

ACTIVIDAD ANTIPARASITARIA DE DIFERENTES NIVELES DE PERÓXIDO DE HIDRÓGENO, EN EL CONTROL DEL ECTOPARÁSITO *Neobenedenia* sp., PRESENTE EN CULTIVOS DE TAINHA (*Mugil liza*).

**LISETH CAROLINA PERENGUEZ RIOFRÍO
LISETH VANESSA PERENGUEZ RIOFRÍO**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
DEPARTAMENTO DE RECURSOS HIDROBIOLÓGICOS
PROGRAMA DE INGENIERÍA EN PRODUCCIÓN ACUÍCOLA
NARIÑO 2021.**

ACTIVIDAD ANTIPARASITARIA DE DIFERENTES NIVELES DE PERÓXIDO DE HIDRÓGENO, EN EL CONTROL DEL ECTOPARÁSITO *Neobenedenia* sp., PRESENTE EN CULTIVOS DE TAINHA (*Mugil liza*).

**LISETH CAROLINA PERENGUEZ RIOFRIO
LISETH VANESSA PERENGUEZ RIOFRIO**

Trabajo de grado en la modalidad de investigación, presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniero en Producción Acuícola

**Director:
ELENICE MARTINS BRASIL
Biól., MSc., PhD**

**Co-Director:
JULBRINNER SALAS BENAVIDES
Biól., MSc., PhD (c).**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
DEPARTAMENTO DE RECURSOS HIDROBIOLÓGICOS
PROGRAMA DE INGENIERÍA EN PRODUCCIÓN ACUÍCOLA
NARIÑO 2021.**

“Las ideas y conclusiones aportadas en la Tesis de grado, son responsabilidad exclusiva de sus autores”

Artículo 1° del acuerdo No. 324 de octubre 11 de 1966, emanado del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

NOTA DE ACEPTACIÓN:

ELENICE MARTINS BRASIL
Director

JULBRINNER SALAS BENAVIDES
Co-Director

SANDRA MILENA CERON BENAVIDES
Jurado delegado

CARLOS ALBERTO CHAVES VELÁSQUEZ
Jurado

San Juan de Pasto, febrero del 2021

AGRADECIMIENTOS

Alexander Torres Álvaro Delgado Ana Fajardo Rosero Caio Magnotti.	Ingeniero en Producción Acuícola Ingeniero en Producción Acuícola Ingeniera en Producción Acuícola Ingeniero de Acuicultura, PhD. Técnico del Laboratorio de Piscicultura Marina (LAPMAR), UFSC, Brasil.
Cleize Sales Diana Díaz Everton Danilo dos Santos	Ingeniera de Pesca, MSc Ingeniera en Producción Acuícola Funcionario del Laboratorio de Piscicultura Marina, UFSC.
Fernanda Schahuer Fernando Bucheli Greicy Frietas Marco Antonio Imués Figueroa Mariana Rangel Piloto Marina Cesconeto dos Santos Piedad Mejía Santacruz	Zoótecnista, MSc Ingeniero en Producción Acuícola Ingeniera de Pesca y Acuicultura Zoótecnista, Esp., MSc Ciencias Biológicas, MSc, PhD. Ingeniera de Acuicultura Secretaría del departamento de Recursos Hidrobiológicos Universidad de Nariño.
Vanessa da Rocha	Ingeniera de Pesca y Acuicultura, MSc.
Vinicius Ronzani Cerqueira	Oceanólogo, MSc, PhD. Director del Laboratorio de Piscicultura Marina, UFSC, Brasil.

A toda nuestra familia brasileña, a nuestro lindo equipo de trabajo del Laboratorio de Piscicultura Marina (LAPMAR), por su valioso apoyo, por su ayuda en el desarrollo de nuestro trabajo de grado, especialmente a nuestra Orientadora, la Doctora Elenice Martins Brasil, por todo el tiempo dedicado, apoyo incondicional, su valiosa amistad y compromiso con nuestro trabajo.

A nuestra familia colombiana, nuestra Universidad de Nariño y sus dependencias, a nuestro querido programa Ingeniería en Producción Acuícola y su equipo de trabajo, a nuestros profesores y amigos, especialmente a nuestro Co-orientador el Doctor Julbrinner Salas Benavides, por todo el tiempo y apoyo incondicional, su compromiso, sus consejos y su amistad, pero sobre todo por enseñarnos a trabajar con amor en pro del bienestar de los demás.

Muchas gracias a todas las personas que hacen parte de nuestras vidas, nos ayudan a alcanzar nuestros objetivos y están detrás de todos nuestros triunfos.

DEDICATORIA

Talvez, a parte mais difícil seja agradecer a todos aqueles que, no horizonte que abrange uma vida, tiveram o papel decisivo para que este trabalho chegasse a ser escrito.

Este trabalho é dedicado à nossa família colombiana como um sinal de nosso amor, admiração e respeito, por tudo o tempo de luta e trabalho constante. A nosso pai Jesus como agradecimento pela força e apoio nos momentos de obscuridade, a todos esses anos de amor, sacrifício, dedicação e bom exemplo, em procura do nosso bem; à nossa mãe Sandra em agradecimento por todos os anos de dedicação, apoio e imenso amor, por ser a promotora dos nossos sonhos, pelas noites de insônia e pelos abraços que ainda estamos nos devendo; ao nosso maior amor, nosso irmão Marlon, em compensação pelo tempo perdido, e em gratidão pelos risos, amor, apoio, compreensão e cumplicidade.

Aos nossos influentes avós, Benjamin e María, por cada um dos presentes que nos enviam do céu, pelo exemplo de força e na memória deles, pelas nossas histórias e lembranças, pelos seus ensinamentos e por todas aquelas palavras de amor que ficaram guardadas. Q.E.P.D

À nossa nova família brasileira e todos aqueles que fazem parte dela, em agradecimento por nos fazer parte de vocês, pelo apoio e a confiança; á o amor da minha vida por me oferecer uma família e por segurar minha mão em todos os momentos, pelas novas experiências, o amor e o apoio recebido nos dias bons e ruins, pelos risos, as brincadeiras e a cumplicidade, muito obrigado!

A todos os professores que fizeram parte da nossa formação acadêmica e profissional e que com seu trabalho e esforço contribuíram com novos conhecimentos, finalmente a todos os nossos amigos com quem compartilhamos esta viagem e momentos inesquecíveis.

RESUMEN

Con el aumento de la producción acuícola, también se incrementa la aparición de virus, bacterias y enfermedades parasitarias. Dentro de los cultivos de *Mugil liza* se ha identificado la aparición de ectoparásitos de la clase monogenide que participan en las diferentes fases del pez, alteran la fisiología normal y comportamental de los mismos y comprometen la producción, convirtiéndose en un problema grave para los cultivos de peces tropicales en todo el mundo. Para el caso, el ectoparásito del género *Neobenedenia* causa la muerte y amenaza el éxito de los cultivos, además es un parásito de estudio en curso y su información aún es insuficiente. Por esta razón es importante realizar investigaciones que involucren nuevas metodologías de control con productos de bajo costo, que puedan ser accesibles para el productor, amigables con el medio ambiente y que también resulten efectivos al reducir o eliminar los parásitos en los sistemas de cultivo.

De esta forma el presente proyecto, tuvo como propósito evaluar el efecto antiparasitario de diferentes concentraciones de peróxido de hidrógeno, contra el ectoparásito *Neobenedenia* sp., el cual se llevó a cabo en el Laboratorio de Piscicultura Marina (LAPMAR) de la Universidad Federal de Santa Catarina, en la ciudad de Florianópolis, estado Federal de Santa Catarina, al sur de Brasil. Para la realización de la primera parte del experimento (test *in vitro*) se utilizaron 180 parásitos de *Neobenedenia* sp., extraídos de reproductores de Tainha (*Mugil liza*) identificados como infestados, los cuales fueron distribuidos en placas de cultivo de tejido de 6 pocillos y sometidos a las diferentes concentraciones de peróxido, con una densidad de 10 parásitos por réplica, para un total de 18 unidades experimentales. Para la segunda parte del experimento (test *in vivo*) se utilizaron 108 juveniles de *M. liza* seleccionados y definidos como parasitados por infestación natural, con tamaño promedio de 12 ± 2 cm, los cuales fueron distribuidos en 18 baldes con capacidad de 20L a una densidad de 6 individuos por réplica y luego sometidos a baños de inmersión por un tiempo definido a partir de los resultados del test *in vitro* (1 h). Las concentraciones de evaluación (150, 200, 250, 300 y 350 mg/L de peróxido de hidrógeno), más un tratamiento control se prepararon con agua de mar proveniente de los tanques en los que se encontraban los animales inicialmente.

El efecto de las concentraciones se evaluó en términos de mortalidad (100%) de la población y tiempo de exposición al producto para el caso del test *in vitro*; pasado el tiempo de inmersión de los juveniles de Tainha en el test *in vivo*, se estimaron las variables productivas como: peso, longitud, factor de condición K y supervivencia; también se realizó la colección de muestras parasitológicas para la determinación de abundancia media, tasa de prevalencia, intensidad media de infestación, mortalidad de parásitos; y variables hematológicas empleadas para la determinación de la influencia parasitaria como: la hemoglobina, glucosa, porcentual de hematocrito, eritrocitos e índices hematimétricos. Los juveniles no sacrificados fueron distribuidos por tratamiento y mantenidos durante 30 días en un

sistema de recirculación (RAS) alimentados con balanceado comercial al 45% de proteína 2 veces al día para posteriormente realizar una segunda colecta de muestras parasitológicas y definir la reinfección parasitaria.

La evaluación cubrió pruebas de análisis de varianza (ANDEVA), con el fin de establecer diferencias significativas entre las medias y una prueba de comparación múltiple de Tukey utilizando el programa estadístico informático SPSS IBM19 y la hoja de cálculo de Microsoft Excel.

Los resultados del test *in vitro* presentaron una mortalidad del 100% de los individuos de *Neobenedenia* sp., en todos los tratamientos excepto en el control (sin peróxido de hidrógeno), el mejor tiempo de acción del producto se presentó en el tratamiento 5 (350 mg/L) con una media de 3,66 min. En cuanto a los resultados del test *in vivo* se registraron valores de mortalidad de *Neobenedenia* sp., del 100% en los tratamientos con 200, 250 y 300 mg/L y una supervivencia de los juveniles de *M. liza* del 100% para todos los tratamientos. La reinfección parasitaria evaluada 30 días después de la inmersión con peróxido presentó resultados del 0% para los tratamientos 2 hasta el 5 con concentraciones que van desde los 200 a 350 mg/L de peróxido de hidrógeno.

ABSTRACT

With the increase in aquaculture production, the emergence of viruses, bacteria and parasitic diseases also increases. Within the cultures of *Mugil liza* the appearance of ectoparasites of the monogenide class that participate in the different phases of the fish, alter the normal and behavioral physiology of the same and compromise the production, it is becoming a serious problem for tropical fish crops around the world. For the case, the ectoparasite of the genus *Neobenedenia* causes death and threatens the success of the crops, it is also a parasite of ongoing study and its information is still insipient. For this reason it is important to carry out research involving new control methodologies with low-cost products, which can be accessible to the producer, environmentally friendly and also effective in reducing or eliminating parasites in farming systems.

In this way, the purpose of this project was to evaluate the antiparasitic effect of different concentrations of hydrogen peroxide against the ectoparasite *Neobenedenia* sp., which was carried out in the Marine Fish Farming Laboratory (LAPMAR) of the Federal University of Santa Catarina, in the city of Florianópolis, Federal State of Santa Catarina, south of Brazil. For the first part of the experiment (*in vitro* test), 180 parasites of *Neobenedenia* sp., extracted from tainha (*Mugil liza*) players identified as infested, were used, which were distributed in 6-well tissue culture plates and subjected to different peroxide concentrations, with a density of 10 parasites per replica, for a total of 18 experimental units. For the second part of the experiment (*in vivo* test), 108 juveniles of *M. liza* were selected and defined as parasitized by natural infestation, with an average size of 12 ± 2 cm. They were distributed in 18 buckets with a capacity of 20L at a density of 6 individuals per replica and then subjected to immersion baths for a defined time from the results of the *in vitro* test (1 h). The evaluation concentrations (150, 200, 250, 300 and 350 mg/L hydrogen peroxide), plus a control treatment, were prepared with seawater from the tanks in which the animals were initially located.

The effect of the concentrations was evaluated in terms of mortality (100%) of the population and time of exposure to the product for the case of the *in vitro* test; after the time of immersion of the juveniles of tainha in the *in vivo* test, the productive variables were estimated as: Weight, length, condition factor K, and survival; parasitological samples were also collected for the determination of mean abundance, prevalence rate, mean intensity of infestation, mortality of parasites; and hematological variables used for the determination of parasitic influence such as: hemoglobin, glucose, hematocrit percentage, erythrocytes and hematimetric indices. The unslaughtered juveniles were distributed by treatment and maintained for 30 days in a recirculation system (RAS) fed with 45% commercial balanced protein 2 times a day to subsequently perform a second collection of parasitological samples and define parasitic reinfection.

The evaluation covered variance analysis tests (ANDEVA), in order to establish significant differences between the means and a Tukey multiple comparison test using the SPSS IBM19 statistical software and the Microsoft Excel spreadsheet.

The results of the *in vitro* test showed a mortality of 100% of the subjects of *Neobenedenia* sp., in all treatments except control (without hydrogen peroxide), the best action time of the product was presented in treatment 5 (350 mg/L) with a mean of 3,66 min. *In vivo* test results showed mortality values of *Neobenedenia* sp., of 100% in treatments with 200, 250 and 300 mg/L and a survival of juveniles of *M. liza* of 100% for all treatments. Parasite reinfestation evaluated 30 days after peroxide immersion showed 0% results for treatments 2 to 5 with concentrations ranging from 200 to 350 mg/L of hydrogen peroxide.

CONTENIDO

	Pág.
1. INTRODUCCIÓN	19
2. OBJETIVOS	22
2.1 OBJETIVO GENERAL	22
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
3. MARCO REFERENCIAL	23
3.1 PARASITISMO	23
3.2 INTERACCIÓN ENTRE PARÁSITO – HUÉSPED	23
3.3 INFESTACIÓN PARASITARIA	24
3.4 CLASE MONOGENEA	25
3.4.1 Ciclo biológico de monogenea.	25
3.5 GENERALIDADES DE <i>Neobenedenia</i> sp., (PARÁSITO)	26
3.5.1 Características morfológicas.	26
3.5.2 Ciclo de vida.	27
3.6 IMPACTO DE <i>Neobenedenia</i> sp., EN LA ACUICULTURA	28
3.7 GENERALIDADES DE LA ESPECIE <i>Mugil liza</i> (HUESPED)	30
3.7.1 Clasificación e identificación taxonómica.	31
3.8 SISTEMA INMUNOLÓGICO EN PECES	31
3.9 ESTRÉS EN PECES	32
3.10 MÉTODOS ANTIPARASITARIOS	34
3.10.1 Adicionado en el agua.	34
3.10.2 Adicionado en el alimento.	35
3.10.3 Aplicado directamente al pez.	35
3.11 CONTROL DE ENFERMEDADES PARASITARIAS EN CONDICIONES DE CULTIVO	35
3.12 PERÓXIDO DE HIDRÓGENO Y SUS USOS EN ACUICULTURA	36
4. METODOLOGÍA	38
4.1 ÁREA DE ESTUDIO	38
4.2 MATERIALES Y EQUIPOS	38
4.2.1 Equipos.	38

4.2.2	Materiales.	39
4.2.3	Insumos.	39
4.3	MATERIAL BIOLÓGICO	40
4.4	PLAN DE MANEJO	40
4.4.1	Limpieza y desinfección de las instalaciones.	40
4.4.2	Elaboración de las concentraciones (H_2O_2).	40
4.4.3	Criterios de selección de reproductores de <i>Mugil liza</i> test <i>in vitro</i> .	40
4.4.4	Protocolo test <i>in vitro</i> .	41
4.4.5	Pre test de resistencia de <i>Mugil liza</i> al producto.	42
4.4.6	Mantenimiento de juveniles previo al test <i>in vivo</i> .	42
4.4.7	Criterios de selección de juveniles <i>Mugil liza</i> test <i>in vivo</i> .	43
4.4.8	Protocolo test <i>in vivo</i> .	43
4.4.9	Carga parasitaria.	44
4.4.10	Protocolo parasitológico.	44
4.4.11	Protocolo de anestesia.	45
4.4.12	Protocolo hematológico.	45
4.4.13	Protocolo determinación de hemoglobina.	45
4.4.14	Protocolo determinación de eritrocito.	45
4.4.15	Protocolo determinación de hematocrito.	48
4.4.16	Protocolo determinación de glucosa.	48
4.4.17	Protocolo de descarte del peróxido de hidrógeno.	49
4.4.18	Calidad del agua.	49
4.5	DISEÑO EXPERIMENTAL	49
4.6	FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS	50
4.6.1	Hipótesis nula (H_0).	50
4.6.2	Hipótesis alterna (H_1).	50
4.7	VARIABLES EVALUADAS	50
4.7.1	Variables productivas en <i>Mugil liza</i> por tratamiento test <i>in vivo</i>	50
4.7.2	Variables parasitológicas en <i>Mugil liza</i> test <i>in vivo</i> .	51
4.7.3	Variables hematológicas en <i>Mugil liza</i> (post baño de inmersión de 1 hora).	52
4.8	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	54
5	PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	55
5.1	PRE TEST DE RESISTENCIA AL PRODUCTO	55

5.2	TIEMPO DE ACCIÓN DEL PERÓXIDO DE HIDRÓGENO TEST <i>IN VITRO</i>	55
5.3	MORTALIDAD DE <i>Neobenedenia</i> sp., POR ACCIÓN DEL PERÓXIDO DE HIDRÓGENO TEST <i>IN VITRO</i>	57
5.4	VARIABLES ZOOTÉCNICAS INICIO DE ESTUDIO TEST <i>IN VIVO</i>	59
5.5	VARIABLES ZOOTÉCNICAS AL FINAL DE ESTUDIO (POST 30 DÍAS) TEST <i>IN VIVO</i>	59
5.6	PARASITOSIS	62
5.6.1	Abundancia media y mortalidad de <i>Neobenedenia</i> sp., test <i>in vivo</i> .	62
5.6.2	Tasa de prevalencia.	65
5.6.3	Intensidad media de infestación.	65
5.6.4	Reinfestación parasitaria.	66
5.7	PRUEBAS HEMATOLÓGICAS	67
5.7.1	Glucosa.	67
5.7.2	Hemoglobina.	69
5.7.3	Hematocrito.	71
5.7.4	Eritrocitos.	73
5.7.5	Índices hematimétricos.	74
5.8	PARÁMETROS FÍSICOS Y QUÍMICOS	75
6.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	81
6.1	CONCLUSIONES	81
6.2	RECOMENDACIONES	81
7.	BIBLIOGRÁFIA	83

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Tiempo de acción del peróxido de hidrógeno test <i>in vitro</i>	55
Tabla 2. Mortalidad de <i>Neobenedenia</i> sp., por acción del peróxido de hidrógeno test <i>in vitro</i>	57
Tabla 3. Peso inicial promedio de <i>M. liza</i> por tratamiento test <i>in vivo</i>	59
Tabla 4. Longitud inicial promedio de <i>M. liza</i> test <i>in vivo</i>	59
Tabla 5. Peso final promedio para <i>M. liza</i> después de 30 días.....	60
Tabla 6. Longitud final promedio para <i>M. liza</i> después de 30 días.....	60
Tabla 7. Estimación de las variables productivas al final del experimento.....	61
Tabla 8. Abundancia media de <i>Neobenedenia</i> sp., en test <i>in vivo</i>	62
Tabla 9. Tabla cruzada mortalidad por tratamiento.....	63
Tabla 10. Pruebas de chi-cuadrado.....	63
Tabla 11. Medidas direccionales.....	64
Tabla 12. Reinfestación parasitaria en <i>Mugil liza</i> después de 30 días.....	66
Tabla 13. Valores medios de glucosa para tainha <i>M. liza</i> post inmersión con peróxido.....	67
Tabla 14. Hemograma simple de <i>Mugil liza</i> infestada con <i>Neobenedenia</i> sp.....	69
Tabla 15. Parámetros físicos y químicos, medias de Oxígeno disuelto, Temperatura y Potencial de hidrógeno.	75
Tabla 16. Matriz de correlaciones de la condición fisicoquímica en las unidades experimentales.....	76

FIGURAS

Figura 1. Ciclo de vida de monogenia.....	25
Figura 2. Morfología del estadio adulto de <i>Neobenedenia</i> sp.....	27
Figura 3. Ciclo de vida de <i>Neobenedenia</i> sp.	28
Figura 4. Reproductor de tainha (<i>Mugil liza</i>)	30
Figura 5. Vista satelital del Laboratorio de Piscicultura Marina (LAPMAR).....	38
Figura 6. Infestación parasitaria con <i>Neobenedenia</i> sp., en reproductores de <i>M. liza</i>	41
Figura 7. Unidades experimentales test <i>in vitro</i>	42
Figura 8. Infestación parasitaria con <i>Neobenedenia</i> sp., en juveniles de <i>M. liza</i> ..	43
Figura 9. Unidades experimentales test <i>in vivo</i>	44
Figura 10. Eritrocito en cámara de Neubauer, objetivo 40X.	46
Figura 11. Esquema utilizado para la contabilización de eritrocitos en cámara de Neubauer.....	47
Figura 12. Esquema convencional para el conteo de eritrocitos en una de las cinco cuadriculas de la cámara de Neubauer.	47
Figura 13. Gráfico de medición de los valores de hematocrito.	48
Figura 14. Equipo de glucosa Accu-check active.	49
Figura 15. Comportamiento del tiempo de inmersión de <i>Neobenedenia</i> sp., en las concentraciones de peróxido de hidrógeno.	56
Figura 16. Comportamiento de <i>Neobenedenia</i> sp., con el producto.....	58

ANEXOS

Anexo A. Análisis estadístico para la variable tiempo de acción del peróxido de hidrógeno test <i>in vitro</i>	92
Anexo B. Análisis estadístico mortalidad de <i>Neobenedenia</i> sp., test <i>in vitro</i>	94
Anexo C. Análisis estadísticos variables zootécnicas al inicio del estudio test <i>in vivo</i>	95
Anexo D. Análisis estadísticos variables zootécnicas al final del estudio test <i>in vivo</i>	99
Anexo E. Parasitos. Análisis estadístico variable Abundancia media test <i>in vivo</i>	103
Anexo F. <i>Parasitosis. Datos de mortalidad test in vivo.</i>	105
Anexo G. Parasitos. Análisis estadístico variable Reinfestación parasitaria.	106
Anexo H. Hematología. Análisis estadístico glucosa test <i>in vivo</i>	108
Anexo I. Hematología. Análisis estadístico hemoglobina test <i>in vivo</i>	110
Anexo J. Hematología. Análisis estadístico % de hematocrito test <i>in vivo</i>	111
Anexo K. Hematología. Análisis estadístico eritrocitos test <i>in vivo</i>	113
Anexo L. Índices hematimétricos. Análisis estadístico VCM, HCM, CHCM.	115
Anexo M. Análisis estadísticos parámetros físicos y químicos.	121

GLOSARIO

ANISOCITOSIS: condición en que los glóbulos rojos tienen un tamaño desigual, por lo general se presenta en individuos que sufren anemia por deficiencia de hierro.

