Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Ciencias Biológicas
Escuela Profesional de Ciencias Biológicas

Kavushitagantsi: *Jatropha gossypiifolia* L, 1753 "Piñon Negro" (euphorbiaceae) como agente antiparasitario contra monogéneos de *Piaractus brachypomus* Cuvier, 1818 "Paco" en el departamento de Madre de Dios

TESIS

Para optar el Título Profesional de Bióloga con mención en Hidrobiología y Pesquería

AUTOR

Alexandra CORNEJO RIGAUD

ASESORES

Silvia Ysabel AGUILAR LUNA

Anaí Paola Prissilla GONZALES FLORES (Coasesor)

Lima, Perú

2026



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Cornejo, A. (2026). *Kavushitagantsi: Jatropha gossypiifolia L, 1753 "Piñon Negro" (euphorbiaceae) como agente antiparasitario contra monogéneos de Piaractus brachypomus Cuvier, 1818 "Paco" en el departamento de Madre de Dios*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela Profesional de Ciencias Biológicas]. Repositorio institucional Cybertesis UNMSM.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Alexandra Cornejo Rigaud
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	70060252
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-2349-175X
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Silvia Ysabel Aguilar Luna
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	09431714
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0001-6123-3287
Datos de coasesor	
Nombres y apellidos	Anaí Paola Prissilla Gonzales Flores
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	70078993
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-9282-3500
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Rafael Simon Oswaldo La Rosa Loli
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	06134564
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Giovana Patricia Vadillo Gálvez

Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	07268590
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Liliana del Rosario Tapia Ugaz
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	33262515
Datos de investigación	
Línea de investigación	B.2.1.1. Plantas medicinales con potencial farmacéutico y productos naturales terapéuticos: (estudios fitoquímicos, estudios toxicológicos, estudios farmacológicos, procesos de su industrialización)
Grupo de investigación	No Aplica
Agencia de financiamiento	Perú. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología e Innovación Tecnológica (CONCYTEC). ProCiencia. Proyectos de Investigación Básica 2021-01. N° 055-2021-FONDECYT.
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: Centro de Investigación Roger Beuzeville Zumaeta – El Castañal País: Perú Departamento: Madre de Dios Provincia: Tambopata Distrito: Tambopata Latitud: -12.6503 Longitud: -69.321164
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2021 – 2022
URL de disciplinas OCDE	Biología marina, Biología de agua dulce, Limnología https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.06.12 Farmacología, Farmacia https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.05

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
(Universidad del Perú, Decana de América)

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ACTA DE SESIÓN PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE BIÓLOGA CON MENCIÓN EN HIDROBIOLOGÍA Y PESQUERÍA (MODALIDAD: SUSTENTACIÓN PRESENCIAL DE TESIS)

Siendo las ..8:12.. horas del 29 de setiembre de 2026, en el Salón de Grados de la Facultad de Ciencias Biológicas y en presencia del Jurado formado por los profesores que suscriben, se inició la sesión para optar al **Título Profesional de Bióloga con mención en Hidrobiología y Pesquería** de **ALEXANDRA CORNEJO RIGAUD.**

Luego de dar lectura y conformidad al expediente **N.º UNMSM-20240111488**, la titulando expuso su tesis: **KAVUSHITAGANTSI: *Jatropha gossypiifolia* L, 1753 "PIÑON NEGRO" (EUPHORBIACEAE) COMO AGENTE ANTIPARASITARIO CONTRA MONOGÉNEOS DE *Piaractus brachypomus* Cuvier, 1818 "PACO" EN EL DEPARTAMENTO DE MADRE DE DIOS,** y el Jurado efectuó las preguntas del caso calificando la exposición con la nota ...18...,calificativo: ..aprobado...con..mención..honrosa.....

Finalmente, el expediente será enviado a la Escuela Profesional de Ciencias Biológicas y al Consejo de Facultad para que se apruebe otorgar el **Título Profesional de Bióloga con mención en Hidrobiología y Pesquería** a **ALEXANDRA CORNEJO RIGAUD** y se eleve lo actuado al Rectorado para conferir el respectivo título, conforme a ley.

Siendo las ..9:30... horas se levantó la sesión.

Ciudad Universitaria, 29 de setiembre de 2026.

RAFAEL SIMON OSWALDO LA ROSA LOLI
PRESIDENTE

SILVIA YSABEL AGUILAR LUNA
ASESORA

LILIANA DEL ROSARIO TAPIA UGAZ
MIEMBRO

GIOVANA PATRICIA VADILLO GALVEZ
MIEMBRO

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE
SAN MARCOS
Universidad del Perú, Decana de América

CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, Silvia Ysabel Aguilar Luna en mi condición de asesor acreditado con el Dictamen de la EP N° 000040-2026-EPCB-FCB/UNMSM de la tesis, cuyo título es, "KAVUSHITAGANTSI: *Jatropha gossypiifolia* L, 1753 "PIÑON NEGRO" (EUPHORBIACEAE) COMO AGENTE ANTIPARASITARIO CONTRA MONOGÉNEOS DE *Piaractus brachypomus* Cuvier, 1818 "PACO" EN EL DEPARTAMENTO DE MADRE DE DIOS"", presentado por la bachiller ALEXANDRA CORNEJO RIGAUD, para optar al título profesional de Bióloga con mención en Hidrobiología y Pesquería,

CERTIFICO, que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante la plataforma PIDS, el documento evaluado cuenta con el 11% de similitud, nivel **PERMITIDO** para continuar con los trámites correspondientes y para su **publicación en el repositorio institucional.**

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del título profesional de Biologa con mención en Hidrobiología y Pesquería.

Lima, 15 de setiembre de 2026

Firma del Asesor

Nombres y Apellidos del asesor: Silvia Ysabel Aguilar Luna
DNI: 09431714

* Según corresponda: bachiller, magíster, doctor; título profesional o título de segunda especialidad

La vigencia del presente certificado corresponde a un período de noventa (90) días desde la fecha de su emisión; siempre que no haya observaciones en el texto durante el proceso de revisión por el jurado informante o surja alguna contingencia.

AGRADECIMIENTOS

A mis asesoras por su guía y correcciones durante todo el proceso de elaboración de la tesis.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología e Innovación Tecnológica (Concytec) a través de su unidad ejecutora, PROCIENCIA (Proyecto 055-2021-Fondecyt) por el financiamiento.

Al Dr. Marco Espino, quien me motivó a terminar mis estudios.
Descanse en paz, profesor.

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

Tablas

Tabla 1. Relación de compuestos detectados en el extracto etanólico de *Jatropha gossypiifolia* mediante UHPLC-MS.

Tabla 2. Prevalencia (P) y Abundancia media (AM) de parásitos al finalizar la prueba *in vivo.*

Tabla 3. Parámetros hematológicos de *P. brachypomus* luego de las pruebas in vivo.

Figuras

Figura 1. Puntos de colecta del material vegetal en la ciudad de Puerto Maldonado, Madre de Dios.

Figura 2. Eficacia antiparasitaria *in vitro* de las diferentes concentraciones de extracto etanólico.

Figura 3. Ornamentos del tegumento de monogéneo expuesto a agua, no se observan daños (A). Monogéneo expuesto a 600 mg/L que muestra daños a lo largo del tegumento en forma de lesiones (B). Tegumento de monogéneo expuesto a 2000 mg/L donde se observan la acción antiparasitaria del extracto a manera de llagas profundas.

Figura 4. Pérdida del eje de nado (A). Residuo de extracto en el cuerpo del pez, dilatación e irritación de los ojos (B). Residuo de extracto en las branquias (C). Boqueo (D).

TABLA DE CONTENIDO

Agradecimiento i
Lista de tablas y figuras ii
Tabla de contenido iii
Resumen 1
Abstract 2
Introducción 3
Marco Teórico 4
Estado de la acuicultura 4
Nivel Mundial y América Latina 4
Perú 5
Piaractus brachypomus 5
Distribución y clasificación taxonómica 5
Descripción morfológica 6
Características bioecológicas y de cultivo 6
Enfermedades parasitarias: Problemática y control 7
Sobre la especie *Jatropha gossypiifolia* 8
Clasificación taxonómica 8
Descripción morfológica 9
Fitoquímica 9
Objetivos e Hipótesis 11
Objetivo principal 11
Objetivos específicos 11
Hipótesis principal 11
Materiales y métodos 12
Colecta de material vegetal 12
Obtención y caracterización química del extracto etanólico 12
Obtención de peces y parásitos 12
Evaluación de la eficacia antiparasitaria in vitro y análisis de microfotografía a través de microscopía electrónica de barrido después de la exposición con extracto etanólico *de J. gossypiifolia L.* ..13
Test de Tolerancia 14
Evaluación de la eficacia antihelmíntica después de baños terapéuticos prolongados de paco *P. brachypomus* con extracto etanólico de *J. gossypiifolia L.* 15
Análisis hematológicos 15
Análisis parasitológicos 16

Análisis estadísticos 16
Resultados 16
Colecta de hojas, obtención y caracterización química del extracto etanólico. 17
Prueba *in vitro* 18
Test de tolerancia 20
Análisis parasitológicos después de tres días de baños terapéuticos 20
Parámetros hematológicos después de tres días de baños terapéuticos 21
Discusiones 23
Conclusiones 27
Recomendaciones 28
Bibliografía 29
Anexos 42

Resumen

La acuicultura es una actividad clave para garantizar la seguridad alimentaria en comunidades amazónicas. Sin embargo, las infecciones parasitarias representan una amenaza. Debido a las restricciones sobre el uso de fármacos convencionales en Perú, este estudio evaluó el potencial antiparasitario del extracto etanólico de *Jatropha gossypiifolia* L. "piñón negro", una planta medicinal de uso tradicional en Madre de Dios, como alternativa fitoterapéutica para el control de monogéneos branquiales en *Piaractus brachypomus* "paco"

El extracto etanólico se obtuvo a partir de hojas secas recolectadas y se realizaron ensayos *in vitro* con 14 concentraciones diferentes. Además, se realizó la caracterización química del extracto y análisis microfotográfico de los parásitos para evaluar el efecto antiparasitario del extracto. Los resultados determinaron una eficacia del 100% en condiciones in vitro, lo que permitió seleccionar dos concentraciones (50 y 100 mg/L) para las pruebas de tolerancia y tratamientos *in vivo* mediante baños terapéuticos de seis horas durante tres días.

El extracto presentó 36 metabolitos secundarios entre péptidos, lípidos y fenoles. En las microfotografías, la acción antiparasitaria del extracto quedó evidenciada por la lisis del tegumento y la desestructuración interna de los monogéneos. En las pruebas *in vivo* se seleccionaron las concentraciones de 50 y 100 mg/L, obteniendo 99.7% y 100% de eficacia antiparasitaria respectivamente contra tres especies de parásitos: *Anacanthorus penilabiatus. Anacanthorus spatulatus y Mymarotecium viatorum.* Sin embargo, los parámetros hematológicos y bioquímicos de los peces expuestos reflejaron signos de estrés fisiológico.

Esta tesis representaría la primera aplicación fitoterapéutica de *Jatropha gossypiifolia L*. en la acuicultura peruana, abriendo paso a nuevas alternativas sostenibles para el control parasitario en peces. Se recomienda evaluar otros tipos e extractos y tecnologías como aceites esenciales y nanopartículas. Asimismo, es necesario aislar fitoquímicos, explorar efectividades individuales y sinérgicas junto con los potenciales efectos fisiológicos en *P.brachypomus*.

Palabras clave: Acuicultura, fitoterapia, antiparasitario, paco, *Jatropha gossypiifolia.*

Abstract

Aquaculture is an essential activity for ensuring food security in Amazonian communities. However, parasitic infections are a significant threat. Due to conventional antiparasitic pharmaceuticals restrictions in Peru, this study evaluated the antiparasitic potential of *Jatropha gossypiifolia* L. "bellyache bush" ethanolic extract, a medicinal plant traditionally used in Madre de Dios, as a phytotherapeutic alternative for gill monogeneans control in *Piaractus brachypomus* "red-bellied pacu".

The ethanolic extract was obtained from collected dried leaves, and in vitro tests were conducted using 14 different concentrations. Additionally, the chemical characterization of the ethanolic extract and microphotography analysis of the parasites were carried out to assess its antiparasitic effects. The results showed 100% efficacy under *in vitro* conditions, allowing for the selection of two concentrations (50 and 100 mg/L) for tolerance tests and *in vivo* treatments using six-hour therapeutic baths over three consecutive days.

The extract contained 36 secondary metabolites, including peptides, lipids and phenols. Microphotographs revealed the antiparasitic action of the extract through tegument lysis and internal disintegration of the monogeneans. In the *in vivo* tests, the selected concentrations of 50 and 100 mg/L achieved 99.7% and 100% antiparasitic efficacy, respectively, against three parasite species: *Anacanthorus penilabiatus. Anacanthorus spatulatus y Mymarotecium viatorum***.** However, hematological and biochemical parameters of the exposed fish showed signs of physiological stress.

This thesis represents the first phytotherapeutic application of *Jatropha gossypiifolia L.* in Peruvian aquaculture, paving the way for sustainable alternatives for parasite control in fish. It is recommended to evaluate other types of extracts and technologies, such as essential oils and nanoparticles. Furthermore, it is necessary to isolate phytochemicals and explore both their individual and synergistic efficacy, along with their potential physiological effects on *P.brachypomus.*

Key words: Aquaculture, phytotherapy, antiparasitic agent, pacu, *Jatropha gossypiifolia.*

1. Introducción

La acuicultura juega un papel importante en el aseguramiento de la soberanía alimentaria en diversas comunidades a nivel del mundo. En la Amazonía Peruana, sobresalen la Acuicultura de Recursos Limitados (AREL) y de Micro y Pequeña Empresa (AMyPE) formadas por familias y comunidades cuyo cultivo se destina al mercado local o autoconsumo (FAO, 2012). En Madre de Dios, *Piaractus brachypomus* "paco" es la especie más cultivada, mostrando un incremento del 15.7% en su cultivo (Ministerio de la Producción, 2020).

