. Asimismo, contiene vitamina C (3.3 mg/100g) y minerales como Se, Cr, Ca, Na, Fe, K, Mn, Mg, Zn, Cu, Cr, Ni, Cd, Hg y As^{84,85}.

En general el extracto de hojas de *Mansoa alliacea*, contiene flavonoides, alcaloides, taninos y fenoles, saponinas, quinonas, esteroides, carbohidratos, lignina^(86,87). Para el extracto hidroalcohólico y butanílico registraron la presencia de los fenoles, ácido gálico y ácido cafeico⁸⁸; teniendo estos ácidos funciones antioxidantes. Las raíces contienen estigmasterol y el γ -sitosterol

como principales esteroides⁸⁹. Asimismo, en el extracto hidroalcohólico, presenta azúcares reductores, alcaloides, esteroides y tripterpenos, proteínas, aminoácidos, saponina espumídica y taninos⁷⁹.

Se ha comprobado que los extractos de hojas de *Mansoa alliacea* obtenido mediante diferentes solventes presentan variaciones en su composición y cantidad, con alcohol etílico se obtiene mayor cantidad de metabolitos secundarios, con agua se registra fenoles y tanino⁴¹. En la tabla 3 se muestra los compuestos presentes en diferentes extractos obtenidos con diferentes solventes.

Tabla 3. Composición fitoquímica de hojas *Mansoa de alliacea* según solvente utilizado en la elaboración del extracto.

País	Extracto	Compuestos secundarios	Referencia.
Perú	Extracto de Éter etílico	Alcaloides (+), Tripterpenos y/o Esteroides (++)	41
Perú	Extracto alcohol etílico	Esteroides (+), Resina(+), Azúcares reductores(+), Saponinas de tipo esteroideal y tripterpenos (+), Fenoles y taninos (+), Aminoácidos libres o aminos (+++)	41
Perú	Extracto acuoso	Alcaloides (++) , Tripterpenos y/o Esteroides (+), Azúcares reductores(+), Fenoles y taninos (+++)	41
Brasil	Extracto etanólico en bruto	Taninos, alcaloides, flavonoides, tripterpenos*, esteroides*, saponinas y cumarinas.	90i
India	Extracto acuoso	Flavonoides, alcaloides, taninos, fenoles, esteroides, carbohidratos, glúcidos, aminoácidos, proteínas	91
India	Extracto acuoso	Alcaloides, taninos, fenol, flavonoides, glúcidos, quinona, lignina	86
India	Extracto etanólico	Alcaloides, flavonoides, taninos, fenoles, quinona	87
India	Extracto etanólico	Azúcares reductores, taninos, carotenoides, esteroides, tripterpenos, derivados de cumarina, saponina espumídica, alcaloides	80
India	Extracto alcohólico	Flavonoides, alcaloides, taninos, fenoles, carbohidratos, glúcidos, aminoácidos, proteínas	91
India	Extracto cloroformo	Alcaloides, esteroides.	91
India	Extracto etanólico	Alcaloides, flavonoides, taninos, fenoles y quinona	87

* Leyenda: leve (+) modera (++) , abundante (+++), * inclusivo; ¡*Mansoa* sp.

Referente a la composición del aceite esencial de *Mansoa alliacea*, se han registrado hasta 26 compuestos lo que representa el 99.98%, siendo los compuestos sulfurado lo que tienen mayor proporción, como se muestra en la tabla 4.

El aceite esencial de *Mansoa standleyi* obtenido mediante la hidrodestilación, destilación y extracción simultánea del material en natural, secado al sol y estufa, hay mayor cantidad cuando se obtiene del material natural, no existe influencia el secado al sol y estufa; presentando una variación cuantitativa con relación a las técnicas de extracción y secado. El aceite esencial de hojas de *Mansoa standleyi*, colectado de diferentes zonas del estado de Pará en Brasil, son diferentes en composición cuantitativamente

Tabla 4. Composición fitoquímica del aceite esencia de hojas de *Mansoa alliacea*

País	Metabolitos secundarios	Referencia.
Ecuador	Dialil trisulfuro (70.18%); disulfuro, di 2-propenil (13.28%); dialil tetrasulfuro (9.22%); fitol (1.99%); trisulfuro, metil 2-propenil (2.02%); 3-Venil-1.2-ditiociclohex-5-ene (0.51%)	93
Brasil	Oct-1-en-3-ol (26.2%); Dissulfeto de dialila (17.2%); Trissulfeto de dialila (14.8%); Álcool Benzílico (13.9%); Butil propenil sulfeto (10.3%); Salicilato de metila (13.9%)	90+
Perú	Alil trisulfito (67.94%); Dialil trisulfuro (19.42%); tetrasulfito, di-2-propenil (5.46%), Metano (metil sulfinil) (metiltio) (2.51%); 2,4-Ditiopentano (metil sulfito) (1.54%); hidroperóxido, 1,4-dioxan-2-yl (0.50%); 1,2- Ditiolano (0.44%);1-Butanamina, N-metil-N-nitro (0.40%); ácido piridoxinico (0.19) y trazas (otros compuesto	42
Brasil	Dialil trisulfuro (67.94%)	43
México	2-Butenal, 2-methyl (0.66%); 1,5-Cyclooctadiene, 3,4-dimethyl (1.42%); Diallyl sulfide (11.77%); Catecholborane (1.89%); 3-Chloropropionic acid, 2-phenylet (1.71%); 1-Octen-3-ol (4.89%); 1-Ethynylcyclopentanol (0.56%), 3-Octanol (2.27%); Pyridine, 5-ethyl-2-methyl- (0.99%); 1,3-Dithiolane, 2,2-dimethyl (1.22%); γ-Terpinene (0.62%); Diallyl disulphide (50.05%); Crotonic acid, 4-mercapto-3-methy (1.46%); 1-Oxa-4,6-diazacyclooctane-5-thione (2.01%); (Methylthio)-acetoneitrile (1.14%); Thiophene, 2,4-dimethyl (1.80%); Hydrazinecarbodithioic acid, 1-met (0.35%); 3-Vinyl-1,2-dithiacyclohex-5-ene (1.35%); Isobutyl isothiocyanate (0.29%); Safrole (0.44%); Trisulfide, di-2-propenyl (10.37%); 5,6-Diamino-1,3-dimethyluracil (0.41%); Tetrasulfide, di-2-propenyl (1.52%); 5-Ethylthiazole (0.31%); 2-Mercapto-4,5-dimethylthiazole (0.21%); Propanedioic acid, methyl-, bis(trimethylsilyl) ester (0.27%)	44

* Leyenda: * cinco compuestos que representan el 97.07%; **tres compuestos organosulfurados, *** cinco compuestos son sulfurados; + *Mansao* sp.

Compuesto sulfurado Alicina

La alicina se emplea para el tratamiento de hongos e inhibe el crecimiento de bacterias, debido a su actividad antioxidante, provocando una reacción instantánea por el grupo tiol libre, lo que permite penetrar fácilmente células y desactivando sus enzimas²⁷. La alicina bloquea la síntesis de fosfatidilcolina, mediante la acumulación fosfatidiletanolamina que es precursor, alternando la estructura celular y dando como resultado la muerte⁹⁴.

La alicina es un sulfurado del ajo, responsable del olor característico y actúa como defensa contra los agresores; se produce cuando el ajo es rota o quebrada, las membranas que aíslan alicina de la alinasa presente en el ajo y en contacto permite la formación de ácido sulfénico intermediario responsable en la reacción²⁷. La alicina es inestable y se transforma en diferentes compuestos sulfuro y óxidos de azufre

D) Actividad biológica

▪ Antibacteriano

El extracto de *Mansoa alliacea*, obtenidos mediante diferentes solventes (cloroformo, etanol, y agua), mostraron actividad antibacteriana frente a *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, los resultados fueron dependiente de la concentración y la especie en estudio⁹⁵.

El extracto etanólico y extracto hidroalcohólico de hojas de *Mansoa alliacea*, no fueron efectivos como antibacterianos para cepas de *Escherichia coli* ATCC 35218 y *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, atribuyéndose los resultados a diferencia de composición de los extractos, pudiendo los taninos y fenoles mostrar actividad antiséptica⁹⁶. Por otro lado, extracto hidroalcohólico, mostró actividad bacteriostática (*S. aureus*, *Salmonella* spp. y *E coli*) y bactericida (*E. coli*)⁹⁷.

El aceite esencial de hojas de *Mansoa alliacea* mostró actividad antibacteriana frente a bacterias Gram positivas, *Staphylococcus aureus* y

Bacillus subtilis, registrándose un porcentaje de inhibición del 87.11 y 100% en las concentraciones de 10 y 20 mg/L del aceite esencial, atribuyéndose el resultado a los compuestos sulfurados como el alil trisulfito, dialil disulfito, tetrasulfito y metil sufinil, principios activos y de mayor porcentaje en el aceite esencial⁴².

- **Antimicótico**

La concentración de 4% del extracto metanólico de las hojas de *Mansoa alliacea* macerado en metanol tuvo actividad antifúngica en el control *in vitro* de *Colletotrichum acutatum*, atribuyéndose la efectividad a los compuestos como fenoles y alcaloides presentes⁹⁸.

- **Alelopática**

El extracto hidroalcohólico y aceite esencial de hojas de *Mansoa alliacea* mostraron tener actividad alelopática en el *Mimosa púdica*, la cual fue inhibidor de la germinación; mientras, que el aceite fue más específicos, inhibiendo el desarrollo de radícula y hipocótilo, ejerciendo actividad alelopática los compuestos sulfurado como el di sulfito de dialila y trisulfito de dialila, individualmente o en asociación⁴⁵.

1.2.4 Efectos toxicológicos

Las concentraciones que se utilizan en el control de parásitos, pueden ser cercanas a las concentraciones letales para los peces. Por eso, se deben conocer la Concentración Letal Media (CL₅₀) de las sustancias, antes de aplicarse la profilaxis o tratamiento. Por otro lado, la aplicación de cada producto es específica para cada especie, edad y clase de parásito⁹⁹.

Como es de esperarse, los valores de CL₅₀ varían con la temperatura de experimentación y el nivel de oxígeno disuelto en el agua. La hipoxia puede aumentar la toxicidad de un compuesto, aunque en algunas especies sucede lo contrario. El aumento de temperatura incrementa la tasa metabólica³⁸.

El cloruro de sodio, no fue efectivo en el control de monogeneos de *Colossoma macropomum*, al evaluarse su uso. Sin embargo, elevó los niveles

de glucosa plasmática (6 y 8 g NaCl/L por 1 y 2 horas) y cloruro plasmático (4gNaCl/L por 2 horas)⁷⁵.

Al utilizarse extractos elaborados mediante diferentes solventes, para determinar la concentración letal media para *Artemia salina* en ensayo *in vitro*, determinaron que la CL₅₀₋₉₆ del extracto acuoso fue de 96.34 mL/L (292.53 – 31.754), CL₅₀₋₉₆ del extracto etéreo fue de 80.08 mL/L (198.89 – 35.06) y CL₅₀₋₉₆ del extracto etanólico fue de 39.79 mL/L (91.12 – 17.18)⁽⁴¹⁾. Por otro lado, en *Otocinclus affinis* la CL₅₀₋₉₆ extracto acuoso fue de 14.01 mL/L; mientras, que en *Piaractus brachypomus* no se pudo determinar la concentración letal media, al evaluarse las concentraciones 40, 60, 80, 120 y 160 mL/L, recomendándose elevar las concentraciones⁴³.

En *Colossoma macropomum* los valores de las concentraciones letales depende del tipo de fitoterapéuticos o químico, del constituyente a evaluarse (extractos acuosos y aceites esenciales) y del tiempo, como se muestra en la Tabla 5.

Tabla 5. Concentraciones letales de diferentes fitoterapéuticos registrados en *Colossoma macropomum*

Planta	Constituyente	Concentración letal	Referencias
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	Extracto acuoso	CL _{50-24h} = 2.6 mL/L	Monteiro, ²⁹
<i>Terminalia catappa</i>	Extracto acuoso	CL _{50-24h} = 208.52 mL/L	Claudio <i>et al.</i> , ³⁰
<i>Croton lechleri</i>	Extracto acuoso	CL _{50-96h} = 112 mL/L	Henostroza <i>et al.</i> , ¹⁰⁰
<i>Spondias mombin</i>	Extracto acuoso	CL _{50-96h} = >160 mL/L	Henostroza <i>et al.</i> , ¹⁰⁰
<i>Piper aduncum</i>	Extracto acuoso	CL _{50-96h} = >160 mL/L	Henostroza <i>et al.</i> , ¹⁰⁰
<i>Mentha piperita</i>	Aceite esencial	CL _{50-4h} =79.54 ml/g	Ferreira <i>et al.</i> , ¹⁰¹
<i>Lippia organoides</i>	Aceite esencial	CL _{50-96h} = 15.2 mg/L	Oliveira <i>et al.</i> , ¹⁰²

1.2.5 Tratamiento en peces

Los principios activos y cantidad presentes en las plantas aromáticas, medicinales y condimentales, depende del método de secado y la velocidad de la temperatura. Se recomienda temperatura de 50° a 60 °C para el secado de las plantas¹⁰³.

Los medicamentos utilizado para el control de parásito de peces pueden aplicar mediante baños fitoterapéuticos (inmersión, corta duración, larga duración), administración en el alimento y aplicación de inyecciones 99,104.

La actividad antihelmíntica puede ser comprobada mediante estudios *in vitro* o *in vivo*. Para evaluar la actividad antihelmíntica de extractos de plantas se deben considerar factores como: tipo de extracto, parte de la planta utilizada, concentración o dosis, vía de administración, bioensayo utilizado, especie animal infectada y la especie de parásito^{105, 106}.

Según la revisión de literatura para el control de monogeneos e *Colossoma macropomum* se ha utilizados fitoterapéuticos (*Chenopodium ambrosioides*, *Ocimum gratissimum*, *Lippia alba*, *Mentha piperita*, *Ficus insipida*, *Lippia sidoides*, *Ocimum gratissimum*, *Cymbopogon citratus*, *Bixa orellana*, *Copaifera officinalis*, *Pterodon emerginatus* (Tabla 6) y sustancias químicas (paraziquantel, sulfato de cobre (CuSO₄), levamisol, eugenol, mebendazol y lavimasol) (Tabla 7).

Tabla 6. Principales plantas utilizadas fitoterapéuticos para el control de ectoparásitos en *Colossoma macropomum*

Parásito	Fitoterapéuticos		Tratamiento			Resultado	Referencias
	Planta	Constituyente	Vía	Periodo	Dosis		
Monogenea	<i>Chenopodium ambrosioides</i>	Extracto acuoso	-	60 minutos	3.9 mg/ml	46.8% eficacia	de Monteiro, 2012 ²⁹
Monogenea	<i>Ocimum gratissimum</i>	Aceite esencial	-	15 minutos	15 mg/L	100% eficacia	de de Lima <i>et al.</i> , 2016
<i>Anacanthorus spathulatus</i> <i>Notozothecium janauachensis</i> <i>Mymarothecium boegeri</i>	<i>Lippia alba</i>	Aceite esencial	-	30 minutos	100 a 150 mg/L	No recomienda su uso	Soares <i>et al.</i> , 2016 ⁴⁹
<i>Piscinoodinium pillulare</i>	<i>Mentha piperita</i>	Aceite esencial	Baños	10 minutos (3 veces) intervalos de 24h	20 y 40 mg/L	63.22 y 79.91%	Ferreira <i>et al.</i> , 2019 ¹⁰¹
<i>Anacanthorus spathulatus</i> <i>Notozothecium janauachensis</i> <i>Mymarothecium boegeri</i> <i>Linguadactyloides brinkmanni</i>	<i>Ficus insipida</i>	Látex	-	2 horas (tes <i>in vitro</i>)	1000 µL/L	100% eficacia	de Gonzales <i>et al.</i> , 2019 ³²
Monogenea <i>Ichthyophthirius multifiliis</i>	<i>Lippia sidoides</i>	Aceite esencial	Baños	60 minutos 15 minutos	10 mg/L 20 mg/L	No fueron eficaces	Soares <i>et al.</i> , 2016 ²⁶
Monogenea	<i>Ocimum gratissimum</i>	Aceite esencial	Baños	15 minutos (7 días consecutivos)	10 mg/L	93-75%	Miranda <i>et al.</i> , 201 ¹⁰⁷
Monogeneo	<i>Cymbopogon citratus</i>	Aceite esencial	Baños	20 minutos	60 mg/L	47.1% eficacia	Gonzales <i>et al.</i> , 2020 ¹⁰⁸
Monogeneos <i>Ichthyophthirius multifiliis</i> <i>Piscinoodinium pillulare</i>		Extracto acuoso	Baños	7 días	120 mL/L	Eficaces	Claudioano <i>et al.</i> , 2009 ³⁰
<i>Anacanthorus spathulatus</i>	<i>Baxia orellana</i>	Extracto con acetona	Baños	4 horas (tes <i>in vitro</i>)	250 µg/L500 µg/L	90%	de Andrade <i>et al.</i> , ³³

Parásito	Fitoterapéuticos		Tratamiento			Resultado	Referencias
	Planta	Constituyente	Vía	Periodo	Dosis		
Monogeneos	<i>Copaifera officinalis</i>	Nanoemulsión de aceite resina	Baños (<i>in vitro</i>)	15 minutos	200 y 300 mg/L	100% eficacia	de Valentin 2017 ³⁴
Monogeneos	<i>Pterodon emerginatus</i>	Nanoemulsión de aceite esencial	Baños (<i>in vitro</i>)	15 minutos	400 a 600 mg/L	100% eficacia	de Valentin 2017 ³⁴
Monogeneos	<i>Lippia grata</i>	Aceite esencial	Baños	3 días (30 minutos)	700 ,g/L	95.1%	Barriga et al., 2020

Tabla 7. Principales quimioterapéuticos sintéticos para el control de ectoparásitos en *Colossoma macropomum*

Parásito	Fitoterapéuticos		Tratamiento			Resultado	Referencias
			Vía	Periodo	Dosis		
Monogenea	Paranzigantel		Baño	24 h	12.5 mg/L	61.8% eficacia	de Maciel, 2009
<i>Anacanthorus spathulatus</i>	Sulfato de cobre (CuSO ₄)		Baño	48 h	4.37 mg/L	99.3% eficacia	de Tavares-Días <i>et al.</i> , 2011 ¹⁰⁹
Monogenea	Levamisol		Baño	24 h	125 mg/L	88.2% eficacia	de Alvez <i>et al.</i> , 2018 ¹⁸
Monogeneo	Eugenol		Baño	60 minutos	10 mg/L	81% de eficacia	Miranda <i>et al.</i> , 2009 ²⁰⁾
Monogeneos	Mebendazol		Alimento	7 días (2 veces al día)	1 g/kg de ración	Promueve la reducción de monogeneos	de Araujo <i>et al.</i> , 2006 ¹⁹
Monogenea	Lavimasol		Alimento	14 días	0.5 g/kg de reacción	84.1% de eficacia	de Nogueira <i>et al.</i> , 2009 ¹⁷

1.3 Definición de términos básicos

- **Aceite esencial:** Son componentes líquidas volátiles, producidos por el metabolismo secundario de las plantas¹¹⁰, se utilizan para la industria farmacéutica, alimentos y cosmética, debido a su aroma que contiene.
- **Efecto toxicológico.** La respuesta tóxica corresponde a cualquier desviación funcional normal del organismo que ha sido producida por la exposición a sustancias tóxicas, se manifiesta por cambios morfológicos¹¹¹.
- **Efecto antiparasitario.** Efecto de una sustancia contra parásitos
- **Concentración Letal CL₅₀.** concentración de una muestra que causa la mortalidad del 50% de los organismos en un tiempo de exposición, generalmente de 24 a 96h¹¹² y sus resultados son usualmente derivados de análisis estadístico¹¹³.
- **Ectoparásito:** Parásitos externos, que se encuentran en la superficie de los hospederos¹⁵.
- **Hospedero:** Individuo que alberga a los parásitos¹⁶.
- **Fitoterapia:** Utilización de las plantas con fines terapéuticos¹⁵.
- **Terapéuticos:** Conjunto de procedimientos para la curación o tratamiento de una enfermedad¹⁵.