ANTÍGENOS: sustancias (químicos) o agentes extraños (bacterias, virus) proveniente del ambiente, que provocan que el sistema inmunitario produzca anticuerpos contra sí mismo.

ANTIPARASITARIO: medicamento anti infeccioso usado para el control de infecciones causadas por bacterias y parásitos.

DECILITRO (dL): unidad de volumen 100cm^3 que equivale a la décima parte de un litro.

DESINFECCIÓN: proceso químico que mata o erradica los microrganismos tales como agentes patógenos.

DESINFECTANTE: proceso físico o químico que mata o inactiva a los microorganismos.

ECTOPARÁSITO: parásito externo, o tipo de parásito que vive fuera del cuerpo de un hospedero.

ENFERMEDAD: alteración leve o grave del funcionamiento normal de un organismo o de alguna de sus partes debida a una causa interna o externa.

EQUILIBRIO HOMEOSTÁTICO: proceso de regulación por el cual un organismo mantiene constante su equilibrio; procesos de auto regulación que son necesarios para responder a las modificaciones del organismo en la interacción con el medio.

ESPECIACIÓN: proceso mediante el cual una población de una determinada especie da lugar a otra u otras poblaciones, aisladas reproductivamente de la población anterior y entre sí, que con el tiempo irán acumulando otras diferencias genéticas.

FACTORES DE COMPLEMENTO: mecanismo de defensa, su misión principal es eliminar patógenos de la circulación. Cascada enzimática, puente entre la inmunidad innata y adquirida, aumentando la respuesta de anticuerpos.

FENTOLITROS (fL): unidad de medida de volumen igual a 10^{-15} litros, equivalente a una millonésima de una milmillonésima de litro.

HIPERCROMÍA: condición anormal y patológica en que los glóbulos rojos se tiñen excesivamente.

INFECCIÓN: invasión y multiplicación de agentes patógenos en los tejidos de un organismo.

INFESTACIÓN: invasión de un organismo vivo por agentes parásitos externos o internos.

LESIÓN: alteración o daño que se produce en alguna parte del cuerpo a causa de un golpe o una enfermedad.

PARASITO: ser que obtiene su alimento tomándolo de otro, llamado huésped.

PARASITOSIS: parásitos que afectan a los animales domésticos y silvestres.

PATÓGENO: agente específico, causador de enfermedad.

PICOGRAMAS (pg): unidad de masa del sistema internacional de unidades 1pg= 10^{-12} g; 10^{-9} mg y 10^{-15} kg, equivalente a la billonésima parte de un gramo.

PROFILAXIS: prevención de enfermedades.

REDUCCIÓN QUÍMICA: proceso electroquímico por el cual un átomo o un ion gana electrones, implicando la disminución de su estado de oxidación.

SINTOMA: cambio en el comportamiento animal que se puede evidenciar o medir.

SISTEMA INMUNE: defensa natural del cuerpo contra las infecciones, como bacterias y virus. A través de una reacción organizada de una compleja red de células, tejidos y órganos, atacando y destruyendo los organismos infecciosos que lo invaden (antígenos).

TOXICIDAD: capacidad intrínseca que posee un agente químico a producir efectos adversos, a los organismos acuáticos, modificando sus funciones vitales.

1. INTRODUCCIÓN

Las poblaciones de *Mugil* constituyen un grupo importante dentro de la pesca comercial y probablemente de las producciones extensas, puesto a que reúnen los requerimientos proteicos básicos de muchos consumidores alrededor de todo el mundo. Además de su importancia como recurso pesquero en Brasil, de acuerdo con Miranda-Filho *et al.*, “el salmonete *M. liza* tiene características que la califican como una alternativa para la piscicultura, derivada de la amplia tolerancia a la salinidad y la temperatura, alta robustez, con buena aceptación a la dieta artificial, puesto que requiere un bajo contenido de proteínas y su crianza puede hacerse en monocultivo o policultivo.”¹.

De acuerdo con Sanches *et al.*, “uno de los mayores problemas en los cultivos de peces marinos, en todo el mundo, es la presencia de organismos parásitos que comprometen la vida de los peces y consecuentemente la rentabilidad de los cultivos, siendo el monogenoide *Neobenedenia* de la familia capsalidae, uno de los ectoparásitos de peces marinos frecuentemente encontrado en los cultivos y en peces mantenidos en acuarios”².

Los brotes de infestación de monogenoides capsalideos se convierten en un grave problema en el cultivo de peces tropicales marinos, como afirman Chambers *et al.*,³ cuando menciona que las infestaciones de *Neobenedenia* sp., son la mayor barrera para la expansión de cultivos de peces marinos; de acuerdo con Bondad-Reantaso *et al.*, “a medida que la producción acuícola se intensifica, también puede aumentar la ocurrencia de enfermedades virales, bacterianas y parasitarias”⁴. Por otra parte, Bondad-Reantaso *et al.*,⁵ menciona que la intensificación y comercialización de productos acuícolas ha facilitado la ocurrencia de enfermedades limitando el cultivo de algunas especies. En opinión de Ohno *et al.*, “son muchas las especies de patógenos que ha afectado el cultivo de peces marinos, en particular, el ectoparásito del género *Neobenedenia*, es uno de los capsálicos que ha provocado mortalidades masivas y amenazan el éxito de los mismos”⁶

¹ MIRANDA-FILHO, Kleber, *et al.* Tainha. Espécies nativas para a piscicultura no Brasil. UFSM, Santa Maria. En: Baldisseroto, B. e Gomes, L. C. (Org.). 2010. p. 541-552.

² SANCHES, Eduardo y VIANNA, Rogério. Ocorrência de *Neobenedenia melleni* (monogenea: Capsalidae) em garoupa-verdadeira, *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834), cultivada em tanques-rede. En: Arquivos de Ciências do mar, Fortaleza. 2007. p. 97.

³ CHAMBERS, Clinton y ERNST, I. Dispersal of the skin fluke Benedenia seriola (Monogenea: Capsalidae) by tidal currents and implications for sea-cage farming of Seriola sp. En: Aquaculture, v.250, 2005. p.60-69.

⁴ BONDAD-REANTASO, Melba, *et al.* Disease and health management in Asian aquaculture. 2005. En: Vet. Parasitol. 132:249–72. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.07.005>

⁵ Ibid.p.250.

⁶ OHNO, Yasuhiro; KAWANO, Fumi y HIRAZAWA, Noritaka. Susceptibility by amberjack (*Seriola dumerili*), yellowtail (*S. quinqueradiata*) and Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) to *Neobenedenia girellae* (Monogenea) infection and their acquired protection. 2008. En: Aquaculture 274:30–35. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.11.013>

Dentro de la producción acuícola, es común el uso de antibióticos para evitar pérdidas económicas o la propagación de enfermedades; así entonces, en opinión de Rico *et al.*, “como medida profiláctica, los antibióticos son suministrados vía oral en el alimento, en inmersión o inyecciones”⁷.

Yamamoto *et al.*, afirma que “para combatir enfermedades parasitarias en peces, los métodos más utilizados son inmersiones en agua dulce o químicos (formol, peróxido de hidrógeno), así como, el uso de antiparasitarios como praziquantel® (peces ornamentales), sin embargo, la manipulación genera gran estrés en los peces causando el riesgo de mortalidad posterior al tratamiento, su efectividad puede ser temporal y no erradica la infección”⁸.

De acuerdo con lo mencionado por Valles *et al.*, “el peróxido de hidrógeno, como es un compuesto que se origina de forma natural durante el metabolismo oxidativo de las células y que una vez vertido al agua se descompone rápidamente en agua y en oxígeno gaseoso mediante reducción química y enzimática por parte de algas, zooplancton y bacterias heterótrofas, bajo la incidencia de la luz y turbulencia; ha demostrado su eficacia en la desinfección de presas vivas y peces”⁹. Este mismo autor¹⁰, menciona que, en acuicultura el peróxido de hidrógeno se utiliza como método de inmersión contra muchos organismos causantes de múltiples enfermedades, incluidos parásitos externos, bacterias y hongos, en diferentes especies y etapas de la vida de los peces. Este compuesto está considerado como un producto de bajo riesgo por la “US Food and Drug Administration” considerado como una alternativa amigable para el ambiente.

El control efectivo de las enfermedades parasitarias en sistemas acuícolas es muy complejo, se requiere de un diagnóstico oportuno, medidas de prevención y métodos efectivos, para lo cual es indispensable conocer el ciclo de vida del parásito. Castelló menciona que “En la mayoría de los casos no hay tratamiento, por lo que el uso de buenas prácticas de manejo, y de higiene, así como, registro diario de salud de los peces y monitoreo de condiciones ambientales, son la única manera para evitar epidemias y controlar las enfermedades en los sistemas de cultivo”¹¹. Hasta la fecha, no existe un método que garantice el control efectivo de las enfermedades parasitarias en sistemas acuícolas. Por eso con el crecimiento de la piscicultura marina, es necesario incrementar el interés por la identificación y

⁷ RICO, Andreu, *et al.* Use of veterinary medicines, feed additives and probiotics in four major internationally traded aquaculture species farmed in Asia. 2013. En: Aquaculture 412–413:231–243. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.07.028>

⁸ YAMAMOTO, Shinji y FUKUSHIMA, Atsuhiko. Shading of net cage is an effective control measure against skin fluke *Neobenedenia girellae* infection in chub mackerel *Scomber japonicus*. 2014. En: Fish. Sci. 80:1021–1026. <https://doi.org/10.1007/s12562-014- 0781-3>

⁹ Ibid. p. 93

¹⁰ Ibid. p. 93

¹¹ CASTELLÓ, Francesc. Piscicultura Marina en Latinoamérica. En: Publicaciones i Edicions de la Universitat de Barcelona, Barcelona. 2013. p. 312. ISBN 978-84-475-3436-4

control de las principales patologías presentes en la piscicultura, en consecuencia, surge la necesidad de encontrar estrategias para combatir y prevenir las infestaciones parasitarias que permitan mejorar las condiciones de salud de los peces en los cultivos.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

- Evaluar el efecto antiparasitario de diferentes concentraciones de peróxido de hidrógeno frente al ectoparásito *Neobenedenia* sp., en Tainha (*Mugil liza*).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Definir la mejor concentración antiparasitaria de peróxido de hidrógeno en *Neobenedenia* sp., *in vitro*.
- Establecer *in vivo*, las variables parasitológicas de juveniles de *M. liza* infestados con *Neobenedenia* sp, post inmersión con peróxido de hidrógeno
- Determinar *in vivo*, las variables hematológicas de juveniles de *M. liza*, infestados con *Neobenedenia* sp., post sumersión con peróxido de hidrógeno.

3. MARCO REFERENCIAL

3.1 PARASITISMO

Córdova¹² afirma que el término parásito procede del griego y significa "sentado al lado del alimento". El parasitismo es una asociación interespecífica durable, en la cual uno solo de los socios, el parásito, utiliza al otro (el huésped) como su medio de vida y como recurso de nutrición. "Los parásitos pertenecen a los reinos animal y vegetal, la mayoría son microscópicos, mientras otros son visibles a simple vista y pueden medir centímetros o metros, están constituidos por agrupaciones moleculares (virus) o por una sola célula (bacterias, hongos, rickettsias, protozoos), o por millones de células agrupadas en órganos y sistemas (helmintos, artrópodos)"¹³.

"Para poder causar daño, depende metabólica y evolutivamente del huésped, estableciendo contacto e intercambio macromolecular, los parásitos al sentir este cambio en su medio, empiezan a proliferar aún más, con lo cual de forma actual o potencial ocasiona acciones patógenas o modificaciones del equilibrio homeostático del hospedador y de la respuesta adaptativa de su sistema inmunitario"¹⁴.

De acuerdo con Córdova¹⁵, existen tres tipos de parásitos en relación a la localización sobre el huésped: los "ectoparásitos" que son aquellos que viven en la superficie externa del hospedero, los "mesoparásitos" que viven en una cavidad natural (boca, vagina, tubo digestivo, etc.) del huésped y los "endoparásitos" que viven en el interior del hospedero (para salir deben pasar por barreras de piel, etc.).

3.2 INTERACCIÓN ENTRE PARÁSITO – HUÉSPED

De acuerdo con Quiroz¹⁶ la piel de los peces puede actuar como barrera o vía para la invasión de tejidos internos por los parásitos, de los cuales algunos pueden penetrar por sí solos. Muchos sitios de la piel y branquias son habitados por parásitos que causan lesiones localizadas. El daño que produce depende del grado de intimidad en la asociación evolutiva, muchos de estos parásitos se alimentan por medio de la dermis, viven en forma permanente o temporalmente, completando su alimentación en días o en pocos minutos.

¹² CÓRDOVA, Mauren. Utilización de monogenea (ectoparásitos de branquias) para la caracterización de las poblaciones de *serrasalmus rhombeus* en la cuenca amazónica de Bolivia. Cochabamba, Bolivia. Universidad Mayor de San Simón. 2004. p. 10.

¹³ Ibid., p. 11.

¹⁴ Ibid., p. 11.

¹⁵ Ibid., p. 11.

¹⁶ QUIROZ, Romero. Parasicología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. Noriega Editores. 5° Ed. Santa Cruz - Bolivia. 1994. p. 111

“Las interacciones filogenéticas entre el parásito y su hospedero a menudo conllevan cambios en el comportamiento del animal infectado. Dichos cambios usualmente son benéficos para el patógeno y a menudo detratamentales para el hospedero”¹⁷.

Córdova¹⁸ afirma que los cambios inducidos para el hospedero tienen el efecto de aumentar la taza de transmisión del parásito. Los mecanismos usados para este efecto tanto directa o indirectamente influyen en la supervivencia del hospedero y ocasionalmente afectan su fecundidad. Por tanto, se presenta un conflicto de interés entre el parásito y el hospedero, el cual tiene efectos significativos sobre las escalas de tiempo ecológico y evolucionario.

3.3 INFESTACIÓN PARASITARIA

De acuerdo con Bowman “un parásito es un organismo de menor tamaño que vive en el interior o a expensas de otro organismo mayor denominado hospedador”¹⁹. El costo del hospedador a la hora de mantener a sus parásitos puede ser trivial o, por el contrario, ser sustancial o incluso insostenible puesto a que va a depender de la carga parasitaria, del tipo y grado de agresión que ocasionen, y del estado inmunitario y nutricional del hospedador.

Shapiro²⁰ afirma que las infestaciones pueden clasificarse como internas o externas, dependiendo de la ubicación del parásito en su huésped. La infestación externa o la infestación ectoparasitaria es una condición en la que el parásito vive principalmente en la superficie del cuerpo de su huésped, mientras que una infestación interna o una infestación endoparasitaria es una condición en la cual el parásito habita principalmente en el interior del cuerpo de su huésped. Si los parásitos causan una infestación o una infección depende de que parte del huésped ocupan, puesto a que los parásitos son metabólicamente dependientes del huésped.

Existen algunos términos específicamente relativos a los parásitos que convencionalmente se utilizan de determinada manera. Así, Bowman²¹ considera que los endoparásitos, parásitos que habitan en el interior del organismo de sus hospedadores, producen infecciones, mientras que los ectoparásitos, que viven en la superficie externa del hospedador o en la piel, se dice que causan infestaciones. Shapiro²² menciona que las infecciones e infestaciones pueden ser apenas

¹⁷ CÓRDOVA. Op. Cit., p.14.

¹⁸ Ibid., p. 15.

¹⁹ BOWMAN, Dwight. Parasitología para Veterinarios. Novena edición. Elsevier: Barcelona, España. 2011. ISBN 978-84-8086-705-4. p. 1

²⁰ SHAPIRO, Leland. The Variety of Parasites. En: Pathology and parasitology for veterinary technicians. 2005. ISBN 978-1-4018-3745-7. p. 111.

²¹ BOWMAN. Op. cit., p.3

²² SHAPIRO. Op. cit., p. 112

perceptibles o muy pronunciadas. Un solo parásito produce solo una enfermedad leve, y el huésped no parece enfermo. En la mayoría de los casos, se necesita la presencia de muchos parásitos para que el huésped muestre signos de enfermedad.

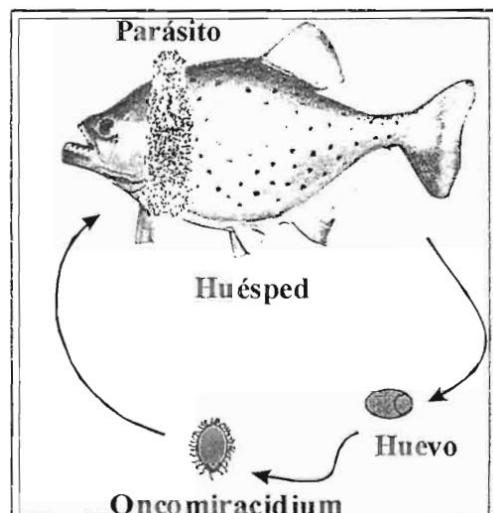
3.4 CLASE MONOGENEA

Córdova²³ menciona que las especies de esta clase monogenea son todos parásitos de vertebrados poiquilotermos acuáticos (peces, anfibios y reptiles). La mayoría de los miembros que son ectoparásitos, se encuentran principalmente en branquias, piel, aletas y la cavidad bucal, algunas se encuentran en las vejigas urinarias y el estómago.

El mismo autor menciona que “los parásitos (monogénea) son muy específicos del huésped y muy diversos, puesto a que dentro del modelo de la evolución es más eficiente la especiación de los parásitos que la de los peces, porque tienen un ciclo de vida más rápido”²⁴.

3.4.1 Ciclo biológico de monogenea. “Los parásitos adultos se localizan principalmente en branquias, piel, aletas y cavidad bucal de los peces lugares donde ovipositan; después el desarrollo de los huevos se realiza directamente en el medio ambiente, estos huevos dan origen a formas larvarias que nadan libremente para buscar su huésped y alcanzar en éste la madurez sexual”²⁵, (Figura 1).

Figura 1. Ciclo de vida de monogenia



Fuente: Córdova (2004)

²³ CÓRDOVA. Op. Cit., p.15 - 16.

²⁴ Ibid., p. 16.

²⁵ Ibid., p. 22.

En temperaturas elevadas el ciclo biológico puede realizarse en varios días. La distribución y porcentaje de infección de parásitos, varía de acuerdo a la especie y época del año; hay especies que presentan una marcada fluctuación, estrechamente relacionada con la temperatura del agua. Hay especies que producen huevos que soportan temperaturas cercanas a los 6°C; estos huevos permanecen en el fondo de los estanques para eclosionar en la primavera siguiente y así continuar su ciclo²⁶.

3.5 GENERALIDADES DE *Neobenedenia* sp., (PARÁSITO)

De acuerdo con Trasviña²⁷ *Neobenedenia* sp., pertenece a la clase monogenea, familia capsalidae, es un ectoparásito que infecta las branquias, piel y aletas de peces marinos y dulceacuícolas. Córdova afirma que “los parásitos monogenea son muy específicos del huésped y muy diversos”²⁸.

Trasviña afirma que “actualmente las especies descritas para el género *Neobenedenia* se encuentran bajo revisión ya que se ha demostrado que las características morfológicas no son evidencia suficiente para diferenciarlas”²⁹.

3.5.1 Características morfológicas. Transviña³⁰ lo describe como un parásito de cuerpo aplanado, conformado por cabeza y tronco, con dorso ventral.

“En el extremo anterior se encuentra el prohaptor, el cual presenta glándulas adhesivas u órganoscefálicos y en el extremo posterior se encuentra el opistohaptor, el cual consiste de una ventosa con ganchos que le permiten al parásito fijarse al hospedero”³¹. En conjunto el prohaptor y el opistohaptor permiten al monogéneo reptar y fijarse permanentemente a su hospedero, (Figura 2).

“La superficie del cuerpo de los adultos está formada por una neodermis no ciliada. El sistema digestivo se conforma por una faringe (órgano succionador) y ciegos intestinales”³². Whittington³³ menciona que un parásito adulto puede medir entre 2 y 7 mm con un promedio de 2,9mm.