Sin embargo, existen factores que pueden comprometer la sobrevivencia de los peces cultivados como las enfermedades parasitarias. Como por ejemplo en Brasil, dónde el 70% de la cosecha proviene de la acuicultura intensiva, presentando pérdidas de 84 millones de dólares anuales (Tavares-Días & Martins, 2017).

La proliferación de enfermedades en peces se ve favorecida por la reducción en la calidad y disponibilidad de agua, así como por una elevada densidad de siembra (Ashley, 2007), específicamente los parásitos de la clase Monogenea (Igeh et al., 2021). De ciclo de vida simple y rápida proliferación, pueden originar la muerte del hospedero (de Campos et al., 2011). Llegando a ser un problema en la región, donde el ciclo hidrológico disminuye considerablemente la disponibilidad de agua entre los meses de mayo y septiembre (Santos, 2017).

Por ello, los acuicultores emplean quimioterápicos tradicionales para combatir las infecciones como como praziquantel (Morales-Serna et al., 2018; Oliveira et al., 2019; Farias et al., 2021; Maciel & Affonso, 2021), verde de malaquita (Hashimoto et al., 2011; Valladão et al., 2015), abamectina (Oliveira et al., 2019), ivermectina (Alves et al., 2019), entre otros. No obstante, en el Perú, se encuentran prohibidos para la acuicultura diversos quimioterápicos, algunos por su potencial cancerígeno, como los estilbenos, cloranfenicol, dimetridazol, metronidazol, nitrofuranos (incluída la furazolidona), verde de malaquita y leucomalaquita, y otros por ser considerados contaminantes como los esteroides y colistina (SANIPES, 2021). Además, el uso desmedido de quimioterápicos trae como consecuencias la bioacumulación en el músculo de los peces (Kemper, 2008; Zenker et al., 2014), así como la formación de resistencia de los patógenos (Chong et al., 2020).

Es así como la fitoterapia, el uso ancestral de plantas medicinales aprovechando los metabolitos secundarios para el beneficio propio o de otro organismo (Chong et al., 2020), se sincretiza con la industria acuícola para formar tecnologías verdes que permitan asegurar la producción de una manera inocua para el ambiente y seres vivos involucrados en la actividad (Wunderlich et al., 2017). Entre las diversas aplicaciones basadas en la fitoterapia tenemos el uso de nanopartículas, nanoemulsiones, aceites esenciales, látex, hidrolatos y resinas. La variedad tecnológica está relacionada directamente con la gran diversidad de principios activos en las plantas medicinales con diferentes métodos de acción (Belo et al., 2020).

Por ello, este trabajo aprovechó el conocimiento ancestral de Madre de Dios utilizando el extracto etanólico de *Jatropha gossypiifolia* "piñón negro", planta medicinal abundante y de uso común en la región como agente antiparasitario contra monogéneos branquiales en *Piaractus brachypomus* "paco".

2. Marco Teórico

2.1. Estado de la acuicultura

2.1.1. Nivel Mundial y América Latina

A pesar de la crisis mundial generada por la pandemia del COVID – 19 durante el 2020, el sector pesquero y la acuicultura continuaron en crecimiento. Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) durante el año 2020 se estimó un total de 177,8 millones de toneladas métricas (t) de producción de especies acuáticas. El 49% (87,5 millones de t) provino de la acuicultura, generándose un aproximado de 256 000 millones de dólares en ganancias. Dentro de la producción acuícola mundial durante el 2020, 54,4 millones de t corresponden a producción de animales dulceacuícolas (FAO, 2022).

En América Latina y Caribe se obtuvo una producción total de 3 756 mil t de animales acuáticos (5% del total mundial) (FAO, 2022). Cabe resaltar que Chile es el país que mayor contribución hizo a la producción acuícola mundial con 1 485, 9 mil t (33 % del total de producción americana) (FAO, 2022). Sin embargo, en la acuicultura continental Brasil es el país con mayor producción con un total de 477 000 t que representan el 90% del total producido en el año 2019 (Valenti et al., 2021). Las especies nativas más cultivadas durante el 2019 correspondieron a *Colossoma macropomum* "gamitana" (101

079 t) y sus híbridos (40 098 t), *Piaractus mesopotamicus* "paco" y sus híbridos (11 543 t) (Valenti et al., 2021).

2.1.2. Perú

Comparado con el resto de Latinoamérica, la producción acuícola en el Perú es incipiente (Valladão et al., 2018). El total de animales acuáticos producidos durante el 2022 fue de 37 168 toneladas brutas métricas (TBM), de las cuales el 11% corresponden al ámbito continental (DIREPRO, 2023). Si bien entre los años 2020 – 2021 se observó una producción promedio anual de 6 046 TBM durante el 2022 la producción anual fue de 4 232 TBM, disminuyendo en 7.1%. En la región amazónica las especies más cultivadas son *Oreochromis niloticus* "tilapia", *C. macropomum* y *P. brachypomus* (MINAM, 2023).

Específicamente en el departamento de Madre de Dios, como en la mayoría de la Amazonía, la acuicultura es artesanal para consumo interno (Mikkola, 2024). Sin embargo, el desarrollo acuícola es potencial por la gran disponibilidad de agua, tierras, recursos hidrobiológicos y la presencia de la carretera interoceánica. No obstante, la falta de capacitación de los acuicultores, la baja disponibilidad de tecnologías y las problemáticas socioambientales impiden alcanzar los estándares sanitaros y de calidad necesarios para ingresar a los mercados nacionales e internacionales (Tello, 2002; FAO, 2012; Kleeberg, 2019).

2.2. *Piaractus brachypomus*

2.2.1. Distribución y clasificación taxonómica

Piaractus brachypomus (Cuvier, 1818) "paco", de la familia Serrasalmidae se distribuye naturalmente a lo largo de las cuencas del Orinoco y Amazonas, encontrándose en Perú, Bolivia, Brasil, Venezuela y Colombia. Por acción antrópica, ha sido introducida en diversos países a nivel mundial como, por ejemplo: Guatemala (Elias et al., 2018), India, Polonia y Papua Nueva Guinea (Correa et al., 2015).

Więcaszek et al. (2022) lo clasifican como:

Reino: Animalia

Phylum: Chordata

Clase: Actinopterygii

Orden: Characiformes

Familia; Serrasalmidae

Género: Piaractus

Especie: *Piaractus brachypomus* L, 1818

2.2.2. Descripción morfológica

Puede llegar a medir 88 cm y pesar hasta 25 kg. Presenta cuerpo fusiforme, comprimido lateralmente, cubierto con escamas cicloideas, con boca terminal y 2 filas de dientes molariformes (Więcaszek et al., 2022). Presenta entre 33 a 37 branquiespinas en el primer arco branquial (Campos-Baca and Kohler 2005; Machado-Allison, 2018). La coloración a los lados del cuerpo es plateada, tomando un color rojo cerca la zona ventral. Los juveniles pueden presentar puntos negros a manera de mimetizarse con *Pygocentrus* (Machado-Allison, 2018). La aleta caudal es homocerca y, a diferencia de *Colossoma macropomum*, no presenta aleta adiposa con rayos (Campos-Baca y Kohler 2005)

2.2.3. Características bioecológicas y de cultivo

Piaractus brachypomus es una especie rústica, capaz de adaptarse a condiciones ambientales adversas, de fácil cultivo y alta tasa de conversión alimenticia (Baras et al., 1996), por lo cual es una de las especies más importantes dentro de la acuicultura Amazónica. Es omnívoro y filtrador, con preferencia a consumir alimentos de origen vegetal como semillas en el medio natural (Gutiérrez-Alva et al., 1996); pudiendo adaptarse al alimento peletizado en cautiverio por la presencia de dientes molariformes. Solo se reproduce una vez al año durante la temporada de lluvias (Nascimento et al., 2010), realizando migraciones reproductivas desde los bosques inundables a las laderas de los ríos para el desove. En consecuencia, juega un papel importante en el mantenimiento de los bosques inundables (Anderson et al., 2011). Debido a que su reproducción está relacionada en su totalidad a cambios ambientales propios del régimen fluvial amazónico, es necesaria la inducción hormonal artificial para su reproducción en cautiverio (Fresneda et al., 2004), lo que ha motivado el desarrollo de estrategias reproductivas como la criopreservación de esperma (Ramirez-Merlano et al., 2011).

Las poblaciones naturales de *P.brachypomus* han sufrido presión antrópica por sobrepesca y por la destrucción de sus hábitats por la minería e industrias forestales informales (Tello, 2002), no pudiendo cubrir la demanda de carne de pescado en el

mercado regional (Lochmann et al., 2009). Aumentando así la importancia del cultivo de esta especie en la Amazonía. Por ello, el desarrollo de tecnologías se ha enfocado en el desarrollo de alimentos artificiales que promuevan de manera rentable el crecimiento y engorde de los peces utilizando diferentes fuentes proteicas (Lochmann et al., 2009).

Al igual que las demás especies cultivadas en la Amazonía Peruana, la mayoría de los cultivos se realizan de forma semi intensiva en jaulas o estanques de tierra (Valladão et al., 2018). Sin embargo, el bajo recambio de agua propia de los estanques de tierra y la baja disponibilidad de agua durante la época seca causan la disminución de los parámetros de calidad de agua (Santos, 2017) y vuelven vulnerables a los peces a las enfermedades (Valladão et al., 2018).

2.3. Enfermedades parasitarias: problemática y control.

Las infecciones parasitarias son un problema común en los peces cultivados en cautiverio (Tavares-Dias & Martins, 2017). Una elevada capacidad de carga, baja calidad de agua, dietas no balanceadas, mal manejo puede elevar los niveles de estrés en peces, disminuyendo sus defensas y haciéndolos vulnerables a infecciones parasitarias por parte de protozoarios (*Ichthyophthirius multifiliis*, *Ichthyobodo necator*, *Trichodina heterodentata*, etc), oomycetos (*Saprolegnia sp*), dinoflagelados (*Piscinoodinium sp.* y *Amyloodinium sp.*) y metazoarios (myxozoarios, digeneos, cestodos, nemátodos, monogeneos y crustráceos) (Ashley, 2007; Buchmann, 2022).

Si bien en el medio natural los peces pueden llegar a ser hospederos de diferentes especies de parásitos y llegar a la homeostásis, en cautiverio las condiciones descritas anteriormente propician el desarrollo desmesurado de los parásitos a causa de un sistema inmunológico debilitado, elevando considerablemente la mortalidad y generando grandes pérdidas económicas a los acuicultores estimadas en 9.58 billones de dólares anuales (Shinn et al., 2015). Por ejemplo, se atribuye la caída de producción de salmón en Chile entre los años 2006 (385 086 t) al 2010 (230 678 t) al copépodo *Caligus rogercresseyi* y al virus de la anemia infecciosa del salmón, llegando a reportarse pérdidas de 81,2 millones de dólares anuales (Soluri, 2011). En Brasil, se estiman pérdidas de 84 millones de dólares anuales a causa de las infecciones parasitarias (Tavares-Dias & Martins, 2017).

Entre las infecciones ectoparasitarias, una de la más comunes es por monogéneos, debido a la simplicidad del ciclo de vida que facilita su reproducción y propagación por contacto en los medios de cultivo (Negreiros & Tavares-Dias, 2019). Pueden parasitar las narinas,

piel y branquias de los peces, generando lesiones tisulares, que pueden ser infectadas por agentes oportunistas generando la muerte (Dias et al., 2015). Además, las lesiones branquiales dificultan el intercambio gaseoso aumentando los niveles de estrés y volviendo vulnerable al animal a otras infecciones (de Campos et al., 2011). Para el género *Piaractus*, se han reportado infecciones por *Anacanthorus penilabiatus*, *Mymarothecium viatorum* (Franceschini et al., 2013) y *Anacanthorus spatulatus* (Negreiros y Tavares-Dias, 2019). Estas especies han sido reportadas en *P. brachypomus* en la región de Madre de Dios (Cayulla, 2018).

Muchas de estas infecciones se combaten por medio de quimioterápicos como el verde de malaquita, que está prohibido por ser altamente cancerígeno y genotóxico, (EFSA, 2016; SANIPES, 2021), la formalina que es alergénica (Mathiessen et al., 2021), cancerígena, impacta negativamente al ambiente y genera aumentos en los niveles de cortisol plasmático en los peces (Buchmann, 2022), medicamentos antiparasitarios como metronidazol, prohibido en la comunidad Europea por dejar residuos, prazinquantel cuyo uso indiscriminado ha generado resistencia en los agentes parasitarios, insecticidas como malatión y paratión, prohibido por daños al ambiente e intoxicación de peces y trabajadores, (Kabata, 1985; Buchmann, 2022) o para ectoparásitos como cloruro de sodio cuya dosis óptima está cerca a la concentración mortal en muchas especies (Tavares-Dias, 2022), sulfato de cobre y permanganato de potasio que impactan negativamente a las comunidades de algas (Buchmann, 2022).

2.4. Sobre la especie *Jatropha gossypiifolia*

2.4.1. Clasificación taxonómica

Jatropha gossypiifolia L. conocida comúnmente como “piñón negro”, es endémica en las regiones de Centro y Sur América. En la actualidad se extiende desde Estados Unidos hasta el Sur de Brasil y Paraguay (Sabandar et al., 2013). Esta planta ha sido reportada como especie invasora en países con climas tropicales como Australia (Bebawi et al. 2007).