CAPÍTULO II: VARIABLES E HIPÓTESIS

2.1 Variables y su operacionalización

2.1.1. Variables

a) Independiente

- Extracto acuoso de *Mansoa alliacea*
- Aceite esencial de *Mansoa alliacea*

b) Dependiente

- Efecto Toxicológico
- Efecto antiparasitario

2.1.2 Definiciones conceptuales

- **Extracto acuoso de *Mansoa alliacea*:** Sustancia extraída mediante maceración, utilizándose agua como solvente.
- **Aceite esencial de *Mansoa alliacea*:** Compuestos volátiles, extraído por a través de destilación por arrastre con vapor.
- **Efecto Toxicológico:** Capacidad de una sustancia en producir alteraciones estructurales o la muerte del individuo.
- **Efecto antiparasitario:** Capacidad de una sustancia en controlar o producir la muerte de parásitos.

2.1.3 Indicadores e índices

- **Extracto acuoso de *Mansoa alliacea*:** mL/L y 1-400
- **Aceite esencial de *Mansoa alliacea*:** mg/L y 1-400
- **Efecto Toxicológico:** mortalidad de los peces y 50%
- **Efecto antiparasitario:** mortalidad de los ectoparásitos y 0 – 100%

2.1.4 Instrumentos

- Fichas de bioensayo de toxicidad
- Ficha de bioensayo de eficacia
- Ficha ictioparasitológica

2.2 Formulación de la hipótesis

El extracto acuoso y el aceite esencial tendrán un efecto antiparasitario, registrándose una eficacia superior al 60% en la disminución de los ectoparásitos monogéneos presentes en los alevinos de *Colossoma macropomum*

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1 Tipo y diseño de la investigación

Tipo de investigación

El estudio fue una investigación experimental, siendo las variables independientes manipuladas para causar un efecto en las variables dependientes⁽¹¹⁴⁾; en este caso se evaluó el efecto toxicológico, mediante la determinación de la concentración letal media del extracto acuoso y aceite esencial de hojas de *Mansoa alliacea* “ajo sachá” en alevinos de *Colossoma macropomum*; asimismo, el efecto antiparasitario, mediante la eficacia en el control de ectoparásitos monogéneos.

Diseño de investigación

El diseño de investigación fue un enfoque cuantitativo, siendo los datos colectados de los bioensayos toxicológicos y antiparasitarios del extracto acuoso y aceite esencial de *Mansoa alliacea*.

Lugar de ejecución

La investigación se realizó en el Laboratorio de Sanidad Acuícola de la ONG´s Amazon Research Center for Ornamental Fishes (ARCOF), ubicado en la carretera Zungarococha km 0.6, distrito de San Juan Bautista, departamento de Loreto, provincia de Maynas (Anexo 3.1A), entre los meses de agosto a octubre de 2020.

3.2 Población y muestra

Población

La población de peces estuvo constituida por 1000 alevinos de *Colossoma macropomum* (5.2 ± 1.25 g y 5 ± 0.24 cm) presentes en el Centro de Producción de Peces de la empresa Amazon Natural Fish E.I.R.L (ANF), obtenido mediante la reproducción artificial, ubicado en caserío “El Dorado”,

en km 25 de la carretera Iquitos-Nauta (penetración a 700 m aprox.) (Anexo 3.2B).

Muestra

La muestra de los peces fue de 850 alevinos de *Colossoma macropomum*, siendo 260 alevinos para el bioensayo de toxicidad (CL_{50-96h}) y 590 alevinos para los bioensayos de eficacia en el control de ectoparásitos monogéneos.

Criterios de selección de la muestra

Criterio de inclusión:

Alevinos de *Colossoma macropomum* con tallas y pesos homogéneos y que no presenten características de enfermedad.

Criterio de exclusión

Alevinos de *Colossoma macropomum* que presenten trastornos, alteraciones externas o síntoma de alguna enfermedad.

3.3 Técnicas e instrumentos

La investigación se desarrolló en tres etapas: a) trabajo de campo, en la que se realizó la colecta de los alevinos de *Colossoma macropomum* y hojas de *Mansoa alliacea*; b) trabajo en laboratorio, en la que se realizó bioensayos toxicológicos y antiparasitarios; c) trabajo en gabinete, en la que se realizó el análisis de los datos. Para el trabajo de laboratorio se utilizaron técnicas y metodología de análisis químicos, toxicológicos y parasitológicos. El análisis de los datos fue realizado mediante el uso de software estadístico SigmaPlot versión 11 y Statgraphics versión 16.1.15.

3.4 Procedimientos de recolección de datos

3.4.1 Colecta y acondicionamiento de los peces

Los alevinos de *Colossoma macropomum* fueron adquiridos de la empresa Amazon Natural Fish E.I.R.L (ANF) y fueron trasladados a las Instalaciones de la ONG's Amazon Research Center for Ornamental Fish; donde fueron acondicionados en un tanque de mantenimiento de cemento de capacidad de 1m³ de agua, con aeración constante. Los peces fueron alimentados con alimento comercial balanceado de 28% de PB (marca Rico Pez), con una frecuencia de 2 veces al día y tasa de alimentación de 3%, hasta que se inicie los bioensayos de toxicidad y eficacia. Se realizó el recambio de agua cada 2 días, renovando un 50% y limpiando en fondo con la ayuda de una manguera.

3.4.2 Colecta de hojas de *Mansoa alliacea* “ajo sachá” y obtención del extracto acuoso y del aceite esencial

Las hojas de *Mansoa alliacea* fueron colectadas de la Reserva Nacional Allpahuayo Mishana (RNAM), ubicado en km 26, de la Carretera Iquitos-Nauta, del distrito de San Juan Bautista (Anexo 3.1C). Se colectaron hojas frescas, sin parásitos, hongos u otros microorganismos. Una muestra de hojas de *Mansoa alliacea* fue enviado al Herbario de la Universidad Amazonense (AMAZ) de la Nacional de la Amazonía Peruana, para su confirmación e identificación botánica (Anexo 3.2).

Para la preparación del extracto acuoso, las hojas de *Mansoa alliacea* fueron previamente limpiadas con agua y secadas en una estufa entre 45 a 50°C, después fueron molidas en moledor mecánico. La elaboración de extracto acuoso de hojas de *Mansoa alliacea* fue realizado de acuerdo a Claudiano *et al.*,³⁰ (modificado), 10g de hojas molidas de *Mansoa alliacea* fueron colocadas en un litro de agua destilada, en seguida la solución fue homogenizada con ayuda de una varilla de vidrio y permaneció por 48h a temperatura ambiente; después de este periodo, la suspensión fue filtrada con un papel filtro, para la obtención del extracto acuoso (Anexo 3.3).

El aceite esencial fue extraído a través del proceso de destilación por arrastre con vapor, utilizando un equipo destilador. La extracción del aceite esencial de hojas de *Mansoa alliacea* se realizó en la Planta Piloto de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana (UNAP), contando con el apoyo del Blgo. Jorge Angulo Quintanilla, docente de la Facultad de Biología de la UNAP (Anexo 3.3).

3.4.3 Bioensayo toxicológico del extracto acuoso y aceite esencial de hojas de *Mansoa alliacea* “ajo sachá”

Se realizó bioensayos de toxicidad con la finalidad de determinar la concentración media letal (CL_{50-96h}) de los fitoterapéuticos. Para ello, se realizó prueba preliminar de tolerancia y prueba definitiva, para cada fitoterapéutico.

a) Test de prueba preliminar de tolerancia (Anexo 3.4 A).

La prueba preliminar tuvo una duración de 96 horas, utilizándose un número reducido de peces, 30 alevinos para cada fitoterapéutico. Se evaluó 6 concentraciones para el extracto acuoso (0, 50, 100, 200, 400 y 600 mL/L) y 6 concentraciones para el aceite esencial (0, 50, 150, 300, 600 y 900 mg/L), siendo los peces acondicionados en tinas de 5 litros de capacidad a una densidad de 1 pez/ L de agua; cada concentración tuvo una repetición. La prueba preliminar se realizó con el objetivo de determinar los intervalos de concentraciones de los fitoterapéuticos, para observar la mayor concentración que no causa la mortalidad de los peces (0%) y la menor concentración que causa 100% de mortalidad, según IBAMA¹¹⁵.

b) Test de prueba definitiva (CL_{50-96h}) (Anexo 3.4B).

Para esta prueba se utilizó 200 alevinos de *C. macropomum*, 100 alevinos para el ensayo con extracto acuoso y 100 alevinos para el ensayo con el aceite esencial. Para cada fitoterapéutico los peces fueron distribuidos en 10 peceras (unidades experimentales), de 100 litros de capacidad, utilizándose 40 litros a una densidad de 1 pez/ 4L de agua, haciendo un total de 10 peces/pecera. Se

evaluaron 5 tratamientos para cada fitoterapéutico (4 concentraciones y 1 control) cada tratamiento estuvo constituida por 2 repeticiones y fueron distribuidas mediante un diseño en completamente al azar (DCA). Las concentraciones evaluadas fueron tomadas de los resultados del test de prueba preliminar de tolerancia (Tabla 8).

Tabla 8. Tratamientos evaluados para la CL_{50-96h} de los fitoterapéuticos, extracto acuoso y aceite esencial de hojas de *Mansoa alliacea*.

Tratamientos		Repetición
Extracto Acuoso (mL/L)	Aceite esencial (mg/L)	
Tc= 0	Tc= 0	2
T1= 50	T1=50	2
T2= 150	T2=100	2
T3= 250	T3=150	2
T4= 350	T4=200	2

Antes de iniciar los ensayos los alevinos fueron aclimatados durante 24 horas en las unidades experimentales y privados de alimento hasta la duración del experimento (4 días) de acuerdo a Monteiro⁽²⁹⁾, y fueron mantenidos en sistema estático con aeración constante. Los promedios de los parámetros de calidad de agua de los Test de cada fitoterapéutico se muestran en la tabla 9. Para el registro de los parámetros fue utilizado un kit de calidad de agua de la marca LAMOTE.

Tabla 9. Valores de la calidad de agua en los test prueba definitiva.

Parámetros	Aceite esencial	Extracto acuoso
Temperatura (°C)	27.75 ± 0.29	28.88 ± 0.63
pH (UI)	6.92 ± 0.25	7.25 ± 0.29
Oxígeno disuelto (mg/L)	5.95 ± 0.93	6.07 ± 0.09
Dióxido de carbono (mg/L)	8.25 ± 1.5	10.75 ± 2.06
Dureza (mg/L)	45 ± 3.83	43 ± 6.83
Nitrito (mg/L)	0 ± 0.00	0.18 ± 0.24
Nitrato (mg/L)	1.62 ± 0.48	2 ± 0.00

Después de la exposición de los alevinos al extracto acuoso y aceite esencial de *Mansoa alliacea* fue monitoreada la sobrevivencia a las 6,12, 24, 48, 72 y 96 hrs¹¹⁶, registrando en una ficha (Anexo 2A). La mortalidad de los peces fue tomada como criterio para denotar sensibilidad y la muerte fue considerada con la pérdida del movimiento del opérculo e individuos sin movimiento; asimismo, los peces muertos fueron sacados inmediatamente para no interferir en la calidad del agua.

3.4.4 Bioensayo antiparasitario del extracto acuoso y aceite esencial de hojas de *Mansoa alliacea* “ajo sachá” en alevinos de *Colossoma macropomum*

Se realizó con la finalidad de determinar la eficacia en el control de ectoparásitos monogéneos presentes en los peces de estudio, consistiendo en lo siguiente:

a) infestación experimental

Los alevinos *Colossoma macropomum* presente en el tanque de acondicionamiento recibieron un inadecuado manejo durante 15 días, con la finalidad de causar estrés en los peces e inducir a la infestación; asimismo, se introdujo 10 peces infestados naturalmente. Los peces fueron alimentados a saciedad (28% de PB) y el agua fue renovada en un 20% del volumen cada 4 días. Se monitoreo la prevalencia de los monogéneos cada 3 días, hasta registrar el 100% de prevalencia, siendo indicador para iniciar los bioensayos de eficacia (Anexo 3.5).

b) Ensayo experimental del extracto acuoso

Se utilizó 240 alevinos de *Colossoma macropomum*, las cuales fueron distribuidos en 12 peceras de 100 litros de capacidad, utilizándose 40 litros de capacidad, colocándose 20 peces/pecera a una densidad de 1 pez/ 2L de agua. Se evaluaron 4 tratamientos, 1 control (Tc=0 mL/L) y 3 concentraciones (T1=30, T2=60 y T3=90 mL de extracto/L), con 3 repeticiones, distribuidos en un diseño en completamente al azar (DCA) (Anexo 3.5).

Los peces fueron aclimatados durante 24 horas en las unidades experimentales y no recibieron alimento durante el tiempo de experimentación, de acuerdo a Monteiro²⁹. Asimismo, fueron mantenidos en un sistema estático, con aireación y calidad de agua de: Temperatura $29.47 \pm 0.35^{\circ}\text{C}$, pH 7.5 ± 0.15 (UI), oxígeno disuelto de 5.65 ± 0.15 mg/L, dióxido de carbono 8 ± 1.63 mg/L, dureza 41 ± 2 , nitrito 0 ± 0.0 mg/L y nitrato 0.38 ± 0.25 mg/L. Para el registro de los parámetros de calidad de agua se utilizó un kit de calidad de agua marca LAMOTTE y los datos fueron registrados en una ficha (Anexo 2C).

c) Ensayo experimental del aceite esencial

Se utilizó 300 alevinos de *Colossoma macropomum*, distribuidos en 15 peceras de 100 litros de capacidad, utilizándose 40 litros de capacidad, colocándose 20 peces/pecera a una densidad de 1 pez/ 2L de agua. Se evaluaron 5 tratamientos, 2 controles (Tc1=0 y Tc2= 80 μ de alcohol/L) y 3 concentraciones del extracto acuoso (T1=15, T2=35 y T3=55 mg de aceite/L), con 3 repeticiones y distribuidos en un diseño completamente al azar (DCA). Antes de iniciar el experimento los peces estuvieron en ayuno por 24 horas ²⁹. Los peces fueron mantenidos en una calidad de agua de: Temperatura $29.38 \pm 0.31^{\circ}\text{C}$, oxígeno disuelto de 5.48 ± 0.45 mg/L, pH 7.33 ± 0.6 UI, dióxido de carbono 4.75 ± 0.87 mg/L, dureza 39.5 ± 0.89 , nitrito 0 ± 0.0 mg/L y nitrato 0.5 ± 0.0 mg/L. Para el registro de los parámetros de calidad de agua se utilizó un kits de calidad de agua Marca LAMOTTE y los datos fueron registrados en una ficha (Anexo 2C). El aceite esencial fue diluido en alcohol de 70° en una relación 1:10, para ser colocados en las peceras (Anexo 3.5).

c) Análisis parasitológico

Antes de iniciar el bioensayo, se realizó la necropsia a 20 alevinos, para registrar el promedio de parásitos monogéneos (Anexo 3.5). Durante el tratamiento, después de 12 h y 24h de exposición a los fitoterapéuticos se colectaron 9 alevinos de *Colossoma macropomum* de cada tratamiento, para el análisis parasitológico y determinación de los índices parasitarios de acuerdo a Bush: Prevalencia (número total de hospederos infestado / número total de peces examinados)*100; Intensidad media (número total de parásitos

de una especie / número de hospederos infestados); Abundancia media (número total de parásitos de una especie / número de hospederos examinados)¹¹⁷.