²⁶ Ibid., p. 22.

²⁷ TRASVIÑA, Gabriela. Influencia de compuestos anti-parasitarios de origen natural en la respuesta inmune y control de la infección con *Neobenedenia* sp en *Seriola lalandi*. La paz, Baja California. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. 2018. p.8.

²⁸ CÓRDOVA. Op. Cit., p.16.

²⁹ TRASVIÑA. Op. Cit., p.8.

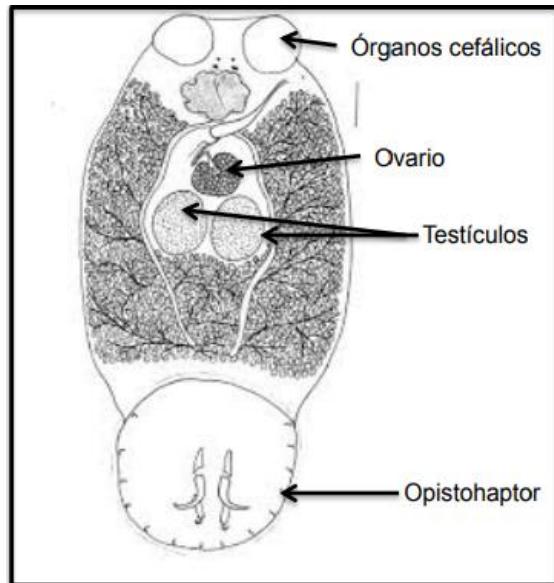
³⁰ Ibid., p. 8

³¹ Ibid., p. 8

³² Ibid., p. 8

³³ WHITTINGTON, Ian. *Benedenia seriolae* and *Neobenedenia* Species. in: Woo, P.T.K., Buchmann, K. (Eds.), Fish Parasites: Pathobiology and Protection. CABI, Wallingford, Oxfordshire, UK., 2012. p. 225–244.

Figura 2. Morfología del estadio adulto de *Neobenedenia* sp.



Fuente: Trasviña (2018)

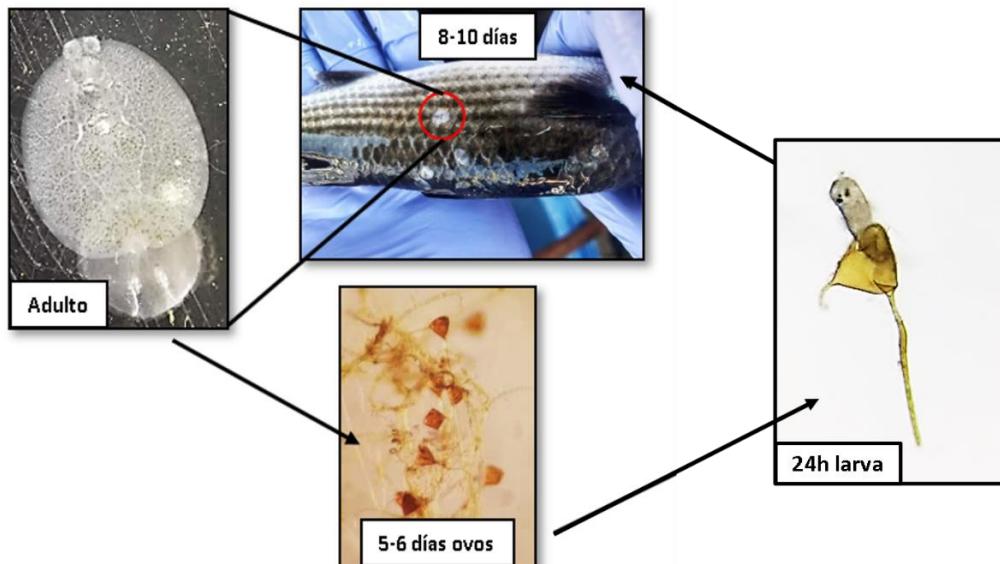
3.5.2 Ciclo de vida. “El género *Neobenedenia*, tiene ciclo de vida directo (Figura 3), son hermafroditas complejos y poseen varios mecanismos de reproducción, incluyendo: oviparidad, autofecundación e inseminación cruzada. El adulto produce aproximadamente 8 ± 2 huevos/parásito/hora”³⁴.

El huevo es de forma tetraédrica con un filamento largo y dos cortos en forma de ganchos, los huevos eclosionan en un periodo de 5 a 6 días liberando una larva llamada oncomiracidio, libre nadadora, ciliada, ocelada, de fototactismo positivo capaz de reinfectar a su hospedero primario. En un lapso de 8 a 10 días después de fijado en su hospedero el parásito comenzará a producir huevos, este periodo varía dependiendo de la temperatura del agua, puesto a que a mayor temperatura (20-30 °C), el tiempo de desarrollo disminuye³⁵.

³⁴ TRASVIÑA. Op. Cit., p 10.

³⁵ Ibid., p. 10.

Figura 3. Ciclo de vida de *Neobenedenia* sp.



Fuente: Laboratorio de Piscicultura Marina LAPMAR (2020)

3.5.3 Distribución. Córdova afirma que:

Un gran número de especies se encuentran distribuidas en aguas tropicales y semi tropicales de países africanos como Egipto, Ghana y Madagascar. Otras monogeneas se encuentran en aguas templadas de países europeos que cultivan carpas como Alemania, Hungría y Rusia, así como en países del Oriente medio como Israel y el del lejano Oriente como China y Japón. Otros se encuentran distribuidos en aguas frías de estos mismos países y del norte del continente americano como Estados Unidos y México, que cultivan salmonidos y otras importantes familias de peces.

En Sur América, la primera especie descrita fue *Benedenia hendorffi* Linstow (1889) seguida por *Fridericianella ovicola* Brandes (1894) de Brasil y *Lophocotyle cyclophora* Braun (1896) de Chile. En 1938 fueron reportadas otras especies en Brasil por Price, a partir de 1965 hacia adelante se tuvo el conocimiento de monogenea en Sur América con predominancia en Brasil³⁶.

3.6 IMPACTO DE *Neobenedenia* sp., EN LA ACUICULTURA

Whittington³⁷ menciona que *Neobenedenia* sp., afecta a más de 100 especies de peces y cerca de 30 familias de peces. Dado que se alimenta del mucus y células epiteliales del pez hospedero, Hirazawa et al.,³⁸ afirma que altos niveles de

³⁶ CÓRDOVA. Op. Cit., p.17.

³⁷ WHITTINGTON. Op. Cit., p.2

³⁸ HIRAZAWA, Noritaka; ISHIZUKA, Risa Y HAGIWARA, Hiroko. The effects of *Neobenedenia girellae* (Monogenea) infection on host amberjack *Seriola dumerili* (Carangidae): Hematological and

infestación pueden ocasionar hemorragias, inflamación e hiperproducción de mucus, incluso la muerte. Además, el nivel de infección afecta el crecimiento, el factor de conversión alimenticia y el grosor de la epidermis. Por otra parte, Kohn³⁹ describe que monogenia afecta órganos y tejidos que son vitales en el funcionamiento normal de las branquias y la superficie del cuerpo, en las branquias puede ocasionar anemias; mientras que en la superficie del cuerpo se generan lesiones como la laceración de los tejidos y hemorragias que ocasionan posteriores infecciones secundarias. Los principales síntomas son nado errático, saltos frecuentes sobre el agua, aumento de la frecuencia respiratoria, branquias pálidas y el exceso de mucus. Thoney *et al.*⁴⁰ afirma que los peces altamente infestados también presentan síntomas como el cambio de coloración en su cuerpo, disminución en el consumo del alimento y se tallan contra cualquier superficie llegando a producirse lesiones como ulceras, que facilitan la aparición de infecciones secundarias ya sean bacterianas o virales, que en conjunto causan la muerte del hospedero.

Especímenes salvajes de *M. liza* son parasitados por varias especies de ectoparásitos metazooarios principalmente copépoda y monogenoide, Meira-filho, *et al.*⁴¹, menciona que los copépodos parásitos son responsables por varias enfermedades, tornándose importantes en la producción de peces de cultivo, grandes pérdidas en la producción de Tainhas cultivadas en lagos de agua salobre están relacionadas a infestaciones de *Ergasilus lizae*. Los monogenoides son un importante grupo de parásitos que infestan principalmente las branquias y la piel de los peces, tales parásitos son frecuentemente asociados a lesiones histológicas de branquias de peces y alta mortalidad en peces de cultivo.

Pahor-filho, *et al.*⁴², demostraron la eficiencia del formaldehído en el control de los monogenoides *Ligophorus uruguayense* y *Solostamenides cf. Platyorhynchus* en juveniles de *M. liza*. No obstante, el uso de nuevos productos químicos puede ser ventajoso, pues algunos parásitos pueden ser tolerantes a los productos químicos usados con frecuencia. Además el uso de formaldehido puede resultar en daños relativamente graves en las branquias de juveniles de Tainha.

histopathological analyses. 2016a. En: Aquaculture 461, p.32–39.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.04.007>

³⁹ KHON, Anna; JUSTO, Marcia y COHEN, Simone. Monogenoidea. En: EIRAS, J.C., VELLOSO, A. L. & PEREIRA, J. Parasitos de peixes marinhos de América do Sul. Furg: Rio Grande. 2016. p. 51.

⁴⁰ THONEY, Dennis y HARGIS, William. Monogenea (*platyhelminthes*) as hazards for fish in confinement. 1991. En: Annu. Rev. Fish Dis. 1:133–153. [https://doi.org/10.1016/0959-8030\(91\)90027-H](https://doi.org/10.1016/0959-8030(91)90027-H)

⁴¹ MEIRA-FILHO, Mario, *et al.* Toxicidade e avaliação parasiticida in vivo e in vitro do ácido acético em ectoparasitos metazoários em juvenis de *Mugil liza*. Tese, Universidade Federal de Rio Grande, Rio Grande, Brasil. 2017. p. 3.

⁴² PAHOR-FILHO, Eduardo, *et al.* Parasitology of juvenile mullet (*Mugil liza*) and effect of formaldehyde on parasites and hosts. Aquaculture, 354–355. 2012, p. 3

3.7 GENERALIDADES DE LA ESPECIE *Mugil liza* (HUESPED)

De acuerdo con Roberta “La especie *Mugil liza* fue descrita por primera vez por Valenciennes en 1836. Esta especie tiene cuerpo fusiforme alargado con estrías longitudinales oscuras alternando con estrías claras y la ausencia casi total de escamas en las aletas anal y segunda dorsal”⁴³, (Figura 4).

Figura 4. Reproductor de tainha (*Mugil liza*)



Fuente: Laboratorio de Piscicultura Marina LAPMAR (2020)

Baldisserotto *et al.*, afirma que *M. liza* se distribuye desde el sur de Florida (EE. UU.) hasta el sur de Brasil. Su ciclo de vida está vinculado a las regiones estuarinas en áreas tropicales, subtropicales y templadas, forman bancos y tienen hábitos migratorios son peces catádromos, es decir, migran desde el río o el estuario al mar en el momento de la reproducción, también son considerados eurihalinos puesto a que soportan grandes variaciones en la salinidad y euritérmicos porque soportan variaciones en la temperatura (3 a 36 °C)⁴⁴.

De acuerdo con Cerqueira “en ambiente natural, la fase juvenil vive en estuarios, alimentándose de plancton; cuando llegan a su fase adulta son oceánicos, se alimentan principalmente de bentos, algas y detritos vegetales”⁴⁵. Oliveira menciona que “Se consideran peces detritívoros puesto a que se alimentan de material orgánico derivado de cuerpos de organismos muertos o fragmentos de estos y excreciones dejadas por organismos vivos”⁴⁶.

⁴³ Ibid., p. 47

⁴⁴ BALDISSEROTTO, Bernardo y GOMES, Levy de Carvalho. Espécies nativas para piscicultura no Brasil. 2013. UFMS: Santa Maria. p. 200.

⁴⁵ CERQUEIRA, Vinicius. Cultivo de peixes marinhos. En: Carlos Rogério Poli; Annia Teclia Poli; Edemar Andreatta; Elpídio Beltrame. (Org.). Aqüicultura: Experiências Brasileiras. Florianópolis: Multitarefa Editora Ltda., 2004, v. 1, p. 369-406.

⁴⁶ OLIVEIRA, Sandra. Estrutura de comunidades ícticas do sistema lagunar de Piratininga-Itaipu, Niterói, RJ. Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1997. p. 288.

Oliveira *et al.*⁴⁷ expone que pueden alcanzar aproximadamente 1m de largo y 6 kg de peso, siendo comunes los especímenes de 50 cm.

3.7.1 Clasificación e identificación taxonómica.

Clase: Osteichthyes

Subclase: Actinopterygii

Subdivisión: Teleostei

Orden: Perciformes

Familia: Mugilidae

Género: *Mugil*

Espécie: *liza*

Nombre común: Tainha, cambiro, chaveta, salmonete, Lisa⁴⁸

3.8 SISTEMA INMUNOLÓGICO EN PECES

“El sistema inmune en peces se puede dividir en dos, según el tipo de respuesta: en sistema inmune innato, que consiste en los mecanismos que posee el organismo para eliminar o bloquear de manera inespecífica la entrada de patógenos y el sistema inmune adaptativo que es inducible y requiere la presencia de células que reaccionan de manera específica con el antígeno inductor”⁴⁹.

“El sistema inmune innato en peces provee la primera línea de defensa. Las escamas, piel y las membranas mucosas que recubren las branquias y el tracto gastrointestinal constituyen esta primera línea de defensa contra patógenos en peces”⁵⁰. Según Alvarez-Pellitero⁵¹ la producción de moco que recubre la piel y escamas es el mecanismo de defensa más importante, ya que contiene lisozimas, proteasas, factores del complemento, proteína reactiva C, lectinas, interferones, eicosanoides, transferrina, péptidos y diversos carbohidratos que le confieren propiedades antimicrobianas y antiparasitarias.

“El sistema inmune adaptativo protege al organismo contra infecciones recurrentes a través de la producción de células de memoria y receptores específicos como las células T e inmunoglobulinas que permiten una respuesta rápida y eficiente para la

⁴⁷ OLIVEIRA, Idili da Rocha y SOARES, Lucy Satiko. Alimentação da tainha *Mugil platanus*, Gunther 1880 (*Pisces Mugilidae*) da região estuarino-lagunar de Cananéia, 1996. São Paulo, Brasil. Boletim do Instituto de Pesca, 23, 95-104.

⁴⁸ ROBERTA, Lyrio Santos. Avaliação da contaminação de óleo no ambiente estuarino da Baía de Guanabara (RJ) pela determinação fluorimétrica de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) na bílis de peixes *Mugil liza*. 2006. Rio de Janeiro. Puc rio certificação digital 0410380.

⁴⁹ TRASVIÑA. Op. Cit., p 12.

⁵⁰ MAGNADÓTTIR, Bergliot. Innate immunity of fish (overview). 2006. Fish Shellfish Immunol. 20:137–51. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2004.09.006>

⁵¹ ALVAREZ-PELLITERO, Pilar. Fish immunity and parasite infections: from innate immunity to immunoprophylactic prospects. 2008. Vet. Immunol. Immunopathol. 126:171–198.

eliminación de patógenos específicos"⁵². La respuesta inmune en peces depende tanto de la respuesta celular como de la humoral.

3.9 ESTRÉS EN PECES

Barandica y Tort⁵³, afirman que el estrés se puede definir como cualquier situación que somete al organismo a unas condiciones fuera del rango fisiológico estable o normal como enfermedades, cambios extremos en las condiciones medio ambientales, entre otras, siendo una situación en la cual el equilibrio homeostático es modificado como consecuencia de la acción de un estímulo intrínseco o extrínseco al animal, denominado agente estresante. El animal responde mediante una serie de reacciones de comportamiento y/o fisiológicas con objeto de compensar y adaptarse a la nueva situación. El conjunto de cambios que genera la situación de estrés como respuesta a dicha situación se conoce genéricamente como síndrome de adaptación general (SAG), a continuación, se presenta las fases de la activación del sistema de respuesta.

La primera reacción del animal, es intentar huir o enfrentar el peligro, lo cual activa un amplio rango de funciones fisiológicas como la activación motora, ritmo cardíaco, flujo sanguíneo hacia los órganos más activos cerebro, corazón y músculos esqueléticos. El flujo sanguíneo hacia las branquias y estímulo de la captación de oxígeno, también se aumenta la tasa metabólica basal e intermedia. Fase de resistencia, continúa el estrés, el animal trata de adaptarse a la nueva situación, a los niveles de las catecolaminas adrenalina y noradrenalina vuelven a valores normales y se libera el cortisol. Fase de agotamiento, se mantiene la situación de estrés y los niveles de cortisol durante un período específico; la activación del metabolismo interfiere con los demás procesos fisiológicos y pueden llegar a ser letales para el animal⁵⁴.

Flores⁵⁵ sostiene que el cortisol es el principal corticosteroide de los teleósteos y sus concentraciones se elevan marcadamente en situaciones de estrés. El cortisol es sintetizado en células interrenales, situadas en la porción cefálica del riñón, el riñón de los peces es un órgano mixto, compuesto por elementos hematopoyéticos, reticuloendoteliales, endócrinos y excretores, que participan en la osmorregulación.

De acuerdo con Ocampo y Camberos⁵⁶, el síndrome general de adaptación está determinado por la respuesta de los organismos, al medio que los rodea, el estrés

⁵² TRASVIÑA. Op. Cit., p 12.

⁵³ BARANDICA, Lilian y TORT, Luis. Neuroendocrinología e inmunología de la respuesta al estrés en peces, Revista Académica. Colombiana de Ciencias, ISSN 0370-3908, 2008, p.267, 269.

⁵⁴ PANTOJA, Ángela. Concentración letal 50 (CL_{50}) del sulfonato de alquilbenceno de cadena lineal (LAS) en larvas de (*Rhamdia quelen*). Pasto, Colombia. Tesis de grado para optar al título de ingeniera acuícola. Universidad de Nariño. 2015. P. 30 y 31

⁵⁵ FLORES, Carolina. Respuestas neuroendócrinas al estrés en peces teleósteos. Revista de ictiología, ISSN 0327-6090 2002 p.61.

⁵⁶ OCAMPO, Ana y CAMBEROS, Luis. Diagnóstico de estrés en peces. Universidad Nacional Autónoma de México. Revista Redalyc ISSN: 0301-5092. México D.F. 1999. p. 33.

agudo o letal, ocurre rápidamente como respuesta a perturbaciones a corto plazo, tales como derrames de sustancias químicas o cambios radicales en los factores ambientales, como en el oxígeno disuelto; los efectos incluyen solo parte del ciclo vital del organismo.

El estrés crónico o subletal es más común porque los efectos adversos se manifiestan primero en el suborganismo y resulta de exposiciones continuas o periódicas a bajos niveles de estrés, los efectos que se producen a largo plazo incluyen el ciclo de vida completo del organismo, el estrés crónico puede subdividirse en componentes directos e indirectos; los efectos directos son metabólicos y afectan los componentes funcionales de la células, tales como las enzimas y las membranas o modifican funciones como la respiración, circulación, respuesta inmune, osmorregulación y regulación hormonal, mientras que los efectos indirectos pueden considerarse como modificaciones de actividades de conducta como alimentación, reproducción y capacidad de competencia⁵⁷.

De la misma manera Rodriguez⁵⁸, explica que el estrés es una respuesta metabólica de los organismos vivos ante un estímulo que puede ser físico o químico tal como abatimiento de oxígeno, cambios de pH, excesiva cantidad de materia orgánica, nitritos, que traen como consecuencia alteraciones en la fisiología de los peces, como el aumento en el ritmo cardíaco y frecuencia respiratoria, absorción deficiente de nutrientes, disminución en la formación de anticuerpos y en la regeneración de tejidos.

De acuerdo con Ocampo y Camberos⁵⁹, los diferentes tipos de estrés, observados en los peces son; el estrés social debido a las altas densidades de población; estrés físico, causado por cambios en la temperatura, oxígeno y pH del agua; estrés químico, debido a contaminantes endógenos y exógenos; estrés traumático causado por el canibalismo o por elementos físicos peligrosos dentro del hábitat y estrés nutricional, por deficiencias o excesos de algún nutriente en la dieta.

Ochoa y González afirman que el estrés oxidativo inducido por diversas clases de contaminantes, como mecanismo de toxicidad, ha sido un foco de interés en el campo de la toxicología acuática y ambiental durante la última década, numerosas evidencias indican que muchos de estos agentes contaminantes al llegar a los cuerpos de agua pueden desencadenar el proceso de estrés oxidativo en organismos que allí habitan y son responsables de efectos en células y tejidos. El estrés oxidativo se genera cuando

⁵⁷ PANTOJA, Ángela. Op. Cit., p. 30

⁵⁸ RODRÍGUEZ, Miranda *et al.* En: Boletín del Programa Nacional de Sanidad Acuícola y la Red de Diagnóstico. Universidad Autónoma Metropolitana, Xochimilco. Editorial CONAPESCA. 2001 p. 14.

⁵⁹ OCAMPO, Ana y CAMBEROS, Luis. Op. Cit., p. 337

existe una sobrecarga en la formación de radicales libres, la cual no es debidamente compensada por los mecanismos de defensa antioxidante que posee el organismo⁶⁰.

3.10 MÉTODOS ANTIPARASITARIOS

De acuerdo con Prieto⁶¹ entre las formas de aplicación para los organismos acuáticos cultivados se encuentran tres métodos, su adición al agua, la incorporación con el alimento y la aplicación directa sobre el pez.