Actualmente, tiene la siguiente clasificación taxonómica según APG III:

Reino: Plantae

Clados: Eucotiledónea→Eucotiledónea central→ Rosidas

Orden: Malpihiales

Familia: Euphorbiaceae

Género: Jatropha

Especie: *Jatropha gossypiifolia* L, 1753

2.4.2. Descripción Morfológica

Según Bebawi et al., (2007) es una planta arbustiva perenne, llegando a medir entre 2 a 3 metros, caracterizado mayormente por un tallo verde pubescente cuando la planta es joven, que va tornando un color rojo a medida va madurando, terminando con un tallo leñoso al alcanzar la madurez. Las hojas de color rojo – púrpura son palmeadas, alternas, con margen aserrado, terminando en pubescencia. Las inflorescencias son pediceladas, terminales de color rojo con centro amarillo, unisexuales, con disposición en racimo corimbo. El fruto dehisdente presenta 3 lóbulos, cada uno con una semilla globulosa en placentación axial. Presenta un color verde, pero al ir madurando se torna leñoso.

2.4.3. Fitoquímica

Es en la diversidad fitoquímica de *Jatropha gossypiifolia* donde radica su importancia. La raíz, el tallo, la corteza, las hojas, las semillas y látex de la planta han sido utilizadas por diversas culturas en diversos preparados como analgésico, antinflamatorio, antimicrobiano, antiparasitario, antineoplásico, contra el emponzoñamiento bothrópico, antidiabético, antidiarreico, antihemorrágico, etc. (Wu et al., 2019). A pesar de poseer bondades medicinales, la planta también ha sido reportada como tóxica (Devappa et al., 2010; Félix-Silva et al., 2014). De ahí que sea utilizado como controlador biológico contra nemátodos (Umeh & Ndana, 2010), moluscos (Singh y Agarwal, 1988; Pereira Filho et al., 2014), insectos entre otros.

La gran variedad de usos de la planta se debe a las familias de compuestos encontrados en la planta como alcaloides, cumarinas, ligninoides, flavonoides, saponinas, taninos, terpenoides y fenoles entre otros (Félix-Silva et al., 2014). Por ejemplo, el diterpeno jatrofona, aislado inicialmente de esta planta, presenta actividad inhibitoria contra *Leishmania* en ratones, pero al tratarlos con una dosis diaria de 25 mg/kg, se obtuvo una mortalidad del 50% (Schmeda-Hirschmann et al., 1996). El efecto citotóxico de la jatrofona se evidencia también en la actividad antineoplásica contra el carcinoma, leucemia linfocítica, cáncer hepático entre otros (Wu et al., 2019). Encontramos otro ejemplo en los flavonoides. El extracto metanólico foliar presenta gran actividad antiinflamatoria y analgésica en ratas expuestas a concentraciones de 100 y 200 mg/kg

por la presencia de esta familia de compuestos (Apu et al., 2012). Sin embargo, al exponer a *Chara punctatus* a concentraciones subletales de apigenina aislada del piñón negro se observa el efecto tóxico de la planta disminuyendo los niveles de proteína y glicógeno en los tejidos hepáticos y musculares (Pratap y Singh, 2013). Las semillas del piñón negro también tienen importancia en la industria al ser utilizadas como fuente de biodiesel por la gran cantidad de aceites esenciales que contienen (Ceasar y Ignacimuthu, 2011). No obstante, las semillas son tóxicas por la presencia de ésteres de forbol en su composición química (Félix-Silva et al., 2014).

3. Objetivos

3.1. Objetivo General

- Conocer el potencial antihelmíntico del extracto etanólico de *Jatropha gossypiifolia* L. piñón negro contra monogéneos de *Piaractus brachypomus* paco

3.2. Objetivos específicos

- Determinar el rendimiento del extracto etanólico y los compuestos químicos presentes en *J. gossypiifolia* L. "piñón negro".
- Determinar la eficacia *in vitro* del extracto etanólico de *J. gossypiifolia* L. "piñón negro" contra monogéneos de *P. brachypomus* "paco".
- Evaluar la eficacia antihelmíntica del extracto etanólico de *J. gossypiifolia* L. "piñón negro" después de baños terapéuticos consecutivos de *P. brachypomus* con ese fitoterapéutico.
- Investigar las posibles alteraciones hematológicas de *P. brachypomus* después de baños terapéuticos consecutivos con extracto etanólico de *J. gossypiifolia* L. "piñón negro".

3.3. Hipótesis General

H_1: El extracto etanólico de *J. gossypiifolia L.* presenta potencial antihelmíntico significativo contra monogéneos que parasitan a *P. brachypomus*, evidenciado por su eficacia in vitro, eficacia antiparasitaria in vivo e impacto hematológico

5. Materiales y métodos

a. Colecta del material vegetal

La colecta de hojas se llevó a cabo en la ciudad de Puerto Maldonado (Figura 1). Una muestra fue enviada al Herbario "Alwyn Gentry-Hag" de la UNAMAD para la confirmación taxonómica. Para la recolección, se podaron hojas sanas y adultas, sin signos de deterioro de arbustos adultos de *Jatropha gossypiifolia*, llevando el material foliar al laboratorio de Biología Acuática (BIOAQUA) del IIAP – Madre de Dios, donde fueron secadas al ambiente (20°C) por un periodo de siete días, posteriormente fueron colocados en estufa por una hora a 45°C. Las hojas se pesaron y molieron usando un molino modelo Grindomix GM 200 marca Retsch hasta la obtención de partículas de 300 µm y finalmente fueron almacenadas en un ambiente seco, bajo protección de la luz hasta su uso.

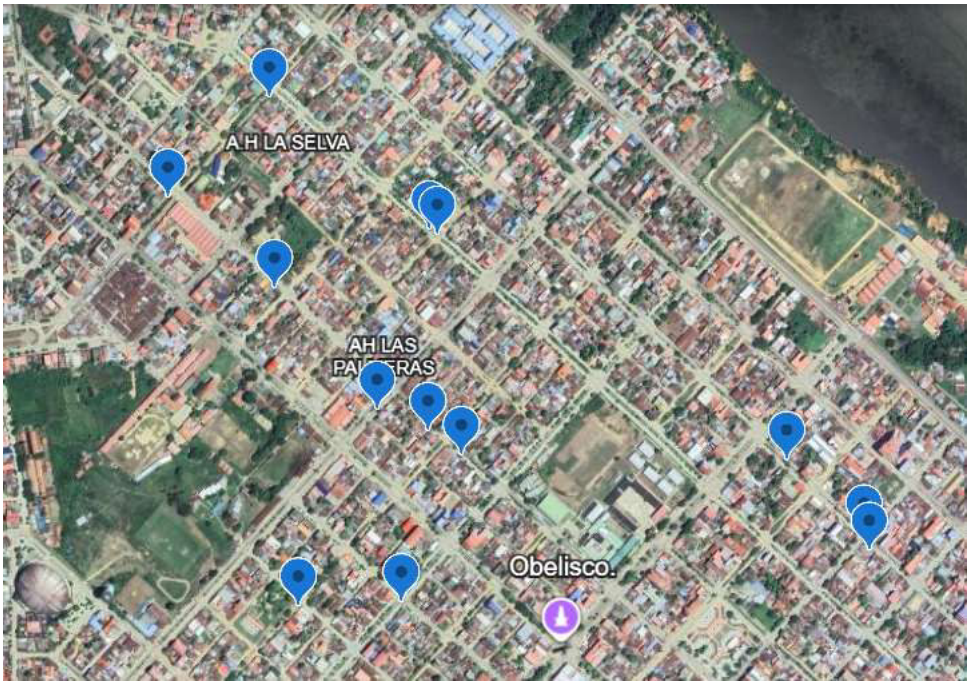


Figura 1. Puntos de colecta del material vegetal en la ciudad de Puerto Maldonado, Madre de Dios.

b. Obtención y caracterización química del extracto etanólico

El extracto etanólico de las hojas secas de *J. gossypiifolia* fue obtenido mediante maceración por un periodo de siete días, utilizando como solvente alcohol etílico al 96% en proporción de 1:10 p/v, siendo agitada la solución 3 veces al día para la liberación de compuestos químicos. Posteriormente, se filtró el extracto utilizando papel filtro rápido (tamaño de poro 22,5 µm) y se colocó en bandejas de Pyrex cubierta con papel aluminio y tela tipo tul (tamaño de poro 0,149 mm) hasta la evaporación total del alcohol.

Finalmente, con la ayuda de una espátula se obtuvo el extracto final sólido, el cual fue conservado bajo refrigeración en un frasco de vidrio cubierto con papel aluminio hasta su uso en los ensayos *in vitro* e *in vivo*.

Para la caracterización química del extracto etanólico de las hojas de *J. gossypiifolia* fue usado el método de cromatografía líquida de ultra-alta performance acoplada a espectrometría de masas (UHPLC-MS), realizado en la Unidad de Investigación en Productos Naturales de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH). Se procesaron 500 mg de extracto, el cual fue trasladado a la UPCH manteniendo la cadena de frío y protegido de la exposición a la luz en una caja de tecnopor.

c. Obtención de peces y parásitos

Los ejemplares de *Piaractus brachypomus* fueron obtenidos por reproducción inducida en el Laboratorio de Reproducción de Peces Amazónicos del IIAP – Madre de Dios. Estos peces fueron mantenidos en tanques de tierra de 1000 m^3. Posteriormente, para los ensayos *in vitro* e *in vivo* los peces fueron aclimatados en tanques de PVC de 1000 L y 250 L de capacidad, manteniéndose un flujo de aire constante y fueron alimentados dos veces al día (08:00 y 04:00 horas) con dieta comercial al 36% de proteína. Se midieron a diario los siguientes parámetros fisicoquímicos del agua: temperatura, oxígeno disuelto, pH, amonio y nitrito utilizando un multiparámetro marca Hanna para los tres primeros parámetros y para los dos últimos parámetros fue usado un fotómetro de mesa marca Hanna. Todos los procedimientos del presente estudio fueron aprobados por el Comité de Ética de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNMSM (Proyecto N° 016-2022-CB-FCB-UNMSM).

d. Evaluación de la eficacia antiparasitaria *in vitro* y análisis de microfotografía a través de microscopía electrónica de barrido después de la exposición con extracto etanólico de *J. gossypiifolia* L.

Para evaluar la eficacia antiparasitaria *in vitro* se utilizaron un total de 14 ejemplares de *P. brachypomus* (17,0 ± 3,0 cm y 105,2 ± 56,4 g) infectados naturalmente con monogéneos y aparentemente sin signos de enfermedad. Los peces fueron sacrificados siguiendo lo descrito en el código sanitario para los animales acuáticos, capítulo 7.4., artículo 7.4.6. Se obtuvieron las branquias infectadas por monogéneos y se sometieron a diferentes concentraciones (50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 1000, 1200, 1500, 1800, 2000 mg/L) de extracto etanólico de *J. gossypiifolia* por triplicado, considerando dos grupos control: uno conteniendo solo agua del tanque y otro con agua del tanque + etanol 96%. Para la preparación de las soluciones *in vitro* se consideró una solución stock,

donde el soluto fue el extracto y el solvente el alcohol etílico al 96% en proporción de 1:10 p/v. Las branquias fueron observadas en el estereomicroscopio cada 5 minutos hasta alcanzar una mortalidad del 100%. Antes de iniciar la prueba *in vitro* se observaron las branquias en el estereomicroscopio buscando un campo de visión que contenga 20 parásitos. Luego, una vez localizados los parásitos, las branquias se sumergieron en el extracto y se cuantificaron cada 5 minutos el número de individuos vivos. Según lo expuesto por Soares & Tavares-Días (2013), los parásitos muertos son aquellos que se desprenden del tejido branquial y los que están anclados a las branquias, pero sin movimiento. Finalmente, se calculó la eficacia de los tratamientos utilizando la metodología descrita y modificada por Zhang et al. (2014):

$$EE = \frac{[C - T]}{C} \times 100\%$$

Donde:

- EE: Eficacia de extracto etanólico.
- C: Número de parásitos vivos en el grupo control.
- T: Número de parásitos vivos en el grupo del tratamiento.

Para la observación de los daños causados por las soluciones fitoterapéuticas sobre los parásitos, se realizó el análisis ultraestructural a través de microscopía electrónica de barrido (MEB) (DSM940, ZEISS, Alemania) siguiendo la metodología usada por Gonzales et al. (2020).Las branquias fueron fijadas en glutaraldehído al 2,5% tamponado con cacodilato de sodio al 0,1 M con un pH de 7,2 para realizar análisis ultraestructural a través de microscopía electrónica de barrido (MEB) (DSM940, ZEISS, Alemania). Luego, fueron sometidas a tres lavados por 30 minutos en la solución tampón e incubadas en tetróxido de osmio al 4% y cacodilato de sodio al 0,1 M a un pH de 7,2. A continuación, se incubaron en ácido tánico al 1% durante 45 minutos, lavadas con agua corriente por 20 minutos y deshidratadas gradualmente en etanol al 50, 70, 90 y 100% durante 20 minutos. Previamente, el ácido tánico de las muestras fue recolectado para su posterior descarte. Al terminar la deshidratación, las muestras fueron secadas en punto crítico con dióxido de carbono y recubiertas con una capa fina de platino (“Sputtering”, Leica EM SCD 500, Alemania). Finalmente, se visualizaron con un microscopio electrónico de barrido a 15 kV de aceleración.

d. Test de Tolerancia

Teniendo en cuenta los resultados de la eficacia antiparasitaria *in vitro*, fueron realizados las pruebas de tolerancia con extracto etanólico de *J. gossypiifolia* durante una hora. Para ello, se colocó a 10 peces dos acuarios de 30 L para la descripción del comportamiento de los peces (capacidad anestésica de los fitoterápicos, natación errática, aceleración del movimiento opercular, daño ocular, entre otros.) frente al extracto.

e. Evaluación de la eficacia antihelmíntica después de baños terapéuticos prolongados de paco *P. brachypomus* con extracto etanólico de *J. gossypiifolia L.*

Para los baños terapéuticos fueron utilizados 108 ejemplares de *P. brachypomus* naturalmente infectados con monogéneos mantenidos en las condiciones expuestas en el punto 2.1. Estos individuos fueron expuestos a cuatro tratamientos: T1 (agua del tanque), T2 (agua del tanque + 30 ml de alcohol etílico al 96°), T3 (50 mg/L de extracto etanólico) y T4 (100 mg/L de extracto etanólico). La duración de los baños profilácticos fue de 6 horas por 3 días consecutivos, donde se mantuvieron aireación constante y sin flujo de agua. Al igual que en el test de tolerancia, se mantuvo a los peces en constante monitoreo y se observaron cambios en su comportamiento. Finalizando cada baño, los peces fueron devueltos al agua limpia para su recuperación. Luego, al finalizar el baño del tercer día se sacrificaron para realizar análisis parasitológico y sanguíneo.