El análisis parasitológico fue realizado en el Laboratorio de Sanidad Acuícola del ARCOF. La necropsia de los peces fue realizado de acuerdo a la recomendaciones de Eiras¹¹⁸ y el aislamiento e identificación de los ectoparásitos monogeneos fue realizado de acuerdo a Thatcher¹¹⁹ y Cohen¹²⁰. Se prepararon laminas para el estudio de las estructuras esclerotizadas (gancho, barra, ancla, órgano copulador), siendo los monogeneos montados en medio Grey & Wess.

La confirmación de las especies de monogeneos estuvo a cargo de la Blgo. Amanda Karen Silva de Souza, MSc. perteneciente al Laboratorio de Biología Celular e Helminología Universidad Federal de Paraná, Brasil (Anexo 3.6).

d) Determinación de la eficacia de los fitoterapéuticos

La eficacia del extracto acuoso y aceite esencial de *Mansoa alliacea* en control de ectoparásitos presentes en los alevinos de *C. macropomum* fue calculado de acuerdo a la fórmula propuesta por Onaka¹²¹:

$$Ef = (Mcont - Mtrat / Mcont) \times 100$$

Donde:

Ef: Eficacia (%)

Mtrat: promedio del número de parásitos en los grupos tratados.

Mcont: promedio del número de parásitos en el tratamiento control.

3.4 Técnicas de procesamiento y análisis de los datos

Los datos fueron almacenados en una hoja de cálculo de Microsoft Excel versión 10. Los valores de CL_{50-96h} de los fitoterapéuticos, índices parasitarios y eficacia fueron sometidos al análisis normalidad. La CL_{50-96h} fue determinada mediante el método "Probit", con límite de 95% de confianza, en

el programa estadístico STATGRAPHICS versión 16.1.15. Los datos de eficacia fueron analizados mediante la estadística inferencial, utilizándose la prueba de varianza simple (ANOVA de una vía) a un nivel de significancia de 95% ($p < 0,05$), cuando hubo diferencia entre la media, se realizó la prueba de comparación múltiple de Tukey ($p < 0,05$). Estas pruebas estadísticas se calcularon en el programa estadístico SigmaPlot versión 11.

3.5 Aspectos éticos

Durante la ejecución de esta investigación se aplicó principios éticos, protocolos de bioseguridad. Asimismo, se utilizó la cantidad de peces necesarios para los experimentos.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

4.1 Efecto toxicológico del extracto acuoso y aceite esencial de *Mansoa alliacea*

4.1.1 Concentración letal media

Los alevinos de *Colossoma macropomum* fueron expuestos a dos fitoterapéuticos, extracto acuoso y aceite esencial de *Mansoa alliacea* (ajo sacha) durante 96 h, registrando la mortalidad a partir 72 horas, en los dos fitoterapéuticos. Asimismo, en los tratamientos controles (0 mL extracto/L y 0 mg aceite esencial/L) no se registraron mortalidades; mientras que, para el extracto acuoso se registró mortalidades entre 15% (T1=50 mL/L) y 85% (T4=350 mL/L) (Tabla 10), y para el aceite esencial entre 35% (T1=50 mL/L) a 90% (T4=200 mL/L) de mortalidad (Tabla 11).

Los peces durante el bioensayo de toxicidad mostraron alteración en el comportamiento como: agitación, agrupamiento en fondo de la pecera y prolongación de los labios. Asimismo, se observó signos clínicos de alteración en los bordes de las aletas (Ilustración 3), siendo más notorio en la aleta caudal. Los peces expuestos al aceite esencial del *Mansoa alliacea* al inicio mostraron parálisis (efecto anestésico).

Tabla 10. Porcentaje (%) de mortalidad de alevinos de *Colossoma macropomum*, expuesto a diferentes concentraciones del extracto acuoso de hojas de *Mansoa alliacea*, durante 96h.

Tratamiento (mL/L)	Tiempo de exposición (h)					
	6	12	24	48	72	96
Tc=0	0	0	0	0	0	0
T1=50	0	0	0	0	10	15
T2=150	0	0	0	0	20	55
T3=250	0	0	0	0	30	65
T4=350	0	0	0	0	40	85

Tabla 11. Porcentaje promedio de mortalidad de alevinos de *Colossoma macropomum*, expuesto a diferentes concentraciones del aceite esencial de hojas de *Mansoa alliacea*, durante 96h.

Tratamientos (mg/L)	Tiempo de exposición (h)					
	6	12	24	48	72	96
Tc=0	0	0	0	0	0	0
T1=50	0	0	0	0	25	35
T2=100	0	0	0	0	10	65
T3=150	0	0	0	0	20	75
T4=200	0	0	0	0	15	90



Ilustración 3. Alevinos en el fondo de las peceras (izquierda), y alteración en las aletas y prolongación de los labios (derecha).

La CL_{50-96h} del extracto acuoso para los alevinos de *Colossoma macropomum* fue de 188.43 mL/L con un intervalo de confianza (IC) de 95% de 135.98 mL/L (mínimo) y 237.41 mL/L (máximo); mientras que, la CL_{50-96h} del aceite esencial fue de 78.60 mg/L con un intervalo de confianza (IC) de 95% de 20.53 mg/L (mínimo) y 107.38 mg/L (máximo). La ecuación lineal que representa a la curva de la concentración-respuesta del extracto acuoso y del aceite esencial de *Mansoa alliacea* en alevinos de *Colossoma macropomum* se muestra en los gráficos 3 y 4.

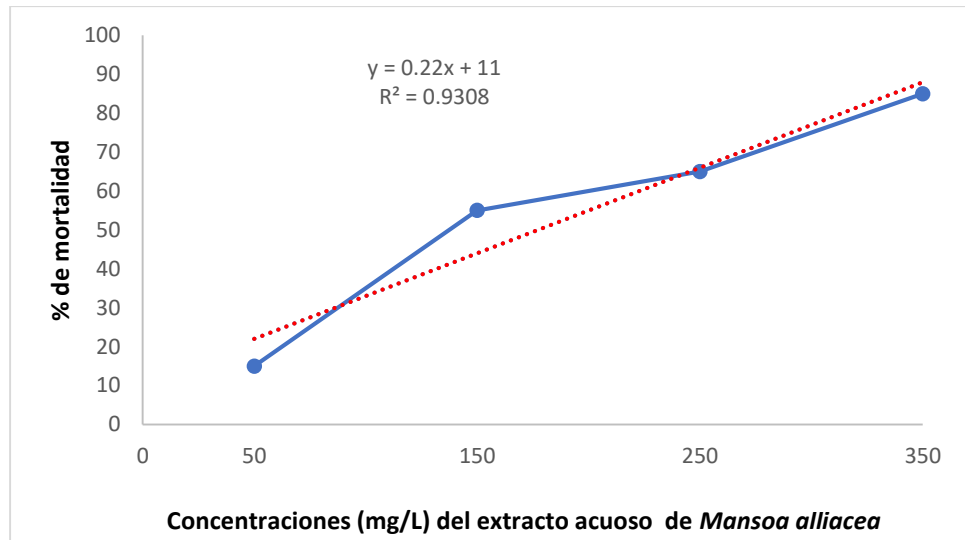


Gráfico 3. Curva de relación concentración-respuesta del extracto acuoso de *Mansoa alliacea* en alevinos de *Colossoma macropomum*, durante 96 h de exposición.

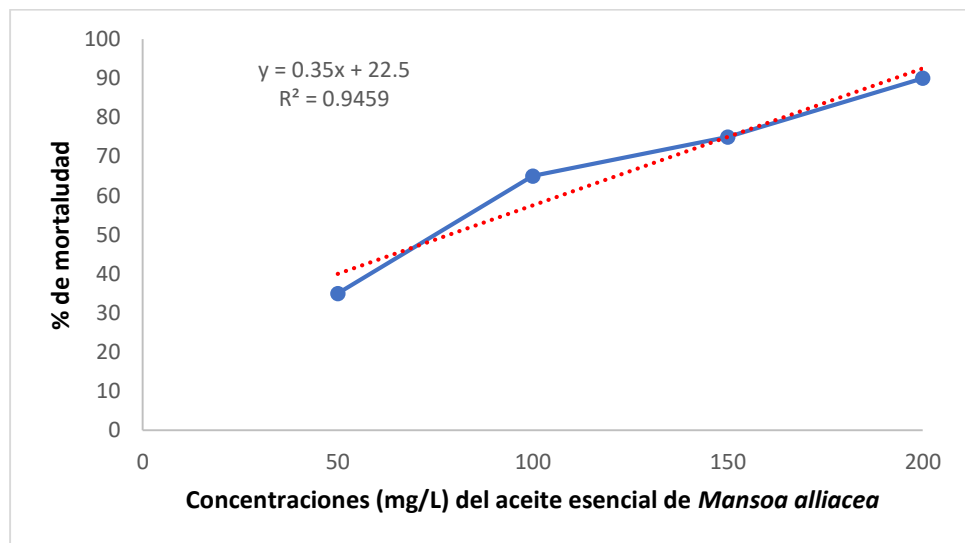


Gráfico 4. Curva de relación concentración-respuesta del aceite esencial de *Mansoa alliacea* en alevinos de *Colossoma macropomum*, durante 96 h de exposición.

4.2 Efecto antiparasitario del extracto acuoso y del aceite esencial de *Mansoa alliacea*

Ectoparásitos monogeneo registrados

Los alevinos de *Colossoma macropomum* colectados de los bioensayos de eficacia de los fitoterapéuticos estuvieron parasitados por tres ectoparásitos de la clase Monogenoidea, perteneciente a la familia Dactylogyridae: *Anacanthorus spathulatus* Thacher & Kayton, 1979 (Ilustración 4), *Notozothecium janauachensis* Belmont-Jégui, Domingues & Martins, 2004 (Ilustración 5) y *Mymarothecium tantaliani* (Ilustración 6), siendo localizados en los arcos branquias de los alevinos.

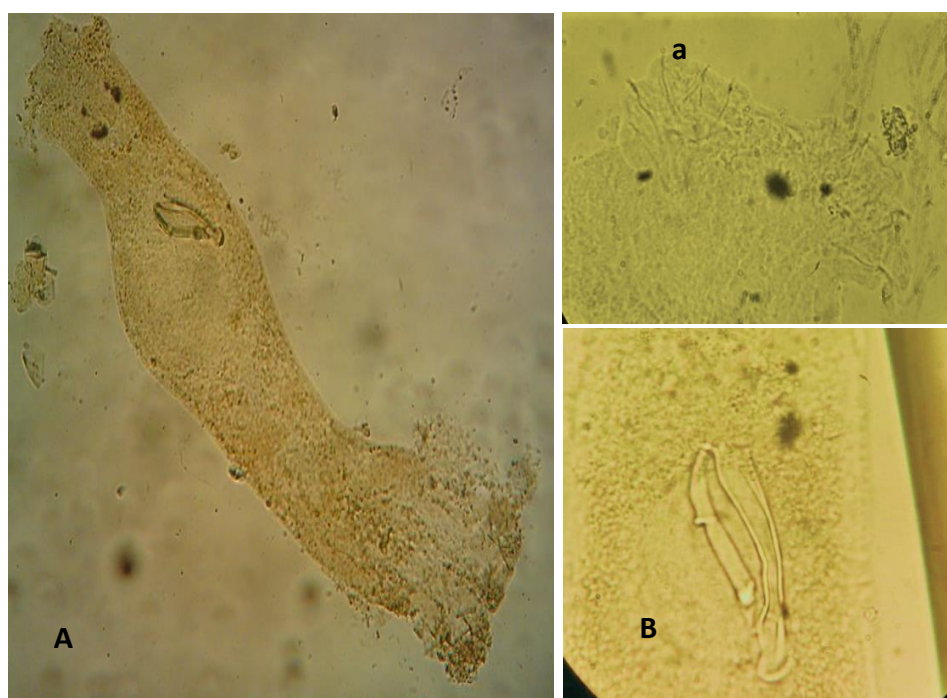


Ilustración 4. Parásito *Anacanthorus spathulatus* identificado en *Colossoma macropomum*(A), Haptor con presencia de ganchos (a). Complejo copulatorio (B).



Ilustración 5. Parásito *Notozothecium janauachensis* identificado en *Colossoma macropomum*, Haptor (A) con presencia de anclas (a), barras (b) y ganchos (c). Complejo copulatorio (B).

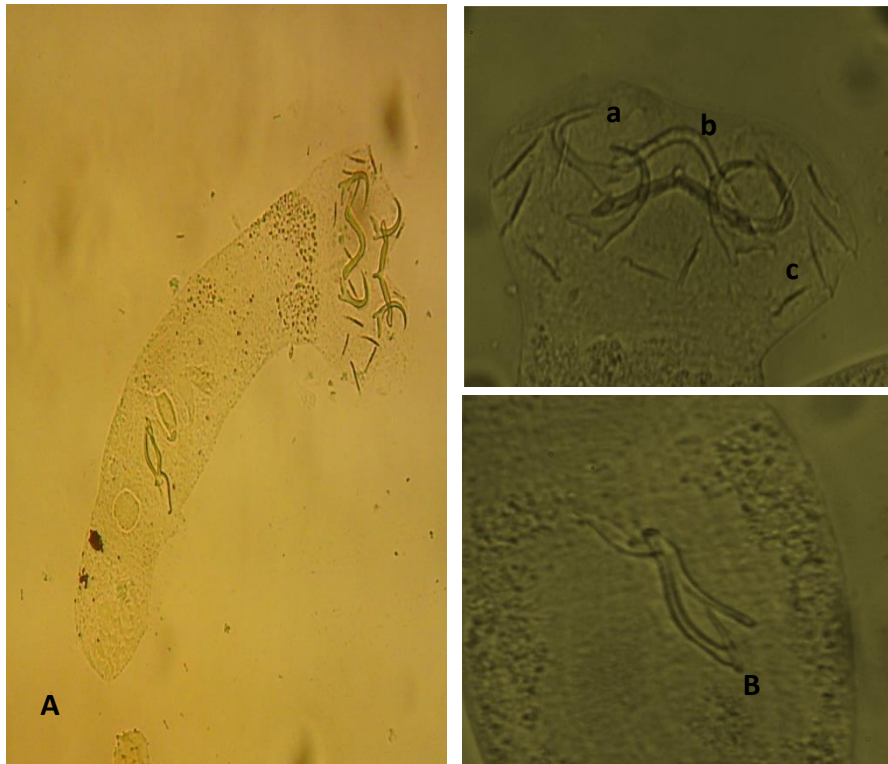


Ilustración 6. Parásito *Mymarothecium tantaliani* identificado en *Colossoma macropomum*, Haptor (A) con presencia de anclas (a), barras (b) y ganchos (c). Complejo copulatorio (B).

Índices parasitológicos

Los monogeeos estuvieron presentes en los alevinos de *C. macropomum* después de la exposición a baños terapéuticos de 12 y 24h del extracto acuoso y aceite esencial de *Mansoa alliacea*, registrándose una prevalencia de 100% en todos tratamiento con fitoterapéuticos y controles (Tabla 12 y 13).

Los tratamientos con las concentraciones 30, 60 y 90 mL/L del extracto acuoso de *M. alliacea* en baños de 12 horas redujeron los valores de los índices parasitarios, intensidad media y abundancia media, observando esta misma tendencia en baños terapéuticos de 24 horas (Tabla 14). Asimismo, el tratamiento T3 (90 mL/L) de extracto acuoso de *M. alliacea* en baños terapéuticos de 24 horas registro una mayor reducción de los índices parasitarios, intensidad media (29.44 ± 1.64 monogeeos/pez infestado) y abundancia media (29.44 ± 1.64 monogeeos/pez analizado), siendo diferente ($p < 0.05$) a los tratamientos T1 (30 mL/L) y T2 (60 mL/L) del extracto acuoso y control, como se muestra en la tabla 13.

Tabla 12. Índices parasitológicos de monogeeos parásitos de alevinos de *Colossoma macropomum* después de exposición de 12 horas a diferentes concentraciones del extracto acuoso de *Mansoa alliacea*.

Tratamiento (mL/L)	Prevalencia (%)	Intensidad media	Abundancia media
Tc =0	100	70.22 ± 1.02^a	70.22 ± 1.02^a
T1=30	100	65.22 ± 1.26^b	65.22 ± 1.26^b
T2=60	100	63.89 ± 0.69^b	63.89 ± 0.69^b
T3=90	100	55.00 ± 1.86^c	55.00 ± 1.86^c

Leyenda: Letras diferentes en la misma columna indican diferencias por el test de Tukey ($p < 0.05$)

Tabla 13. Índices parasitológicos de monogeneos parásitos de alevinos de *Colossoma macropomum* después de exposición de 24 horas a diferentes concentraciones del extracto acuoso de *Mansoa alliacea*.

concentraciones (mL/L)	Prevalencia (%)	Intensidad media	Abundancia media
Tc = 0	100	81 ± 44 ^a	81 ± 44 ^a
T1=30	100	58 ± 00 ^b	58 ± 00 ^b
T2=60	100	48.33± 0.88 ^c	48.33± 0.88 ^c
T3=90	100	29.44 ± 1.64 ^d	29.44 ± 1.64 ^d

Leyenda: Letras diferentes en la misma columna indican diferencias por el test de Tukey (p<0.05)

Los tratamientos con las concentraciones 15, 35 y 45 mg/L del aceite esencial *M. alliacea*, en baños terapéuticos de 12 y 24h no disminuyeron la prevalencia de los monogeneos, encontrándose los parásitos en todos los tratamientos con los fitoterapéuticos y los controles (prevalencia= 100%; p>0.05); a excepción de los índices parasitarios, intensidad media y abundancia media, donde se registró una disminución (p<0,05) en comparación con controles (Tabla 14 y 15); siendo el tratamiento T3 (55 mg/L) de aceite esencial de *M. alliacea* el que registro una mayor reducción de los ectoparásitos monogeneos en baño terapéutico de 24 horas (Tabla 15).