3.10.1 Adicionado en el agua. Pueden ser aplicados de diversas formas dependiendo de la naturaleza, estructura y tamaño del estanque, y el patógeno. De acuerdo con Prieto⁶² se dividen en:

- **Adición por flujo.** Se aplica cuando los animales requieren de cambio continuo de agua, y en este caso se adiciona la sustancia en cantidades predeterminadas de forma continua para asegurar el mantenimiento de la concentración requerida por el tiempo establecido para completar el proceso.
- **Adición por enriquecimiento.** Consiste en la aplicación de pequeños volúmenes del medicamento, el que se adiciona de forma concentrada al agua a intervalos y la corriente se encarga de distribuirlo a lo largo del estanque.
- **Adición por aspersión.** El producto se aplica sobre la superficie de forma diseminada.
- **Adición por bolsas.** Se colocan bolsas perforadas o permeables en el acuario a tratar, dentro de las cuales se encuentra el producto concentrado para su disolución progresiva en el medio.
- **Adición por baños.** Estos se realizan en volúmenes pequeños de agua, encontrándose los de inmersión que se aplican cuando es preciso utilizar altas concentraciones de fármaco y se realizan en unos pocos segundos o minutos, los de corta duración que difieren del anterior sólo en su concentración y tiempo de aplicación que puede ser de unas pocas horas y los de larga duración cuya ventaja principal es la de tratar numerosos animales cada vez y permite eliminar todos los estadios infectivos del patógeno presentes en el pez, hospederos intermediarios y en el agua, ya que se realiza directamente en el estanque donde viven los peces y tienen una duración de al menos 24 horas.

⁶⁰ OCHOA, Daniel y GONZÁLEZ, Jaime. En: Estrés oxidativo en peces inducido por contaminantes ambientales. Revista de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. p 115, 117.

⁶¹ PRIETO, Adela. La prevención y el control de enfermedades en el cultivo e peces. España. 2004. p. 10. En: Libro Blanco de la Ictiopatología. Revista Electrónica de Veterinaria REDVET. ISSN 1695-7504, https://www.adiveter.com/ftp_public/articulo899.pdf.

⁶² Ibid., p. 10.

3.10.2 Adicionado en el alimento. Según Prieto, “se emplea para el control de endoparásitos o infecciones sistémicas y se basan en la adición de la sustancia terapéutica al pienso para que sea absorbido en el intestino y por esta vía a la sangre desde donde se transporta hacia órganos y tejidos para eliminar al patógeno, o en el caso de los parásitos intestinales los inmovilice o exterminie previo a su expulsión por el huésped”⁶³.

3.10.3 Aplicado directamente al pez. “Puede lograrse mediante inyección, administración vía oral o introducción vía anal y mediante su aplicación tópica”⁶⁴.

3.11 CONTROL DE ENFERMEDADES PARASITARIAS EN CONDICIONES DE CULTIVO

Ogawa⁶⁵ menciona que el control efectivo de las enfermedades parasitarias en sistemas acuícolas es complejo, se requiere de un diagnóstico oportuno, medidas de prevención y métodos de control efectivos. Fajer-Ávila *et al.*,⁶⁶ han evaluado otras estrategias como el baño con agua dulce; Yamamoto *et al.*,⁶⁷ el uso de sombras sobre las jaulas de cultivo; Ohashi *et al.*,⁶⁸ la inmersión en buffer de calcio y magnesio; y Sharp *et al.*,⁶⁹ la inmersión en 400 ppm de formalina.

De acuerdo con Rico *et al.*⁷⁰ En la producción acuícola es común el uso de antibióticos para evitar pérdidas económicas o la propagación de enfermedades. Los antibióticos son administrados vía oral en el alimento, en inmersión o inyecciones como media profiláctica. Según Trasviña⁷¹ El desarrollo de vacunas ha demostrado ser muy efectivo para el control de vibriosis y furunculosis, no obstante, para la mayoría de la de las enfermedades la producción de vacunas efectivas es todavía muy difícil.

⁶³ Ibid., p. 11.

⁶⁴ Ibid., p. 12.

⁶⁵ OGAWA, K. Diseases of cultured marine fishes caused by *Platyhelminthes* (Monogenea, Digenea, Cestoda). 2015. En: *Parasitology* 142:178–195. <https://doi.org/10.1017/S0031182014000808>

⁶⁶ FAJER-ÁVILA, Emma, *et al.* Effectiveness of freshwater treatment against *Lepeophtheirus simplex* (Copepoda: Caligidae) and *Neobenedenia sp.* (Monogenea: Capsalidae), skin parasites of bullseye puffer fish, *Sphoeroides annulatus* reared in tanks. 2008. En: *Aquaculture* 284:277–280. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.07.027>

⁶⁷ YAMAMOTO, Shinji, *et al.* Efficacy of oral praziquantel treatment against the skin fluke infection of cultured chub mackerel, *Scomber japonicus*. 2011. p. 53–57. En: *Aquaculture* 319: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.06.045>

⁶⁸ OHASHI, H., *et al.* Antiparasitic effect of calcium and magnesium ion-free buffer treatments against a common monogenean *Neobenedenia girellae*. 2007. *Parasitology* 134:229–236. <https://doi.org/10.1017/S0031182006001430>

⁶⁹ SHARP, Natasha, *et al.* Efficacy of Aqui-S, formalin and praziquantel against the monogeneans, *Benedenia seriolae* and *Zeuxapta seriolae*, infecting yellowtail kingfish *Seriola lalandi* in New Zealand. 2004. En: *Aquaculture* 236:67–83. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.02.005>

⁷⁰ Rico *et al.*, Op. Cit., p 6.

⁷¹ TRASVIÑA. Op. Cit., p 7.

“Para combatir enfermedades parásitarias los métodos más utilizados son inmersiones en agua dulce y/o químicos (formol, ácido acético, sulfato de cobre, etc), así como, el uso de antiparásitarios como Praziquantel, sin embargo, su efectividad es temporal y no erradica la infección”⁷².

3.12 PERÓXIDO DE HIDRÓGENO Y SUS USOS EN ACUICULTURA

De acuerdo con Valles *et al.*, “el peróxido de hidrógeno es un metabolito natural producido por el metabolismo oxidativo de las células, que es fácilmente degradado en agua y oxígeno mediante reacción química y enzimática en presencia de materia orgánica (algas, zooplancton y bacterias heterotróficas), luz y turbulencia”⁷³.

Giménez *et al.*,⁷⁴ menciona que el peróxido de hidrógeno ha demostrado ser muy eficaz en la desinfección de presas vivas y peces. Según Valles *et al.*, “está considerado como un producto de bajo riesgo por la “US Food and Drug Administration” y se utiliza comúnmente para tratar distintos tipos de patologías como las infecciones micóticas externas en peces de agua dulce y sus huevos, la enfermedad bacteriana de las branquias en salmonidos y la enfermedad “columnaris” en peces de agua dulce y en el bagre de canal”⁷⁵.

Valles *et al.*, en su investigación titulada uso de Ox-Aquaculture© para la desinfección de las presas vivas y las larvas de corvina, *Argyrosomus regius* (Asso, 1801), afirma que: el uso del peróxido de hidrógeno como un desinfectante de larvas de corvina en las primeras etapas de cultivo contribuye a una mejora en la tasa de supervivencia sin afectar al crecimiento de estas. Además, la desinfección en los tanques de cultivo reduce el número de bacterias heterotróficas totales y *Vibronaceae* con el fin de prevenir y/o reducir las enfermedades de las larvas causadas por bacterias oportunistas. Por lo tanto, el peróxido de hidrógeno puede considerarse un buen desinfectante para la acuicultura⁷⁶.

De acuerdo con Toranzo *et al.*, “el peróxido de hidrógeno es un agente oxidante fuerte utilizado en forma de baño para eliminar eficazmente a las diferentes especies de monogénias”⁷⁷. “Diversas concentraciones y tiempos fueron testados en el manejo y control de monogénias en acuicultura, puesto a que este producto químico

⁷² Ibid. p.7.

⁷³ VALLES. Op. Cit., p. 93.

⁷⁴ GIMÉNEZ, Gemma, *et al.* Effects of a peroxide-based commercial on bacterial load of larval rearing water and on larval survival of two species of Sparidae under intensive culture: preliminary study. En: Aquaculture Research 40, 504-508. 2009. p. 93.

⁷⁵ VALLES. Op. Cit., p. 93.

⁷⁶ Ibid. p.101.

⁷⁷ TORANZO, Alicia *et al.* Uso de peróxido de hidrogênio contra o patógeno do peixe *Tenacibaculum maritimum* e seu efeito no pregado infectado (*Scophthalmus maximus*). 2006. Aquaculture. V. 257. Em: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.02.043>, p. 105.

no tiene problemas de seguridad alimentaria y ha sido aprobado su uso en varios países”⁷⁸.

Migaud, et al.⁷⁹, en su investigación sobre la respuesta a la exposición al peróxido de hidrógeno en el Salmon del Atlántico (*Salmo salar*), afirma que en las prácticas de acuicultura actuales se recomienda una concentración de peróxido para el control de estos parásitos de 1500 ppm, aunque también se usan concentraciones superiores a 2000 ppm. Por su parte Hirazawa et al., reporta que “el baño de inmersión con 75 ppm de peróxido de hidrógeno ha demostrado ser efectivo para el control de ectoparásitos como *S. dumerili*, *S. quinqueradiata* y *S. lalandi*”⁸⁰. Varios factores hacen que este producto sea adecuado para su aplicación en acuicultura. Tiene una naturaleza altamente reactiva que lo hace ideal para combatir parásitos externos.

Según Migaud, et al., el peróxido de hidrógeno es un fuerte agente oxidante que causa parálisis mecánica, peroxidación de lípidos y membranas celulares , inactivación de enzimas e inhibición de la replicación del ADN . En los piojos de mar, este compuesto parece inducir una parálisis mecánica cuando se forman burbujas en el intestino y la hemolinfa , lo que hace que el parásito se libere del huésped y flote hacia la superficie, además en el medio ambiente acuático el peróxido se descompone rápidamente (1-10 días) en agua y oxígeno, por lo tanto no deja subproductos tóxicos⁸¹.

⁷⁸ Ibid., p. 105.

⁷⁹ MIGAUD, Herve, et al. Comparative ploidy response to experimental hydrogen peroxide exposure in Atlantic salmon (*Salmo salar*). Institute of Aquaculture, University of Stirling, Stirling, FK9 4LA, UK. 2018. p. 3.

⁸⁰ HIRAZAWA, Noritaka, et al. Investigation of the toxicological and histopathological effects of hydrogen peroxide bath treatments at different concentrations on *Seriola* species and the effectiveness of these treatments on *Neobenedenia girellae* (Monogenea) infestations. 2017. En: *Aquaculture* 479:217–224. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.05.019>

⁸¹ MIGAUD, Herve. Op. cit., p. 3.

4. METODOLOGÍA

4.1 ÁREA DE ESTUDIO

Este experimento se llevó a cabo en el Laboratorio de Piscicultura Marina (LAPMAR), del Programa de Ingeniería de Acuicultura, de la Universidad Federal de Santa Catarina (UFSC), ubicado en Florianópolis, estado de Santa Catarina, Brasil, (Figura 5).

Figura 5. Vista satelital del Laboratorio de Piscicultura Marina (LAPMAR)



Fuente: <https://www.google.com/earth>

El estado federal de Santa Catarina, Brasil, se encuentra ubicado a una latitud 27° 43' 44,8" S y longitud 48° 30' 32,2" W, altitud 0,00 msnm, temperatura ambiental mínima 17 °C y máxima 30 °C, fotoperíodo mínimo de 10 y máximo 14 horas luz para las épocas de invierno y verano, humedad relativa del 80%. Posee una extensión marítima de 531 km y una influencia hidrográfica integrada por la vertiente del interior con los ríos Paraná y Uruguay y por el sistema de la vertiente del Atlántico⁸².

4.2 MATERIALES Y EQUIPOS

4.2.1 Equipos.

- Estereoscopio y software Leica
- Multiparámetros YSI 550
- pH metro YSI pH10A

⁸² PANTOJA, Ángela. Op. Cit., p. 45.

- Refractómetro portátil
- Centrifuga micro hematocrito SPIN 1000
- Espectrofotómetro Biospectro SP-22
- Monitor de glucose Accu-check active

4.2.2 Materiales.

- Placas de cultivo de tejido de 6 pocillos
- Cámara de Neubauer
- Baldes plásticos de 20 L
- Beaker de vidrio de 2 L
- Beaker plásticos
- Pipetas plásticas
- Probeta de vidrio
- Manguera de aireación
- Piedras difusoras
- Cajas Petri
- Tubos capilares de microhematócrito con Heparina – (cod. 120)
- Recipientes de vidrio forrados en aluminio
- Micropipetas LAB MATE
- Punteras de 10 a 100 μ L
- Microtubo eppendorf 2mL
- Frascos plásticos 60mL
- Tanques azules 500L
- Guantes de nitrilo
- Papel filtro
- Filtros de 60 μ
- Láminas Portaobjetos
- Jeringa 3mL con aguja

4.2.3 Insumos.

- Peróxido de hidrógeno 35%
- Balanceado comercial (Nutripiscis Starter 45%)
- Benzocaína 10%
- Alcohol 70%
- Agua destilada
- EDTA 10%

4.3 MATERIAL BIOLÓGICO

En el desarrollo de esta investigación se utilizó 108 juveniles de Tainha (*Mugil liza*), con tamaño promedio $12\text{ cm} \pm 2$ para el test *in vivo* y 180 parásitos de *Neobenedenia* sp., para el test *in vitro*, los cuales serán extraídos de reproductores de tainha.

4.4 PLAN DE MANEJO

Los siguientes procedimientos fueron previamente aprobados y autorizados por el comité de ética y usos de animales CEUA, código 1139170919.

4.4.1 Limpieza y desinfección de las instalaciones. Inicialmente se realizó la limpieza y desinfección de cada uno de los recipientes, placas y demás materiales a implementar, mediante lavando con suficiente agua dulce.

4.4.2 Elaboración de las concentraciones (H_2O_2). Las concentraciones se prepararon con peróxido de hidrógeno al 35%, con la adición de agua de mar, proveniente del tanque de confinamiento en el que se mantenían los peces, la cual fue previamente tamizada mediante papel filtro.

El cálculo de cada una de las soluciones se realizó mediante la implementación de la ecuación (1) de dilución de concentraciones específicas en los casos de test *in vitro* e *in vivo*.

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2 \quad (1)$$

Donde:

C_1 = Concentración deseada (mg/L)

V_1 = Volumen de peróxido de hidrógeno a ser utilizado (mg/L)

C_2 = Concentración del producto (%, mg/L)

V_2 = Volumen a preparar (ml, L)

4.4.3 Criterios de selección de reproductores de *Mugil liza* test *in vitro*. La colecta de parásitos se realizó a partir de 4 reproductores de tainha (*Mugil liza*) mantenidos en cautiverio y previamente separados e identificados mediante canulación. La longitud promedio por individuo fue de 47 ± 2 cm y fueron identificados como infestados con *Neobenedenia* sp., mediante la manifestación de signos como la modificación en los patrones de coloración de la piel, manchas blancas (parásitos), nado errático, opacidad de los ojos y hemorragias en diversas partes del cuerpo de los ejemplares (Figura 6).

Figura 6. Infestación parasitaria con *Neobenedenia* sp., en reproductores de *M. liza*.



Fuente: Laboratorio de Piscicultura Marina LAPMAR (2020)

4.4.4 Protocolo test *in vitro*. Inicialmente, los reproductores fueron eutanasiadoss mediante incisión cerebral para luego proceder con el frotis y/o raspado de todo el cuerpo del pez con el fin de retirar la mayor cantidad de parásitos *Neobenedenia* sp., los cuales fueron mantenidos en varias cajas petri con agua de mar a 35%. Por medio de la utilización de pinzas de disección los parásitos se seleccionaron y distribuyeron uno a uno en cada una de las unidades experimentales, conformadas por placas de cultivo de tejido de 6 pocillos, fondo plano y tapa de baja evaporación (Figura 7). El volumen utilizado del producto por cada replica fue de aproximadamente 1,5 mL, cantidad que fue suministrada mediante el uso de pipetas plásticas y distribuida de tal manera que el parásito quedara completamente sumergido en el producto, este proceso se garantizó ya que el parásito se fija por completo a la placa y permanece siempre en el fondo de la misma.

Las concentraciones de evaluación se realizaron por triplicado y cada replica contó con 10 parásitos de *Neobenedenia* sp., para un total de 30 individuos por tratamiento, cantidad establecida teniendo en cuenta el manejo, facilidad y agilidad a la hora de extraer los parásitos, evitando daños, morbilidad y mortalidad del parásito, por influencia de factores externos y no atribuibles al efecto de la molécula de interés, en la densidad por pocillo o tiempo de inicio del test.

Figura 7. Unidades experimentales test *in vitro*.



Fuente: Laboratorio de Piscicultura Marina LAPMAR (2020)

Posteriormente se evaluó la eficiencia del peróxido de hidrógeno sobre los parásitos, a través de baños de inmersión continua a diferentes concentraciones de la molécula (150, 200, 250, 300 y 350 mg/L) y un control (el cual pasó por el mismo proceso que el resto de los tratamientos con la diferencia de que no se utilizó producto sino agua de mar proveniente de los tanques de cultivo), de acuerdo al desarrollo metodológico implementado por Meira-Filho *et al*⁸³, Pahor-Filho *et al*⁸⁴, en temperatura ambiente promedio de ($27 \pm 3^{\circ}\text{C}$) y por un periodo de tiempo que fue determinado por la muerte de los parásitos (100%), contrastado con el tratamiento control. Las observaciones se realizaron cada 5 minutos con el fin de determinar el efecto que tienen el producto en el parásito, monitorear su comportamiento (etología), en su condición de suelto o fijo a la placa, además de la coloración transparente u opaca y definir si por lo menos una de las concentraciones genera la muerte de los ectoparásitos (momento en que los individuos no responden al estímulo táctil) para luego proceder con el test *in vivo*.

4.4.5 Pre test de resistencia de *Mugil liza* al producto. Con el fin de determinar la influencia del producto en el comportamiento y posible muerte de los animales, se realizó un pre test que permitió determinar el tiempo de resistencia hacia el producto, para esto se emplearon 12 juveniles de tainha distribuidos en dos baldes de 20 L, los cuales se sometieron a la mayor concentración (350 mg/L) de peróxido de hidrógeno, según el protocolo descrito por Campos *et al*⁸⁵.

4.4.6 Mantenimiento de juveniles previo al test *in vivo*. Los juveniles de tainha fueron proporcionados por el Laboratorio de Piscicultura Marina (LAPMAR), con una

⁸³ MEIRA-FILHO, Mario. Op. cit., p. 7.

⁸⁴ PAHOR-FILHO, Eduardo. Op. cit., p. 1.

⁸⁵ CAMPOS *et al.* Permanganato de potássio como agente terapêutico no controle de *Epistylis* sp., em cachara *Pseudoplatystoma reticulatum* e seus efeitos na hematologia. Inst. Pesca, São Paulo. 2014. p. 159.

longitud total aproximada por individuo de 12 ± 2 cm y peso inicial aproximado de $35,25 \pm 6,09$ g; los cuales se mantenían al aire libre en tanques circulares de 8000 L, flujo continuo y renovación de agua 350% por día (19 a 20 L/min), aireación constante aproximada de $5,9 \pm 2$ mg/L y salinidad de 35‰; la temperatura promedio de $27 \pm 3^{\circ}\text{C}$ y fotoperiodo natural (12 ± 2) que pueden variar de acuerdo con las condiciones ambientales. El agua fue suministrada continuamente por bombeo directo desde la playa de Mozambique, Florianópolis, Brasil ($27^{\circ} 34' 02''\text{ S}$, $48^{\circ} 25' 44''\text{ W}$).

4.4.7 Criterios de selección de juveniles *Mugil liza* test *in vivo*. Para este estudio se realizó la selección de los juveniles a partir de datos previos de longitud total proporcionados por el laboratorio, garantizando que los individuos de acuerdo con la talla cumplan con la distribución normal y se encuentren dentro del estándar propuesto 12 ± 2 cm. Además los juveniles seleccionados fueron definidos como parasitados por infestación natural mediante la observación de la presencia de manchas blancas en la piel (parásitos) (Figura 8).

Figura 8. Infestación parasitaria con *Neobenedenia* sp., en juveniles de *M. liza*.



Fuente: Laboratorio de Piscicultura Marina LAPMAR (2020)

4.4.8 Protocolo test *in vivo*. En la inmersión para el desarrollo del test *in vivo*, los juveniles seleccionados y definidos como parasitados por infestación natural fueron dispuestos en 18 baldes circulares (20 L), con aireación constante suministrado por piedras porosas y temperatura de agua no controlada, sujeta a la temperatura ambiental aproximada de $27 \pm 3^{\circ}\text{C}$ (Figura 8). Se distribuyeron 6 animales por replica para un total de 18 animales por tratamiento, los cuales se sometieron a baños de inmersión en las diferentes concentraciones de peróxido de hidrógeno por un tiempo de 1 hora definido a partir de los resultados obtenidos en el test *in vitro* (tiempo de inmersión o exposición al producto determinado con el fin de compensar la posible resistencia del parásito y su comportamiento habitando al hospedero). Pasado el tiempo de inmersión, 3 animales por cada replica (9/tratamiento), se eutanasiaron para la estimación de las variables productivas determinadas por tratamiento para cada caso, muestras parasitológicas y

hematológicas empleadas en la determinación del efecto parasitario en la población de interés. (Figura 9).

Figura 9. Unidades experimentales *test in vivo*.