- **Análisis hematológicos**

La sangre del vaso caudal de 6 peces por repetición se obtuvo con una tuberculina con EDTA al 3%, colocándose en tubos tipo eppendorf de 2 ml de capacidad debidamente rotulados. Se dividió la sangre en dos alícuotas. La primera se utilizó para: la cuantificación de eritrocitos colocando 10 µl de sangre en 2 ml de formol citrato por pez para luego cuantificar una alícuota en la cámara de Neubauer, determinación del porcentaje hematocrito por microhematocrito centrifugando los microcapilares a 6000 RPM por 10 minutos en la microcentrífuga para capilares Usamed SH-120, cuantificación de hemoglobina por el método de la cianometahemoblogina, colocando 10 µl de sangre en 2 ml de reactivo de Drabkin y al paso de 20 minutos se cuantificó la hemoglobina con la ayuda de un espectrofotometrómetro Usamed XV11000 a 540 nm. Con los datos obtenidos se procedió a calcular los índices hematimétricos de volumen medio corpuscular (VCM) y concentración media de hemoglobina corpuscular (CMHC) según Wintrobe (1934). Además, se realizaron frotis sanguíneos teñidos con May Grünwald-Giemsa-Wright para el conteo diferencial de leucocitos, los cuales fueron clasificados según Ranzani-Paiva et al. (2013).

La segunda alícuota fue centrifugada en la mini centrífuga DIAB D1008 a 7000 RPM por 5 minutos para la obtención de plasma sanguíneo y se realizaron los análisis colorimétricos de glucosa enzimática a 510 nm y proteína total por el método de Biuret a 540 nm en el espectrofotometrómetro Usamed XV11000.

- **Análisis parasitológicos**

Un total de 5 peces por repetición fueron sacrificados, las branquias fueron seccionadas y fijadas con formol al 5%. El formol utilizado en los análisis fue almacenado en condiciones seguras para posteriormente ser eliminado. según la gestión de residuos peligrosos de la institución. Posteriormente, fueron almacenadas en envases de tapa rosca debidamente rotulados para posterior análisis cualitativo siguiendo la descripción de Cohen, Kohn & Justo (2013) y el análisis cuantitativo según Bush et al. (1997) utilizando los siguientes cálculos:

- **Análisis de prevalencia parasitaria**

$$\frac{\text{Número de individuos infectados por un taxón determinado}}{\text{Número de hospederos examinados para dicho taxón}}\ x\ 100$$

- **Abundancia media.**

$$\frac{\text{Número total de parásitos encontrados}}{\text{Número total de hospederos examinados}}$$

- **Análisis estadísticos**

Todos los datos fueron evaluados en el software R para normalidad y homocedasticidad usando las pruebas de Shapiro-Wilk y Bartlett, respectivamente. Para los datos con distribución normal se utilizó el análisis de varianza (ANOVA), seguido de la prueba de Tukey, para la comparación entre medias. Caso contrario, se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis, seguida de la prueba de Dunnet, para la comparación entre medias (Zar, 2010).

6. Resultados

a. Colecta de hojas, obtención y caracterización química del extracto etanólico.

De los muestreos realizados, se obtuvieron 17 kg de hoja seca en total. La cantidad de hoja utilizada para los extractos etanólicos fue de 8,9 kg, obteniendo 93,7 g de extracto etanólico. Se observó que de cada 100 g de hoja molida de *J. gossypiifolia* usada para maceración en alcohol el 7,6 ± 1,3 % resultó en extracto etanólico.

En el extracto etanólico de las hojas de *Jatropha gossypiifolia* fueron detectados 36 metabolitos secundarios entre compuestos fenólicos (59,4%) en donde destacan los

flavonoides luteolina, apigenina, isovitexina, naringenina, vitexina y eriodictiol, lípidos (21,9%), péptidos (6,2%), carbohidratos (6,2%), vitamina B5 (3.1%) y compuestos nitrogenados (3,1 %) (Tabla 1).

Tabla 1. Relación de compuestos detectados en el extracto etanólico de *Jatropha gossypiifolia* mediante UHPLC-MS.

Nº	Tiempo de Retención (min)	Formula Molecular	Nombre del Compuesto	Clase
1	1.46	C12H22O11	Sucrose	Carbohidrato
2	1.55	C7H12O6	D-(-)-quinic acid	Fenol
3	1.55	C5H11N3O2	4-Guanidinobutanoate	Compuesto nitrogenado
4	2.87	C9H17NO5	Pantothenic acid	Vitamina
5	6.60	C15H14O6	Catequin	Fenol
6	8.77	C16H20O10	3-benzoyloxy-2-hydroxypropoxy]- 3,4,5-trihydroxyoxane-2-carboxylic acid	Fenol
7	8.95	C27H30O15	Isovitexin-7-O-glucoside	Fenol
8	9.0	C26H28O14	Apigenin 6-c-pentosyl-8-c-hexosyl	Fenol
9	9.19	C21H20O11	Luteolin - 4 - C -glucoside	Fenol
10	9.31	C21H20O11	Luteolin - 6 - C -glucoside	Fenol
11	9.38	C27H30O15	Vitexin - 2 ” - O -glucoside	Fenol
12	9.63	C27H30O14	Vitexin -2" - O -rhamnoside	Fenol
13	9.86	C21H20O10	Isovitexin	Fenol
14	10.00	C21H20O12	Hyperoside	Carbohidrato
15	10.05	C21H20O11	Luteolin-7-O-glucoside	Fenol
16	10.46	C27H30O14	Rhoifolin	Fenol
17	10.67	C21H20O11	Homoorientin	Fenol
18	10.95	Unknown peptide	Unknown peptide	Péptido
19	11.27	Unknown peptide	Unknown peptide	Péptido
20	11.51	Unknown peptide	Unknown peptide	Péptido
21	12.15	C15H12O6	Eriodictyol	Fenol
22	12.54	C15H10O6	Luteloin	Fenol
23	13.12	C18H32O5	9,12,13-Trihydroxy-10,15-octadecadienoic acid (isomer 1)	Lípido
24	13.25	C15H12O5	Naringenin	Fenol
25	13.25	C17H16O7	3,5,7-Trihydroxy-4',8-dimethoxyflavanone	Fenol
26	13.43	C16H14O6	Homoeriodictiol	Fenol
27	13.44	Unknown	Unknown	-
28	13.59	C19H34O5	9,12,13 -TriHOME (isomer 1)	Lípido

29	13.90	C18H32O5	9,12,13 -Trihydroxy -10,15 - octadecadienoic acid (isomer 2)	Lípido
30	14.11	C17H14O7	3,7 -Dimethylquercetin	Fenol
31	14.3 2	C19H34O5	9,12,13 -TriHOME (isomer 2)	Lípido
32	14.5 8	C17H36N2O	N -[3 - (dimethylamino)propyl] dodecanamide	Péptido
33	14.8 3	C19H39N2O3	Lauramidopropyl betaine	Lípido
34	15.42	C37H56N8O8	Cyclogossin A	Péptido
35	16.30	C33H56O14	DGMG 18:3	Lípido
36	17.84	C18H30O3	(9Z,11E,15Z) -13- hydroxyoctadeca9,11,15- trienoic acid	Lípido

b. Prueba *in vitro*

El agente fitoterápico evaluado presenta 100% de eficacia *in vitro* contra los monogéneos branquiales encontrados en *P. brachypomus* (Anexo 1). Se observó que la mortalidad fue directamente proporcional a la concentración del extracto ya que las más eficaces fueron las de 2000 mg/L y 1800 mg/L, Sin embargo, las dos concentraciones más eficaces fueron las de 2000 mg/L y 1800 mg/L, donde se logró el 100% de eficacia con 45 y 50 minutos de exposición respectivamente (Figura 2). Contrariamente, las dos concentraciones menores de 50 mg/L y 100 mg/L tuvieron los mayores tiempos de exposición de 300 y 245 minutos respectivamente.

A través de microscopía de luz se logró observar cambios en el comportamiento de los parásitos al entrar en contacto con el extracto. Mientras que los monogéneos de mayor tamaño se retraían, los pequeños se escondían entre las lamelas branquiales para protegerse de la acción irritante del extracto. Si bien se observó que los parásitos podían recuperar parcialmente la movilidad, eventualmente permanecían inmóviles o se desprendían de las branquias. Además, se observó hinchazón de los parásitos muertos por la acción del extracto y los resultados de Microscopia Electrónica de Barrido evidenciaron abundantes ampollas a lo largo del tegumento del parasito (Figura 3).

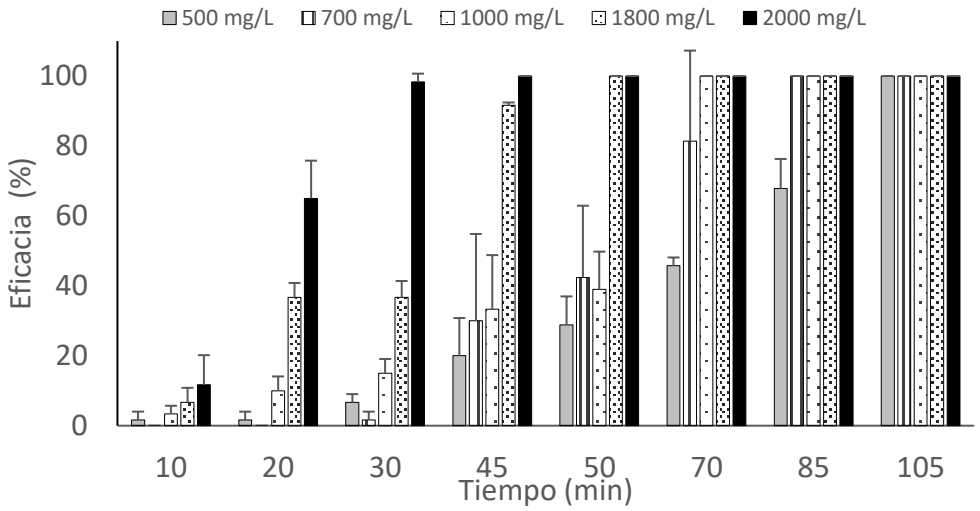


Figura 2. Eficacia antiparasitaria *in vitro* de las concentraciones 500 mg/L, 700 mg/L, 1000 mg/L, 1800 mg/L y 2000 mg/L de extracto etanólico

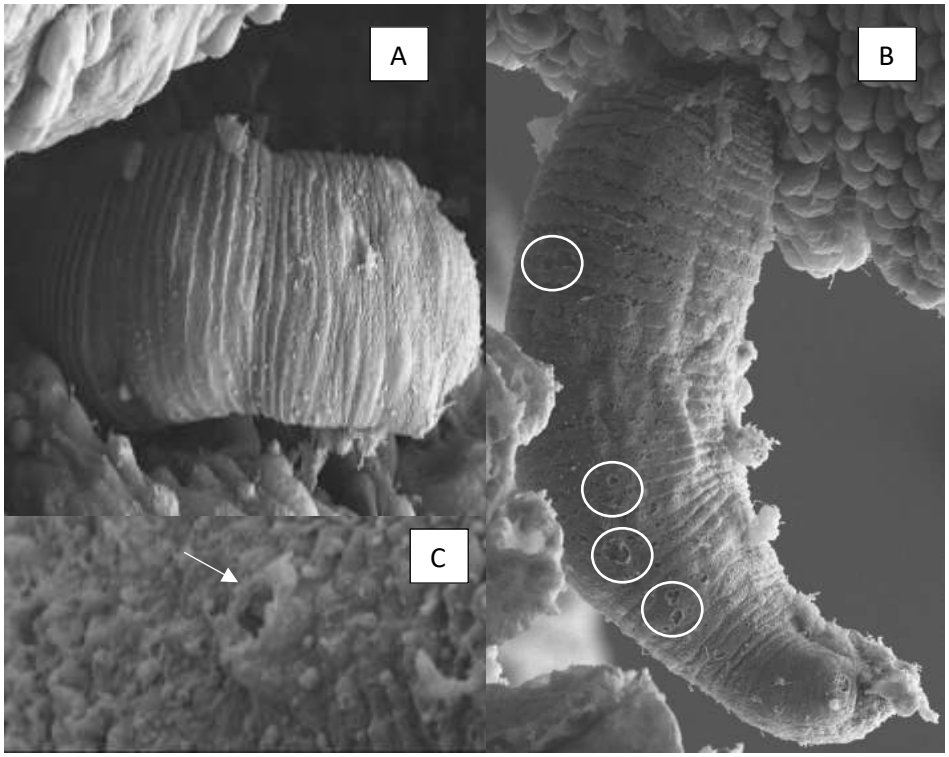


Figura 3. Ornamentos del tegumento de monogéneo expuesto a agua, no se observan daños (A). Monogéneo expuesto a 600 mg/L que muestra daños a lo largo del tegumento en forma de lesiones (B). Tegumento de monogéneo expuesto a 2000 mg/L donde se observan la acción antiparasitaria del extracto a manera de llagas profundas (C).

c. Test de tolerancia

Debido al rendimiento del extracto se optó por utilizar las concentraciones menores de 50 y 100 mg/L. La prueba evidenció que los peces resisten las concentraciones menores de 50 y 100 mg/L. Al contacto inicial con los extractos se observó nado errático, movimiento opercular acelerado, saltos y pérdida del eje de natación de los peces. Durante el desarrollo del test también se observó dilatación e irritación de los ojos, mientras que el nado errático y el movimiento fue disminuyendo indicando que los peces logran tolerar al extracto. Finalmente, se observó abundante mucílago y restos de extracto en la piel así como en las branquias. (Figura 4).