Tabla 14. Índices parasitológicos de monogeneos parásitos de alevinos de *Colossoma macropomum* después de exposición de 12 horas a diferentes concentraciones del aceite esencial de *Mansoa alliacea*.

Tratamiento (mL/L)	Prevalencia (%)	Intensidad media	Abundancia media
Tc1=0	100	88.67 ± 0.88 ^a	88.67 ± 0.88 ^a
Tc2=0	100	89.22 ± 2.27 ^a	89.22 ± 2.27 ^a
T1=15	100	83.22 ± 0.84 ^b	83.22 ± 0.84 ^b
T2=35	100	80.33 ± 1 .76 ^b	80.33 ± 1 .76 ^b
T3=55	100	69.67 ± 2.67 ^c	69.67 ± 2.67 ^c

Leyenda: Letras diferentes en la misma columna indican diferencias por el test de Tukey (p<0.05)

Tabla 15. Índices parasitológicos de monogeeos parásitos de alevinos de *Colossoma macropomum* después de exposición de 24 horas a diferentes concentraciones del aceite esencial de *Mansoa alliacea*.

Tratamientos (mL/L)	Prevalencia (%)	Intensidad media	Abundancia media
Tc1=0	100	98.77 ± 5.09 ^a	98.77 ± 5.09 ^a
Tc2=0	100	98.56 ± 1.39 ^a	98.56 ± 1.39 ^a
T1=15	100	74.11 ± 3.86 ^b	74.11 ± 3.86 ^b
T2=35	100	72.33 ± 3.05 ^b	72.33 ± 3.05 ^b
T3=55	100	53.00 ± 2.91 ^c	53.00 ± 2.91 ^c

Leyenda: Letras diferentes en la misma columna indican diferencias por el test de Tukey (p<0.05)

Eficacia en el control de los monogeeos

El baño terapéutico con el extracto acuoso de *M. alliacea* que presento mayor eficacia en control de ectoparásitos monogeeos fue la concentración 90 mL/L (T3), registrando una eficacia del 21.65 ± 3.36 % a baños de 12 horas y 63.85% a baños de 24 horas. A las 12h y 24 de exposición el tratamiento T3 fue diferente a los demás tratamientos, registrando diferencia significativas (p<0.05), (Tabla 16 y Grafico 5).

Tabla 16. Eficacia de diferentes concentraciones del extracto acuoso *Mansoa alliacea* en el control de los parásitos monogeeos de *Colossoma macropomum*.

Tratamientos (m/L)	Tiempo de exposición	
	12 H	24 H
Tc =0	-	-
T1=30	7.08 ± 2.34 ^b	28.85 ± 2.6 ^c
T2= 60	9.01 ± 0.73 ^b	40.66 ± 0.30 ^b
T3= 90	21.65 ± 3.36 ^a	63.86 ± 1.55 ^a

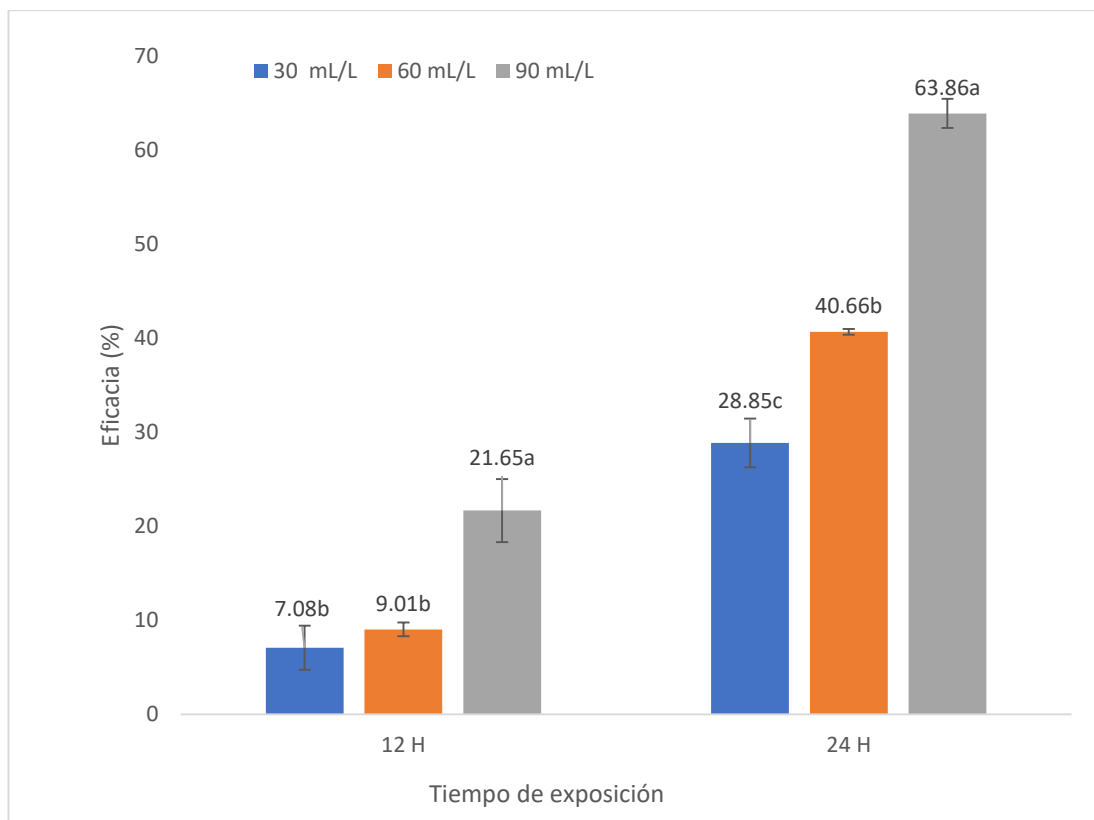


Gráfico 5. Tendencia de la eficacia del extracto acuoso *Mansoa alliacea* contra monogeneos.

Referente al baño terapéutico con el aceite esencial de *M. alliacea* en la concentración de 55 mg/L (T3) registró mayor eficacia en baños de 12h (28.07%) y 24h (46.34%) de exposición. A las 12h y 24h de exposición el tratamiento T3 fue diferente a los demás tratamientos, registrando diferencia significativas ($p < 0.05$), (Tabla 17 y Grafico 6 y 7).

Tabla 17. Eficacia de diferentes concentraciones del aceite esencial de *Mansoa alliacea* en el control de los parásitos monogeneos de *Colossoma macropomum*.

Tratamiento (m/L)	Tiempo de exposición	
	12 H	24 H
Tc1=0	-	-
Tc2=0	-	-
T1=15	6.14 ± 0.76 ^b	24.91 ± 3.78 ^b
T2=35	9.39 ± 2.55 ^b	26.54 ± 6.77 ^b
T3=55	21.42 ± 3.27 ^a	46.28 ± 3.48 ^a

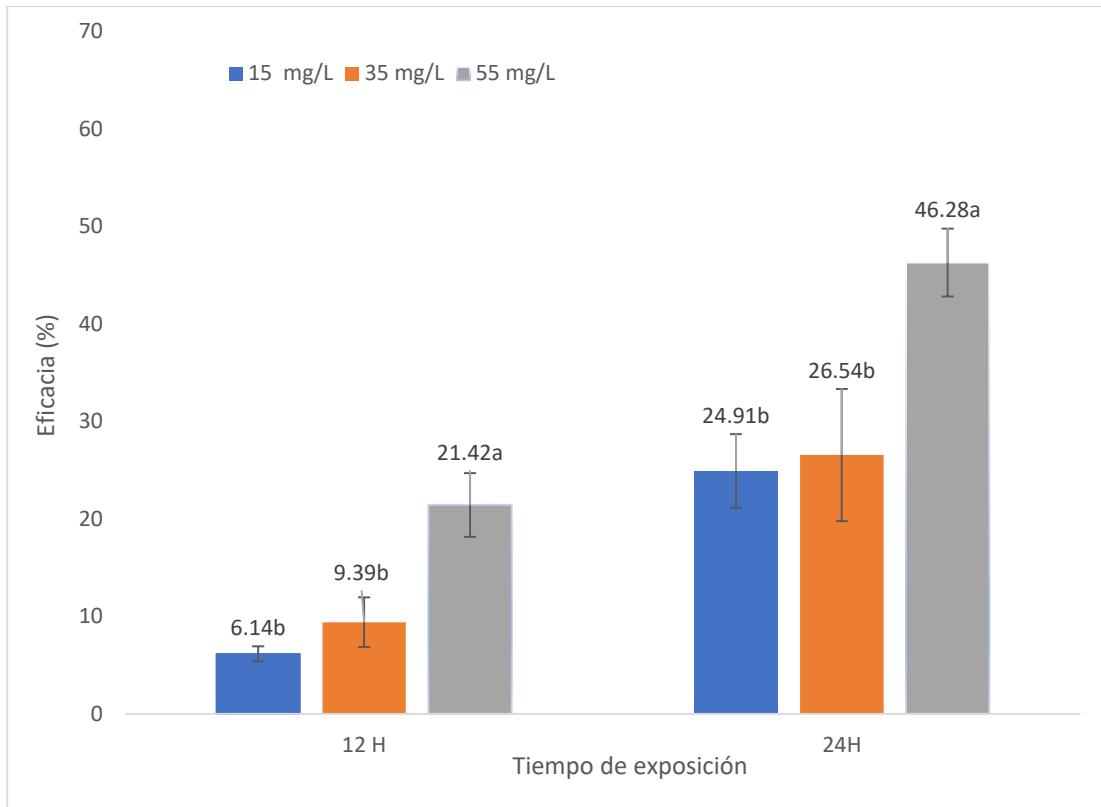


Gráfico 6. Tendencia de la eficacia del aceite esencial *Mansoa alliacea* contra monogeneos.

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Investigaciones sobre la toxicidad de productos químicos y fitoterapéuticos son de importancia antes de aplicarse en el control de parásitos o realizar profilaxis, ya que proporcionan información de concentraciones que son próximos al nivel letal, pudiendo perjudicar la sobrevivencia de los peces o producir alteraciones fisiológicas^{24,33}, hematológicas^{16,109}, e histológicas²⁴.

En esta investigación la toxicidad del extracto acuoso y aceite esencial de *Mansoa alliacea* para los alevinos *Colossoma macropomum* fue determinado mediante la concentración letal media (CL₅₀) a 96 horas de exposición, donde se registró CL_{50-96h} de 188.43 mL/L (Gráfico 4) para el extracto acuoso y 78.60 mg/L para el aceite esencial (Gráfico 5), siendo estos valores considerados prácticamente no tóxicos, según la categoría cualitativa de toxicidad para peces e invertebrados acuáticos (Anexo 3.10)¹³¹. La diferencia de valores de la CL_{50-96h} entre fitoterapéuticos evaluados en este estudio se debe al tipo de fitoterapéutico (extracto acuoso y aceite esencial), concentraciones y porcentajes de metabolitos secundarios presentes en los fitoterapéuticos. En el zooplancton *Artemia salina* al evaluarse diferentes extractos de hojas de *M. alliacea* elaborados con diferentes solventes, se reportó CL_{50-96h} de 96.34 mL/L para el extracto acuoso, 80.08 mL/L para el extracto etéreo y 39.79 mL/L para el extracto etanólico, pudiendo atribuirse la variación de valores de la CL_{50-96h} a los solventes⁴¹.

Al comparar resultados de CL_{50-96h} del extracto acuoso de *Mansoa alliacea* determinados en otros peces, se registra que el resultado de nuestra investigación es superior a lo reportado en juveniles de *Otocinclus affinis* (0, 15, 25, 35 y 46 mL/L) donde la CL_{50-96h} fue de 14.01 mL/L⁴³. Asimismo, en alevinos de *Piaractus brachypomus*, especie de la familia Serrasalminidae, al cual pertenece *Colossoma macropomum*, los autores no pudieron determinar la CL_{50-96h} del extracto acuoso de *Mansoa alliacea*, al evaluar concentraciones de 40, 60, 80, 120 y 160 mL/L, recomendándose estudiar concentraciones más elevadas del extracto acuoso⁴⁶. La diferencia de los valores de la CL₅₀

se atribuye a la especie en estudio y método de obtención del extracto acuoso; en *Otocinclus affinis* el extracto acuoso fue elaborado con hojas frescas y en esta investigación fue elaborado con hojas secas, secadas en una estufa por 72 horas a temperatura entre 45 y 50°C, pudiendo ser el secado (temperatura) intervino en variación cualitativa y cuantitativa de los compuestos presentes en el extracto acuoso de *Mansoa alliacea*. Según la literatura, la cantidad de los principios activos presentes en las plantas depende del método de secado y la velocidad de la temperatura¹⁰³.

Al estudiar la eficacia del extracto acuoso de *Terminalia catappa*, en juveniles de *Colossoma macropomum* parasitados por protozoarios (*Ichthyophthirius multifiliis* y *Piscinoodinium pillulare*) y monogeneos, registraron una CL_{50-96h} de 208.52 mL/L³⁰; para el extracto acuoso de *Chenopodium ambrosioides*, utilizado en el control de monogeneos de juveniles de *Colossoma macropomum*, se registró una CL_{50-24h} de 2.6 mL de extracto/L²⁹. Los valores de CL₅₀ son diferentes a este estudio, siendo *Terminalia catappa* superior y *Chenopodium ambrosioides* inferior; observándose que el extracto acuoso de *Terminalia catappa* es menos toxico para *Colossoma macropomum* a diferencia de extracto de *Chenopodium ambrosioides*, quien mostró ser más tóxico. Esta diferencia se atribuye al tipo de fitoterapéutico evaluados (compuestos presentes y porcentajes de los mismos), forma de obtención del extracto acuoso y estadio del pez evaluado. Asimismo, el extracto acuoso de hojas de *Mansoa alliacea* contiene abundante cantidad de fenoles y taninos⁴¹, el extracto acuoso de *Chenopodium ambrosioides* está compuesto por abundante ascaridol y el extracto de *Terminalia catappa* contiene abundante taninos. Además, en los dos estudios mencionados, los autores utilizan peces en la etapa juvenil, diferente a nuestra investigación; asimismo, en el extracto de *Chenopodium ambrosioides* fue obtenido mediante la preparación de 100 g de hojas en un litro de agua, por dos horas de reposo, el extracto acuoso de *Terminalia catappa* fue obtenido mediante la preparación de 10 g de hojas en un litro de agua, por 24 horas de reposo y en nuestro estudio el extracto de *Mansoa alliacea* fue obtenido mediante la preparación de 10g de hojas en un litro de agua, por 48 horas de reposo.

Al evaluarse la toxicidad de los extractos botánicos de *Croton lechleri* “sangre de grado”, *Spondias mombin* “uvos” y *Piper aduncum* “cordoncillo” en alevinos de *Colossoma macropomum* se registró que la CL_{50-96h} tuvo el siguiente orden de toxicidad: *P. aduncum* (112 mL/L) > *C. lechleri* (>160 mL/L) = *S. mombin* (>160 mL/L), siendo más tóxico el extracto de *P. aduncum* (100 mL/L), al analizar este resultado con nuestro estudio podemos decir que la CL_{50-96h} para alevinos *Colossoma macropomum* es influenciada por especie de planta utilizada en la elaboración extracto.

El valor registrado de CL_{50-96h} (78.6 mg/L) del aceite esencial de *Mansoa alliacea* para alevinos de *Colossoma macropomum* registrado en este estudio es diferente a lo determinado en la larvas del mosquito *Culex quinquesfasciatus*, donde CL_{50-24h} de 267.33 mg/L, CL_{50-48h} de 201.90 mg/L y CL_{72-96h} de 146.69 mg/L del aceite esencial de *P. alliaceaum* (= *Mansoa alliacea*)⁴⁴. Esta diferencia de resultados pudiera estar relacionado con la especie de organismo estudiado. Por otro lado, al comparar los resultados con otros aceites diferentes a *Mansoa alliacea*, es similar a lo registrado en el aceite esencial de *Mentha piperita* (CL_{50-4h} 79.54 mg/L) para *Colossoma macropomum*¹⁰¹ y diferente a lo registrado en el aceite esencial de *Lippia organoides* para *Colossoma macropomum* (CL_{50-96h} = 15.2 mg/L)¹⁰² y en el aceite esencial *Mentha piperita* para *Arapaima gigas* (CL_{50-4h} de 38. mg/L)²⁷. Los resultados muestran que la concentración letal media puede estar influenciada por tipo de fitoterapéutico, tiempo de exposición y especie evaluada. Según la literatura científica en pruebas toxicológicas, la toxicidad de una sustancia varía de acuerdo a la especie, edad, tamaño y tiempo de exposición¹²².

En general se puede afirmar que los alevinos de *Colossoma macropomum* del presente estudio fueron tolerantes a las diferentes concentraciones evaluadas del extracto acuoso y aceite esencial de *Mansoa alliacea*. Según la revisión de literatura existe poca información sobre el uso de *Mansoa alliacea* en peces, siendo esta investigación el primero en determinar la concentración del extracto acuoso y aceite esencial de *Mansoa alliacea* para alevinos de *Colossoma macropomum*, incrementándose de esta

manera información sobre la toxicidad de plantas medicinales como fitoterapéutico en Perú y en la cuenca amazónica.