Fuente: Laboratorio de Piscicultura Marina LAPMAR (2020)

Los juveniles no sacrificados fueron distribuidos por tratamiento y mantenidos durante 30 días en un sistema de recirculación (RAS) en 6 tanques de 500 L, con abundante agua, aireación constante, y alimentación 2 veces al día a saciedad aparente con balanceado comercial Nutripiscis Starter® al 45% de proteína y tamaño 1,3 mm. Al término de este periodo, se realizó una segunda colecta de muestras de mucus para la determinación de la reinfestación parasitaria.

4.4.9 Carga parasitaria. La carga parasitaria inicial se determinó a partir de 6 peces por replica, con base a los indicadores cuantitativos del parasitismo (ICP) acorde a lo propuesto por Bush⁸⁶ y mencionado por Meza⁸⁷ en su trabajo sobre la carga parasitaria en híbridos de tilapia cultivada en agua de mar. Estos autores consideran la carga parasitaria a partir de la prevalencia (P), la intensidad media de infestación (IM) y la abundancia media (AM), puesto a que representan la cantidad de parásitos presentes en cada uno de los peces estudiados.

4.4.10 Protocolo parasitológico. Por unidad experimental, se seleccionaron aleatoriamente 3 juveniles de *Mugil liza*, para la obtención de los parásitos por medio del raspado del mucus de la superficie corporal de los peces. Pasado el tiempo de inmersión, el agua de los 6 peces de cada una de las unidades experimentales se filtró mediante malla de 60 μ con el fin de recolectar los parásitos que se desprenden del huésped en el momento del baño. Finalmente se almacenaron en frascos

⁸⁶BUSH, Albert et al. Parasitology Meets Ecology on Its Own Terms: Margolis et al. Revisited. The Journal of parasitology. Vol. 83. 1997. p. 578.

⁸⁷ MEZA, Fernando. Carga parasitaria e índices biológicos y hematológicos en híbridos de tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis mossambicus*) cultivada en agua de mar. Tesis de maestría. Ensenada, Baja California. Mexico. 2015. p. 17 - 19.

plásticos con alcohol al 70% para proceder a contabilizarlos en su totalidad y así poder definir cada una de las variables parasitológicas como la prevalencia de estos y la mortalidad para cada caso.

4.4.11 Protocolo de anestesia. Todos los peces utilizados en el experimento con peróxido de hidrógeno fueron inicialmente anestesiados con 250 mg/L de benzocaína hasta cesar los movimientos operculares o respiratorios, según lo recomendado por Strykowski y Schech⁸⁸. En seguida, se practicó eutanasia por incisión cerebral para la colecta de los parásitos.

4.4.12 Protocolo hematológico. Las variables hematológicas se usaron como indicativos de las condiciones fisiológicas de *Mugil liza*, para diagnosticar cuadros patológicos y situaciones de estrés. Por unidad experimental, se colectaron muestras sanguíneas provenientes de 3 peces, previamente anestesiados con benzocaína (10%). La sangre se colectó por punción de la vena caudal orientándose por la línea media de la región ventral, utilizando jeringas con anticoagulante (EDTA 10%), destinada a la determinación de hematocrito (%), hemoglobina (g/dL), conteo de eritrocitos (RBC), y glucosa (mg/dL), aplicando el protocolo descrito por Ranzani Paiva *et al*⁸⁹. Todas lecturas se realizaron por duplicada excepto la determinación de glucosa.

4.4.13 Protocolo determinación de hemoglobina. La determinación de la tasa de hemoglobina se realizó en base al protocolo descrito por Ranzani Paiva *et al*⁹⁰. La sangre se homogenizó bien para posteriormente pipetejar 10 µL y diluir en 2,5 mL de solución de Drabkin, luego se selló el tubo de ensayo con papel film, se homogenizó y se dejó reposar por aproximadamente 5 min. Como siguiente la muestra se centrifugó a 3500 rpm durante 5 min. Finalmente se realizó la lectura en espectrofotómetro en 540 nm usando un blanco, el resultado se expresa en g/dL.

4.4.14 Protocolo determinación de eritrocito. Procedimiento descrito por Ranzani Paiva *et al*⁹¹., el método más usado para contabilizar eritrocitos es el visual realizado con cámara de Neubauer, para este proceso la sangre es diluida en una proporción de 1:200 utilizando pipetas automáticas. Para proceder a la dilución se utilizaron 2 mL del líquido diluyente (solución de formol citrato). La sangre fue homogenizada delicadamente para luego proceder a pipetejar 10 µL, posteriormente la suspensión de la sangre más el diluyente fueron homogenizados de inmediato para evitar la fijación de las células en grumos.

⁸⁸ STRYKOWSKI, Jennifer y SCHECH, Joseph. Effectiveness of recommended euthanasia methods in larval zebrafish (*Danio rerio*). 2015. J Am Assoc Lab Anim Sci. 54(1):81-84.

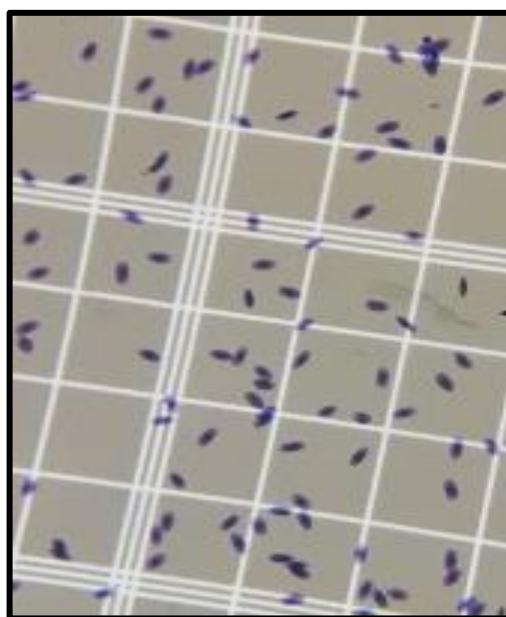
⁸⁹ RANZANI PAIVA, María José, *et al.* Métodos para análise hematológica em peixes. Maringá. Universidade estadual de Maringá. 2013. p. 13 – 117.

⁹⁰ Ibid., p. 50-52.

⁹¹ Ibid., p. 36-46.

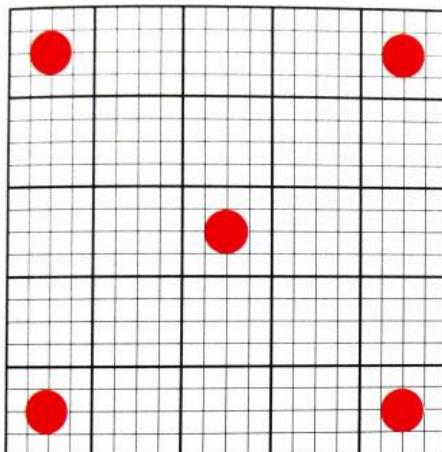
Para proceder a contabilizar los eritrocitos, inicialmente se homogenizo la muestra agitando los tubos delicadamente por algunos minutos, posterior a esto se fijó la lámina a la cámara realizando una leve presión sobre las plataformas de la cámara de Neubauer, luego se agregó la muestra con cuidado de tal manera que el líquido cubriera toda la cámara evitando excesos, falta de líquido o aparición de burbujas de aire que comprometan la contabilización (Figura 10). Después de agregada la muestra, esta se dejó reposar por unos segundos para que las células se sedimenten, posteriormente se procedió a visualizar la cámara en el microscopio y se observó la distribución de las células en el menor aumento, si estaban bien distribuidas se procedía a contar en 5 cuadros pequeños (Figuras 11 y 12), para este proceso el objetivo utilizado fue de 10X y de 40X.

Figura 10. Eritrocito en cámara de Neubauer, objetivo 40X.



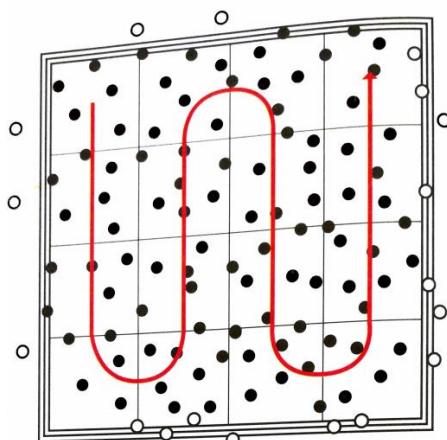
Fuente: Laboratorio de Piscicultura Marina LAPMAR (2020)

Figura 11. Esquema utilizado para la contabilización de eritrocitos en cámara de Neubauer.



Fuente: Ranzani (2013)

Figura 12. Esquema convencional para el conteo de eritrocitos en una de las cinco cuadriculas de la cámara de Neubauer.



Fuente: Ranzani (2013)

*Círculos oscuros son las células que pueden contabilizarse, círculos claros son aquellas que no se pueden contar y la línea roja indica la dirección del conteo.

El conteo se realizó en las dos cuadriculas de recuento para luego calcular la media, y la diferencia del número de células contadas de cada cuadricula no fue mayor al 25%, en caso contrario se realizaron nuevos conteos. El resultado se complementó con el cálculo correspondiente para así poder determinar el número final de eritrocitos y se expresó en número de células/ μL de sangre.

4.4.15 Protocolo determinación de hematocrito. El hematocrito es una proporción de glóbulos rojos en el total de la sangre del individuo, interpretado en porcentaje, para su determinación se utilizó el protocolo descrito por Ranzani Paiva *et al*⁹², para este procedimiento el microcapilar debe llenarse con por lo menos 2/3 de su volumen total y cubrirse en una de sus extremidades, para ello se puede usar plastilina. Después de sellar, el capilar se lleva a una microcentrífuga propia para la determinación de hematocrito a 12000 rpm durante 5 minutos, el tiempo de centrifugación se determinó previamente por comparación entre distintos tiempos hasta estabilizarse permitiendo la observación de las tres capas en el capilar.

“Para la lectura se alineo el menisco del plasma sanguíneo en la línea que representa el 100% en la tabla y el menisco inferior de los eritrocitos, en la línea que representa el 0% en la tabla, de esta forma, la altura de la columna de células rojas sobre la tabla correspondía al valor del porcentaje de hematocrito”⁹³ (Figura 13).

Figura 13. Gráfico de medición de los valores de hematocrito.



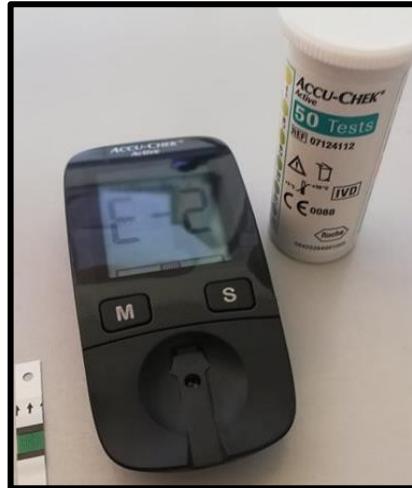
Fuente: Laboratorio de Piscicultura Marina LAPMAR (2020)

4.4.16 Protocolo determinación de glucosa. Este mecanismo se utilizó como indicador indirecto de estrés en peces y se determinó de manera inmediata mediante el uso del equipo de glucosa Accu-chek active (Figura 14). Para ello se tomó una gota de sangre directamente de la jeringa y se adicionó a la tira de Accu-chek active, las cuales se introdujeron en el equipo para llevar a cabo su lectura. El resultado se expresó en mg/dL y se comparó con los valores de referencia de glucosa en *M. liza* en cautiverio.

⁹² Ibid., p. 46-50.

⁹³ Ibid., p. 48-49.

Figura 14. Equipo de glucosa Accu-chek active.



Fuente: Laboratorio de Piscicultura Marina LAPMAR (2020)

4.4.17 Protocolo de descarte del peróxido de hidrógeno. El agua residual del experimento con peróxido de hidrógeno fue almacenado en bombonas de 50 L, y dirigidas hasta el departamento de coordinación de gestión ambiental y gestión de residuos/UFSC, a cargo de la empresa Momento Engenharia Ambiental S.A; la cual cumple las normas de la resolución CONAMA⁹⁴ N° 357, de 17 de marzo de 2005, ABNT NBR 10.004:2004 y la ABNT NBR 16725:2014.

4.4.18 Calidad del agua. La condición calidad fisicoquímica del agua, para el test *in vivo*, fue monitoreada mediante el registro de los parámetros oxígeno, temperatura y pH, respectivamente mediante las sondas multiparamétricas YSI pro 20 (Yellow Springs, Ohio, EE. UU.) y YSI pH (10A).

4.5 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizó un diseño experimental completamente aleatorio (DCA); en el que se evaluaron 6 tratamientos, cada uno con 3 réplicas, para un total de 18 unidades experimentales. El diseño de los tratamientos se formuló de la siguiente manera:

Diseño experimental peróxido de hidrógeno para test *in vitro* con *Neobenedenia* sp., y test *in vivo* en *Mugil liza*.

T0 = inmersión en 0 mg/L de Peróxido de hidrógeno (control)

T1 = inmersión en 150 mg/L de Peróxido de hidrógeno

T2 = inmersión en 200 mg/L de Peróxido de hidrógeno

T3 = inmersión en 250 mg/L de Peróxido de hidrógeno

T4 = inmersión en 300 mg/L de Peróxido de hidrógeno

⁹⁴ BRASIL. CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE – CONAMA.

T5 = inmersión en 350 mg/L de Peróxido de hidrógeno

El diseño experimental fue representado por el siguiente modelo matemático:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + \epsilon_{j(i)}$$

Donde:

Y_{ijk} = Variable respuesta

μ = Media poblacional

T_i = Efecto del i-esimo tratamiento

$\epsilon_{j(i)}$ = Error experimental derivado de la j-esima unidad experimental que recibe el i-esimo tratamiento

4.6 FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS

4.6.1 Hipótesis nula (H_0). No existen diferencias significativas entre las medias de los tratamientos, es decir que la utilización de las diferentes concentraciones de peróxido de hidrógeno no genera un efecto antiparasitario en los juveniles de *M. liza*.

$$H_0: \mu_{t0} = \mu_{t1} = \mu_{t2} = \mu_{t3} = \mu_{t4} = \mu_{t5}$$

4.6.2 Hipótesis alterna (H_1). Al menos la media de uno de los tratamientos fue diferente, es decir que las diferentes concentraciones de peróxido de hidrógeno generan un efecto antiparasitario en los juveniles de *M. liza*.

$$H_1: \mu_j \neq \mu_{j'}, j \neq j'$$

4.7 VARIABLES EVALUADAS

El efecto del peróxido de hidrógeno en las variables productivas, parasitológicas y hematológicas de las unidades experimentales se estimó mediante las ecuaciones definidas respectivamente por Trasviña M G⁹⁵, Martins B E⁹⁶ y Ranzani M J⁹⁷.

4.7.1 Variables productivas en *Mugil liza* por tratamiento test *in vivo* (post 30 días).

- **Incremento de peso.** Define la ganancia de peso durante un periodo de observación (30 días). Esta estimación se realizó a través de la ecuación 2.

$$GP = Peso final (g) - peso Inicial (g). \quad (2)$$

⁹⁵ Trasviña. Op, cit., p. 28.

⁹⁶ Martins. Op, cit., p. 28.

⁹⁷ Ranzani Paiva, María José, et al. Op, cit., p. 28.

- **Incremento de talla.** Define el incremento de longitud durante el periodo de estudio (30 días). Esta estimación se realizó a través de la ecuación 3.

$$GL = \text{Longitud final (cm)} - \text{Longitud inicial (cm)} \quad (3)$$

- **Tasa de crecimiento promedio por tratamiento.** Define el aumento de peso durante el tiempo de estudio (30 días) y se expresa en porcentaje. La estimación se realizó a través de la ecuación 4.

$$TCS = \left(\frac{\ln \text{peso final (g)} - \ln \text{peso inicial (g)}}{\text{días}} \right) * 100 \quad (4)$$

Donde:

\ln = Logaritmo natural

- **Factor de condición (k).** Es un indicativo de la condición física de los especímenes. El Factor de Condición (K) se expresó mediante la ecuación 5.

$$FC = \left(\frac{\text{Peso final}}{\text{longitud total final}^3} \right) * 100 \quad (5)$$

- **Supervivencia (%).** Define el número total de animales vivos después del periodo de estudio (pos baño de 1 hora). La estimación se realizó a través de la ecuación 6.

$$S = \left(\frac{\text{Número final de peces}}{\text{Número inicial de peces}} \right) * 100 \quad (6)$$

4.7.2 Variables parasitológicas en *Mugil liza* test *in vivo*.

- **Tasa de prevalencia.** Define la proporción o porcentaje de la población íctica que presenta una condición, es decir la enfermedad. La estimación se realizó al inicio (baño de 1 hora) y al final del experimento (post 30 días) a través de la ecuación 7.

$$\frac{\text{Nº de peces parasitados} * 100}{\text{Nº de peces examinados}} \quad (7)$$

- **Abundancia media.** Define el número total de parásitos entre el número total de individuos de la población íctica evaluada. La estimación se realizó de 3 peces (parásitos del mucus) al final del experimento (post baño de 1 h) a través de la ecuación 8.

$$\frac{Nº \text{ total de parásitos}}{Nº \text{ total de peces examinados}} \quad (8)$$

- **Intensidad media de infestación.** Define la intensidad promedio de una especie particular de parásito que se presenta entre los miembros infestados de una especie particular de hospedero. La estimación se realizó (post baño de 1 h) a través de la ecuación 9.

$$\frac{\text{Cantidad de una especie de parásito}}{Nº \text{ de huespedes infestados por esa especie de parásito}} \quad (9)$$

- **Mortalidad (%).** Define la proporción de organismos que mueren por una causa concreta en la población. La estimación se realizó solamente en ectoparásitos tanto para test *in vitro* como para el test *in vivo* (post baño de inmersión) a través de la ecuación 10. Para ello se utilizó el número de parásitos por replica (parásitos muertos) procedentes de 6 peces presentes en el cuerpo de agua, y el número total de parásitos, correspondiente a las sumatoria del número de parásitos del cuerpo del agua (de 6 peces) más el número de parásitos del mucus (de 3 peces) contemplando para este caso un error de ± 2 parásitos, correspondiente a los 3 peces de cada replica que por continuidad del test *in vivo* se mantuvieron por 30 días más.

$$M = \left(\frac{\text{Número de parásitos muertos}}{\text{Número total de parásitos}} \right) * 100 \quad (10)$$

4.7.3 Variables hematológicas en *Mugil liza* (post baño de inmersión de 1 hora).

- **Glucosa.** La glucosa interviene en los procesos metabólicos, por ende, su estimación permitirá definir la cantidad de estrés generada como respuesta inmediata a un agente tensor. Se realizó la estimación por lectura inmediata, a través del monitor de glucosa Accu-chek active y comparada con los valores de referencia de glucosa en *M. liza* en cautiverio, de acuerdo con el trabajo realizado por Ganguilhet⁹⁸.
- **Porcentaje de Hematocrito.** Refleja la proporción de eritrocitos en la sangre, en relación con la cantidad de leucocitos, trombocitos y plasma sanguíneo. Valor expresado en porcentaje, estimado a partir de la tabla de medición de valores de hematocrito.

⁹⁸ GANGUILHET, Gabriela. Avaliação dos parâmetros hematológicos e bioquímicos de *Mugil liza* e *Mugil curema* como possíveis biomarcadores de impactos antrópicos na estação ecológica de Carijós. Tese de graduação, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil. 2019. p. 46-59.

- **Eritrocito.** “Células anucleadas de la sangre de forma redonda u ovalada y de color rojo que contiene hemoglobina y se encarga de transportar el oxígeno por los tejidos”⁹⁹. La estimación se realizó a través de la ecuación 11.

$$\text{Número de eritrócitos} = \text{Número de glóbulos contados} * 10000 \quad (11)$$

- **Hemoglobina.** “Esta hemoproteína contenida en los hematíes de la sangre de los vertebrados permite el transporte de los gases respiratorios”¹⁰⁰, y se estimó mediante la ecuación 12.

$$\text{Hemoglobina (g/dL)} = \frac{\text{Absorbancia de la muestra}}{\text{Absorbancia del padron}} * 10 \quad (12)$$

- **Cálculo de índices hematimétricos.** “Los índices hematimétricos son de utilidad en la evaluación y clasificación de anemias, están definidas por la relación entre hematocrito y número de eritrocitos; tasa de hemoglobina y numero de eritrocitos; y taza de hemoglobina y hematocrito”¹⁰¹.

- **Volumen corpuscular medio (VCM).** Permite evaluar el volumen de eritrocitos, valor expresado en fentolitros, la estimación se realizó mediante la ecuación 13.

$$VCM (fL) = \frac{\text{Hematocrito} x 10}{\text{numero de Eritrocitos} (x 10^6 \mu L^{-1})} \quad (13)$$

- **Hemoglobina corpuscular media (HCM).** Determina la cantidad de hemoglobina existente en cada eritrocito, valor expresado en picogramas. Se estimó mediante la ecuación 14.

$$HCM (pg) = \frac{\text{Tasa de Hemoglobina} x 10}{\text{numero de Eritrocitos}} \quad (14)$$

- **Concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM).** Relacionada a la concentración del pigmento hemático en los eritrocitos, estimada mediante la ecuación 15.

$$CHCM (g/dL) = \frac{\text{Tasa de Hemoglobina} x 100}{\text{Hematocrito}} \quad (15)$$

⁹⁹ Ranzani Paiva, María José, et al. Op, cit., p. 36.

¹⁰⁰ Ibid., p. 50 - 52.

¹⁰¹ Ibid., p. 52 -53.