Figura 4. Pérdida del eje de nado(A). Residuo de extracto en el cuerpo del pez, dilatación e irritación de los ojos (B). Residuo de extracto en las branquias (C). Boqueo (D).

d. Análisis parasitológico después de tres días de baños terapéuticos

Al exponer a los peces al extracto se observaron los mismos cambios de comportamiento que en la prueba de tolerancia. Así mismo, al finalizar cada baño los peces al ser trasladados a los tanques con agua limpia, entraban en un periodo de recuperación de no más de media hora, para luego retomar el ritmo normal de nado. Finalizando los tres días

de baños terapéuticos con extracto etanólico de *J. gossypiifolia* a las concentraciones de 50 y 100 mg/L se observó una disminución significativa en la abundancia media y prevalencia ($p>0.05$) de los parásitos *A.spathulatus, A.penilabiatus y M. boegeri* cuando fueron comparados con los grupos controles (Tabla 2). Las eficacias del T3 y T4 corresponden a 99,7% y 100% respectivamente. Sin embargo, se encontró gran cantidad de huevos de monogéneos en las branquias de los tratamientos con 50 mg/L y 100 mg/L.

Tabla 2. Prevalencia (P) y Abundancia media (AM) de parásitos al finalizar la prueba *in vivo*

Tratamientos	Agua		Agua + Alcohol		50 mg L-1		100 mg L-1	
Parásitos	P (%)	MA	P (%)	MA	P (%)	MA	P (%)	MA
A. spathulatus	100	376.4 ± 60.9^{a}	100	256.2 ± 62.1^{b}	6,7	0.1 ± 0.1^{c}	0	0.0 ± 0.0^{c}
M. boegeri	100,0	3.5 ± 1.1^{a}	86,7	5.8 ± 2.9^{a}	0,0	0.0 ± 0.0^{b}	0	0.0 ± 0.0^{b}
A.penilabiatus	93	6.2 ± 3.7^{a}	73,3	6.1 ± 6.1^{a}	6,7	0.1 ± 0.1^{b}	0	0.0 ± 0.0^{b}

Los valores de AM expresan media ± desviación estándar. Letras diferentes en la misma línea indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

e. Parámetros hematológicos después de tres días de baños terapéuticos

Se observaron diferencias significativas en todos los parámetros hematológicos entre tratamientos ($p<0.05$) con excepción del número de trombocitos y eosinófilos ($p>0.05$, Tabla 3). Entre los cambios resaltan un aumento considerable en la concentración de neutrófilos ($p <0.05$) y la disminución significativa del conteo de monocitos y linfocitos ($p <0.05$) en los peces expuestos al extracto. Adicionalmente, la concentración de hemoglobina descendió significativamente en este grupo. Sin embargo, en los demás parámetros sanguíneos pueden no encontrarse diferencias significativas entre una concentración de extracto y los blancos, pero sí entre tratamientos como el caso de la glucosa ($p<0.05$) donde se aprecian dos grupos significantemente diferentes entre sí (T1 y T3, T2 y T4).

Tabla 3. Parámetros hematológicos de *P. brachypomus* luego de las pruebas *in vivo*.

Parámetros	Agua (n=18)	Agua + alcohol etílico al 96%	50 mg/L (n=18)	100 mg/L (n=18)	p-valor
Hb (g/dL)	9.24 ± 1.29^{a}	10.69 ± 1.92^{a}	7.42 ± 2.23^{b}	6.71 ± 1.63^{b}	<0.001
Hct (%)	29 ± 2.33^{a}	29.41 ± 2.36^{a}	25.08 ± 3.28^{b}	27.69 ± 5.28^{ab}	0.002
RBC ($x10^{6}$ µL)	1.77 ± 0.43^{ab}	1.48 ± 0.27^{a}	1.82 ± 0.58^{ab}	2.05 ± 0.61^{b}	0.04
VCM (fL)	172.5 ± 40.19^{ab}	205.95 ± 41.23^{a}	149.08 ± 40.2^{b}	146.08 ± 48.26^{b}	<0.001
CHCM ($g.dL^{-1}$)	32.12 ± 5.68^{ab}	36.31 ± 5.59^{a}	30.01 ± 9.86^{bc}	24.64 ± 6.02^{c}	<0.001
Glucosa ($mg.dL^{-1}$)	59.72 ± 13.2^{a}	80.34 ± 16.49^{b}	63.21 ± 15.03^{a}	84.18 ± 22.41^{b}	<0.001
Proteína ($g.dL^{-1}$)	4.35 ± 1.05^{a}	5.19 ± 1.89^{a}	2.74 ± 1.07^{b}	3.36 ± 1.2^{ab}	<0.001
Leucocitos ($x10^{3}$ μL^{-1})	21.86 ± 12.77^{ab}	10.35 ± 7.17^{a}	33.60 ± 13.48^{bc}	44.1 ± 22.94^{c}	<0.001
Trombocitos ($x10^{3}$ μL^{-1})	62.52 ± 21.20^{a}	54.23 ± 12.77^{a}	53.71 ± 30.64^{a}	73.16 ± 41.23^{a}	0.221
Linfocitos ($x10^{3}$ μL^{-1})	11.84 ± 94.8^{a}	4.97 ± 3.96^{ab}	3.35 ± 4.20^{b}	2.61 ± 1.74^{b}	<0.001
Monocitos ($x10^{3}$ μL^{-1})	3.81 ± 3.73^{a}	1.1 ± 0.64^{b}	1.55 ± 1.29^{b}	2.18 ± 3.17^{b}	0.002
Neutrófilos ($x10^{3}$ μL^{-1})	4.87 ± 2.67^{a}	3.47 ± 3.15^{a}	27.71 ± 9.11^{b}	36.84 ± 20.01^{b}	<0.001
LGPAS ($x10^{3}$ μL^{-1})	1.31 ± 1.07^{ab}	0.66 ± 0.73^{a}	0.96 ± 1.30^{a}	2.32 ± 2.41^{b}	0.004
Eosinófilos ($x10^{3}$ μL^{-1})	0.25 ± 0.7^{a}	0.14 ± 0.32^{a}	0.19 ± 0.05^{a}	0.12 ± 0.35^{a}	0.723

Los valores expresan media ± desviación estándar. Letras diferentes en la misma línea indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

7. Discusiones

La especie *Jatropha gossypiifolia* L. presenta una gran capacidad para la producción tecnológica de fármacos debido a la riqueza de sus compuestos químicos (Silveira et al., 2020). La cantidad de compuestos presentes va a depender de diferentes factores como ambientales, técnicas de cultivo, proceso de maduración, proceso de extracción y almacenamiento (Silveira et al., 2020). Las hojas de *J. gossypiifolia* presentan en su composición química taninos, fenoles y flavonoides (Dubey et al., 2020). En el presente estudio se ha detectado que el extracto etanólico de las hojas de *J. gossypiifolia* presentarían más de 36 compuestos químicos, entre flavonoides, péptidos y lípidos. Si bien *J. gossypiifolia* contiene una gran diversidad fitoquímica, esta investigación se centró en evaluar el potencial antihelmíntico del extracto etanólico sin realizar la evaluación individual de los compuestos responsables de dicha actividad. Cabe resaltar que, en el extracto etanólico de *J. gossypiifolia* colectado en la amazonia brasilera también identificaron los compuestos fenólicos apigenina y luteolina como lo encontrado en el presente estudio (Silveira et al., 2020).

De manera similar, se han encontrado que diferentes extractos también presentan el mismo mecanismo antiparasitario *in vitro*. Al exponer a *Dactylogyrus minutus* presentes en *Cyprinus carpio* a 1 y 32 g/L de extracto etanólico de *Rosmarinus officinalis* se obtuvo el 100% de eficacia a 166.7 ± 48.2 y 5.4 ± 1.01 minutos respectivamente (Zoral et al., 2017). Agregando a lo anterior, se observó una relación proporcional a la eficacia del extracto acuoso de *Allium sativum* y la concentración de este contra monogéneos en *Poecillia reticulata* (Fridman et al., 2014).

El extracto originó la hinchazón de los parásitos y lisis del tegumento, al igual que la oleorresina de *Copaifera duckei* sobre monogéneos branquiales de *Piaractus mesopotamicus* (da Costa et al., 2017). Esta respuesta es causada por desestabilización de la membrana plasmática del tegumento por la acción sinérgica de los fitoquímicos extraídos de la planta (Zhang et al, 2014; Valladao et al 2015; Mordvinov et al., 2021). Es posible que la presencia de flavonoides en el extracto etanólico de *Jatropha gossypiifolia* contribuyan a la acción antihelmíntica ya que estos compuestos tienen actividad antiparasitaria al interactuar con las proteínas del tegumento e inhiben sistemas enzimáticos esenciales (Faixová et al. 2021). Al exponer a *Schistosoma mansoni* a 250 µg/mL de este tipo de extracto se observó una mortalidad del 100% y daños estructurales a lo largo del tegumento en forma de burbujas, erosión/ampollas y retracción del cuerpo

(Alves et al., 2020a). Al ser este órgano parte esencial en la supervivencia del parásito por su actividad osmoregulatoria, metabólica y defensiva, los cambios estructurales han podido originar la muerte de los parásitos (Pereira et al, 2015).

Los resultados de esta investigación indican que *Piaractus brachypomus* resiste la exposición a 50 y 100 mg/L de extracto etanólico de *J. gossypiifolia*. Singh y Singh (2000) expusieron a *Channa punctatus* durante 24 h a diferentes concentraciones de pesticidas herbales a base de *Nerium indicum*, *Euphorbia royleana*, *Thevetia peruviana* y *Jatropha gossypiifolia*, siendo el último el menos tóxico con un LC_{50} de 1316 mg/L. Respecto a este estudio hay que resaltar que al finalizar el experimento, hubo una mortalidad del 70% ± 4.91 al exponer a los peces a 1800 mg/L, lo que significa que, los peces metabolizan rápidamente los compuestos de origen vegetal a diferencia de otros animales acuáticos como *Lymnaea acuminata* cuyo LC_{50} es 3.08 veces menos que el pez *Colisa fasciatus* (Singh y Agarwal, 1988) por lo que habría que evaluar el uso directo del extracto etanólico en los estanques de cultivo.

En las pruebas *in vivo*, se observó 99.7% y 100% de eficacia antiparasitaria en los peces expuestos a las concentraciones de 50 y 100 mg/L respectivamente. La eficacia *in vivo* dependerá de distintos factores como la planta utilizada y método de obtención del subproducto, especie de parásito, estrategia de baño y la resistencia del pez frente al fitoterápico. Por ejemplo, de Andrade et al. (2016) realizaron baños terapéuticos durante dos días por dos horas con extracto acetónico de semillas de *Bixa orellana* contra monogéneos branquiales en *Colossoma macropomum,* obteniendo el 100% de eficacia contra *A. spatulatus*. Por otro lado, el uso de 40 y 60 mgL^{-1} de extracto etanólico de *Piper aduncum* contra *A. spathulatus*, *Notozothecium janauachensis* y *M.boegeri* en *C. macropomum*, obteniendo una eficacia del 85.89 y 99.21% (de Queiroz et al. 2022). Mientras que, Boijink et al. (2016) obtuvieron el 100% de eficacia *in vivo* contra los monogéneos branquiales de *C. macropomum*, al exponer al pez a 15 mg/L de aceite esencial de *Ocimum gratissimum* durante 15 minutos. Sin embargo, al exponer a la misma especie infectada con monogéneos al eugenol, componente mayoritario en el aceite esencial de *Ocimum gratissimum*, utilizando la misma concentración y tiempo la eficacia es de 81% (Boijink et al. 2015) evidenciando la acción sinérgica de metabolitos secundarios en la acción antihelmíntica. En contraste, se observó baja eficacia con distintos extractos de *Lysima chiachristinae* contra *Dactylogyrus intermedius* en

Carassius auratus siendo el más eficaz el extracto de etil acetato con 50% (Huang et al., 2013).

Si bien *Jatropha gossypiifolia* presenta diversas propiedades medicinales, su toxicidad también ha sido reportada (Devappa et al., 2010). Mientras que se observó un aumento en el conteo de eritrocitos, los valores de la concentración de hemoglobina, hematocrito, volumen corpuscular medio y concentración de hemoglobina corpuscular media en los peces expuestos al extracto etanólico disminuyeron. Como medida adaptativa frente al estrés respiratorio causado por la irritación de las branquias, se suelen liberar las reservas del bazo lo que explicaría el número de eritrocitos (Witeska, 2013). Sin embargo, la intoxicación causada por el extracto podría originar anemia como respuesta al estrés (Bojarski & Witeska, 2020) lo que ocasionó una disminución en los demás parámetros dependientes de la concentración de hemoglobina. Cabe resaltar que la disminución del hematocrito en los peces expuestos al extracto también ha podido causarse al aumento considerable de neutrófilos. Estas células son las primeras en activarse y en migrar a los órganos con señales de inflamación aguda (Suzuki & Iida, 1992). En el experimento, es causada por el daño de los monogéneos a las branquias y acción irritante del extracto observada a lo largo de la prueba *in vivo*. Esta acción inflamatoria puede ser influenciada por las oxilipinas, que son ácidos grasos poliinsaturados hidratados (Alves et al., 2020b). Los isómeros de 9,12,13-TriHOME obtenidos de *Allium cepa* inhiben la agregación plaquetaria y muestran actividad semejante a la prostaglandina (Lee et al., 2023). La inmunosupresión observada puede ser causada de la intoxicación de los peces expuestos al extracto ya que es una de las respuestas de los peces frente al estrés causado por el fitoterápico (Bojarski & Witeska, 2020).