Referentes a los índices parasitarios, estos son indicadores que ayudan a comprender el grado de parasitismo o infestación de parásitos hacia sus hospederos (peces), en este estudio los índices parasitarios de los monogoneos disminuyeron de acuerdo al tiempo de exposición y concentraciones de los fitoterapéuticos, extracto acuoso (Tabla 13) y aceite esencial de *Mansoa alliacea* (Tabla 14), obteniéndose mayor disminución después de 24 horas de exposición, por el contrario los índices parasitarios de los monogoneos en los tratamientos controles tuvieron un incremento de los monogoneos, contribuyendo los fitoterapéuticos a la disminución de monogoneos en los alevinos, debido a los metabolitos secundarios y porcentajes composición^{41,42,44,90,91}.

Referente a parásitos monogoneos identificados en este estudio, estos han sido registrados con frecuencia en cultivos de *Colossoma macropomum* en el departamento de Loreto^{36,39,60}, San Martín⁶¹ y Madre Dios³⁷ en Perú; asimismo, en Brasil^{73,124–126}, Venezuela^{76,127,128} y Colombia. De los tres monogoneos registrado, la especie *Anacanthorus spathulatus* es observada con frecuencia en los cultivos, teniendo elevados valores de índices parasitarios en cultivo de *Colossoma macropomum*; asimismo, *A. spathulatus* es una especie considerada altamente patógena para *Colossoma macropomum*¹²⁹, puede producir respuesta inflamatoria muy leve⁷⁶ e inducir a la disminución de la capacidad respiratoria de su hospedero⁷⁷. La infestación elevada de monogoneos se debe al ciclo de vida directo y tolerancia a diferentes temperaturas, la cual no perjudica su reproducción^{73,130}. Por otro lado, la densidad de siembra¹²⁵ y mala calidad del agua en el cultivo⁶⁸ ayudan a la proliferación de ectoparásitos. Al evaluarse la densidad de siembra 50 y 100 m³ en cultivo de *Colossoma macropomum*, los índices parasitarios como intensidad media y abundancia media fueron diferentes, concluyéndose que la densidad influye en la proliferación de ectoparásitos¹²⁵.

Estudio del uso de fitoterapéuticos en peces de consumo en Amazonía peruana son escasos. En esta investigación los valores de la eficacia en la eliminación de ectoparásitos monogeneos en alevinos de *Colossoma macropomum* fue entre 7.12 a 21.68% en baños de 12 horas y 28.79 a 63.85% en baños de 24 horas, para el extracto acuoso de *Mansoa alliacea*; asimismo, se registró valor de eficacia del aceite esencial entre 6.72 a 28.07% en baños de 12 horas y 24.97 a 46.34% en baños de 24 horas. Como se puede apreciar ambos fitoterapéuticos tuvieron efectos antiparasitarios. Según, la literatura existe varios trabajos sobre extractos y aceites esenciales de *Mansoa alliacea*, quienes confirman la efectiva como: antibacteriano, antimicótico y alopática, atribuyendo dicha efectiva a los compuestos presente, en especial a organosulfurados. Se ha reportado que el organosulfurado alicina boquea la síntesis de fosfatidilcolina en bacterias, mediante la acumulación de compuestos precursor fosfatidiletanolamina, alterando la estructura celular y dando como resultado la muerte⁹⁴, esta acción también puede estar sucediendo contra ectoparásitos monogeneos de alevinos de *Colossoma macropomum* en este estudio. Asimismo, se reporta alteraciones en tegumento de los monogeneos de *Colossoma macropomum* cuando son expuesto al aceite esencial de *Cymbopogon citratus* ⁽¹²³⁾.

Por otro lado, en este estudio se observó que la eficacia fue dependiente a las concentraciones y al tiempo de exposición a los baños fitoterapéutico; siendo el extracto acuoso quien registró mayor eficacia en la eliminación de monogeneos, en la concentración de 90 mL/L, en baños terapéuticos de 24 horas. La diferencia de los resultados de los terapéuticos puede atribuirse a la composición y porcentajes de los compuestos presentes. En la literatura se registra para el extracto acuoso de *Mansoa alliacea* mayor presencia de fenoles y taninos⁴¹; mientras, que en el aceite esencial hay mayor presencia de compuestos sulfurado⁴². Cabe mencionar que la baja efectividad del aceite esencial también puede atribuirse a la volatilidad que tienen los compuestos.

El extracto hidroalcohólico y el aceite esencial de *Mansoa standleyi*, presentan actividad alelopática, siendo el extracto hidroalcohólico quien presenta mayor efecto en la inhibición de la germinación de semillas de *Mimosa púdica*, atribuyendo a que el extracto hidroalcohólico contiene sustancia de alta polaridad, a diferencia del aceite esencial, quien contiene sustancia de baja polaridad⁴⁵. Dicho resultado también podría haber ocurrido en este estudio, donde el extracto acuoso de *Mansoa alliacea* registró mayor efectividad como antiparasitario a diferencia del aceite esencial, pudiendo atribuirse a la alta polaridad de los compuestos del extracto a diferencia del aceite esencial (baja polaridad).

En Perú, se registraron que el extracto acuoso de hojas de *Mansoa alliacea* tuvo una eficacia de 78.61, 89.68 y 80.3% contra monogéneos de *Otocinclus affinis* en concentraciones de 1, 3 y 5 mL/L, en un tiempo de exposición de 24 horas por cinco días⁴³; asimismo, para *Piaractus brachypomus* se registró eficacia de 100% en la eliminación del monogéneo *Anacanthorus* sp., en concentraciones de 40, 80, 120, y 160 mL/L, un tiempo de exposición de 144 horas (6 días). Siendo estos resultados superiores a lo registrado en este estudio, donde la mayor eficacia fue registrada en la concentración 90 mL/L de extracto acuoso a un tiempo de exposición de 24 horas. La diferencia de eficacia se atribuye a las concentraciones evaluadas y al tiempo de exposición del extracto acuoso, como también a la especie de parásito presente en los hospederos. Al comparar resultados de la eficacia del extracto acuoso de *Mansoa alliacea* con otros trabajos, donde se utilizó diferente fitoterapéutico, el resultado de este estudio es superior a lo registrado en el extracto acuoso de *Chenopodium ambrosioides*, donde se registró una eficacia del 48.8% en baños de 60 minutos de 3.9 mg/L del extracto²⁹ y *Bixa orellana* con acetona donde registró eficacia del 90%, en concentraciones de 250 µg/L y 500 µg/L en baños de 4 horas en test *in vitro*³³.

Referente a resultados de eficacia del aceite esencial de *Mansoa alliacea*, en nuestro estudio fue evaluado la concentración de 15, 35 y 55 mg/L en baños de 12 y 24 horas, registrándose una reducción en todas las

concentraciones evaluadas. Sin embargo, solamente la concentración de 55 mg/L del aceite esencial de *Mansoa alliacea* en baños de 24 horas registro mayor eficacia (39.84%) contra los monogeneos de los alevinos de *Colossoma macropomum*.

A pesar de lo registrado del efecto antiparasitario del extracto y aceite esencial de *Mansoa alliacea* en este estudio, los valores de eficacia en la eliminación de monogeneo estuvieron por debajo del 65%; sin embargo, el extracto acuoso (63.86%) fue más eficiente en la reducción de los monogeneos, siendo aceptable su acción antiparasitaria, a diferencia del aceite esencial (46.38%)¹³². Esto podría deberse a la forma de obtención del extracto y del aceite esencial de este estudio; por lo tanto, se podría evaluar el extracto acuoso obtenido mediante hojas frescas y aumentar el tiempo de exposición tanto del extracto acuoso y aceite esencial. Por otro lado, el uso de *Mansoa alliacea* como antiparasitarios para monogeneos de *Colossoma macropomum*, es escasa, siendo este trabajo el primero en reportar la eficacia del extracto acuoso y aceite esencial.

CAPÍTULO: PROPUESTA

- Contribuir en la búsqueda de nuevas alternativas en el control de ectoparásitos monogeneos de peces, como el uso de plantas medicinales como fitoterapéutico, ya que demostraron tener acción antiparasitaria.
- Difundir los resultados de este estudio, del extracto acuoso y aceite esencial de hojas de *Mansoa alliacea* para el control de ectoparásitos monogeneos, mediante cartillas informativas, charlas y talleres a los productores acuícolas de nuestra región.
- Asimismo, incentivar en Universidades e Institutos de Investigaciones, estudios de otras plantas medicinales (fitoterapéuticos) que están disponibles en la Amazonía, como: *Chenopodium ambrosioides* “paico”, *Ficus insipida* “oje”, *Stachytarpheta cayenensis* “Sacha verbena”.

CAPÍTULO VII: CONCLUSIONES

1. El efecto toxicológico, determinados mediante la concentración letal media CL_{50-96h} del extracto acuoso ($CL_{50-96h}=188.43$ mL de extracto/L) y aceite esencial ($CL_{50-96h}=78.6$ mg de aceite/L) de las hojas de *Mansoa alliacea* para los alevinos de *Colossoma* fue prácticamente no tóxico, según la categoría cualitativa de toxicidad para peces e invertebrados acuáticos.
2. El extracto acuoso y aceite esencial de hojas de *Mansoa alliacea* tuvieron eficacia de 63.85% y 46.34%, contra los monogeneos: *Anacanthorus spathulatus*, *Notozothecium janauachensis*, *Mymarothecium tantaliani*, presentes en los alevinos *Colossoma macropomum*, la cual depende del tipo de fitoterapéutico, concentración y el tiempo de exposición.
3. El extracto acuoso y el aceite esencial de *Mansoa alliacea* tuvieron acción antiparasitaria en reducción de los monogeneos de los alevinos *Colossoma macropomum*, siendo más aceptable la acción antiparasitaria para extracto acuoso.

CAPÍTULO VIII: RECOMENDACIONES

1. Utilizar la concentración de 90mL/L de extracto acuoso de hojas de *Mansoa alliacea* en baños terapéuticos de 24 h de exposición, para el control de ectoparásitos monogeneos, bajo las condiciones de manejo de este estudio.
2. Validar los resultados de este estudio del efecto antiparasitarios del extracto acuoso y del aceite esencial de hojas de *Mansoa alliacea*, en campo.
3. Evaluar el uso del extracto acuoso del *Mansoa alliacea* en el control de monogeneos de alevinos, mediante la obtención del extracto de hojas frescas.
4. Realizar investigación del extracto acuoso y aceite esencial de *Mansoa alliacea* en otras especies de peces de importancia en la acuicultura, *Arapaima gigas* y *Piaractus brachypomus*.
5. Evaluar el efecto toxicológico del extracto acuoso y aceite esencial de las hojas de *Mansoa alliacea*, mediante el uso de histología y hematología.
6. Realizar estudios fitoquímicos del extracto acuoso y aceite esencial de las hojas de *Mansoa alliacea*.

CAPÍTULO IX: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Valladão GMR, Gallani SU, Pilarski F. South American fish for continental aquaculture. *Rev Aquac.* 2018; 10(2):351-69.
2. Ministerio de la Producción P. Anuario Estadística pesquero y acuícola 2016 [Internet]. 2017 [citado 20 de marzo de 2019]. Disponible en: <http://ogeiee.produce.gob.pe/index.php/shortcode/oeedocumentospublicaciones/publicaciones-anauales/item/775-anuario-estadistico-pesquero-y-acuicola-2016>
3. FONDEPES. Manual de cultivo de gamitana en ambientes convencionales. Lima-Perú; 2007. p 40.
4. Arbildo-Ortiz H, Chu-koo F, Ribeyro-Schult O, Arévalo L, Cárdenas-Callirgos J. Reporte de infestación mixta de mixosporidios y monogeneos en juveniles de paco (*Piaractus brachypomus*) provenientes de piscicultura en la Amazonía Peruana. En: Libro de resúmenes: II Encuentro Científico de la Amazonía Peruana. Iquitos-Perú; 2012. p. 29.
5. Mathews Delgado P, Mathews Delgado J, Ismiño Orbe R. Massive parasitism by *Gussevia tucunarensis* (Platyhelminthes: Monogenea: Dactylogyridae) in fingerlings of bujurqui-tucunare cultured in the Peruvian Amazon. *Acta Parasitologica.* 2013; 58(2):223-5.
6. Mathews Delgado P, Mathews Delgado JP, Ismiño Orbe R. Parasitism by *Gussevia asota* in gills of juvenile of *Astronotus ocellatus* cultured in the Peruvian Amazon. *J FisheriesSciences.com.* 2014;8(1):61-6.
7. Mathews Delgado P, Mathews Delgado J, Ismiño Orbe R. Massive infestation by *Gussevia undulata* (Platyhelminthes: Monogenea: Dactylogyridae) in fingerlings of *Cichla monoculus* cultured in the Peruvian Amazon. *Neotropical Helminthology.* 2012;6(2):231-7.
8. Mathews Delgado P, Mathews Delgado J, Ismiño Orbe R. Parasitic infections in juveniles of *Prochilodus nigricans* farm in the Peruvian Amazon. *Bull Eur Ass Fish Pathol.* 2013; 33(1).
9. Arbildo-Ortiz H, Alvez-Robledo J, De Souza Karen AK. Perulernaea gamitanae (Crustacea: Lerneidae) en juveniles de *Colossoma macropomum* (Characiformes: Sarrasalmidae) en cultivo semi-intensivo en Loreto, Perú. *Rev Inv VetPerú.* 2019; 30(1):350-6.
10. Mathews DP, Mathews DJP, Vega AJ, Ismiño OR. Massive infestation by *Perulernaea gamitanae* (Crustacea: Cyclopoida: Lerneidae) in juvenile gamitana, cultured in the Peruvian Amazon. *Vet Méx.* 2011; 42(1):59-64.
11. Mathews Delgado J, Ismiño-Orbe R. Parasitic infections in juveniles of *Arapaima gigas* (Schinz, 1822) cultivated in the Peruvian Amazon. 20013; 59(1):43-8.

12. Arbildo-Ortiz H, Alvez-Robledo J, Chuquipiondo Guardia C, Souza Silva AK. Primer registro de infestación de *Piscinoodinium pillulare* (Dinoflagellida) en juveniles de *Colossoma macropomum* (Characiformes: Serrasalminidae) en cultivo semi-intensivo en Loreto, Perú. Rev Inv Vet Perú. 2020; 31(3):e16662.
13. Vargas M, Sandoval N, Casa A, Pizango Paima G, Manchengo A. Parásitos y Lesiones Histopatológicas en Branquias de Gamitanas (*Colossoma macropomum*) Juveniles bajo Crianza Semiintensiva. Inv Vet Perú. 2015; 26(4):577-86.
14. Tavares-Dias M, Neves LR, Santos EF, Dias MKR, Marinho RGB, Ono EA. *Perulernaea gamitanae* (Copepoda: Lernaeidae) parasitizing tambaqui (*Colossoma macropomum*) (Characidae) and the hybrids tambacu and tambatinga, cultured in northern Brazil. Arq Bras Med Vet Zootec. 2011; 63(4):988-95.
15. Pavanelli G. C, Eiras J. C, Takemoto R. M. Doenças de peixes. Profilaxia, diagnóstico e tratamento. Maringá, Ed. Universidade Estadual de Maringá. 1999; 264.
16. Paixão Farias L, Santos Brandão RF, Ramos Menezes F, Yudi Fujimoto R. Efeitos do tratamento com formalina e sulfato de cobre sobre os parâmetros hematológicos e parasitos monogenéticos em juvenis de *Hemigrammus* sp. (Osteichthyes: Characidae). Acta Amazonica. 2013; 43(2):211-6.
17. Nogueira JN, Santos GG, Tavares-Dias M, Nogueira JN, Santos GG, Tavares-Dias M. High concentration of levamisole in the diet of *Colossoma macropomum* (Pisces: Serrasalminidae) is effective for controlling monogenean parasites. Rev Bras Parasitol Veterinária. 2019;28(4):708-12.
18. Alves CMG, Nogueira JN, Barriga IB, dos Santos JR, Santos GG, Tavares-Dias M. Albendazole, levamisole and ivermectin are effective against monogeneans of *Colossoma macropomum* (Pisces: Serrasalminidae). J Fish Dis. 2019; 42(3):405-12.
19. de Araujo Dantas L, Chagas Campos E. Eficácia de administração oral de mebendazol no controle de monogenóides parasitas de branquias de tambaqui (*Colossoma macropomum*). En Manaus, Brasil; 2006. p. 41-6.
20. Miranda Cunha WS, Boijink de Lima C, Carvalho E. Avliacao da atividade anti-helmíntica de baños terapeuticos com eugenol em tambaqui (*Colossoma macropomum*) infectados com monogenoides. En Manaus, Brasil; 2009. p. 91-102.
21. FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations The State of World Fisheries and Aquaculture. Public health risks from the use of veterinary medicinal products. 2010; 197.