4.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos fueron sometidos a pruebas de análisis descriptivo con tablas y gráficos, para las variables que cumplen con los supuestos estadísticos, previamente se verificó el cumplimiento de los supuestos de homocedasticidad, normalidad e independencia de todas las variables respuesta. Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) con un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$, con el fin de establecer diferencias significativas existentes entre las medias, y una prueba de comparación múltiple de TUKEY, para los casos en los que se acepta la hipótesis alterna (H_1), y así determinar el efecto de los tratamientos en cada una de las variables evaluadas. La normalidad de los datos se evaluó mediante el test de Shapiro – Wilk –W, la homocedasticidad mediante la prueba de Levene y la independencia de datos con la prueba de Rachas. La mortalidad de *Neobenedenia* sp., se evaluó mediante pruebas de comparación de variables cualitativas chi-cuadrado de Pearson, la cual realiza la identificación asociación o dependencia entre dos variables cualitativas de interés, de acuerdo a la distribución observada y otra teórica para establecer diferencias que contrasten de hipótesis propuestas. Todas las pruebas se efectuaron utilizando el programa estadístico informático SPSS IBM19 y la hoja de cálculo de Microsoft Excel.

5 PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

5.1 PRE TEST DE RESISTENCIA AL PRODUCTO

Hirazawa *et al.*,¹⁰² y Roque *et al.*,¹⁰³ mencionan que las altas concentraciones de peróxido de hidrógeno pueden ser tóxicas para los peces; como resultado, la duración y la concentración deben ser cuidadosamente probadas. Además, dependiendo de la temporada y la temperatura, la toxicidad del peróxido de hidrógeno puede variar. Sin embargo, a partir del test de resistencia realizado en este estudio, se evidencio que *Mugil liza* es tolerante a la mayor concentración de peróxido de hidrógeno (350 mg/L), puesto a que no presento cambios en su comportamiento durante el periodo de exposición (24horas) y tampoco se registró mortalidad de la misma al final del test.

5.2 TIEMPO DE ACCIÓN DEL PERÓXIDO DE HIDRÓGENO TEST *IN VITRO*

El análisis del tiempo de acción del peróxido de hidrógeno en el test *in vitro* sobre *Neobenedenia* sp., durante el período experimental, definió que el máximo espacio cronológico está en el tratamiento control con una media estimada en $60 \pm 0,00$ minutos, mientras que el menor se encontró en el tratamiento 5 con $3,66 \pm 0,57$ minutos, cuando se aplicó una concentración de 350 mg/L. Por otro lado, el análisis de varianza estableció la existencia de diferencias altamente significativas ($p = 0,00$) aceptándose la hipótesis alterna H_1 entre el tiempo y los tratamientos experimentales (Tabla 1, Anexo A).

Tabla 1. Tiempo de acción del peróxido de hidrógeno test *in vitro*.

Tratamientos	Concentraciones (mg/L)	N	Tiempo Promedio (min)
Control	0	3	$60,00 \pm 0,00^a$
Tratamiento 1	150	3	$32,00 \pm 0,00^b$
Tratamiento 2	200	3	$15,00 \pm 0,00^c$
Tratamiento 3	250	3	$10,00 \pm 0,00^d$
Tratamiento 4	300	3	$9,33 \pm 0,57^d$
Tratamiento 5	350	3	$3,66 \pm 0,57^e$

Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

N = indica número de replicas

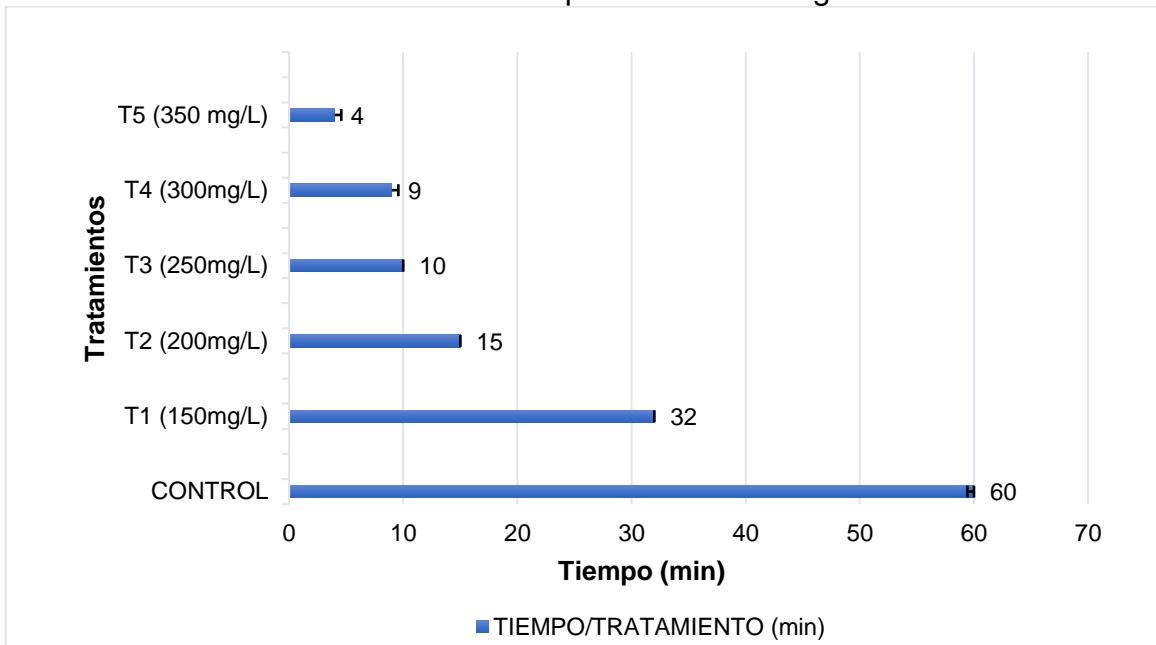
Dichas diferencias significativas en el comportamiento del tiempo de acción del antiparasitario peróxido de hidrógeno sobre los individuos de *Neobenedenia* sp., se presentó en el tratamiento 5 con $3,66 \pm 0,58$ minutos (menor media), el cual difiere

¹⁰² HIRAZAWA, *et al.* Op. cit., p. 217–224.

¹⁰³ ROQUE, *et al.* Physiological stress responses of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) to hydrogen peroxide (H_2O_2) exposure. 2010. Aquaculture 304, p. 104–107

de todos los demás tratamientos. Dicho tratamiento fue uno de los más eficientes con respecto al tiempo, puesto a que pertenece a la mayor concentración (350 mg/L) de peróxido de hidrógeno. Por otro lado, entre los tratamientos 3 y 4 no existen diferencias significativas, puesto a que obtuvieron tiempos estadísticamente similares $10,00 \pm 0,00$ y $9,33 \pm 0,57$ minutos, lo que sugiere que cualquiera de estas dos concentraciones generara el mismo efecto antiparasitario con respecto al tiempo. (Figura 15, Anexo A).

Figura 15. Comportamiento del tiempo de inmersión de *Neobenedenia* sp., en las concentraciones de peróxido de hidrógeno.



La Figura 15, señala el comportamiento del tiempo con respecto a cada una de las concentraciones de peróxido de hidrógeno, donde se puede apreciar que cuanto mayor es la concentración de peróxido, menor es el tiempo de exposición al producto para generar la mortalidad esperada en el parásito.

Por otra parte, los resultados obtenidos para la variable tiempo, se mantuvieron en un rango entre los $32,00 \pm 0,00$ y los $3,66 \pm 0,57$ minutos, en presencia de las diferentes concentraciones. En base a estos resultados se determinó un tiempo de inmersión o exposición al producto para el test *in vivo* de 1 hora con el fin de compensar la posible resistencia del parásito y su comportamiento habitando al hospedero, teniendo en cuenta que los resultados anteriormente mencionados fueron obtenidos en test *in vitro* con ejemplares de *Neobenedenia* sp., en ausencia de un hospedero considerándose fuera de su zona de confort.

5.3 MORTALIDAD DE *Neobenedenia* sp., POR ACCIÓN DEL PERÓXIDO DE HIDRÓGENO TEST IN VITRO

El análisis de la mortalidad producto de la acción del peróxido de hidrógeno en el test *in vitro* sobre *Neobenedenia* sp., durante el período experimental, definió que la mortalidad del 100% de los individuos está en los tratamientos 1 (150 mg/L), 2 (200 mg/L), 3 (250 mg/L), 4 (300 mg/L) y 5 (350 mg/L), estimada en 30 parásitos/tratamiento, a excepción del tratamiento control, sin influencia del producto (0 individuos muertos). (Tabla 2).

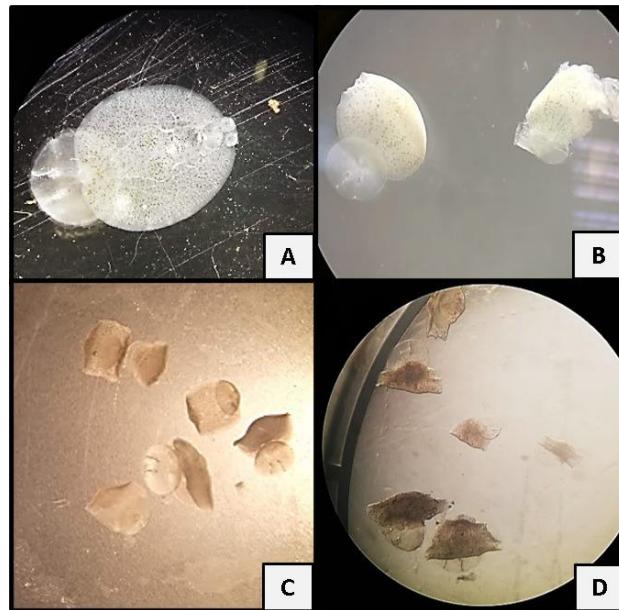
Tabla 2. Mortalidad de *Neobenedenia* sp., por acción del peróxido de hidrógeno test in vitro.

Tratamientos	Parasitos/Tratamiento	Parasitos Muertos	Mortalidad (%)
Control	30	0	0 ^a
T1 (150 mg/L)	30	30	100 ^b
T2 (200 mg/L)	30	30	100 ^b
T3 (250 mg/L)	30	30	100 ^b
T4 (300 mg/L)	30	30	100 ^b
T5 (350 mg/L)	30	30	100 ^b

Letras diferentes indican diferencias significativas (p<0,05)

El efecto de cada una de las concentraciones sobre *Neobenedenia* sp., fue evaluado por los valores de mortalidad de los parásitos en el test *in vitro*. El cual presento diferencias altamente significativas ($p = 0,00$), entre el tratamiento control y el resto de los tratamientos, aceptándose la hipótesis alterna H_1 , es decir que las diferentes concentraciones de peróxido de hidrógeno generan un efecto antiparasitario (Anexo B). Teniendo en cuenta que los resultados obtenidos para la variable mortalidad del parásito fue de 100% para todos los tratamientos, se puede evidenciar que todas las concentraciones de peróxido de hidrógeno son efectivas en el control de *Neobenedenia* sp., en los diferentes tiempos de exposición.

Figura 16. Comportamiento de *Neobenedenia* sp., con el producto.



Ectoparásito sin exposición al producto (A); ectoparásito expuesto al producto (B); presencia de cambios en el color y la forma del parásito, envuelto (forma de concha) y fijo a la placa (C); parásito muerto, en forma de concha y suelto en la placa (pierde su función fijadora) (D).

En el trabajo realizado por Toranzo *et al.*¹⁰⁴, sobre el uso del peróxido de hidrógeno en acción sobre el patógeno *Tenacibaculum maritimum*, así como el efecto en la especie íctica *Scophthalmus maximus*, mencionan que concentraciones de 30 a 240 mg/L de peróxido de hidrógeno *in vitro*, fueron eficaces en la alta proporción de mortalidad de *T. maritimum* en agua de mar después de 30 minutos de exposición al producto, en consecuencia, dichos resultados son similares a los obtenidos en este estudio con *M. liza* y un tiempo de exposición al producto de 32 minutos, sin embargo también se muestra un mayor efecto y mortalidad total incluso en las menores concentraciones (150 mg/L).

“La mortalidad total de *T. maritimum* se dio en las concentraciones de 120 y 240 mg/L en un tiempo de 15 minutos en comparación con el tratamiento control (sin producto)”¹⁰⁵. Tiempos similares fueron obtenidos en este estudio a una concentración de 200 mg/L (15 min), con una moralidad del 100% de los parásitos. Así mismo, al disminuir las concentraciones de peróxido de hidrógeno, se observa mayor grado de resistencia al compuesto desinfectante y en consecuencia genera un incremento en los tiempos de inmersión para alcanzar el efecto deseado.

¹⁰⁴ TORANZO, Alicia *et al.* Op. Cip., p. 104-109.

¹⁰⁵ Ibid., p. 4.

5.4 VARIABLES ZOOTÉCNICAS INICIO DE ESTUDIO TEST *IN VIVO*

El análisis de las variables productivas peso y longitud total inicial en *Mugil liza* para el período experimental, definió que la mayor media en peso y longitud estuvo en el tratamiento 5 con $37,86 \pm 6,92$ g, y $12,52 \pm 0,64$ cm respectivamente, mientras que la menor media en estos dos parámetros, correspondieron a los tratamientos 3 con $32,85 \pm 5,36$ g y $11,72 \pm 0,59$ cm. (Tablas 3 y 4).

Tabla 3. Peso inicial promedio de *M. liza* por tratamiento test *in vivo*.

Tratamientos	Concentraciones (mg/L)	N	Peso Inicial Promedio (g)
Control	0	9	$36,54 \pm 5,58^a$
Tratamiento 1	150	9	$36,85 \pm 6,82^a$
Tratamiento 2	200	9	$33,59 \pm 4,85^a$
Tratamiento 3	250	9	$32,85 \pm 5,36^a$
Tratamiento 4	300	9	$33,80 \pm 6,58^a$
Tratamiento 5	350	9	$37,86 \pm 6,92^a$
Total		54	$35,25 \pm 6,09$

N = indica número de peces

Tabla 4. Longitud inicial promedio de *M. liza* test *in vivo*.

Tratamientos	Concentraciones (mg/L)	N	Longitud Inicial Promedio (cm)
Control	0	9	$12,01 \pm 0,74^a$
Tratamiento 1	150	9	$12,27 \pm 0,87^a$
Tratamiento 2	200	9	$12,01 \pm 0,60^a$
Tratamiento 3	250	9	$11,72 \pm 0,59^a$
Tratamiento 4	300	9	$11,80 \pm 0,90^a$
Tratamiento 5	350	9	$12,52 \pm 0,64^a$
Total		54	$12,05 \pm 0,75$

N = indica número de peces

El análisis de varianza permitió establecer la inexistencia de diferencias significativas entre los tratamientos de la variable peso ($p = 0,39$) y longitud inicial ($p = 0,21$); en consecuencia, no existió sesgo en las condiciones iniciales de estudio, que pudiera incidir en los resultados experimentales finales (Anexo C).

5.5 VARIABLES ZOOTÉCNICAS AL FINAL DE ESTUDIO (POST 30 DÍAS) TEST *IN VIVO*

El análisis de las variables productivas peso y longitud total final en *Mugil liza* para el período experimental, definió que la mayor media en peso y longitud total estuvo respectivamente en el tratamiento 3 con $65,01 \pm 12,95$ g y $14,37 \pm 0,82$ cm, mientras que la menor media en estos dos parámetros, respectivamente corresponde al

tratamiento 2 con $46,05 \pm 11,94$ g y $13,06 \pm 1,18$ cm. De acuerdo con Rach et al¹⁰⁶, dichos resultados pueden estar influenciados por lesiones histológicas de las branquias en las especies expuestas, limitando así la función catabólica del oxígeno sobre los alimentos, además de las variables externas, como la calidad de agua, condiciones ambientales naturales y de ambiente no controlado.

El análisis de varianza permitió establecer la inexistencia de diferencias significativas ($p \geq 0,05$) entre los tratamientos experimentales de las variables peso final ($p = 0,09$) y longitud final ($p = 0,26$) al final del estudio. (Tablas 5 y 6, Anexo D).

Tabla 5. Peso final promedio para *M. liza* después de 30 días.

Tratamientos	Concentraciones (mg/L)	N	Peso Final Promedio (g)	Desviación Estándar (g)
Control	0	9	55,35 ^a	$\pm 23,54$
Tratamiento 1	150	8	56,90 ^a	$\pm 8,54$
Tratamiento 2	200	8	46,05 ^a	$\pm 11,93$
Tratamiento 3	250	7	65,01 ^a	$\pm 12,94$
Tratamiento 4	300	8	49,91 ^a	$\pm 13,36$
Tratamiento 5	350	8	46,52 ^a	$\pm 3,84$
Total		48	53,09	$\pm 14,79$

N = indica número de peces

Tabla 6. Longitud final promedio para *M. liza* después de 30 días.

Tratamientos	Concentraciones (mg/L)	N	Longitud Final Promedio (cm)	Desviación Estándar (cm)
Control	0	9	13,41 ^a	$\pm 1,66$
Tratamiento 1	150	8	13,72 ^a	$\pm 0,86$
Tratamiento 2	200	8	13,06 ^a	$\pm 1,18$
Tratamiento 3	250	7	14,37 ^a	$\pm 0,82$
Tratamiento 4	300	8	13,11 ^a	$\pm 1,38$
Tratamiento 5	350	8	13,26 ^a	$\pm 0,44$
Total		48	13,47	$\pm 1,17$

N = indica número de peces

En cuanto a las variables productivas incremento de peso, incremento de talla y tasa de crecimiento, la mayor media se obtuvo en el tratamiento 3 (250 mg/L) con 32,07g; 2,8 cm y 1,01% respectivamente. (Tabla 7).

¹⁰⁶ RACH, et al. Op. Cip., p. 7.

Tabla 7. Estimación de las variables productivas al final del experimento.

Tratamiento	Incremento de peso (g)	Incremento de talla (cm)	Tasa de Crecimiento (%)	Factor de Condición (K)	Supervivencia (%)
Control	11,59	1,4	0,38	2,12	100
T1 (150 mg/L)	25,52	1,8	0,82	2,21	100
T2 (200 mg/L)	13,03	1	0,48	2,06	100
T3 (250 mg/L)	32,07	2,8	1,01	2,10	100
T4 (300 mg/L)	17,02	1,4	0,57	2,22	100
T5 (350 mg/L)	8,63	0,8	0,30	2,02	100

El factor de condición K, fue mayor en la concentración de 300 mg/L con 2,22 seguido por la concentración de 250mg/L con un valor K de 2,10; el cual indica el grado de bienestar del pez frente al medio en el que vive. Vazzoler¹⁰⁷ afirma que el factor de condición refleja las condiciones nutricionales y los gastos en reservas de energía relacionados con aspectos conductuales y ambientales, por consiguiente, “también permite la comparación entre poblaciones de peces expuestas a diferentes condiciones de temperatura, clima, densidad y calidad del agua”¹⁰⁸.

Los valores de factor de condición K, obtenidos en esta investigación se encuentran por debajo de los reportados por Ranzani-paiva & Ishikawa¹⁰⁹ y Ganguilhet¹¹⁰, para *M. platianus* de 25,29 y *M. liza* de 10 respectivamente en condiciones de cultivo. Según Furley & Perônico¹¹¹, un factor de condición alto se asocia con un medio ambiente de calidad, y un factor de condición baja con mala calidad ambiental.

Por otro lado, al final del periodo de estudio (30 días) se obtuvo una supervivencia del 100% en todos los tratamientos, por lo que se evidencia que la tainha (*Mugil liza*) no se vio afectada por los tratamientos de inmersión con peróxido de hidrógeno.

Se registraron valores de tasa de crecimiento de 1,01% (máxima) en el tratamiento 3 y una mínima de 0,30% en el tratamiento 5 en un periodo de 30 días; en este sentido, se ha informado de una tasa de crecimiento reducida en peces tratados con

¹⁰⁷ VAZZOLER, Anna. Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática. Apresentação de Paulo de Tarso da Cunha Chaves – Maringá: EDUEM; São Paulo: SBI, 1996. 169 p.: il. 1996. Nupélia, Maringá, p. 129

¹⁰⁸ GOMIERO, Leandro y BRAGA, Francisco. Relação peso-comprimento e fator de condição de *Brycon opalinus* (*Pisces, Characiformes*) no Parque Estadual da Serra do Mar-Núcleo Santa Virgínia, Mata Atlântica, Estado de São Paulo, Brasil. 2006. Acta Scientiarum: Biological Sciences, p. 135-141.

¹⁰⁹ RANZANI-PAIVA, Maria José, ISHIKAWA, Carlos. Haematological Characteristics Of Freshwater-Reared And Wild Mullet, *Mugil Platianus* Günther (Osteichthyes, Mugilloae). 1996. Revista Brasileira de Zoologia, São Paulo, v. 13, n. 3, p. 563.

¹¹⁰ GANGUILHET, Gabriela. Avaliação dos parâmetros hematológicos e bioquímicos de *Mugil liza* e *Mugil curema* como possíveis biomarcadores de impactos antrópicos na estação ecológica de carijós. Tese de graduação. Florianópolis. Universidade Federal de Santa Catarina. 2019. P.54.

¹¹¹FURLEY, Tatiana Heid; PERÔNICO, Clayton (Org.). Guia técnico de monitoramento dos efeitos ambientais em corpos hídricos. 2015. Vitória Es: Instituto Aplysia. 264 p.

altas dosis de peróxido de hidrógeno. Particularmente Rach *et al*¹¹², informó lesiones en las branquias en algunas especies cuando se administró peróxido de hidrógeno en concentraciones altas o letales.

5.6 PARASITOSIS

5.6.1 Abundancia media y mortalidad de *Neobenedenia* sp., test *in vivo*. El análisis relacionado a la presencia de los ectoparásitos de *Neobenedenia* sp., en los ejemplares de *M. liza* con incidencia del peróxido de hidrógeno durante el período experimental (1 hora de baño), definió que el mayor número total de parásitos se presentó en el tratamiento control con 896 parásitos correspondientes a 18 peces del tratamiento contemplando un error de ± 2 parásitos (Tabla 8).