Bioquímicamente se observó una disminución significante en la proteína plasmática. Este efecto también fue reportado por Singh y Singh (2002) quienes expusieron a *Channa punctatus* látex crudo de *J. gossypiifolia* en concentraciones de 40% y 80% del LC_{50}, posiblemente por la degradación propia del metabolismo de desintoxicación o inhibición de las proteínas involucradas en la síntesis proteica (Bradbury et al., 1987). Contrariamente, se evidenció un aumento en la glucosa plasmática en todos los tratamientos excepto T1. Si bien los niveles de glucosa se encuentran dentro de lo encontrado para *Piaractus mesopotamicus* (40,6–89,2 mg/dL) provenientes de cultivo intensivo según Tavares-Dias y Mataqueiro (2004), el aumento de la glucosa plasmática

es señal de estrés causada por el aumento de cortisol (Gonzales, 2020; de Queiroz, 2022). Por otro lado, se ha demostrado que *Jatropha gossypiifolia* tiene efectos hipoglicémicos por los flavonoides presentes en su composición fitoquímica (Aladodo et al., 2013; Granados et al., 2015; Cavalcante et al., 2020), lo cual podría explicar el por qué no se ha elevado considerablemente el nivel de glucosa plasmática en los pacos expuestos a 50 mg/L ya que la toxicidad de los compuestos químicos y, en consecuencia, el nivel de estrés puede ser dosis dependiente (de Queiroz et al. 2022).

8. Conclusiones

1. El extracto etanólico de *Jatropha gossypiifolia* L. mostró potencial antihelmíntico significativo contra monogéneos de *Piaractus brachypomus*, evidenciando su eficacia como alternativa para su uso como antiparasitario en la acuicultura.
2. El extracto etanólico de *J. gossypiifolia* L. presentó amplia variedad de compuestos fitoquímicos, identificándose 36 compuestos incluidos flavonoides, péptidos, lípidos y carbohidratos. Esta composición fitoquímica evidencia su potencial como agente antiparasitario.
3. Bajo condiciones *in vitro*, el extracto etanólico de *J. gossipiifolia* L. alcanzó el 100% de eficacia frente a los monogéneos branquiales de *P. brachypomus*. La eficacia mostró ser dosis dependiente, observándose una respuesta mayor velocidad de acción con dosis más elevadas.
4. Los ensayos *in vivo* demostraron que el extracto etanólico de *J.gossipiifolia* L., en concentraciones de 50 y 100 mg/L, posee eficacia antiparasitaria contra monogéneos. Sin embargo, su eficacia podría estar influenciada según la especie de parásito, el tratamiento y la tolerancia fisiológica del hospedero.
5. Se evidenció estrés fisiológico en los peces sometidos a los baños terapéuticos a través de alteraciones hematológicas y bioquímicas como la disminución de parámetros asociados a la hemoglobina y proteínas plasmáticas, junto con un aumento en la concentración de glucosa, atribuibles al impacto del extracto.

9. Recomendaciones

- Realizar estudios ecotoxicológicos del extracto etanólico sobre *P.brachypomus* y a partir de ello evaluar la acción parasitaria *in vivo* utilizando soluciones con mayor concentración hasta el LC_{50}.
- Comprobar la eficacia antiparasitaria y describir el efecto sobre *P.brachypomus* de extractos de *J.gossypiifolia* obtenidos con diversos solventes polares (agua y metanol) y apolares (cloroformo, DMSO, éter de petróleo, etc.) y solutos (semillas o raíz).
- Utilizar la metodología propuesta en esta investigación con aceites esenciales, hidrolatos, nanoemulsiones, nanopartículas entre otras tecnologías. Así mismo, con formulaciones de extractos que utilicen combinaciones de plantas como por ejemplo *Jatropha curcas.*
- Realizar análisis de rentabilidad para la introducción de esta nueva tecnología verde en el sector acuícola nacional e internacional.
- Aislar los fitoquímicos más representativos y evaluar la acción antiparasitaria sinérgica e individual.
- Evaluar los efectos a largo y corto plazo en el metabolismo de *P.brachypomus* expuesto a *J.gossypiifolia.*
- Evaluar el potencial impacto ambiental del uso de extracto etanólico del extracto etanólico y prevalencia en la cadena trófica de fitotóxicos.
- Investigar la posibilidad de utilizar el extracto como aditivo alimenticio antihelmíntico.
- Estudiar el potencial antiparasitario de los restos de *J. gossypiifolia* obtenidos a partir de la producción de bio-diesel.

10. Bibliografía

Aladodo, R. A., Muhammad, N. O., & Balogun, E. A. (2013). Effects of Aqueous Root Extract of Jatropha curcas on Hyperglycaemic and Haematological Indices in Alloxan-induced Diabetic Rats. Fountain Journal of Natural and Applied Sciences, 2(1), Article 1. https://doi.org/10.53704/fujnas.v2i1.39

Alves, R. R. da S., Rodrigues, J. G. M., Teles-Reis, A., Nogueira, R. A., Licá, I. C. L., Lira, M. G. S., Alves, R. da S., Silva-Souza, N., Andrade, T. de J. A. dos S., & Miranda, G. S. (2020a). Antiparasitic effects of ethanolic extracts of Piper arboreum and Jatropha gossypiifolia leaves on cercariae and adult worms of Schistosoma mansoni. Parasitology, 147(14), 1689-1699. https://doi.org/10.1017/S003118202000181X

Alves, E., Dias, M., Lopes, D., Almeida, A., Domingues, M. do R., & Rey, F. (2020b). Antimicrobial Lipids from Plants and Marine Organisms: An Overview of the Current State-of-the-Art and Future Prospects. Antibiotics, 9(8), 441. https://doi.org/10.3390/antibiotics9080441

Anderson, J. T., Nuttle, T., Saldaña Rojas, J. S., Pendergast, T. H., & Flecker, A. S. (2011). Extremely long-distance seed dispersal by an overfished Amazonian frugivore. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 278(1723), 3329-3335. https://doi.org/10.1098/rspb.2011.0155

Apu, A. S., Hossain, F., Rizwan, F., Bhuyan, S. H., Matin, M., & Jamaluddin, A. T. M. (2012). Study of pharmacological activities of methanol extract of Jatropha gossypifolia fruits. Journal of Basic and Clinical Pharmacy, 4(1), 20-24. https://doi.org/10.4103/0976-0105.109404

Ashley, P. J. (2007). Fish welfare: Current issues in aquaculture. Applied Animal Behaviour Science, 104(3), 199-235. https://doi.org/10.1016/j.applanim.2006.09.001

Baras, E., Mélard, C., Grignard, J. C., & Thoreau, X. (1996). Comparison of Food Conversion by Pirapatinga Piractus brachypomus under Different Feeding Times. The Progressive Fish-Culturist, 58(1), 59-61. https://doi.org/10.1577/1548-8640(1996)058<0059:COFCBP>2.3.CO;2

Bebawi, F. F., Vitelli, J. S., Campbell, S. D., Vogler, W., Lockett, C. J., Grace, B. S., Lukitsch, B., & Heard, T. A. (2007). The biology of Australian weeds 47. Jatropha gossypiifolia L. *Plant Protection Quarterly*, *22*(2), Article 2.

Belo Barriga I., Flores Gonzales, A. P. P., Pinto Brasiliense, A. R., Carvalho Castro, K. N & Tavares-Dias, M.Isaac (2020). Essential oil of Lippia grata (Verbenaceae) is effective in the control of monogenean infections in *Colossoma macropomum* gills, a large Serrasalmidae fish from Amazon. *Aquaculture Research*, *51*(9), 3804-3812. https://doi.org/10.1111/are.14728

Bojarski, B., & Witeska, M. (2020). Blood biomarkers of herbicide, insecticide, and fungicide toxicity to fish—A review. Environmental Science and Pollution Research, 27(16), 19236-19250. https://doi.org/10.1007/s11356-020-08248-8

Bush, A. O., K. D. Lafferty, J. M. Lotz, y A. W. Shostak. (1997). Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. The Journal of parasitology 83:575-83.

Campos-Baca, L.& Kohler, C. (2005) Aquaculture of *Colossoma macropomum* and related species in Latin America. American Fisheries Society Symposium, 46:451–561.

Cavalcante, N. B., Diego da Conceição Santos, A., & Guedes da Silva Almeida, J. R. (2020). The genus Jatropha (Euphorbiaceae): A review on secondary chemical

metabolites and biological aspects. Chemico-Biological Interactions, 318, 108976. https://doi.org/10.1016/j.cbi.2020.108976

Cayulla Quispe, D. B. (2018). Identificación de monogeneos en juveniles de Colossoma macropomum “gamitana” y Piaractus brachypomus “paco” procedentes del distrito de Tambopata, Madre de Dios. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/10021

Ceasar, S. A., & Ignacimuthu, S. (2011). Applications of biotechnology and biochemical engineering for the improvement of Jatropha and Biodiesel: A review. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 9(15), 5176-5185. https://doi.org/10.1016/j.rser.2011.07.039

Chong, C. M., Murthy, A. V. S. G., Choy, C. Y., & Lai, K. S. (2020). Phytotherapy in aquaculture: Integration of endogenous application with science. *Journal of Environmental Biology*, *41*(5), 1204-1214. https://doi.org/10.22438/JEB/41/5(SI)/MS_12

Correa, S. B., Betancur-R., R., Mérona, B. de, & Armbruster, J. W. (2015). Diet shift of Red Belly Pacu *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1818) (Characiformes: Serrasalmidae), a Neotropical fish, in the Sepik-Ramu River Basin, Papua New Guinea. Neotropical Ichthyology, 12, 827-833. https://doi.org/10.1590/1982-0224-20130212

da Costa, J. C., Valladão, G. M. R., Pala, G., Gallani, S. U., Kotzent, S., Crotti, A. E. M., Fracarolli, L., da Silva, J. J. M., & Pilarski, F. (2017). Copaifera duckei oleoresin as a novel alternative for treatment of monogenean infections in pacu Piaractus mesopotamicus. Aquaculture, 471, 72-79. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.11.041

de Andrade, J. I. A., Jerônimo, G. T., Brasil, E. M., Nunez, C. V., Gonçalves, E. L. T., Ruiz, M. L., & Martins, M. L. (2016). Efficacy of seed extract of Bixa orellana against monogenean gill parasites and physiological aspects of Colossoma macropomum after bath treatment. Aquaculture, 462, 40-46. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.04.024

de Campos, C. M., de Moraes, J. R. E., & de Moraes, F. R. (2011). Histopathology of gills of Piaractus mesopotamicus (Holmberg, 1887) and Prochilodus lineatus (Valenciennes, 1836) infested by monogenean and myxosporea, caugth in Aquidauana River, State of Mato Grosso do Sul, Brazil. Revista Brasileira De Parasitologia Veterinaria = Brazilian Journal of Veterinary Parasitology: Orgao Oficial Do Colegio Brasileiro De Parasitologia Veterinaria, 20(1), 67-70. https://doi.org/10.1590/s1984-29612011000100014

de Lima Boijink, C., Miranda, W. S. da C., Chagas, E. C., Dairiki, J. K., & Inoue, L. A. K. A. (2015). Anthelmintic activity of eugenol in tambaquis with monogenean gill infection. Aquaculture, 438, 138-140. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.01.014

de Lima Boijink, C., Queiroz, C. A., Chagas, E. C., Chaves, F. C. M., & Inoue, L. A. K. A. (2016). Anesthetic and anthelminthic effects of clove basil (Ocimum gratissimum) essential oil for tambaqui (Colossoma macropomum). Aquaculture. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.02.010

de Queiroz, M. N., dos Santos Torres, Z. E., Pohlit, A. M., Ono, E. A., & Affonso, E. G. (2022). Therapeutic potential of Piper aduncum leaf extract in the control of monogeneans in tambaqui (Colossoma macropomum). Aquaculture, 552, 738024. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738024

Devappa, R. K., Makkar, H. P. S., & Becker, K. (2010). Jatropha Toxicity—A Review. Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B, 13(6), 476-507. https://doi.org/10.1080/10937404.2010.499736

Dias, M. K. R., Neves, L. R., Marinho, R. das G. B., Pinheiro, D. A., & Tavares-Dias, M. (2015). Parasitismo em tambatinga (Colossoma macropomum x Piaractus brachypomus, Characidae) cultivados na Amazônia, Brasil. Acta Amazonica, 45, 231-238. https://doi.org/10.1590/1809-4392201400974

Dubey, R., Rajhans, S., & Mankad, AU (2020). Fitoquímicos de *Jatropha gossypiifolia* (Linn.): Una revisión. Revista internacional de ciencia innovadora y tecnología de investigación, *5* (3), 904-911.

EFSA (2016) Malachite green in food. European Food Safety Authority.