22. Figueriedo P, Silva V, Cardoso J, Andrade E, Maia J. Composição química dos voláteis das folhas de *Mansoa standleyi* (cipó-de-alho) em função das técnicas de secagem e extração. En Rio Grande do Norte, Brasil; 2014 [citado 2 de septiembre de 2020]. Disponible en: <http://www.abq.org.br/cbq/2014/trabalhos/7/4767-15622.html>
23. Hölmstrom K, Gräslund S, Wahlström A. Antibiotic use in shrimp farming and implications for environmental impacts and human health. *International Journal of Food Science & Technology*. 2003; 38:255-66.
24. Soares BV, Neves LR, Ferreira D de O, Oliveira MSB, Chaves FCM, Chagas EC, et al. Antiparasitic activity, histopathology and physiology of *Colossoma macropomum* (tambaqui) exposed to the essential oil of *Lippia sidoides* (Verbenaceae). *Veterinary Parasitology*. 2016; 452:107-14.
25. Soares BV. Efeitos antiparasitários e fisiológicos de *Lippia* spp. (Verbenaceae) em *Colossoma macropomum* e uso dessas plantas na medicina veterinária e aquicultura [Tesis de Maestría]. [Macapa-Brasil]: Universidad Federal do Amapá; 2016.
26. Soares BV, Neves LR, Ferreira DO, Oliveira MSB, Chaves FCM, Chagas EC, et al. Antiparasitic activity, histopathology and physiology of *Colossoma macropomum* (tambaqui) exposed to the essential oil of *Lippia sidoides* (Verbenaceae). *Vet Parasitol*. 2017; 234:49-56.
27. Malheiros Filocreão D, Maciel Oliveira P, Viderira Nunes M, Tavares-Dias M. Toxicity of the essential oil of *Mentha piperita* in *Arapaima gigas* (pirarucu) and antiparasitic effects on *Dawestrema* spp. (Monogenea). *Aquaculture*. 2006; 455:81-6.
28. Viana G de M. Utilização do cipó-alho (*Adenocalymna alliaceum* (lam.) miers) na ração do tambaqui (*Colossoma macropomum* cuvier, 1818) para tratamento de monogenoideos [Tesis de Maestría]. [Manaus, Amazonas, Brasil]: Universidade Nilton Lins; 2012.
29. Monteiro Castro P. o uso do extrato aquoso de mastruz (*Chenopodium ambrosioides* L.) no controle de monogenóideos (Platyhelminthes) em juvenis de tambaqui *Colossoma macropomum* (cuvier, 1818). [Manaus, Amazonas]: Universidade Nilton Lins; 2012.
30. Claudiano GDS, Diaz Neto J, Sakabe R, Cruz C, Salvador R, Pilarski F. Eficácia do extrato aquoso de *Terminalia catappa* em juvenis de tambaqui parasitados por monogenéticos e protozoários. *Rev Bras Saúde Prod An*. 2009; 10(3):625-36.
31. de Lima C, Queiroz Afras C, Chagas Campos E, Chaves Maia FC, Inoue Aoki LAK. Anesthetic and anthelmintic effects of clove basil (*Ocimum gratissimum*) essential oil for tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Aquaculture*. 2016; 457:24-8.

32. Flores Gonzales APP, Santos GG, Tavares-Dias M. Anthelmintic potential of the *Ficus insipida* latex on monogeneans of *Colossoma macropomum* (Serrasalmidae), a medicinal plant from the Amazon. *Acta Parasitologica*. 2019; 1-5.
33. de Andrade JIA, Jerônimo GT, Brasil EM, Nunez CV, Gonçalves ELT, Ruiz ML, et al. Efficacy of seed extract of *Baxia orellana* against monogenean gill parasites and physiological aspects of *Colossoma macropomum* after bath treatment. *Aquaculture*. 2016; 462:40-6.
34. Valentin Sousa DS. Atividade antiparasitária de nanoemulsões com óleo essencial e óleo resina contra monogenoidea das brânquias de *Colossoma macropomum* (Serassalmidae) [Tesis de Maestría]. [Macapá, Brasil]: Universidad Federal do Amapá; 2017.
35. Mejia K, Rengifo E. Plantas medicinales de uso popular en la Amazonía peruana. 2da ed. Perú; 2000. 286 p.
36. Arbildo-Ortiz H, López Marín P, Mori Freitas M, Chu-Koo F. Monogeneos En alevinos y juveniles de gamitana *Colossoma macropomum* procedentes de acuicultura, Loreto-Perú. En: LACQUA-SARA [Internet]. Lima-Perú; 2016. Disponible en: <https://www.was.org/meetings/ShowAbstract.aspx?Id=44569>
37. Cayula Quispe DB. Identificación de monogeneos en juveniles de *Colossoma macropomum* "gamitana" y *Piaractus brachypomus* "paco" procedentes del distrito de Tambopata, Madre de Dios [Tesis de Pregrado]. [Lima]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2018.
38. Bances K, Arbildo H, Ruiz A, Pizango G, Cubas-Guerra R, Del Águila M. Índices parasitarios en larvas, poslarvas y alevinos de *Colossoma macropomum* (gamitana) en estanques del Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana. *Conocimiento amazónico*. 2013; 4:107-13.
39. Soberon L, Mathews P, Malherios (A. Hematological parameters of *Colossoma macropomum* naturally parasitized by *Anacanthorus spathulatus* (Monogenea: Dactylogiridae) in fish farmin the Peruvian Amazon. *Aquatic Research*. *Aquatic Research*; 6:251-5.
40. Shiva Ramayoni C. Estudio de la Actividad Antimicrobiana de extractos naturales y ácidos orgánicos. Posible alternativa a los antibióticos promotores de crecimiento. [Tesis Doctoral]. [Barcelona, España]: Universidad Autónoma de Barcelona; 2007.
41. Castañeda B, Ibáñez L, Ramos E. Evaluación de la actividad citotóxica in vitro de cinco plantas medicinales peruana (abuta, ajo sachá, moena, murure y tahuari). *CULTURA*. 2008; 22:141-68.
42. Olivera-Condori M, Flores-Arizaca J, Vásquez-Zavaleta T, Oscar-Borda E. Propiedades fisicoquímicas y bioactivas in vitro del aceite esencial de *Mansoa alliacea* (LAM.) A. Gentry. *EL CEPROSIMAD-AGROINDUSTRIA*. 2013;2(1):96-102.

43. Flores Villacorta L, Chuquipiondo Guardia CT. Efecto del formol y extracto acuoso de hojas de *Mansoa alliacea* “ajos sacha” en el control de parásitos monogéneos presentes en adultos de *Otocinclus affinis*, IQUITOS-PERÚ, 2018 [Tesis de Pregrado]. [Iquitos - Perú]: Universidad Nacional de la Amazonia Peruana; 2019.
44. Granados Echegoyen CA. Toxicología de extractos vegetales y aceites esenciales sobre mosquitos *Culex quinquefasciatus* (Say) (Diptera: Culicidae) [Doctorado]. [Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca]: Instituto Politécnico Nacional; 2015.
45. Souza Filho APS, Guilhon GMSP, Zoghbi MGB, Cunha RL. Análise comparativa do potencial alelopático do extrato hidroalcoólico e do óleo essencial de folhas de cipó-d’alho (bignoniaceae). *Planta Daninha Viçosa-MG*. 2009; 27(4):647-53.
46. Henostroza M. L, Rebaza A. C, Chávez V. C. Efecto fitoterapéutico de extractos acuosos botánicos de “sangre de grado” *Croton lechleri*, “ajo sacha” *Mansoa alliacea*, “cordoncillo” *Piper aduncum* y “uvos” *Spondias mombin*; en el control ectoparasitario de *Anacanthorus* sp. (Monogenea: Dactylogyridae), en alevines de “paco” *Piaractus brachypomus*, naturalmente parasitadas en sistemas controlados. Informe técnico IIAP/Ucayali. 2009;
47. Dias. Efeitos de imunoestimulantes no desempenho, fisiologia e imunidade de alevinos de *Arapaima gigas* Schinz, 1822 (Arapaimidae). Tesis de Maestría. [Macapá, Brasil]: Universidad Federal do Amapá; 2019.
48. Suvetha L, M R, Saravanan M. Influence of cypermethrin toxicity on ionic regulation and gill Na⁺/K⁺-ATPase activity of a freshwater teleost fish *Cyprinus carpio*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 2010; 29:44-9.
49. Soares BV, Neves LR, Oliveira MSB, Chaves FCM, Chagas EKR, Tavares-Dias M. Antiparasitic activity of the essential oil of *Lippia alba* on ectoparasites of *Colossoma macropomum* (tambaqui) and its physiological and histopathological effect. *Aquaculture*. 2016; 452:107-14.
50. Fishbase. *Colossoma macropomum*, Cachama : Fisheries, aquaculture, aquarium [Internet]. 2020 [citado 22 de agosto de 2020]. Disponible en: <https://www.fishbase.in/summary/Colossoma-macropomum.html>
51. García-Dávila C, Sánchez H, Mejía J, Angulo C, Castro-Ruiz D, Estivals G, et al. Peces de consumo de la Amazonía Peruana. 1ra ed. Iquitos, Perú: Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana; 2018. 218 p.
52. Santos GM, Ferreira EJG, Zuanon JAS. Peixes comerciais de Manaus. Manaus: IBAMA/AM- ProVárzea; 2006. 38 p.

53. Guerra H, Rebaza M, Alcántara F, Rebaza C, Deza S, Tello S, et al. Cultivo y procesamiento de peces nativos: Una propuesta productiva para la amazonía peruana. Iquitos, Perú: Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana; 2000.
54. Garcia A, Tello S, Vargas G, Duponchelle F. Patterns of commercial fish landings in the Loreto region (Peruvian Amazon) between 1984 and 2006. *Fish Physiol Biochem.* marzo de 2009;35(1):53-67.
55. Torrejón Meza M, Ríos Irsen E, Vela Melo U. Efecto del oxígeno disuelto y la temperatura del agua sobre el crecimiento de *Colossoma macropomum* (gamitana), en estanques con distintas fuentes. *Conocimiento amazónico.* 2014; 5(1):41-9.
56. PRODUCE. Anuario estadístico de pesquero y acuicola 2017 [Internet]. Ministerio de la Producción. 2019. Disponible en: http://ogeiee.produce.gob.pe/images/Anuario/Pesca_2017.pdf
57. Olivares LV, Bocanegra FA, Chú LR, Koo FC, Arrarte PR, Martín ST. Validación del Protocolo de Reproducción de *Colossoma macropomum*, *Piaractus brachypomus* y *Prochilodus nigricans* en Condiciones Controladas. *Cienc Amaz Iquitos.* 2014; 4(1):54-9.
58. FONDEPES. Manual de gamitana en ambientes convencionales. Lima-Perú: Fondo para el desarrollo pesquero-FONDEPES; 2017.
59. Araújo-Lima C, Gomes L. Tambaqui (*Colossoma macropomum*). En: *Espécies nativas para piscicultura no Brasil.* Santa Maria, Brasil: UFSM; 2010. p. 175-204.
60. Sánchez L, Salazar P, Colquichagua H. XIII reunión científica del ICBAR, Sección: Biodiversidad. En 2009 [citado 6 de julio de 2018]. Disponible en: www.unmsm.edu.pe/biologia/investigación/ReuniónICBAR/2009/2009_16r_bd_020.html. (
61. Lopez Marin PA. Ectoparásitos en juveniles de *Colossoma macropomum* “gamitana” y *Piaractus brachypomus* “paco” cultivados en estanques de tierra, CICMCR - IIAP- San Martin, 2013 [Tesis de Pregrado]. [Iquitos, Perú]: Universidad Nacional de la Amazonia Peruana; 2020.
62. Alcántara-Bocanegra F, Verdi-Olivares L, Murrieta Morey G, Rodríguez-Chu L, Chu-Koo F, Del Aguila-Pizarro M. Parásitos de alevinos de gamitana (*Colossoma macropomum*) y paco (*Piaractus brachypomus*) cultivados en el C.I. Quistococha, Loreto, Perú. *Ciencia amazónica.* 2015;5(1):42-9.
63. Paredes V. Enfermedades parasitarias de peces tropicales en las zonas de Iquitos y Pucallpa en el Perú. En: *Memoria de la Asociación Latinoamericana de Acuicultura.* Valdivia-Chile; 1983. p. 72.

64. Tantaleán, Huiza, Hurtado. Helminthos parásitos de peces de agua dulce del Perú. Inst. Invest. Para el Desarrollo Social del Antiplano Puno; 1985 p. 43.
65. Murrieta Morey GA, Bravo Aliano AM, Guerra Grandez FA. New species of Dactylogyridae Bychowsky, 1933 infecting the gills of *Myloplus schomburgkii* (Jardine) and *Colossoma macropomum* (Cuvier) in the Peruvian Amazon. Syst Parasitol. 2019; 96:511-9.
66. Cayulla-Quispe D, Mondragón-Mártinez A, Rojas de los Santos E, Garcia-Candela E, Babilonia-Medina J, Martínez-Rojas R. A New Species of *Mymarothecium tantaliani* n. sp (Monogenea: Dactylogiridae) in the Gills of Gamitana *Colossoma macropomum* (Cuvier) from Madre de Dios, Peru | Semantic Scholar. Acta Parasitologica. 2020; 1-5.
67. Morey GAM, Aliano AMB, Medina MAD, Cachique JCZ. Mortality of *Colossoma macropomum* (Actynopterygii, Serrasalminidae) caused by infestation of *Ichthyophthirius multifiliis* (Ciliata, Ichthyophthiriidae) in a fish farm, Loreto, Peru. 2018; 6.
68. Vargas M, Sandoval N, Casas E, Pizango G, Manchego A. Parásitos y lesiones histopatológicas en branquias de gamitanas (*Colossoma macropomum*) juveniles bajo crianza semiintensiva. Rev Inv Vet Perú. 2015; 26(4):577-86.
69. Arbildo Ortiz H, Alvez Robledo J, Chuquipiondo Guardia C, Souza AK. Primer registro de infestación de *Piscinoodinium pillulare* (Dinoflagellida) en juveniles de *Colossoma macropomum* (Characiformes: Serrasalminidae) en cultivo semi-intensivo en Loreto, Perú. Rev Inv Perú (para publicación). 2020; 31(3).
70. Marques Mendes T, Murrieta Morey GA. First record of *Neogergasilus japonicus* (Harada, 1930) (Copepoda: Cyclopoida) infecting a fish species in South America. Folia Amazónica. 2018; 27(1):111-7.
71. Mathews P delgado, Mathews DJP, Vega AJ, Ismiño OR. Massive infestation by *Perulernaea gamitanae* (Crustacea: Cyclopoida: Lernaeidae) in juvenile gamitana, cultured in the Peruvian Amazon. Vet Méx. 2011; 42(1):59-64.
72. Reichenbach-Klinke H. Enfermedades de los peces. 2ª ed. España: Acriba; 1982. 524 p.
73. Thatcher VE. Amazon fish parasite. 2ª ed. Sofia-Moscow: Pensoft Publishers; 2006. 508 p.
74. Noga EJ. Fish disease: diagnosis and treatment. 2ª ed. USA: Mosby Year Book; 2010. 367 p.
75. Chagas EC, Araujo LD, Gomes LC, Malta JCO, Varella AMB. Efeito do cloreto de sódio sobre as respostas fisiológicas e controle de helmintos

- monogenóides em tambaqui (*Colossoma macropomum*). 2012; 42(3):439-44.
76. Aragort W, Morales G, Leon E, Pino A, Gillen A, Silva M. Patologías asociadas a monogéneos branquiales en cachama bajo cultivo. *Veterinaria Trop.* 2002; 27(2):75-8.
 77. Kristsky D, Thatcher V, Kayton R. Neotropical Monogenoidea 2. The Anacanthorinae Price, 1967, with the proposal of four new species os Anacanthorus Mizelle & Price, 1965, from Amazonian fishes. *Acta Amazonica.* 1979; 9(2):355-61.
 78. Medina Larico RA. Etnobotánica cuantitativa de las plantas medicinales en la comunidad nativa Nuevo Saposoa, provincia Coronel Portillo, Ucayali-Perú [Tesis de Pregrado]. [Arequipa, Perú]: Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa; 2018.
 79. Azulay Ouknim LB, Lameira Alves O, Rocha Teixeira T, Ribeiro Santos FN. Avaliação fenológica e screening fitoquímico de *Mansoa alliacea* (Lam.) A. Gentry - Bignoniaceae. En Belém, Brasil: Embrapa Amazônia Oriental; 2011. p. 4.
 80. Oliveira DMC. Triagem de cinco espécies de plantas medicinales usadas en Amazonia a través da análise de secrecoa de histamina [Tesis de Doctorado]. [Belém, Brasil]: Universidade Federal do Pará; 2013.
 81. Tasambay AS, Scalvenzi L, Piedra ASL, Radice M. Ethnopharmacology, biological activity and chemical characterization of *Mansoa alliacea*. A review about a promising plant from Amazonian region. En: MOL2NET International Conference Series on Multidisciplinary Sciences. 2017. p. 1.8.
 82. Pinedo MP, Rengifo ELS, Cerruti TS. Plantas medicinales de la Amazonia Peruana: estudio de su uso y cultivo. 1.^a ed. Iquitos: Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana; 1997. 304 p.
 83. Ferreira MGR, Gonçalves EP. Tipo de estacas e crescimento de cipó-alho (*Mansoa alliacea*) (Lam.) A. Gentry. *Embrapa Rondonia Circ Téc.* 2007; 98:4.
 84. Cárdenas AS. Evaluación agronómica de ajo de monte (*Mansoa alliacea*) [Tesis de Pregrado]. [Quito, Ecuador]: Escuela Politécnica Nacional; 2012.
 85. Dolwitsch CB, Pires FB, Colim AN, Wiethan BA, Dal Prá V, Schneider VM, et al. Mineral composition of *connarus* (*Connarus perrottetii* var. *angustifolius*) and *Mansoa* (*Mansoa alliacea*) species. *Curr Nutr Food Sci.* 13 de enero de 2020; 16(1):75-82.
 86. Patel I, Sipai S, Rathad D, Shrimali G, Patel A, Rami E. Phytochemical studies on *Mansoa alliacea* (Lam.). *Int J Adv Pharm Res.* 2013; 4(6):1823-8.