Tabla 8. Abundancia media de *Neobenedenia* sp., en test *in vivo*.

Tratamientos	# Total de parásitos	N	Abundancia media post baño
Control	896 \pm 2	3	99 \pm 16 ^a
T1 (150mg/L)	279 \pm 2	3	1 \pm 0 ^b
T2 (200mg/L)	316 \pm 2	3	0 \pm 0 ^b
T3 (250mg/L)	326 \pm 2	3	0 \pm 0 ^b
T4 (300mg/L)	326 \pm 2	3	0 \pm 0 ^b
T5 (350mg/L)	385 \pm 2	3	0 \pm 0 ^b
Total		18	16 \pm 38

Letras diferentes Indican diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$).

N = indica número de replicas

Después del baño, la abundancia media de *Neobenedenia* sp., fue mayor en el tratamiento control con 99 ± 16 parásitos y menor en el T1 con 1 ± 0 parásito, seguido de los tratamientos T2 hasta el T5 en concentraciones desde 200 mg/L hasta los 350 mg/L con 0 parásitos (Tabla 8). Además el análisis estadístico permitió identificar diferencias altamente significativas ($p = 0,00$) entre el tratamiento control, con respecto a los demás tratamientos, por lo tanto se acepta la hipótesis alterna H_1 , es decir que las diferentes concentraciones de peróxido de hidrógeno generan un efecto antiparasitario en los juveniles de *M. liza* (Anexo E).

La acción del peróxido de hidrógeno, reflejo que el número de parásitos muertos fue mayor en el tratamiento 5 (383 parásitos), y menor en el tratamiento 1 (273 parásitos), con excepción del tratamiento control (0 parásitos muertos), el cual no fue sometido a la sustancia antiparasitaria. Se registraron porcentajes de mortalidad del 100% en las concentraciones que van desde los 200 hasta los 350 mg/L y un 98% para el tratamiento 1 a una concentración de 150 mg/L. Para el caso del

¹¹² RACH, *et al.* Op. Cip., p. 7.

tratamiento control este presento una mortalidad del 0% debido a que no estuvo expuesto al producto (Anexo F).

La aplicación de las pruebas chi-cuadrado de Pearson, estableció que hay un 83,3% de mortalidad de los parásitos de *Neobenedenia sp.*, entre los tratamientos con peróxido de hidrógeno, frente al 16,7% de prevalencia de parásitos, entre los tratamientos sin peróxido de hidrógeno (Tabla 9).

Tabla 9. Tabla cruzada mortalidad por tratamiento.

			Tratamiento						Total	
			Control	T1	T2	T3	T4	T5		
<i>Mortalidad</i>	<i>No</i>	<i>Recuento</i>	3	0	0	0	0	0	3	
		<i>% dentro de Tratamiento</i>	100,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	16,7%	
	<i>Si</i>	<i>Recuento</i>	0	3	3	3	3	3	15	
		<i>% dentro de Tratamiento</i>	0,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	83,3%	
<i>Total</i>		<i>Recuento</i>	3	3	3	3	3	3	18	
		<i>% dentro de Tratamiento</i>	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

El recuento indica número de réplicas.

Se rechaza la hipótesis nula (H_0) y se define que hay una relación de dependencia significativa (Test Chi-cuadrado de Pearson: $p = 0,003$) entre las concentraciones de peróxido de hidrógeno de los tratamientos y la mortalidad de los ectoparásitos de *Neobenedenia sp.*, (Tabla 10).

Tabla 10. Pruebas de chi-cuadrado.

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
<i>Chi-cuadrado de Pearson</i>	18,000 ^a	5	0,003
<i>Razón de verosimilitud</i>	16,220	5	0,006
<i>Asociación lineal por lineal</i>	7,286	1	0,007
<i>N de casos válidos</i>	18		

a. 12 casillas (100,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 0,50.

La mortalidad de los parásitos de *Neobenedenia sp.*, depende en un 40,2% de las diferentes concentraciones de peróxido de hidrógeno en los tratamientos *in vitro* de *Mugil liza* (Tabla 11).

Tabla 11. Medidas direccionales.

			Valor	Error estándar asintótico ^a	T aproximada ^b	Significación aproximada
Nominal por Nominal	Coeficiente de incertidumbre	Simétrico	0,402	0,101	3,187	0,006 ^c
		Mortalidad dependiente	1,000	0,000	3,187	0,006 ^c
		Tratamiento dependiente	0,251	0,079	3,187	0,006 ^c

a. No se presupone la hipótesis nula.

b. Utilización del error estándar asintótico que presupone la hipótesis nula.

c. Probabilidad de chi-cuadrado de razón de verosimilitud.

En este estudio, con juveniles de tainha *M. liza* expuesta a las diferentes concentraciones de peróxido de hidrógeno en un tiempo de 1h, se obtuvo como resultado la reducción de los niveles de infestación parasitaria en T1 hasta T5, a excepción del tratamiento control, el cual, al no estar influenciado por el producto permaneció infestado de parásitos.

Rach¹¹³ observó que peces expuestos a 280 y 560 mg/L de peróxido de hidrógeno se mantenían emergiendo y saltando durante la exposición química; algunos peces de los tanques con concentraciones de 560 mg/L perdieron el equilibrio y redujeron el movimiento opercular entre 15 y 20 minutos después de la exposición al producto y los valores de mortalidad para los grupos 0, 170, 280 y 560 mg/L fueron 4%, 38%, 4% y 13%, respectivamente. Un comportamiento similar fue descrito por Toranzo *et al.*¹¹⁴, en el pez marino pregado (*Scophthalmus maximus*), los cuales en los primeros minutos después de la adición de 30 y 240 mg/L de peróxido de hidrógeno, presentaron dificultad respiratoria, intentos de fuga, reducción de la respuesta al miedo, movimientos más rápidos y pronunciados de los opérculos y la formación de grupos cerca de la superficie del agua. Sin embargo, todos los peces recuperaron el movimiento y el comportamiento respiratorio normal poco después de la exposición al H₂O₂, por lo que no hubo muertes. Por otro lado, los peces expuestos a la mayor concentración de desinfectante H₂O₂ a 480 mg/L, presentaron una mortalidad de los peces en las primeras 20 horas después de la exposición al producto. Sin embargo, en el presente estudio no se observaron estos comportamientos, debido a que las concentraciones de peróxido utilizadas no superaron los 400 mg/L, por otro lado, *Mugil liza* al ser una especie marina ampliamente resistente a los cambios en su ambiente, se ve influencia positivamente en su comportamiento; dicho comportamiento también se ve reflejado en los porcentajes de sobrevivencia de la especie, que alcanzó el 100% en todos los tratamientos.

¹¹³ RACH, Jeff; GAIKOWSKI, Mark e RASMSAY, Robert. Ecácia do peróxido de hidrogênio no controle de infestações parasitárias em peixes criados em incubatórios. 2011. Revista de Saude Animal Aquatica, Em: [https://doi.org/10.1577/1548-8667\(2000\)012<0267:EOHPTC>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8667(2000)012<0267:EOHPTC>2.0.CO;2). p. 7.

¹¹⁴ TORANZO, Alicia *et al.* Op. Cit., p. 6.

5.6.2 Tasa de prevalencia. Dentro del experimento se registró una tasa de prevalencia (inmersión 1h) del 100% para todos los tratamientos, es decir que todos los peces examinados se encontraban parasitados. Por otra parte, la tasa de prevalencia final fue del 100% en el tratamiento control (sin producto) y en el tratamiento 1 con la menor concentración (150mg/L), sugiriendo que todos los individuos presentan algún grado de infestación; sin embargo, es importante mencionar que se desconoce si dicha carga parasitaria es capaz de inducir enfermedad. Dichos valores son similares a los reportados por Trasviña¹¹⁵, en su investigación sobre la influencia de compuestos antiparasitarios de origen natural en la respuesta inmune y el control de la infección con *Neobenedenia* sp., en *Seriola lalandi*, en donde obtuvo una tasa de prevalencia del 100% a los 15 y 30 días de muestreo post infección. Por su parte, Martínez *et al*¹¹⁶, reporta una tasa de prevalencia en *Mugil cephalus* del 86,7% de los cuales el 13,3% son del género monogenia.

Con respecto a las concentraciones de 200 hasta 350 mg/L, la tasa de prevalencia fue del 0%, por ende, se demuestra que el peróxido de hidrógeno tiene una actividad antiparasitaria. Sin embargo, desde el punto de vista patológico al no tener una carga parasitaria, el pez se vuelve inmunológicamente tolerante a una posible infección potencial, en consecuencia, habrá mortalidad.

5.6.3 Intensidad media de infestación. Teniendo en cuenta que la intensidad media de infestación representa la cantidad de una especie de parásito que se presenta en los miembros infestados, y que para el caso de estudio se trabajó con una sola especie, se obtuvo una intensidad media de infestación igual a la de la abundancia media con valores máximos de 100 individuos de *Neobenedenia* sp., en el control, 1 individuo en la menor concentración (150mg/L) y de 0 para las demás concentraciones. Esos resultados pueden estar relacionados a la baja eficiencia del sistema inmunológico en el estado juvenil de *M. liza*, como lo sugiere Tort *et al*¹¹⁷, al definir que la inmunocompetencia de peces es observada en fases de vida avanzada, en los cuales el contacto con parásitos y el número de células inmunocompetentes son mayores; además, un índice grave puede estar relacionado a la especificidad de *Neobenedenia* sp., por especies del género *Mugil*, o por el ciclo de vida directo de esos parásitos, siendo incentivados por condiciones favorables, tales como alta salinidad, temperatura del agua y la disponibilidad del hospedero específico en el estuario. Los valores de prevalencia e intensidad media de infestación por *Neobenedenia* sp., observados en esta investigación muestran los posibles daños que estos parásitos pueden representar en cultivos de peces y

¹¹⁵ TRASVIÑA. Op. Cit., p. 46 – 47

¹¹⁶ MARTÍNEZ, Enrique *et al*. Detección de parásitos en peces marinos destinados al consumo humano en Lima Metropolitana. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú. Lima, Perú. 2017. p. 162 – 164.

¹¹⁷ TORT, Lluis; BALASCH, Joan y MACKENZIE, Simon. Fish immune system. A crossroads between innate and adaptive responses Immunología, 22 (2003), pp. 277-286.

revelan la necesidad de realizar estudios que tengan la finalidad de reducir o eliminar totalmente la incidencia de estos ectoparásitos.

5.6.4 Reinfestación parasitaria. En la reinfestación parasitaria 30 días después de la inmersión (Tabla 12) con diferentes concentraciones de peróxido de hidrógeno, se puede observar que la mayor reinfestación se dio en el tratamiento control con una media de 242 ± 6 parásitos, debido a que no estuvo expuesto al producto, obteniendo 969 parásitos de *Neobenedenia* sp., equivalente al 100% de reinfestación parasitaria. El tratamiento 1 (150 mg/L), también presentó reinfestación parasitaria con una media de 3 ± 1 ectoparásitos de *Neobenedenia* sp., equivalente al 1,91% de reinfestación al final del periodo de estudio, por lo cual se evidencia que dicha concentración de peróxido de hidrógeno no fue suficiente para interrumpir el ciclo de vida de este ectoparásito, habitando nuevamente al huésped. Sin embargo, el análisis estadístico determinó la inexistencia de diferencias significativas ($p = 0,00$) de dicha concentración con respecto a las demás concentraciones, y a su vez determinó que todas las concentraciones son diferentes del tratamiento control (Anexo G) por lo cual se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna (H_1) es decir que las diferentes concentraciones de peróxido de hidrógeno generan un efecto antiparasitario. Por otra parte, desde los tratamientos T2 hasta el T5, se presentó una reinfestación parasitaria del 0%, lo que permite inferir que las concentraciones de peróxido de hidrógeno de 200 hasta 350 mg/L son eficaces en el control del ectoparásito *Neobenedenia* sp.

Tabla 12. Reinfestación parasitaria en *Mugil liza* después de 30 días.

Tratamientos	N	Número total de parásitos/tratamiento	Media reinfestación parasitaria
Control	4	969	242 ± 6^a
T1 (150 mg/L)	4	15	3 ± 1^b
T2 (200 mg/L)	4	0	0 ± 0^b
T3(250 mg/L)	4	0	0 ± 0^b
T4 (300 mg/L)	4	0	0 ± 0^b
T5 (350 mg/L)	4	0	0 ± 0^b
Total	24		41 ± 92

Letras diferentes Indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

N = indica número de peces

Desde el punto de vista patológico una concentración de 150 mg/L, conserva una infestación baja, no produce enfermedad y permite que los animales sigan siendo inmunocompetentes, por consiguiente, en las demás concentraciones 200 a 350 mg/L, si bien es cierto que mata todos los parásitos, existe el riesgo de que los animales no sean inmunocompetentes, ocasionando mortalidades elevadas. Al no existir infestaciones parasitarias en los animales, se genera una tolerancia inmunológica y en consecuencia, cuando se presentan infestaciones severas se produce mortalidad. Además tampoco es deseable que no existan parásitos, por lo que es mejor manejar una infestación parasitaria mínima para que el animal

desarrolle tolerancia inmunológica, fortaleciendo el sistema y haciendo que el pez sea inmunocompetente.

Por otro lado, las infestaciones en ocasiones no alteran los parámetros fisiológicos de la especie, pero si los parámetros productivos; cuando existen infestaciones bajas el animal presenta una apariencia sana y no genera una enfermedad subclínica, por lo que no producirá síntomas o alteraciones, ni se verá enfermo; sin embargo, a nivel productivo ya empieza a disminuir su rendimiento.

5.7 PRUEBAS HEMATOLÓGICAS

5.7.1 Glucosa. El análisis hematológico de los ejemplares de *M. liza* durante el período experimental (post baño de 1h), definió que la media máxima se presentó en T1 con $166,67 \pm 47,40$ mg/dL y una media mínima de $104,33 \pm 34,51$ mg/dL en el T4 (Tabla 13). El análisis de varianza estableció diferencias significativas ($p = 0,03$) aceptándose la hipótesis alterna H_1 entre los tratamientos 1 y 4 y no existió significancia estadística para los demás tratamientos de estudio (Anexo H).

Tabla 13. Valores medios de glucosa para Tainha *M. liza* post inmersión con peróxido.

Tratamientos	Concentraciones (mg/L)	N	Glucosa (mg/dL)
Control	0	9	$129,11 \pm 41,48^a$
Tratamiento 1	150	9	$166,66 \pm 47,40^b$
Tratamiento 2	200	9	$146,66 \pm 29,05^a$
Tratamiento 3	250	9	$129,88 \pm 40,53^a$
Tratamiento 4	300	9	$104,33 \pm 34,51^c$
Tratamiento 5	350	9	$128,77 \pm 37,03^a$
Total		54	$134,24 \pm 41,60$

Letras diferentes Indican diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$).

N = indica número de peces

La menor media se registró en el tratamiento 4 bajo una concentración de 300 mg/L de peróxido y la mayor media en el tratamiento 1 ($166,67$ mg/dL) bajo una concentración de 150 mg/L; el cual se encontró por encima de los valores registrados en los demás tratamientos, dicho aumento demuestra una activación de respuestas primarias a condiciones estresantes, lo cual podría explicarse ya que “el cortisol actúa en la movilización de reservas de energía, estimulando procesos de glucogenólisis y gluconeogénesis, lo que conduce a un aumento de la concentración de glucosa circulante en sangre”¹¹⁸.

Por otra parte, a pesar de que dentro de nuestro estudio se presentaron diferencias estadísticas entre valores de glucosa, estas medias registradas se encontraron

¹¹⁸ GANGUILHET, Gabriela. Op. cit., p. 67.

dentro de las reportadas por Ganguilhet¹¹⁹, para la misma especie y en condiciones de cultivo. Scheuer¹²⁰, por su parte, también reporta valores de glucosa específicos para *Mugil liza* que van de los ($82,85 \pm 7,87$ a $170,5 \pm 41,52$ mg/dL) en condiciones de cultivo con salinidad de 15‰.

De acuerdo con Rocha, “se pueden observar cambios en la glucosa cuando se expone a salinidades extremas”¹²¹. “El aumento de los niveles de glucosa durante una situación estresante es de suma importancia, ya que son necesarias grandes demandas energéticas para activar los mecanismos que se presentan en respuesta a una situación adversa”¹²². Las diferencias estadísticas expresadas en este estudio para los diferentes tratamientos pueden estar relacionadas por otros factores que intervienen en el experimento y no necesariamente en la medición relacionada con el estrés, además la glucosa como fuente energética de los organismos es muy variable, lo que dificulta mucho más la interpretación de los resultados obtenidos, por consiguiente, la glucosa en este caso se convierte en un indicador indirecto de medición del estrés.

¹¹⁹ Ibid. p. 58.

¹²⁰ SCHEUER, Fernanda. Efeito da dureza da água em juvenis de tainha (*Mugil liza*) criados em água doce. Tese de Mestrado. Universidade federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2017., p. 33.

¹²¹ ROCHA, Arthur, et al. Metabolic demand and growth of juveniles of *Centropomus parallelus* as function of salinity. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 316. 2004. P. 157-165.

¹²² WENDELAAR, Bonga. The stress response in fish. Physiological Reviews 77. 1997. P. 591-625.

Tabla 14. Hemograma simple de *Mugil liza* infestada con *Neobenedenia* sp.

Eritrograma Serie roja	Tratamientos (mg/L)	N	Valores obtenidos para <i>Mugil liza</i>	Rangos de referencia Ranzani-paiva & Ishikawa¹²³
Hematocrito %	Control	9	24,11 ± 5,53 ^a	21,50 - 45,00
	T1 (150)	9	23,77 ± 2,99 ^a	
	T2 (200)	9	26,44 ± 4,39 ^a	
	T3 (250)	9	25,44 ± 3,04 ^a	
	T4 (300)	9	25,33 ± 4,21 ^a	
	T5 (350)	9	26,22 ± 3,15 ^a	
Hemoglobina (g/dL)	Control	9	13,96 ± 1,29 ^a	8,48 - 11,89
	T1 (150)	9	14,83 ± 1,86 ^a	
	T2 (200)	9	14,03 ± 2,48 ^b	
	T3 (250)	9	17,71 ± 2,20 ^c	
	T4 (300)	9	17,17 ± 2,53 ^b	
	T5 (350)	9	15,43 ± 1,23 ^b	
(GR) Recuento de eritróцитos (10⁶ celulas/µL)	Control	9	2,88 ± 0,40 ^a	2,21- 4,33
	T1 (150)	9	3,18 ± 0,58 ^a	
	T2 (200)	9	3,09 ± 0,22 ^a	
	T3 (250)	9	3,10 ± 0,23 ^a	
	T4 (300)	9	2,99 ± 0,23 ^a	
	T5 (350)	9	3,16 ± 0,25 ^a	
VCM (fL)	Control	9	83,11 ± 12,25 ^a	84.47 - 120.66
	T1 (150)	9	74,83 ± 7,35 ^a	
	T2 (200)	9	85,07 ± 11,65 ^a	
	T3 (250)	9	81,41 ± 8,29 ^a	
	T4 (300)	9	83,98 ± 9,45 ^a	
	T5 (350)	9	82,33 ± 8,41 ^a	
HCM (pg)	Control	9	6,10 ± 1,47 ^a	22.17 - 51 .15
	T1 (150)	9	6,42 ± 1,39 ^a	
	T2 (200)	9	5,62 ± 0,93 ^a	
	T3 (250)	9	7,12 ± 1,32 ^a	
	T4 (300)	9	6,98 ± 1,46 ^a	
	T5 (350)	9	6,03 ± 0,99 ^a	
CHCM (g/dL)	Control	9	61,02 ± 14,72 ^a	21 .20 - 52.70
	T1 (150)	9	64,22 ± 13,99 ^a	
	T2 (200)	9	56,27 ± 9,29 ^a	
	T3 (250)	9	71,24 ± 13,27 ^a	
	T4 (300)	9	69,80 ± 14,62 ^a	
	T5 (350)	9	60,32 ± 9,94 ^a	

Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (p<0,05)

N = indica número de peces

5.7.2 Hemoglobina. La media máxima para la variable hemoglobina se presentó en el tratamiento 3 (250mg/L) con $17,71 \pm 2,21$ g/dL, por otro lado, las menores medias encontradas fueron de $13,96 \pm 1,29$ g/dL en el tratamiento control y $14,04 \pm 2,48$ g/dL en el tratamiento 2 con 200mg/L de peróxido de hidrógeno (Tabla 14). El

¹²³ RANZANI-PAIVA, Maria José T., ISHIKAWA, Carlos M. Op. cit., p. 563.

análisis de varianza estableció diferencias significativas ($p = 0,00$) entre los tratamientos control $13,96 \pm 1,29$ g/dL y T3 $17,71 \pm 2,21$ g/dL, además también se presentaron diferencias en el tratamiento 2 con una media de $14,04 \pm 2,48$ g/dL con respecto a T3 pero sin diferir del tratamiento control, por lo cual se rechaza la hipótesis nula H_0 y se acepta la alterna H_1 (Anexo I).

Arthanari y Dhanapalan¹²⁴ han señalado que la hemoglobina en los peces varía entre 12,7 y 14,0 mg/dL. Según Jerônimo *et al*¹²⁵, este parámetro es considerado como el mejor indicador para evaluar anemia en peces. Ganguilhet¹²⁶ y Ranzani-paiva & Ishikawa¹²⁷, registraron valores de hemoglobina mayores a los mencionados anteriormente, estimados con una media máxima de 10,07 y de 10,24 g/dL respectivamente.