Elias, D., Mochel, S., Chakrabarty, P., & Mcmahan, C. (2018). First record of the non-native pacu, *Piaractus brachypomus* in Lago Petén-Itzá, Guatemala, Central America. Occasional Papers of the Museum of Natural Science, Louisiana State University, 1(88). https://doi.org/10.31390/opmns.088

European request EFSA-Q-2014-00815. doi: 10.2903/j.efsa.2016.4530

Faixová, D., Hrčková, G., Mačák Kubašková, T., & Mudroňová, D. (2021). Antiparasitic Effects of Selected Isoflavones on Flatworms. Helminthologia, 58(1), 1–16. https://doi.org/10.2478/helm-2021-0004

FAO. (2012). *Diagnóstico de la Acuicultura de Recursos Limitados (AREL) y de la Acuicultura de la Micro y Pequeña Empresa (AMYPE) en América Latina*. FAO. https://www.fao.org/documents/card/en/c/65804365-44f9-5e2c-bcd1-c6b4c251569f/

FAO. (2022). The State of World Fisheries and Aquaculture 2022: Towards Blue Transformation. FAO. https://doi.org/10.4060/cc0461en

Farias, C. F. S., Brandão, F. R., de Alexandre Sebastião, F., de Melo Souza, D. C., Monteiro, P. C., Majolo, C., & Chagas, E. C. (2021). Albendazole and praziquantel for the control of *Neoechinorhynchus buttnerae* in tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Aquaculture International*, *29*(4), 1495-1505. https://doi.org/10.1007/s10499-021-00687-5

Félix-Silva, J., Giordani, R. B., Silva-Jr, A. A. da, Zucolotto, S. M., & Fernandes-Pedrosa, M. de F. (2014). Jatropha gossypiifolia L. (Euphorbiaceae): A Review of Traditional Uses, Phytochemistry, Pharmacology, and Toxicology of This Medicinal Plant. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2014, e369204. https://doi.org/10.1155/2014/369204

Franceschini, L., Zago, A. C., Schalch, S. H. C., Garcia, F., Romera, D. M., & Silva, R. J. da. (2013). Parasitic infections of Piaractus mesopotamicus and hybrid (P. mesopotamicus xPiaractus brachypomus) cultured in Brazil. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, 22, 407-414. https://doi.org/10.1590/S1984-29612013000300015

Fresneda, A., Lenis, G., Agudelo, E., & A, M. O. (2004). Espermiación inducida y crioconservación de semen de Cachama Blanca (Piaractus brachypomus). Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 17(4), Article 4. https://doi.org/10.17533/udea.rccp.323959

Fridman, S., Sinai, T., & Zilberg, D. (2014). Efficacy of garlic based treatments against monogenean parasites infecting the guppy (Poecilia reticulata (Peters)). Veterinary Parasitology, 203(1), 51-58. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.02.002

Gonzales, A. P. P. F., Yoshioka, E. T. O., Mathews, P. D., Mertins, O., Chaves, F. C. M., Videira, M. N., & Tavares-Dias, M. (2020). Anthelminthic efficacy of Cymbopogon citratus essential oil (Poaceae) against monogenean parasites of

Colossoma macropomum (Serrasalmidae), and blood and histopathological effects. Aquaculture, 528, 735500. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735500

Granados, S., Balcázar, N., Guillén, A., & Echeverri, F. (2015). Evaluation of the hypoglycemic effects of flavonoids and extracts from Jatropha gossypifolia L. Molecules (Basel, Switzerland), 20(4), 6181-6193. https://doi.org/10.3390/molecules20046181

Gutiérrez-Alva, F. W., Zaldivar-Rodríguez, J., Deza-Taboada, S. A., & Rebaza-Alfaro, M. (1996). Determinacion de los requerimientos de proteina y energia de juveniles de paco, *Piaractus brachypomus* (PISCES: CHARACIDAE). Folia Amazónica, 8(2), Article 2. https://doi.org/10.24841/fa.v8i2.320

Hashimoto, J. C., Paschoal, J. A. R., de Queiroz, J. F., & Reyes, F. G. R. (2011). Considerations on the Use of Malachite Green in Aquaculture and Analytical Aspects of Determining the Residues in Fish: A Review. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, *20*(3), 273-294. https://doi.org/10.1080/10498850.2011.569643

Huang, A.-G., Yi, Y.-L., Ling, F., Lu, L., Zhang, Q.-Z., & Wang, G.-X. (2013). Screening of plant extracts for anthelmintic activity against Dactylogyrus intermedius (Monogenea) in goldfish (Carassius auratus). Parasitology Research, 112(12), 4065-4072. https://doi.org/10.1007/s00436-013-3597-7

Igeh, P. C., Gilbert, B. M., & Avenant-Oldewage, A. (2021). Seasonal variance in water quality, trace metals and infection variables of *Cichlidogyrus philander* Douëllou, 1993 (Monogenea, Ancyrocephalidae) infecting the gills of *Pseudocrenilabrus philander* (Weber, 1897) in the Padda Dam, South Africa. *African Journal of Aquatic Science*, *46*(1), 88-99. https://doi.org/10.2989/16085914.2020.1761283

Kabata, Z. (1985). Parasites and Diseases of Fish Cultured in the Tropics. London and Philadelphia: Taylor & Francis, p. 318.

Kemper, N. (2008). Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. *Ecological Indicators*, *8*(1), 1-13. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2007.06.002

Kleeberg, F. (2019). Productividad y competitividad del sector acuícola en el Perú. CIEPLAN. ISBN: 978-956-204-088-4.

Lee, D. Y., Park, K. J., Subedi, L., Lee, G. S., Lee, J.-H., Lee, W.-M., Choi, S. U., Hong, S.-M., Kim, S. Y., & Kim, C. S. (2023). Anti-Inflammatory, Neurotrophic, and Cytotoxic Oxylipins Isolated from Chaenomeles sinensis Twigs. Antioxidants, 12(2), 284. https://doi.org/10.3390/antiox12020284

Lochmann, R., Chen, R., Chu-Koo, F. W., Camargo, W. N., Kohler, C. C., & Kasper, C. (2009). Effects of Carbohydrate-Rich Alternative Feedstuffs on Growth, Survival, Body Composition, Hematology, and Nonspecific Immune Response of Black Pacu, Colossoma macropomum, and Red Pacu, Piaractus brachypomus. Journal of the World Aquaculture Society, 40(1), 33-44. https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2008.00232.x

Maciel, P. O., & Affonso, E. G. (2021). Praziquantel against monogeneans of tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Aquaculture International*, *29*(5), 2369-2386. https://doi.org/10.1007/s10499-021-00753-y

Mathiessen, H., Marana M.H., Korbut, R., Wu,B., Al-Jubury, A., Karami, A.M., Kania P,W. and Buchmann,K. (2021). Inflammatory reactions in rainbow trout fins and gills exposed to biocides. Diseases of Aquatic Organisms 146,9–21.

Mikkola, H. (2024). Aquaculture and Fisheries as a Food Source in the Amazon Region -A Review Food & Nutrition Journal. Food & Nutrition Journal. 9. 26. 10.29011/2575-7091.100186.

Ministerio de la Producción. (2022). Anuario Estadístico Pesquero y Acuícola 2022. Oficina General de Evaluación de Impacto y Estudios Económicos. 182 pp.

Morales-Serna, F. N., Chapa-López, M., Martínez-Brown, J. M., Ibarra-Castro, L., Medina-Guerrero, R. M., & Fajer-Ávila, E. J. (2018). Efficacy of praziquantel and a combination anthelmintic (Adecto®) in bath treatments against *Tagia ecuadori* and *Neobenedenia melleni* (Monogenea), parasites of bullseye puffer fish. *Aquaculture*, *492*, 361-368. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.04.043

Mordvinov, V. A., Ponomarev, D. V., Pakharukov, Y. V., & Pakharukova, M. Y. (2021). Anthelmintic Activity of Antioxidants: In Vitro Effects on the Liver Fluke Opisthorchis felineus. Pathogens, 10(3), 284. https://doi.org/10.3390/pathogens10030284

Nascimento, A. F., Maria, A. N., Pessoa, N. O., Carvalho, M. A. M., & Viveiros, A. T. M. (2010). Out-of-season sperm cryopreserved in different media of the Amazonian freshwater fish pirapitinga (Piaractus brachypomus). Animal Reproduction Science, 118(2), 324-329. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2009.07.002

Negreiros, L. P., & Tavares-Dias, M. (2019). Parasites in farmed Piaractus brachypomus (Serrasalmidae) in the state of Acre, western Brazilian Amazonia. Acta Amazonica, 49, 294-298. https://doi.org/10.1590/1809-4392201900491

Oliveira, L. C. D., Majolo, C., Brandão, F. R., Farias, C. F. S., Oliveira, M. I. B., Santos, W. B., Monteiro, P. C., Rocha, M. J. S., Chagas, E. C., & Tavares-Dias, M. (2019). Avermectins, praziquantel and levamisole have in vitro efficacy against *Neoechinorhynchus buttnerae* (Neoechinorhynchidae) *in Colossoma macropomum*: A Serrasalmidae from the Amazon. *Journal of Fish Diseases*, *42*(5), 765-772. https://doi.org/10.1111/jfd.12980

Pereira Filho, A. A., França, C. R. C., Oliveira, D. da S., Mendes, R. J. de A., Gonçalves, J. de R. S., & Rosa, I. G. (2014). Evaluation of the molluscicidal potential of hydroalcoholic extracts of *Jatropha gossypiifolia* Linnaeus, 1753 on *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). Revista Do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, 56, 505-510. https://doi.org/10.1590/S0036-46652014000600009

Ranzani-Paiva, M.J.T., Pádua, S.B., Tavares-Dias, M., Egami, M.I. (2013). Métodos para análise hematológica em peixes. 1a ed. Eduem, Maringá.

Sabandar, C. W., Ahmat, N., Jaafar, F. M., & Sahidin, I. (2013). Medicinal property, phytochemistry and pharmacology of several Jatropha species (Euphorbiaceae): A review. Phytochemistry, 85, 7-29. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2012.10.009

SANIPES. (2021). Resolución Ministerial N° 138-2021-PRODUCE. https://www.gob.pe/institucion/produce/normas-legales/1925935-138-2021-produce

Santos, D. (2017) Caracterización hidrológica de la región Madre de Dios. Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú (SENAMHI). Dirección de Hidrología. 35 pp.

Schmeda-Hirschmann, G., Razmilic, I., Sauvain, M., Moretti, C., Muñoz, V., Ruiz, E., Balanza, E., & Fournet, A. (1996). Antiprotozoal activity of Jatrogrossidione from Jatropha grossidentata and Jatrophone from Jatropha isabellii. Phytotherapy Research, 10(5), 375-378. https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1573(199608)10:5<375::AID-PTR847>3.0.CO;2-#

Shinn, A. P., Pratoomyot, J., Bron, J. E., Paladini, G., Brooker, E. E., & Brooker, A. J. (2015). Economic costs of protistan and metazoan parasites to global mariculture. Parasitology, 142(1), 196-270. https://doi.org/10.1017/S0031182014001437

Silveira, RDS, Leal, GC, Molin, TRD, Faccin, H., Gobo, LA, Silveira, GDD, & Viana, C. (2020). Determinación de compuestos fenólicos y triterpénicos en Jatropha gossypiifolia L por cromatografía líquida de ultra alta resolución-espectrometría de masas en tándem (UHPLC-MS/MS). Revista Brasileña de Ciencias Farmacéuticas , 56 .

Singh, A., & Agarwal, R. A. (1988). Possibility of using latex of euphorbiales for snail control. Science of The Total Environment, 77(2), 231-236. https://doi.org/10.1016/0048-9697(88)90058-7

Singh, D., & Singh, A. (2000). The Acute Toxicity of Plant Origin Pesticides into the Freshwater Fish Channa punctatus. Acta Hydrochimica et Hydrobiologica, 28(2), 92-94. https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-401X(20002)28:2<92::AID-AHEH92>3.0.CO;2-K

Singh, D., & Singh, A. (2002). Biochemical alteration in freshwater fish Channa punctatus due to latices of *Euphorbia royleana* and *Jatropha gossypifolia*. Environmental Toxicology and Pharmacology, 12(3), 129-136. Pratap, B., & Singh, A. (2013). Piscicidal and anti AChE activity of medicinal plant Jatropha gossypifolia (Family-Euphorbiaceae). World J Fish and Marine Sci, 5, 367-372.

Soluri, J. (2011). Something Fishy: Chile's Blue Revolution, Commodity Diseases, and the Problem of Sustainability. Latin American Research Review, 46(S1), 55–81. https://doi.org/10.1353/lar.2011.0042

Suzuki, Y., & Iida, T. (1992). Fish granulocytes in the process of inflammation. Annual Review of Fish Diseases, 2, 149-160. https://doi.org/10.1016/0959-8030(92)90061-2

Tavares-Dias, M. (2022). Toxicity, physiological, histopathological, handling, growth and antiparasitic effects of the sodium chloride (salt) in the freshwater fish aquaculture. Aquaculture Research, 53(3), 715-734. https://doi.org/10.1111/are.15616

Tavares-Dias, M., & Mataqueiro, M. I. (2004). Características hematológicas, bioquímicas e biométricas de Piaractus mesopotamicus Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae) oriundos de cultivo intensivo. Acta Scientiarum: Biological Sciences, 157. https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v26i2.1647

Tavares-Dias, M., & Martins, M. L. (2017). An overall estimation of losses caused by diseases in the Brazilian fish farms. *Journal of Parasitic Diseases*, *41*(4), 913-918. https://doi.org/10.1007/s12639-017-0938-y

Tello Martín, S. (2002). Situación actual de la pesca y la acuicultura en Madre de Dios: Informe de viaje. Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana. https://repositorio.iiap.gob.pe/handle/20.500.12921/199

Umeh, A., & Ndana, R. W. (2010). Effectiveness of Jatropha curcas and Jatropha gossypiifolia plant extracts in the control of Meloidogyne incognita on okra. International Journal of Nematology, 20(2), 226-229.

Valenti, W. C., Barros, H. P., Moraes-Valenti, P., Bueno, G. W., & Cavalli, R. O. (2021). Aquaculture in Brazil: Past, present and future. Aquaculture Reports, 19, 100611. https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100611

Valladão, G. M. R., Gallani, S. U., & Pilarski, F. (2015). Phytotherapy as an alternative for treating fish disease. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 38(5), 417-428. https://doi.org/10.1111/jvp.12202

Wiecaszek, B., Dąbrowski, J., Panicz, R., Keszka, S., Linowska, A., & Brysiewicz, A. (2022). Taxonomic studies of *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1818) (Serrasalmidae): A non-native species collected from Polish water bodies and laboratory culture. Aquatic Invasions, 17, 110-135. https://doi.org/10.3391/ai.2022.17.1.07

Wintrobe, M. (1934). Variations on the size and haemoglobin content of erythrocytes in the blood various vertebrates. Folia Haematologica 51:32-49.

Witeska, M. (2013). Erythrocytes in teleost fishes: A review. Zoology and Ecology, 23(4), 275-281. https://doi.org/10.1080/21658005.2013.846963

Wu, Q., Patocka, J., Nepovimova, E., & Kuca, K. (2019). Jatropha gossypiifolia L. and its biologically active metabolites: A mini review. Journal of Ethnopharmacology, 234, 197-203. https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.01.022

Wunderlich, A. C., Zica, É. de O. P., Ayres, V. F. dos S., & Takeara, A. C. G. and R. (2017). Plant-Derived Compounds as an Alternative Treatment Against Parasites in Fish Farming: A Review. En *Natural Remedies in the Fight Against Parasites*. IntechOpen. https://doi.org/10.5772/67668

Zar, J.H. (2010). Biostatistical analysis, Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall, 4th edition 944 pp.