87. Walag AMP, Cepeda ABM, Galenzoga AS. Initial phytochemical screening of the different parts of *Mansoa alliacea* L. (Garlic Vine). *Int J Biosci.* 2012; 11(3):227-31.
88. Pires FB, Dolwitsch CB, Dal Prá V, Faccin H, Monego DL, Carvalho LM de, et al. Qualitative and quantitative analysis of the phenolic content of *Connarus* var. *angustifolius* , *Cecropia obtusa* , *Cecropia palmata* and *Mansoa alliacea* based on HPLC-DAD and UHPLC-ESI-MS/MS. *Rev Bras Farmacogn.* 2017; 27(4):426-33.
89. Govas JL, Cuyubamba EC, Collantes ID, Reyna VP. Esteroles presentes en el extracto apolar de las raíces de ajo sacha *Mansoa alliacea*. *Rev Soc Quím Perú.* 2018; 84(4):513-21.
90. Teixeira CCL. A fitoterapia como alternativa terapêutica: o alho bravo (*mansoa* sp) e seus constituintes químicos. [Tesis maestría]. [Teresina, Brasil]: Universidad Federal do Piauí; 2018.
91. Lakshmana Rao A, Prasanth D, Sai Sowmya J, Teja N, Pujitha B, Sai Manikumar A, et al. Pharmacognostic study of *Mansoa alliacea* leaf. *International Journal of Research in Ayush and Pharmaceutical Sciences.* 2019; 3(10):369-72.
92. Zoghbi M das G, Pereira RA, de Lima G do S, Guilhon GM. Volatiles From *Mansoa standleyi* (Steud.) A. H. Gentry. *Journal of Essential Oil Research.* 2010; 22:247-9.
93. Suárez Rosales KS. Los compuestos sulfurado de *Mansoa alliacea* está representado por seis compuestos, siendo los compuestos sulfurados en mayor proporción, olor y sabor diferencial de la especie [Tesis Pregrado]. [Loja, Ecuador]: Universidad Técnica Particular de Loja; 2015.
94. San-Blas G, Urbina J, Marchán E, Contreras L, Françoise S, San-Blas F. Inhibition of *Paracoccidioides brasiliensis* by Ajoene is Associated with Blockade of Phosphatidylcholine Biosynthesis. *Microbiology.* 1997; 143:1583-6.
95. Iltaf S, Khan Z-U-D, Rafique R, Parveen A. Evaluation of antibacterial activity of leaf extracts of *Mansoa alliacea* (Lam.) A.H. Gentry, *Tecomaria capensis* (Thunb.) Spach and *Tecoma stans* (L.) Juss. *Ex H. B. & K.* 2016; 8.
96. Flores Metzger TA, Sangama Romani RY. Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico y etanólico de la hoja de *Mansoa alliacea* “ajo sacha”, sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, Iquitos- Perú [Tesis de Pregrado]. [Iquitos, Perú]: Universidad Nacional de la Amazonia Peruana; 2015.
97. Batista L, de Almeida Furtado A, Araujo A, Gripp T, Cardozo F, Lima L, et al. Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro do extrato bruto de cipó de alho *Mansoa alliacea* em isolados bacterianos de peixes. En *Florianópolis, Brasil*; 2016. p. 1.

98. Sudirga SK, Ginantra K, Darmayasa IBG. Antifungal activity of leaf extract of *Mansoa alliacea* against *Colletotrichum acutatum* the cause of anthracnose disease on chili pepper. 2019; 347:1-7.
99. Schalch SHC, Tavares-Dias M, Onaka EM. Principais métodos terapêuticos para peixes em cultivo. En: Manejo e sanidad de peixes em cultivo. Embrapa Amapá. Macapá; 2009.
100. Henostroza M, Rebaza AC, Iannacone J. Efecto toxicológico de *Croton lechleri* "sangre de grado", *Spondias mombin* "uvos" y *Piper aduncum* "cordoncillo" sobre *Colossoma macropomum* "gamitana" (Characidae). En: IX Congress of the Society of Environmental Toxicology and Chemistry in Latin America. Lima, Perú; 2009. p. 66.
101. Ferreira LC, Cruz MG da, Lima TBC, Serra BNV, Chaves FCM, Chagas EC, et al. Antiparasitic activity of *Mentha piperita* (Lamiaceae) essential oil against *Piscinoodinium pillulare* and its physiological effects on *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818). Aquaculture. 2019;512:734343.
102. Oliveira SRN de, Oliveira MAS de, Brandão FR, Majolo C, Chaves FCM, Chagas EC. Toxicidade do óleo essencial de *Lippia origanoides* EM tambaqui (*Colossoma macropomum*) e seu efeito frente à *Aeromonas hydrophila*. Bol Inst Pesca. 2018; 44(2):214.
103. Melo EC, Radünz LL, Melo RCA. Influência do processo de secagem na qualidade de plantas medicinais – revisão. Engenharia na Agricultura. 2004; 12(4):307-15.
104. Tavares G, Leal C, Figueiredo H. Antibioticoterapia em peixes. En: Cuaderno técnico de veterinária e zootecnia. 2004; 2014. p. 66-78.
105. Souza RF, Falcão HS, Filho JB, Diniz MFFM, Batista LM. Atividade anti-helmíntica de plantas nativas do continente americano: uma revisão. Rev Bras PI Med. 2013; 15(2):287-92.
106. Sousa RG, Falcão HS, Barbosa Filho JM, Melo Diniz MFF, Batista LM. Atividade anti-helmíntica de plantas nativas do continente americano: uma revisão. Rev Bras Plantas Med. 2013; 15(2):287-92.
107. Miranda Cunha WS, de Lima Boijink C, Carvalho E, Aoki Inouse LAK, Chaves Maia FC. Potencial de óleo essencial de alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*) no controle de monogenóides em tambaqui (*Colossoma macropomum*). En Manaus, Brasil; 2010. p. 118-25.
108. Gonzales APPF, Yoshioka ETO, Mathews PD, Mertins O, Chaves FCM, Videira MN, et al. Anthelmintic efficacy of *Cymbopogon citratus* essential oil (Poaceae) against monogenean parasites of *Colossoma macropomum* (Serrasalmidae), and blood and histopathological effects. Aquaculture. 2020; 735500.

109. Tavares-Días M, Ferreira Santos J, Affonso Gusmão E, Ono Akifumu E, Martins Laterça M. Toxicity and effects of copper sulfate on parasitic control and hematological response of tambaqui *Colossoma macropomum*. Boletim Técnico do Instituto de Pesca. 2011;37(4):355-65.
110. Montoya Cadavid G de J. Aceites esenciales: Una alternativa de diversificación para el eje cefetero. 1era ed. Colombia: Universidad Nacional de Colombia; 2010. 174 p.
111. Giannuzzi L. Principios generales de la toxicología. En: Toxicología general y aplicada. 1a ed. Buenos Aires, Argentina: Universidad de La Plata; 2018. p. 356.
112. Costa CR, Olivi P, Botta C, Espindola E. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. Quim Nova. 2008; 31(7):1820-30.
113. Castillo E. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas: Estandarización, intercalibración, resultados y aplicación. 1.ª ed. México; 2004. 189 p.
114. Castro Gómez JC. Pautas para elaborar la tesis de pre y post grado. Primera. Iquitos - Perú: Yhadira; 2015. 122 p.
115. Instituto Brasileiro do medio ambiente e dos recursos naturales renováveis-IBAMA. Avaliação da toxicidade aguda para peixe. En: manual de testes para avaliação de ecotoxicidade de agentes químico. DF; 1987.
116. Eslava-Mocha PR, Ramírez-Durarte WF, Rondón Barragán IS. Sobre los efectos del glifosato y sus mezclas: impacto sobre peces nativos. Primera. Meta-colombia: Juan XXIII Villavicencio; 2007.
117. Bush AO, Lafferty KD, Lotz J, Shostak AW. Parasitology meets ecology on its own terms. Journal of Parasitology. 1997;83(4):575-83
118. Eiras JC. Elementos de ictioparasitología. 1ra ed. Porto: Fundação Eng. Antônio de Almeida; 1994.
119. Thatcher VE. Amazon fish parasite. Amazoniana. 1991; 11:263-572.
120. Cohen SC, Justo MCN, Kohn A. Justo South American monogenean parasites of fishes, amphibians and reptiles. Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). 2013;
121. Onaka E M, Martins M L, Moraes F. R. Eficácia do albendazol e praziquantel no controle de *Anacanthorus penilabiatus* (Monogenea: Dactylogyridae), parasito de pacu *Piaractus mesopotamicus* (Osteichthyes: Characidae). I. Banhos terapêuticos. Boletim do Instituto de Pesca. 2003; 29(2):101-7.

122. Schlotfeldt HJ, Alderman DJ. What Should I do? a practice guide for the fresh water fish farmer. Bulletin European Association of Fish Pathologists. 1995; 15(4):134-57.
123. Gonzales APPF, Yoshioka ETO, Delgado PM, Mertins O, Chaves FCM, Videira MN, Tavares-Dias M. Anthelmintic efficacy of *Cymbopogon citratus essential* oil (Poaceae) against monogenean parasites of *Colossoma macropomum* (Serrasalmidae), and blood and histopathological effects. Aquaculture. 2000
124. Dias MKR, Marinho RGB, Tavares-Dias M. Parasitic infections in tambaqui from eight fish farms in Northern Brazil. Arq Bras Med Vet Zootec. 2015; 67(4):1070-6.
125. Baia RRJ, Santos GG, Silva AS, Oliveira BS, Tavares-Días M. Parasite fauna of tambaqui reared in net-cages at two stocking densities. Boletim Técnico do Instituto de Pesca. 2019; 45(3):e492.
126. Silva RM, Tavares-Dias M, Dias MWR, Dias MKR, Marinho R das GB. Parasitic fauna in hybrid tambacu from fish farms. Pesq Agropec Bras. 2013; 48(8):1049-57.
127. Centeno L, Silva-Acuña A, Silva-Acuña R, Pérez J. Fauna ectoparasitaria asociada a *C. macropomum* x *P. brachypomus*, cultivos en estado Delta Amacuro, Venezuela. Bioagro. 2004; 16(2):121-6.
128. Ramírez-Mora J, Nobel J, Eslava-Mocha PR, Agudelo E. Prevalencia y carga parasitaria de cultivos de cachama (CUVIER, 1818 X CUVIER, 1818) *Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*. Agropecuaria. 2011; 23(2):36-45.
129. Morais AM, Varella AMB, Villacorta-Correa MA, Malta JCO. A fauna de parasitos em juvenis de tambaqui *Colossoma macropomum* (Characidae: Serrsalminae) criados em tanques-rede em lago de várzea da Amazônia central. Biologia Geral e Experimental. 2009; 9(1):14-23.
130. Cardoso LD, Júnior MVV, Santos C de P, Ribeiro RS da C, da Silva MA. Enfermidades causadas pela classe monogenea na piscicultura. En: Tópicos especiais em Ciência Animal VI. 1. ed. Alegre-ES, Barsil: UNICOPY; 2017.
131. Zucker E. Hazard Evaluation Division - Satandar Evaluation Procedure- Acute Toxicity Test for Freshwater. USEPA Publication, 540 (9): 85-106.
132. Sommerville C, Endris E, Bell TA, Ogawa K, Buchmann K, Sweeney D. World association for advancement of veterinary parasitology (WAAVP) guideline for testing the efficacy of ectoparasiticides for fish. Veterinary Parasitology. 2016; 219: 84-99,

ANEXOS

1. Estadística complementaria

Tabla 18. Análisis estadístico ANOVA y TUKEY de los valores de intensidad media y abundancia media de los monogéneos de *C. macropomum*, después de 12 horas de exposición a diferentes concentraciones del extracto acuoso de *Mansoa alliacea*.

One Way Analysis of Variance						
Normality Test:	Passed (P = 0.418)					
Equal Variance Test:	Passed (P = 0.545)					
Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM	
Control	3	0	70.222	1.018	0.588	
30 mL de extracto/L	3	0	65.222	1.262	0.729	
60 mL de extracto/L	3	0	63.889	0.694	0.401	
90 mL de extracto/L	3	0	55.000	1.856	1.072	
Source of Variation	DF	SS	MS	F	P	
Between Groups	3	361.583	120.528	73.542	<0.001	
Residual	8	13.111	1.639			
Total	11	374.694				
All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):						
Comparison	Diff of Means		p	q	P	P<0.050
Control vs. 90 mL de ext	15.222		4	20.595	<0.001	Yes
Control vs. 60 mL de ext	6.333		4	8.569	0.002	Yes
Control vs. 30 mL de ext	5.000		4	6.765	0.006	Yes
30 mL de ext vs. 90 mL de ext	10.222		4	13.830	<0.001	Yes
30 mL de ext vs. 60 mL de ext	1.333		4	1.804	0.601	No
60 mL de ext vs. 90 mL de ext	8.889		4	12.026	<0.001	Yes

Tabla 19. Análisis estadístico ANOVA y TUKEY de los valores de intensidad media e abundancia media de los monogéneos en *C. macropomum*, después de 24 horas de exposición a diferentes concentraciones del extracto acuoso de *Mansoa alliacea*.

One Way Analysis of Variance						
Normality Test:	Passed (P = 0.264)					
Equal Variance Test:	Passed (P = 0.516)					
Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM	
Control	3	0	81.444	1.072	0.619	
30 mL de extracto/L	3	0	58.000	2.728	1.575	
60 mL de extracto/L	3	0	48.333	0.882	0.509	
90 mL de extracto/L	3	0	29.444	1.644	0.949	
Source of Variation	DF	SS	MS	F	P	
Between Groups	3	4211.731	1403.910	465.099	<0.001	
Residual	8	24.148	3.019			
Total	11	4235.880				
All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):						
Comparison	Diff of Means		p	q	P	P<0.050
Control vs. 90 mL de ext	52.000		4	51.840	<0.001	Yes
Control vs. 60 mL de ext	33.111		4	33.009	<0.001	Yes
Control vs. 30 mL de ext	23.444		4	23.372	<0.001	Yes
30 mL de ext vs. 90 mL de ext	28.556		4	28.468	<0.001	Yes
30 mL de ext vs. 60 mL de ext	9.667		4	9.637	<0.001	Yes
60 mL de ext vs. 90 mL de ext	18.889		4	18.831	<0.001	Yes

Tabla 20. Análisis estadístico ANOVA y TUKEY de los valores de intensidad media y intensidad media en el control de los monogéneos de *Colossoma macropomum*, expuesto (12 horas) a diferentes concentraciones del aceite esencial de *Mansoa alliacea*.

One Way Analysis of Variance						
Normality Test:	Passed (P = 0.896)					
Equal Variance Test:	Passed (P = 0.399)					
Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM	
Control-I	3	0	88.667	0.882	0.509	
Control-II	3	0	89.222	2.269	1.310	
15 mg de aceite/L	3	0	83.222	0.839	0.484	
35 mg de aceite/L	3	0	80.333	1.764	1.018	
55 mg/L de aceite	3	0	69.667	2.667	1.540	
Source of Variation	DF	SS	MS	F	P	
Between Groups	4	758.222	189.556	56.242	<0.001	
Residual	10	33.704	3.370			
Total	14	791.926				
All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):						
Comparison	Diff of Means		p	q	P	P<0.050
Control-II vs. 55 mg/L de a	19.556		5	18.450	<0.001	Yes
Control-II vs. 35 mg de ace	8.889		5	8.386	0.001	Yes
Control-II vs. 15 mg de ace	6.000		5	5.661	0.017	Yes
Control-II vs. Control-I	0.556		5	0.524	0.995	No
Control-I vs. 55 mg/L de a	19.000		5	17.926	<0.001	Yes
Control-I vs. 35 mg de ace	8.333		5	7.862	0.002	Yes
Control-I vs. 15 mg de ace	5.444		5	5.137	0.030	Yes
15 mg de ace vs. 55 mg/L de a	13.556		5	12.789	<0.001	Yes
15 mg de ace vs. 35 mg de ace	2.889		5	2.726	0.364	No
35 mg de ace vs. 55 mg/L de a	10.667		5	10.064	<0.001	Yes

Tabla 21. Análisis estadístico ANOVA y TUKEY de los valores de intensidad media y abundancia media en el control de los monogéneos de *Colossoma macropomum*, expuesto (24 horas) a diferentes concentraciones del aceite esencial de *Mansoa alliacea*.

One Way Analysis of Variance						
Normality Test:	Passed (P = 0.682)					
Equal Variance Test:	Passed (P = 0.469)					
Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM	
Control-I	3	0	98.778	5.092	2.940	
Control-II	3	0	98.556	1.388	0.801	
15 mg de aceite/L	3	0	74.111	3.863	2.231	
35 mg de aceite/L	3	0	72.333	3.055	1.764	
55 mg/L de aceite	3	0	53.000	2.906	1.678	
Source of Variation	DF	SS	MS	F	P	
Between Groups	4	4551.881	1137.970	93.961	<0.001	
Residual	10	121.111	12.111			
Total	14	4672.993				
All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):						
Comparison	Diff of Means		p	q	P	P<0.050
Control-I vs. 55 mg/L de a	45.778		5	22.784	<0.001	Yes
Control-I vs. 35 mg de ace	26.444		5	13.161	<0.001	Yes
Control-I vs. 15 mg de ace	24.667		5	12.277	<0.001	Yes
Control-I vs. Control-II	0.222		5	0.111	1.000	No
Control-II vs. 55 mg/L de a	45.556		5	22.673	<0.001	Yes
Control-II vs. 35 mg de ace	26.222		5	13.051	<0.001	Yes

Control-II vs. 15 mg de ace	24.444	5	12.166	<0.001	Yes
15 mg de ace vs. 55 mg/L de a	21.111	5	10.507	<0.001	Yes
15 mg de ace vs. 35 mg de ace	1.778	5	0.885	0.967	No
35 mg de ace vs. 55 mg/L de a	19.333	5	9.622	<0.001	Yes

Tabla 22. Análisis estadístico ANOVA y TUKEY de los valores de eficacia en el control de los monogéneos de *Colossoma macropomum*, expuesto (12 horas) a diferentes concentraciones del extracto acuoso de *Mansoa alliacea*.

One Way Analysis of Variance					
Normality Test:	Passed (P = 0.377)				
Equal Variance Test:	Passed (P = 0.591)				
Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
30 mL de extracto/L	3	0	7.077	2.339	1.351
60 mL de extracto/L	3	0	9.014	0.734	0.424
90 mL de extracto/L	3	0	21.654	3.355	1.937
Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	2	376.023	188.011	32.663	<0.001
Residual	6	34.537	5.756		
Total	8	410.559			
All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):					
Comparison	Diff of Meansp	q	P	P<0.050	
90 mL de ext vs. 30 mL de ext	14.5773	10.524	<0.001	Yes	
90 mL de ext vs. 60 mL de ext	12.6403	9.125	0.002	Yes	
60 mL de ext vs. 30 mL de ext	1.9373	1.399	0.610	No	

Tabla 23. Análisis estadístico ANOVA y TUKEY de los valores de eficacia en el control de los monogéneos de *Colossoma macropomum*, expuesto (24 horas) a diferentes concentraciones del extracto acuoso de *Mansoa alliacea*.

One Way Analysis of Variance					
Normality Test:	Passed (P = 0.768)				
Equal Variance Test:	Passed (P = 0.119)				
Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
30 mL de extracto/L	3	0	28.847	2.599	1.500
30 mL de extracto/L	3	0	40.657	0.302	0.174
30 mL de extracto/L	3	0	63.860	1.552	0.896
Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	2	1903.784	951.892	308.614	<0.001
Residual	6	18.506	3.084		
Total	8	1922.291			
All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):					
Comparison	Diff of Meansp	q	P	P<0.050	
90 mL de ext vs. 30 mL de ext	35.0133	34.531	<0.001	Yes	
90 mL de ext vs. 60 mL de ext	23.2033	22.883	<0.001	Yes	
60 mL de ext vs. 30 mL de ext	11.8113	11.648	<0.001	Yes	

Tabla 24. Análisis estadístico ANOVA y TUKEY de los valores de eficacia en el control de los monogéneos de *Colossoma macropomum*, expuesto (12 horas) a diferentes concentraciones del aceite esencial de *Mansoa alliacea*.

One Way Analysis of Variance					
Normality Test:	Passed (P = 0.613)				
Equal Variance Test:	Passed (P = 0.223)				
Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
15 mg de aceite/L	3	0	6.138	0.761	0.439
35 mg de aceite/L	3	0	9.386	2.553	1.474
55 mg de aceite/L	3	0	21.420	3.265	1.885
Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	2	388.869	194.435	32.848	<0.001
Residual	6	35.515	5.919		
Total	8	424.385			
All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):					
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0.050
55 mg/L vs. 15 mg/L	15.281	3	10.879	<0.001	Yes
55 mg/L vs. 35 mg/L	12.034	3	8.567	0.002	Yes
35 mg/L vs. 15 mg/L	3.248	3	2.312	0.303	No

Tabla 25. Análisis estadístico ANOVA y TUKEY de los valores de eficacia en el control de los monogéneos de *Colossoma macropomum*, expuesto (24 horas) a diferentes concentraciones del aceite esencial de *Mansoa alliacea*.

One Way Analysis of Variance					
Normality Test:	Passed (P = 0.898)				
Equal Variance Test:	Passed (P = 0.366)				
Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM
15 mg de aceite/L	3	0	24.912	3.782	2.183
35 mg de aceite/L	3	0	26.539	6.777	3.913
55 mg de aceite/L	3	0	46.278	3.483	2.011
Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
Between Groups	2	848.804	424.402	17.595	0.003
Residual	6	144.722	24.120		
Total	8	993.526			
All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):					
Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0.050
55 mg/L vs. 15 mg/L	21.366	3	7.535	0.004	Yes
55 mg/L vs. 35 mg/L	19.739	3	6.961	0.006	Yes
35 mg/L vs. 15 mg/L	1.627	3	0.574	0.915	No

2C. Ficha de registro de calidad de agua

Experimento: _____ Fitoterapéutico: _____

Fecha: _____ Hora: _____

Parámetro	TRATAMIENTO/REPETICIÓN						Promedio
	R1		R2		R3		
	Inicio	Final	Inicio	Final	Inicio	Final	
Temperatura (°C)							
pH (UI)							
Oxígeno disuelto (mg/L)							
Dióxido de carbono (mg/L)							
Dureza (mg/L)							
Nitrito (mg/L)							
Nitrato (mg/L)							
TRATAMIENTO							
Temperatura (°C)							
pH (UI)							
Oxígeno disuelto (mg/L)							
Dióxido de carbono (mg/L)							
Dureza (mg/L)							
Nitrito (mg/L)							
Nitrato (mg/L)							
TRATAMIENTO							
Temperatura (°C)							
pH (UI)							
Oxígeno disuelto (mg/L)							
Dióxido de carbono (mg/L)							
Dureza (mg/L)							
Nitrito (mg/L)							
Nitrato (mg/L)							

3. Otros

3.1 Lugar de ejecución y colecta del material biológico



A. Ubicación del ONG's Amazon Research Center of Ornamental Fish (AA.HH 21 de Mayo Zungarococha) distrito de San Juan Bautista



B. Colecta de los alevinos de *Colossoma macropomum* (Amazon Natural Fish E.I.R.L)



C. Colecta de hojas de *Mansoa alliacea* (Reserva Nacional Allpahuayo Mishana)

3.2 Constancia de Identificación de *Mansoa alliacea* por el Herbarium Amazonense de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana (UNAP)



UNAP

Centro de Investigación de
Recursos Naturales
Herbarium Amazonense — AMAZ

INSTITUCIÓN CIENTÍFICA NACIONAL DEPOSITARIA DE MATERIAL BIOLÓGICO
CÓDIGO DE AUTORIZACIÓN AUT-ICND-2017-005

CONSTANCIA n.º 17-2020-AMAZ-UNAP

El Coordinador del Herbarium Amazonense (AMAZ) del CIRNA, de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana

HACE CONSTAR:

Que, la muestra botánica presentada por **HUMBERTO ARBILDO ORTIZ**, estudiante de la **Maestría en Acuicultura III - Promoción**, de la **Universidad Nacional de la Amazonía Peruana**, pertenece al proyecto de tesis de post grado titulado **"Efecto toxicológico y antiparasitario del extracto acuoso y del aceite esencial de las hojas de *Mansoa alliacea* "ajo sacha" en alevinos de *Colossoma macropomum* procedentes de ambientes controlados, Región Loreto, Perú"**, que ha sido **DETERMINADA** en este Centro de Investigación y Enseñanza **Herbarium Amazonense-AMAZ** del Centro de Investigación de Recursos Naturales de la UNAP (**CIRNA-UNAP**) como se indica a continuación:

Nº	FAMILIA	ESPECIE
01	BIGNONIACEAE	<i>Mansoa alliacea</i> (Lam.) A.H. Gentry

Determinador: Ing. Forestal Juan C. Ruiz Macedo

El primer día del mes de diciembre del dos mil veinte, se expide la presente constancia al interesado para los fines que se estime conveniente.

Atentamente,


Richard J. Huananca Acostupa
Coordinador Herbarium Amazonense



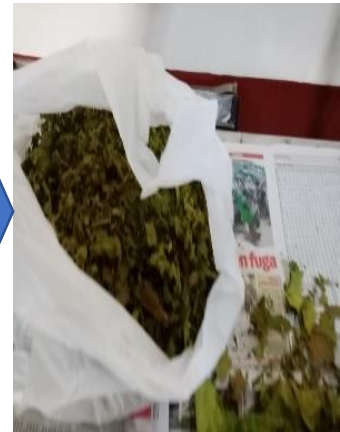
3.3 Colecta de hojas de *Manso alliacea* y preparación de fitoterapéuticos



Colecta de hojas



Secados de hojas (45 a 50°C) en horno



Hojas secas



Reposo por 48 h
Temperatura ambiente



Mesclado de hojas con agua
10 g/L



Filtrado del extracto



Hojas molidas (moedor
mecánico)



Aceite



Destilación de hojas para la
obtención del aceite



3.4 Bioensayo toxicológico del extracto y del aceite esencial de *Mansoa alliacea*



A. Test prueba preliminar de tolerancia



B. Test prueba definitiva

3.5 Bioensayo toxicológico del extracto y del aceite esencial de *Mansoa alliacea*



Infestación experimental



Bioensayo de extracto acuoso



Análisis del agua



Bioensayo de aceite esencial



Conteo y identificación de parásitos



Muestras preservadas



Necropsia peces y colecta de mucus y branquias

3.6 Constancia de confirmación de especies de ectoparásitos monogêneos



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ - UFPA

Belém, 1 de Dezembro de 2020

Declaração

Eu, Amanda Karen Silva de Souza, membro do grupo de Pesquisa do Laboratório de Biologia Celular e Helminologia da Universidade Federal do Pará (UFPA), Belém, Brasil, faço constar que o material enviado pelo Biólogo. HUMBERTO ARBILDO ORTIZ, para confirmação das espécies de monogêneos, como parte de sua dissertação intitulada “EFECTO TOXICOLÓGICO Y ANTIPARASITARIO DEL EXTRACTO ACUOSO Y DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS DE *Mansoa alliacea* “AJO SACHA” EN ALEVINOS DE *Colossoma macropomum* PROCEDENTES DE AMBIENTES CONTROLADOS, REGIÓN LORETO, PERÚ”, de Mestrado em Aquicultura da Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, Perú, pertenecem a três espécies de monogêneos:

- *Anacanthorus spathulatus*,
- *Notozothecium janauachensis*,
- *Mymarothecium tantaliani*

Qualquer dúvida ou comentário entrar em contato através do correio atjsouza15@gmail.com. Sem mais para o momento, me despido.

PROFA. AMANDA KAREN S. SOUZA MS.C.

3.7 Mortalidad de los alevinos de *Colossoma macropomum*, expuesto al extracto acuoso (A) y aceite esencial (B) de *Mansoa alliacea*, durante 96 horas.

A) Extracto acuoso

Tratamiento (mL/L)	repetición	Tiempo de exposición					Total
		6	24	48	72	96	
Control	r1	0	0	0	0	0	0
	r2	0	0	0	0	0	0
50	r1	0	0	0	1	0	1
	r2	0	0	0	1	1	2
100	r1	0	0	0	2	3	5
	r2	0	0	0	2	4	6
200	r1	0	0	0	3	3	6
	r2	0	0	0	3	4	7
400	r1	0	0	0	4	5	9
	r2	0	0	0	4	4	8

A) Aceite esencial

Tratamiento (mg/L)	repetición	Tiempo de exposición					Total
		6	24	48	72	96	
T0 (0)	r1	0	0	0	0	0	0
	r2	0	0	0	0	0	0
T1 (50)	r1	0	0	0	2	1	3
	r2	0	0	0	3	1	4
T2 (100)	r1	0	0	0	1	5	6
	r2	0	0	0	1	6	7
T3 (150)	r1	0	0	0	2	6	8
	r2	0	0	0	2	5	7
T4 (200)	r1	0	0	0	1	8	9
	r2	0	0	0	2	7	9

26. Valores de ectoparásitos monogéneos de los alevinos de *Colossoma macropomum*, después de las 12 y 24 horas de exposición del aceite esencial de *Mansoa alliacea*.

N° de peces	INICIO			N° de peces	Tratamiento	TIEMPO DE EXPOSICIÓN					
	Inicio		Total			12 Horas			24 Horas		
	Bra	Mu				Bra	Mu	Total	Bra	Mu	Total
1	72	0	72	1	C1r1	65	0	65	78	0	78
2	76	0	76	2	C1r1	71	0	71	71	0	71
3	58	0	58	3	C1r1	78	0	78	93	0	93
4	68	0	68	4	C1r2	82	0	82	80	0	80
5	70	0	70	5	C1r2	59	0	59	85	0	85
6	74	0	74	6	C1r2	69	0	69	78	0	78
7	68	0	68	7	C1r3	75	0	75	76	0	76
8	79	0	79	8	C1r3	63	0	63	85	0	85
9	62	0	62	9	C1r3	70	0	70	87	0	87
10	71	0	71	10	T1r1	65	0	65	58	0	58
11	69	0	69	11	T1r1	61	0	61	61	0	61
12	59	0	59	12	T1r1	68	0	68	53	0	53
13	70	0	70	13	T1r2	72	0	72	50	0	50
14	78	0	78	14	T1r2	69	0	69	57	0	57
15	64	0	64	15	T1r2	59	0	59	60	0	60
16	70	0	70	16	T1r3	68	0	68	61	0	61
17	60	0	60	17	T1r3	63	0	63	65	0	65
18	66	0	66	18	T1r3	62	0	62	57	0	57
19	68	0	68	19	T2r1	65	0	65	50	0	50
20	75	0	75	20	T2r1	61	0	61	36	0	36
Promedio	69.80		69.80	21	T2r1	68	0	68	57	0	57
Mínimo	58	0	58	22	T2r2	62	0	62	44	0	44
Máximo	79	0	79	23	T2r2	59	0	59	48	0	48
				24	T2r2	69	0	69	52	0	52
				25	T2r3	68	0	68	47	0	47
				26	T2r3	63	0	63	52	0	52
				27	T2r3	60	0	60	49	0	49
				28	T3r1	55	0	55	33	0	33
				29	T3r1	41	0	41	21	0	21
				30	T3r1	68	0	68	32	0	32
				31	T3r2	52	0	52	34	0	34
				32	T3r2	49	0	49	28	0	28
				33	T3r2	59	0	59	23	0	23
				34	T3r3	68	0	68	34	0	34
				35	T3r3	53	0	53	29	0	29
				36	T3r3	50	0	50	31	0	31

C1= control I (agua), T1 = 30 mL/L, T2= 60 mL/L, T3 =90 mL/L de extracto acuoso.

3.9. Valores de ectoparásitos monogéneos de los alevinos de *Colossoma macropomum*, después de 12 y 24 horas de exposición del aceite esencial de *Mansoa alliacea*.

INICIO			TIEMPO DE EXPOSICIÓN								
N°	Inicio		Total	N° de peces	Tratamiento	12 Horas			24 Horas		
	Bra	Mu				Bra	Mu	Total	Bra	Mu	Total
1	92		92	1	C1r1	88	0	88	86	0	86
2	86		86	2	C1r1	90	0	90	103	0	103
3	101		101	3	C1r1	91	0	91	94	0	94
4	98		98	4	C1r2	85	0	85	109	0	109
5	65		65	5	C1r2	95	0	95	100	0	100
6	74		74	6	C1r2	84	0	84	84	0	84
7	93		93	7	C1r3	80	0	80	111	0	111
8	79		79	8	C1r3	96	0	96	99	0	99
9	102		102	9	C1r3	89	0	89	103	0	103
10	91		91	10	C2r1	69	0	69	100	0	100
11	69		69	11	C2r1	90	0	90	105	0	105
12	106		106	12	C2r1	101	0	101	86	0	86
13	98		98	13	C2r2	84	0	84	89	0	89
14	102		102	14	C2r2	102	0	102	123	0	123
15	84		84	15	C2r2	84	0	84	85	0	85
16	90		90	16	C2r3	92	0	92	97	0	97
17	101		101	17	C2r3	93	0	93	99	0	99
18	96		96	18	C2r3	88	0	88	103	0	103
19	68		68	19	T1r1	98	0	98	68	0	68
20	75		75	20	T1r1	70	0	70	75	0	75
Promedio	88.10		88.10	21	T1r1	84	0	84	81	0	81
Mínimo	65	0	65	22	T1r2	88	0	88	61	0	61
Máximo	102	0	102	23	T1r2	78	0	78	75	0	75
				24	T1r2	84	0	84	74	0	74
				25	T1r3	80	0	80	68	0	68
				26	T1r3	86	0	86	78	0	78
				27	T1r3	81	0	81	87	0	87
				28	T2r1	80	0	80	66	0	66
				29	T2r1	71	0	71	76	0	76
				30	T2r1	86	0	86	83	0	83
				31	T2r2	74	0	74	79	0	79
				32	T2r2	76	0	76	68	0	68
				33	T2r2	89	0	89	72	0	72
				34	T2r3	68	0	68	61	0	61
				35	T2r3	79	0	79	69	0	69
				36	T2r3	100	0	100	77	0	77
				37	T3r1	70	0	70	61	0	61
				38	T3r1	71	0	71	52	0	52
				39	T3r1	68	0	68	50	0	50
				40	T3r2	92	0	92	41	0	41
				41	T3r2	66	0	66	58	0	58
				42	T3r2	59	0	59	50	0	50
				43	T3r3	68	0	68	59	0	59
				44	T3r3	73	0	73	51	0	51
				45	T3r3	60	0	60	55	0	55

C1= control I (agua), C2= control II (agua + alcohol), T1=15 mg/L, T2= 35 .mg/L, T3 =55 mg/L de aceite.

3.10. Categoría cualitativa de toxicidad para peces e invertebrados acuáticos (Zucker, 1985)

CL ₅₀	Descripción de categoría
< 0.1 ppm	Extremamente tóxico
0.1 a 1 ppm	Altamente tóxico
> 1 < 10 ppm	Moderadamente tóxico
> 10 < 100 ppm	Levemente tóxico
> 100 ppm	Prácticamente no tóxico

Fuente USEPA