Zenker, A., Cicero, M. R., Prestinaci, F., Bottoni, P., & Carere, M. (2014). Bioaccumulation and biomagnification potential of pharmaceuticals with a focus to the aquatic environment. *Journal of Environmental Management*, *133*, 378-387. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2013.12.017

Zhang, X. P., Li, W. X., Ai, T. S., Zou, H., Wu, S. G., & Wang, G. T. (2014). The efficacy of four common anthelmintic drugs and traditional Chinese medicinal plant extracts to control Dactylogyrus vastator (Monogenea). Aquaculture, 420-421, 302-307. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.09.022

Zoral, M. A., Futami, K., Endo, M., Maita, M., & Katagiri, T. (2017). Anthelmintic activity of Rosmarinus officinalis against Dactylogyrus minutus (Monogenea) infections in Cyprinus carpio. Veterinary Parasitology, 247, 1-6. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.09.013

11. Anexos

Anexo 1

Eficacia antiparasitaria in vitro (%) del extracto etanólico de *Jatropha gossypiifolia* contra monogéneos branquiales de *Piaractus brachypomus*.

Tratamientos	50 mg/L	100 mg/L	200 mg/L	300 mg/L	400 mg/L	500 mg/L	600 mg/L	700 mg/L	800 mg/L	1000 mg/L	1200 mg/L	1500 mg/L	1800 mg/L	2000 mg/L
15 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	15	30
25 min	0	0	0	0	5	5.0	5	0	10	15	25	10	30	90
45 min	0	0	0	0	5	25	25	30	40	35	100	100	90	100
60 min	0	0	0	0	15	40	70	75	80	65	100	100	100	100
85 min	0	25	0	20	65	70.0	85	85	100	100	100	100	100	100
165 min	20	45	65	90	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
300 min	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Anexo 2
Conteo de parásitos encontrados luego de los baños terapéuticos

Tratamientos	Pez	*A. spathulatus*	*A.penilabiatus*	*M.boegeri*	TOTAL
T1R1-Agua	1	399	2	3	404
	2	360	5	4	369
	3	240	4	1	245
	4	442	10	3	455
	5	209	4	1	214
T1R2-Agua	1	416	3	2	421
	2	395	6	3	404
	3	273	1	10	284
	4	476	2	1	479
	5	209	4	1	214
T1R3-Agua	1	509	20	5	534
	2	625	5	3	633
	3	299	0	1	300
	4	517	16	9	542
	5	277	11	5	293
T2R1-Alcohol	1	346	33	2	381
	2	111	18	2	131
	3	117	13	0	130
	4	185	0	2	187
	5	242	1	7	250
T2R2-Alcohol	1	497	8	11	516
	2	172	4	8	184
	3	273	1	0	274
	4	437	6	7	450
	5	236	1	16	253
T2R3-Alcohol	1	195	0	7	202
	2	164	0	4	168
	3	374	6	6	386
	4	241	1	1	243
	5	253	0	14	267
T3R1-50 mg/L extracto	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
	4	1	0	0	1
	5	0	0	0	0
T3R2-50 mg/L extracto	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
	4	0	0	0	0
	5	0	0	0	0
	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0

T3R3-50 mg/L extracto	3	0	0	0	0
	4	0	1	0	1
	5	0	0	0	0
T3R1-100 mg/L extracto	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
	4	0	0	0	0
	5	0	0	0	0
T3R2-100 mg/L extracto	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
	4	0	0	0	0
	5	0	0	0	0
T3R3-100 mg/L extracto	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
	4	0	0	0	0
	5	0	0	0	0

Anexo 3

Parámetros bioquímicos y hematológicos de *P. brachypomus* luego de los baños terapéuticos

Tratamiento	n° Pez	Hb (g/dL)	Hct (%)	RBC(x10^{6}µL)	VCM (fL)	CHCM (g/dL)	Glucosa (mg/dL)	Proteína (g/dL)
Agua T1R1	1	6.950	24.5	2.2	111.364	28.366	52.778	3.582
	2	5.752	32	2.56	125.000	17.976	63.079	3.314
	3	6.035	26	1.31	198.473	23.210	62.153	2.856
	4	4.458	29	1.73	167.630	15.372	53.819	5.366
	5	4.020	29	2.79	103.943	13.862	62.269	3.771
	6	5.275	30	2.1	142.857	17.585	40.856	3.529
Agua T1R2	1	5.178	30	1.89	158.730	17.260	62.963	5.712
	2	6.570	32	1.94	164.948	20.531	70.023	3.118
	3	4.623	25	1.34	186.567	18.493	61.111	3.686
	4	4.828	31	1.24	250.000	15.573	60.995	5.582
	5	4.954	28	1.78	157.303	17.694	64.815	3.948
	6	5.363	30.5	2.08	146.635	17.584	100.231	5.007
Agua T1R3	1	6.405	27.5	1.39	197.842	23.289	48.380	4.621
	2	5.665	27	1.67	161.677	20.981	48.032	6.307
	3	5.908	31	1.47	210.884	19.058	66.435	3.967
	4	5.675	32	1.55	206.452	17.733	66.319	5.588
	5	5.168	30.5	1.22	250.000	16.946	53.241	5.327
	6	4.672	27	1.64	164.634	17.304	37.500	3.092
Alcohol T2R1	1	8.458	30.5	1.32	231.061	27.732	86.227	7.895
	2	9.208	32.0	1.38	231.884	28.774	65.394	3.556
	3	5.889	30.0	1.68	178.571	19.629	72.106	4.281
	4	6.025	33.0	1.76	187.500	18.257	72.454	5.111
	5	6.551	31.0	1.22	254.098	21.131	52.778	2.320
	6	5.305	23.5	1.11	211.236	22.573	72.685	7.503

Alcohol T2R2	1	6.609	31.0	1.42	218.310	21.319	95.602	4.520
	2	6.375	32.0	1.73	184.971	19.923	92.477	7.007
	3	5.937	28.5	1.78	160.112	20.833	91.898	2.601
	4	5.879	32.0	1.35	237.037	18.372	89.236	3.327
	5	4.107	29.5	1.82	162.088	13.924	90.625	1.948
	6	5.636	28.0	1.80	155.556	20.127	43.171	7.719
Alcohol T2R3	1	5.636	26.0	1.21	214.433	21.675	63.657	5.255
	2	5.830	28.5	1.36	209.559	20.457	94.097	5.967
	3	6.609	28.0	1.68	167.164	23.603	93.866	5.739
	4	5.227	28.5	1.64	174.046	18.340	106.366	6.275
	5	6.229	28.0	0.87	321.839	22.248	83.218	7.013
	6	4.964	31.0	1.44	215.278	16.013	90.625	2.007
50 mg/L T3R1	1	6.103	21.0	1.32	159.091	29.061	52.778	1.601
	2	7.719	23.5	2.35	100.000	32.845	63.079	1.294
	3	6.755	26.0	1.98	131.646	25.981	62.153	2.007
	4	5.441	27.5	1.48	185.811	19.785	53.819	1.706
	5	5.013	25.5	1.98	128.788	19.658	62.269	1.791
	6	3.582	24.0	1.21	198.347	14.924	40.856	1.967
50 mg/L T3R2	1	3.572	25.5	1.39	183.453	14.008	62.963	1.863
	2	2.988	22.0	1.94	113.548	13.582	70.023	3.771
	3	3.728	20.0	1.58	126.582	18.639	61.111	5.020
	4	3.475	24.0	1.68	142.857	14.478	60.995	3.229
	5	3.105	21.0	0.98	214.286	14.785	64.815	3.471
	6	3.374	22.5	1.51	156.145	15.099	100.231	3.471
50 mg/L T3R3	1	4.185	30.0	1.30	230.769	13.951	100.231	3.017
	2	3.689	24.0	1.40	171.429	15.371	48.380	3.017
	3	3.942	32.0	2.44	131.282	12.319	48.032	3.017
	4	3.163	28.0	2.19	127.854	11.298	66.435	4.595
	5	3.961	25.0	2.92	85.616	15.846	66.319	1.366

	6	4.477	30.0	3.13	96.000	14.924	53.241	3.092
	1	2.355	22.5	1.58	142.405	10.469	48.727	2.719
	2	3.047	30.0	1.13	265.487	10.155	89.352	4.333
100 mg/L T4R1	3	4.545	25.5	2.90	87.931	17.825	91.551	4.046
	4	2.647	23.5	1.40	167.857	11.266	41.667	2.216
	5	3.008	26.5	1.69	156.805	11.349	43.519	2.157
	6	3.193	29.5	1.25	236.000	10.822	118.403	4.444
	1	5.431	34.5	2.20	156.818	15.743	106.944	5.634
	2	2.988	18.5	1.61	114.907	16.152	77.778	2.399
100 mg/L T4R2	3	4.516	30.0	2.21	135.747	15.054	77.431	3.575
	4	4.857	28.5	3.35	85.075	17.042	86.921	1.817
	5	5.198	28.5	2.55	111.765	18.237	94.329	3.490
	6	4.711	19.0	1.33	142.857	24.794	85.417	4.294
	1	5.198	37.5	1.86	201.613	13.860	91.898	6.033
	2	3.261	22.5	2.51	89.641	14.492	109.375	3.562
100 mg/L T4R3	3	4.273	28.5	1.75	162.857	14.993	75.694	5.150
	4	4.244	32.5	2.34	138.889	13.058	118.171	3.124
	5	3.037	24.0	2.59	92.664	12.653	64.931	2.340
	6	4.302	36.0	2.58	139.535	11.950	92.014	4.042

Anexo 4

Conteo de células sanguíneas de *P. brachypomus* luego de los baños terapéuticos

Tratamiento	Leucocitos (µL)	Trombocitos (µL)	Linfocitos (uL-3)	Monocitos (uL-3)	Neutrófilos (uL)	LGPAS (uL)	Eosinófilos (uL)
Agua T1R1	46200	123200	15477	17787	10164	2541	231
	12800	81920	3136	4096	4864	704	0
	20305	63535	7513	3959	3959	4873	0
	20760	63145	3425	4879	10899	1557	0
	50220	79515	36410	3767	8286	1758	0
Agua T1R2	22050	74550	7277	6064	6615	2095	0
	34965	43470	24476	3671	5594	1224	0
	29100	57230	19643	1746	6548	1164	0
	18760	79730	10975	3846	2814	1126	0
	9300	47120	4604	837	3395	465	0
Agua T1R3	16910	45390	10315	1945	3974	676	0
	10400	43680	4888	1768	2652	1092	0
	9035	70890	3162	1129	3750	994	0
	40080	61790	28256	5611	4409	1804	0
	7350	20580	2573	1654	2352	772	0
	13175	51925	5797	3030	4084	264	0
Alcohol T2R1	21350	53680	15799	2135	2776	427	214
	10660	63960	9434	693	426	107	0
	12540	58740	6960	2508	2445	627	0
	3450	75210	1363	845	1052	190	0
	11760	58800	8879	1058	882	529	412
	8800	63360	4752	1980	1496	572	0
	4880	29890	2147	171	1659	903	0
	13350	52288	7142	1736	3137	601	734

	7810	61060	3515	1640	2304	351	0
	5190	57090	1920	597	1998	675	0
Alcohol T2R2	10680	67640	2670	1121	6568	320	0
	16875	45225	11222	1097	3797	759	0
	6370	45500	4778	255	1051	287	0
	33300	30600	16317	1166	12488	3330	0
	7881	55775	2877	1694	2995	315	0
	3400	53720	1989	119	1071	221	0
Alcohol T2R3	15075	58625	4598	603	8442	1357	75
	9825	69594	737	1130	6681	98	1179
	4785	38715	2656	861	933	335	0
	13680	56160	5198	2052	5404	1026	0
	28380	27720	284	1277	26677	142	0
	30550	66975	7790	2597	19858	306	0
50 mg/L T3R1	39500	20738	1383	0	37723	395	0
	17760	59940	977	533	16162	89	0
	35640	90090	178	356	34927	178	0
	19965	35090	299	1697	17769	200	0
	31970	25715	160	160	31650	0	0
	24219	72656	727	484	22887	121	0
50 mg/L T3R2	37130	92430	743	1300	34531	557	0
	19320	18480	1546	1739	15746	290	0
	14700	13720	294	1029	13230	0	147
	25468	44600	694	942	23609	194	29
	39650	41600	6542	4956	24781	3370	0
	32200	39900	3220	1449	26404	966	161
50 mg/L T3R3	59719	56063	14333	1194	41505	2687	0
	60225	52560	11142	1205	43964	3915	0
	54020	78840	7833	4052	38894	3241	0

	34375	129688	2234	2922	28531	688	0
	11060	26860	1051	498	8295	1106	111
	24860	38985	994	1243	19142	3480	0
100 mg/L T4R1	78300	139200	7047	12920	54810	3524	0
	19600	11200	2352	98	16268	882	0
	42250	58305	2113	634	38448	1056	0
	26250	60000	4988	525	20475	0	263
	79200	23100	396	3564	74448	792	0
	25760	16100	2576	258	21896	1030	0
100 mg/L T4R2	45305	122655	5663	0	37830	1812	0
	82075	67000	3283	6976	63198	8618	0
	59925	84150	2996	2996	52434	0	1498
	58453	62601	2983	2759	49961	2450	300
	53940	96720	1888	1079	43961	7012	0
	40160	81575	602	0	33734	5823	0
100 mg/L T4R3	37625	101500	941	188	35368	1129	0
	73710	162630	3317	1106	68182	1106	0
	20720	99715	1865	414	18130	311	0
	14190	64500	1916	4044	6527	1703	0