Para el caso de este estudio los valores de hemoglobina registrados para *M. liza* corresponden a una media máxima de 17,71 g/dL que se encuentra superior a los valores anteriormente referidos. "Las oscilaciones de la hemoglobina dentro de las especies de peces sugieren una asociación con el transporte de oxígeno en la sangre como un índice de las capacidades metabólicas aeróbicas de los peces"¹²⁸. Además Meraj *et al*¹²⁹, señalan que los cambios en los niveles de hemoglobina en los peces pueden estar relacionados a la presencia de agentes estresores como contaminantes que inhiben el sistema enzimático para la síntesis de hemoglobina.

Como la hemoglobina es una sustancia que se capta de la molécula dentro del eritrocito, su interpretación está ligada al comportamiento de dicha variable, esta puede fluctuar en niveles altos o bajos según la cantidad de eritrocitos que presenta. Si existe alguna deficiencia de hierro, vitaminas del complejo B, cianocobalamina y algunos minerales, es probable que exista una menor concentración de hemoglobina y es posible que eso también interfiera en los valores de hematocrito bajos. Este comportamiento también puede estar siendo influenciado por el medio en el que los animales se encuentran.

¹²⁴ ARTHANARI, Mohan y DHANAPALAN, Senthilkumar. Assessment of the haematological and serum biochemical parameters of three commercially important freshwater fishes in river Cauvery Velur, Namakkal district, Tamil Nadu, India. 2016. Int J Fish Aquat Stud 4. p. 157.

¹²⁵ JERÔNIMO, Gabriela, *et al.*, Haematological and histopathological analysis in South American fish *Piaractus mesopotamicus* parasitized by monogenean (*Dactylogyridae*). Braz J Biol 74: 1000-1006. doi: 10.1590/1519-6984.09513. 2014. p. 1003.

¹²⁶ GANGUILHET, Gabriela. Op. cit., p. 53.

¹²⁷ RANZANI-Paiva, Maria José t., Ishikawa, Carlos M. Op. cit., p. 563.

¹²⁸ DAL'BÓ, Amalia, *et al.* Hematological and morphometric blood value of four cultured species of economically important tropical foodfish. 2015. Neotrop Ichthyol 13: 439-446. doi: 10.1590/1982-0224-20140115

¹²⁹ MERAJ, Maryum, *et al.* Hematological profiling of *Triplophysa marmorata* (Heckel 1838) from water bodies of Kashmir HimalayaA Perspective. J Fish Aquat Sci 11: 296- 303 doi: 10.3923/jfas.2016.296.303. 2016. p. 300.

Teniendo en cuenta, que en esta investigación se obtuvo un índice eritrocitario normal, no debería existir una mayor concentración de hemoglobina en las respectivas unidades experimentales, puesto a que los niveles altos de hemoglobina responden a un comportamiento hipocrómico. Las diferencias o alteraciones en los resultados para hemoglobina, se vieron afectados o influenciados por posibles valores dispersos o atípicos en los tratamientos debido a la calibración del equipo, periodo de utilidad del reactivo o por la técnica utilizada para determinar dicha variable en esta investigación. De acuerdo con Sánchez *et al.*¹³⁰, varios factores intrínsecos y extrínsecos pueden influir sobre los parámetros sanguíneos en los peces, tales como la especie de pez, el estadio, el sexo, el estrés, el parasitismo, la temperatura, factores ambientales, tipo de muestreo sanguíneo, técnica de laboratorio, diferencias estacionales y estado nutricional.

Por otro lado, las variaciones de hemoglobina también pudieron verse influenciadas por la exposición de los animales al producto, teniendo en cuenta que esta molécula contenida en los hematíes de la sangre se encarga del transporte de gases como oxígeno y dióxido de carbono y su vía de comunicación con el medio son las branquias. Sin embargo, la única forma para que el producto este en contacto con la hemoglobina sería ocasionando una hemólisis (ruptura de los eritrocitos), puesto que la hemoglobina se encuentra en el organismo del animal encapsulada y no de forma libre; por ende, para que ocurra una hemólisis debe existir una anemia muy severa, o el producto ser bastante toxicó, lo cual no es el caso en esta investigación puesto a que los índices eritrocitarios o hematimétricos son normales.

5.7.3 Hematócrito. El porcentaje de hematócrito presento una media máxima de $26,44 \pm 4,39\%$ en T2 y media mínima en T1 con $23,77 \pm 2,99\%$ (Tabla 14). Por otra parte el comportamiento del porcentaje de hematócrito no definió diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,65$) aceptándose la hipótesis nula H_0 entre las unidades experimentales de los tratamientos (Anexo J).

Alaye-Rahy y Morales Palacios¹³¹, han mencionado que los valores de hematócrito están relacionados con la actividad de los peces y su hábitat, señalando que el valor del hematócrito es mayor en peces dulceacuícolas que en peces marinos, presentando estos últimos un mayor número y menor tamaño de glóbulos rojos. Además Arthanari y Dhanapalan¹³², indican que los valores del hematócrito de los peces se encuentran generalmente entre 20 y 35%, y rara vez alcanzan niveles mayores al 50%. Por otra parte, en la investigación realizada por Sáez *et al*¹³³ se

¹³⁰ SÁNCHEZ, Ingrid *et al.* Op. Cit., p. 53.

¹³¹ ALAYE-RAHY, Norma, y MORALES José. Parámetros hematológicos y células sanguíneas de organismos juveniles del pescado blanco (*Chiostoma estor estor*) cultivados en Pátzcuaro, Michoacán. México. 2013. Hidrobiológica 23: 340-347. P. 344

¹³² ARTHANARI, Mohan y DHANAPALAN, Senthilkumar. Op. cit., p. 155-159.

¹³³SÁEZ *et al.* Parámetros hematológicos y de bioquímica sanguínea en diez especies de peces marinos capturados por pesquería artesanal en la Bahía del Callao, Perú. 2018. Rev Inv Vet Perú 29(4): 1161-1177. P. 1170.

evidenció que casi todas las especies de peces marinos evaluados presentaron valores mayores al rango de hematocrito máximo de 35% como es el caso de *M. cephalus* con media máxima de 46,8%, situación que se reconfirma con las investigaciones realizadas por Ganguilhet¹³⁴ y Ranzani-paiva & Ishikawa¹³⁵ quienes mencionan que los valores registrados de hematocrito para *M. liza* son respectivamente 50,84% y 36,36% en cautiverio.

En este estudio se registraron valores de hematocrito con media máxima de 26,44% y media mínima de 23,78% lo cual se encuentran dentro del rango mencionado anteriormente, por lo cual se puede deducir que esta variable no influye negativamente en el desempeño de *M. liza*. Sin embargo, es importante conocer que “los aumentos del hematocrito se reportan cuando los peces son sometidos a varios factores de estrés; estos resultados podrían estar indicando una respuesta a elevadas demandas metabólicas, que provocan valores de hematocrito más alto”¹³⁶.

Con base en los resultados obtenidos, todos los animales de las unidades experimentales incluyendo el tratamiento control presentaron un valor de hematocrito bajo, es decir que poseen un bajo porcentaje de fracción roja, el cual puede ser probablemente un indicador de anemia; sin embargo, se encuentran dentro de los rangos de referencia del hemograma. Por otro lado, los tratamientos 3 y 4 presentaron los mejores niveles de hematocrito (Tabla 14).

Teniendo en cuenta que el hematocrito es la fracción de glóbulos, está también dependerá de los valores de hemoglobina y la concentración de hierro, a su vez es posible que un animal tenga el mismo conteo de eritrocitos y una baja proporción de hierro, causada por el parasitismo, alteraciones nutricionales o algún evento fisiológico del pez. Por ende, las variaciones en la disminución de dicha variable pueden estar asociados a alguna deficiencia de los constituyentes de la molécula de hemoglobina.

Para poder determinar con precisión si el valor de hematocrito es realmente bajo, se considera apropiado realizar una medición de proteínas plasmáticas totales; no obstante, estos resultados pueden ser generados por alteraciones en el equilibrio hídrico, la presión osmótica y los compartimentos intravascular e intersticial, los cuales pueden provocar cambios en la concentración de hematocrito. Según Bastardo y Barberán¹³⁷, estos cambios tendrían como función mejorar el intercambio gaseoso y mejorar con ello el transporte del oxígeno disuelto. Estos valores también pueden asociarse a la presencia de daños en los tejidos branquiales, ya que al ser expuestos a productos químicos “sufren daños en el

¹³⁴ GANGUILHET, Gabriela. Op. cit., p. 54.

¹³⁵ RANZANI-PAIVA, Maria Jose, et al., Op. cit., p. 563.

¹³⁶ Ibid. p. 46.

¹³⁷ BASTARDO, Asmine, y BARBERÁN, Rosario. Parámetros hematológicos de la paragua *Chaetodipterus faber* (Broussonet) (Pices: Ephippidae), en condiciones de cultivo. 2004. Zoo Trop 22: 361-370.

epitelio branquial (hiperplasia, fusión lamelar, hipertrofia), interfiriendo en el intercambio gaseoso y transporte iónico”¹³⁸.

5.7.4 Eritrocitos. El análisis hematológico de los ejemplares de *M. liza* durante el período experimental (post baño de 1 hora), definió que los eritrocitos ($3,19 \pm 0,58$) y ($3,16 \pm 0,26$) 10^6 células/ μL por un lado, representan la mayor media en los tratamientos 1 y 5 respectivamente. Por el contrario la menor media para este parámetro de interés fue de ($2,87 \pm 0,40$) 10^6 células/ μL , en el tratamiento control (Tabla 14).

El análisis de varianza estableció la inexistencia de diferencias significativas ($p = 0,40$) aceptándose la hipótesis nula H_0 en los tratamientos experimentales (Anexo K). Las medias de eritrocitos reportadas dentro de este estudio, se encuentran dentro de las reportadas por Ganguilhet¹³⁹, Ranzani-paiva & Ishikawa¹⁴⁰, con valores de 3,63 y 3,61 células/ μL respectivamente. De acuerdo con Sánchez *et al*¹⁴¹, el aumento del número de eritrocitos se equilibra con la reducción significativa del tamaño (VCM) de estos, confirmándose en su estudio con los valores de hematocrito que no tiene cambios significativos. Además “el incremento de los eritrocitos sugiere que hay generación de nuevos eritrocitos inmaduros (menor tamaño) como respuesta al ser sometidos a concentraciones de sustancias subletales”¹⁴².

El recuento total de eritrocitos es normal, está dentro de los parámetros normales para el control y el resto de las unidades experimentales, puesto a que se encuentran dentro de los rangos fisiológicos mencionados por Ranzani-paiva & Ishikawa¹⁴³. “Los eritrocitos en los peces tienen un patrón bien definido entre forma y tamaño. Sin embargo, en condiciones de estrés, se pueden observar cambios en estos patrones en detrimento de la liberación de grandes cantidades de células inmaduras al torrente sanguíneo”¹⁴⁴.

Teniendo en cuenta que el recuento de eritrocito y hematocrito está dentro de los valores de referencia, queda en evidencia la inexistencia de anemias en los

¹³⁸ MARTINEZ, Claudia; AZEVEDO, Fabio y WINKALER, Elissandra. Toxicidade e efeitos da amônia em peixes neotropicais. In: Cyrino, J.E.P.; Urbinati, E.C. (Eds). Tópicos especiais em biologia aquática e aqüicultura. Jaboticabal: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biología Aquática. 2006. p. 81-95.

¹³⁹ GANGUILHET, Gabriela. Op. cit., p. 56.

¹⁴⁰ RANZANI-PAIVA, *et al.*, Op. cit., p. 563.

¹⁴¹ SÁNCHEZ, Ingrid, *et al.* Respuesta hematológica y bioquímica en juveniles de Paiche *Arapaima Gigas* sometidos a diferentes concentraciones de amonio. Instituto de investigaciones de la Amazonía peruana. Folia amazónica. vol. 26 (1) 2017. p. 54. Doi: <https://doi.org/10.24841/fa.v26i1.418>

¹⁴² Ibid., p. 55.

¹⁴³ RANZANI-PAIVA, Maria José T., ISHIKAWA, Carlos M. Op. cit., p. 563

¹⁴⁴ SILVA, Andreza y GONÇALVES, Roberto. Espécies reativas do oxigênio e as doenças respiratórias em grandes animais. 2010. Ciência Rural, [s.l.], v. 40, n. 4, p.994-1002, 26 mar. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0103-84782010005000037>.

animales de este experimento, lo que a su vez no solo se demuestra estadísticamente al no presentar diferencias significativas en ninguno de los tratamientos para dichas variables, sino también patológicamente mediante la interpretación del hemograma.

5.7.5 Índices hematimétricos. El análisis hematológico de los ejemplares de *M. liza* durante el período experimental, definió que los índices hematimétricos VCM (fL), HCM (pg) y CHCM (g/dL), representan respectivamente $85,07 \pm 11,66$ fL (T2); $7,13 \pm 1,33$ pg y $71,25 \pm 13,27$ g/dL (T3) la mayor media. La menor media para estos parámetros de interés, respectivamente fueron $74,84 \pm 7,36$ fL (T1), $5,63 \pm 0,93$ pg y $56,27 \pm 9,29$ (T2) (Tablas 14).

El análisis de varianza permitió establecer la ausencia de diferencias significativas ($p \geq 0,05$) en las variables de interés: índices VCM (fL) ($p = 0,29$); HCM (pg) ($p = 0,12$); y CHCM (g/dL) ($p = 0,12$), en los tratamientos experimentales, por lo cual se acepta la hipótesis nula H_0 y se rechaza la alterna H_1 (Anexo L).

Ganguilhet¹⁴⁵, reporta valores promedio para cada variable de (155,56 fL) VCM; CHCM (20,16 g/dL); HCM (31,31pg) y Ranzani-paiva & Ishikawa¹⁴⁶, también reporta valores promedio similares para cada variable VCM (101,02 fL); CHCM (29,22 g/dL); HCM (29,37 pg) para la misma especie en condiciones de cultivo. Los valores promedios de VCM y HCM en nuestro estudio se encontraron por debajo de los mencionados por dichos autores, y para el caso del CHCM este se registró superior a los referenciados anteriormente. Saravanan *et al*¹⁴⁷, mencionan que Las alteraciones de los índices hemáticos (VCM, CHCM y HCM) en las diferentes concentraciones se dan como respuesta del organismo para equilibrar los cambios en el hematocrito, hemoglobina, numero de eritrocitos y leucocitos ocasionadas por agentes o sustancias estresores. No obstante, las variaciones en el comportamiento de los índices hematimétricos pudieron estar influenciados por un sesgo en el cálculo, puesto a que su determinación se realizó de manera matemática y no automatizada.

Los índices hematimétricos se utilizaron para la clasificación de las anemias, una condición en que la capacidad de la sangre en transportar oxígeno para los tejidos se reduce, lo que se conoce como hipoxia. Las anemias son caracterizadas por la disminución del número de eritrocitos, del volumen globular (hematocrito) y por la baja concentración de hemoglobina.

¹⁴⁵ GANGUILHET, Gabriela. Op. cit., p. 53-55.

¹⁴⁶ RANZANI-PAIVA, Maria José T., ISHIKAWA, Carlos M. Op. cit., p. 563.

¹⁴⁷ SARAVANAN, Manoharan, *et al.* Ecotoxicological impacts of clofibric acid and diclofenac in common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings: Hematological, biochemical, ionoregulatory and enzymological responses. 2011. Journal of Hazardous Materials, 195:188–194

El VCM (volumen corpuscular medio) se encontró dentro de los parámetros reportados por Ranzani-paiva & Ishikawa¹⁴⁸ (Tabla 14), dicha variable realiza una estimación del tamaño del eritrocito y cuando esté varía en tamaño se presenta una anisocitosis (condición en que los glóbulos rojos tienen un tamaño desigual), generalmente cuando los animales están anémicos. Normalmente los eritrocitos se producen en la medula, donde llevan a cabo su proceso de maduración, y cuando hay anemias causadas por: pérdida de sangre, hemorragias agudas, deficiencia de hierro, enfermedades infecciosas crónicas y enfermedades parasitarias o una infestación severa, su maduración se hace mucho más rápida, variando su tamaño y modificando los volúmenes corpusculares.

La CHCM (concentración media de hemoglobina) está por encima de los rangos mencionados en la (Tabla 14), esta variable genera una medida más objetiva y directa de la cantidad de hemoglobina, a su vez, busca determinar y clasificar el tipo de anemias en hipocrómicas y normocrómicas. La mayoría de veces es de tipo nutricional y en parasitosis ocurre de forma indirecta, porque los parásitos compiten por recursos.

5.8 PARÁMETROS FÍSICOS Y QUÍMICOS

En este estudio el análisis de los parámetros físico químicos, oxígeno, temperatura y pH en las unidades experimentales con *Mugil liza*, demostró que la media máxima se encuentra en los tratamientos 5 (12,53 mg/L), tratamiento 4 (28,50 °C) y tratamiento 1 (8,83) respectivamente. La media mínima de los parámetros oxígeno, temperatura y pH fueron, tratamiento control (3,43 mg/L) y tratamiento 5 (26,20 °C) y (8,16) respectivamente. Por otra parte, el análisis de varianza estableció la existencia de diferencias significativas ($p = 0,00$) por lo cual se acepta la hipótesis alterna H_1 entre los tratamientos experimentales de las variables oxígeno, temperatura y pH (Tabla 15, Anexo M).

Tabla 15. Parámetros físicos y químicos, medias de Oxígeno disuelto, Temperatura y Potencial de hidrógeno.

Tratamientos	N	Oxigeno (mg/L)	Temperatura (°C)	pH
Control	3	3,43 ± 1,10 ^a	26,20 ± 0,10 ^a	8,00 ± 0,00 ^a
Tratamiento 1	3	9,10 ± 0,10 ^b	26,90 ± 0,10 ^b	8,83 ± 0,28 ^b
Tratamiento 2	3	10,50 ± 0,36 ^c	27,13 ± 0,25 ^b	8,66 ± 0,28 ^c
Tratamiento 3	3	9,86 ± 0,49 ^b	27,70 ± 0,26 ^c	8,33 ± 0,28 ^c
Tratamiento 4	3	11,60 ± 0,52 ^c	28,50 ± 0,10 ^d	8,50 ± 0,00 ^c
Tratamiento 5	3	12,53 ± 0,37 ^d	28,33 ± 0,15 ^d	8,16 ± 0,28 ^c
Total	18	9,50 ± 3,05	27,46 ± 0,84	8,41 ± 0,35

Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$)

N = indica número de replicas

¹⁴⁸ RANZANI-PAIVA, Maria José T., ISHIKAWA, Carlos M. Op. cit., p. 563

Mediante análisis de Correlación de Pearson se identifica una asociación lineal positiva, significativa estadísticamente, entre la concentración de oxígeno (mg/L) registrado en las unidades experimentales y la temperatura en los tratamientos de seguimiento ($r= 0,84$; $p = 0,001$) (Tabla 16).

Tabla 16. Matriz de correlaciones de la condición fisicoquímica en las unidades experimentales.

		Oxigeno	Temperatura	pH
Oxigeno	Correlación de Pearson Sig. (bilateral) N	1 18	0,839** 0,000 18	0,342 0,165 18
Temperatura	Correlación de Pearson Sig. (bilateral) N	0,839** 0,000 18	1 18	-0,012 0,962 18
pH	Correlación de Pearson Sig. (bilateral) N	0,342 0,165 18	-0,012 0,962 18	1 18

**. La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

El coeficiente de determinación ($R^2 = 0,70$) permite inferir que la variabilidad del oxígeno en las unidades experimentales se explica en un 70% por la variabilidad en la temperatura del agua en los tratamientos evaluados (Anexo M). Mediante estimación curvilinear, se logra establecer que la curva de mejor ajuste es la lineal, en consecuencia la asociación entre oxígeno y temperatura se puede describir mediante la ecuación: oxígeno (mg/L)= 0,231 ($^{\circ}\text{C}$ temperatura).

Para la variable oxígeno las diferencias estadísticas se determinaron entre los tratamientos control ($3,43 \pm 1,10$) con menor media, T1 ($9,10 \pm 0,10$) y T5 ($12,53 \pm 0,37$) con mayor media (Anexo M).

Por su parte Rach¹⁴⁹, en su trabajo acerca de la eficiencia del peróxido de hidrógeno en el control de infestaciones parasitarias obtuvo concentraciones de oxígeno disuelto que oscilaron entre 7,6 y 13 mg/L en días de tratamiento y de 7,6 a 9,4 mg/L en días sin tratamiento. Un comportamiento similar fue encontrado en esta variable, con valores de oxígeno que variaron entre los 3,43 mg/L, sin influencia del producto en el tratamiento control y 12,53 mg/L, con la influencia del producto en el tratamiento 5 (350 mg/L), dichos valores se deben a la influencia que tiene el peróxido de hidrógeno al entrar en contacto con el agua, Lima *et al.*¹⁵⁰ observó que los niveles de oxígeno disuelto en el agua son más elevados en los tanques con aplicación de peróxido de hidrógeno.

¹⁴⁹ RACH, Jeff. Op. Cit., p. 7.

¹⁵⁰ LIMA, João *et al.* Utilização de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) no incremento de oxigênio dissolvido em cultivo de *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). Pesq. agropec. pernamb., Recife, 2012. v. 17. Em: <https://doi.org/10.12661/pap.2012.013>, p. 73.

De acuerdo con el estudio biológico preliminar para cultivo intensivo de *Mugil cephalus* realizado por Oliva¹⁵¹, los rangos de los parámetros fisicoquímicos que soporta *Mugil cephalus* son pH entre 8 a 9, O₂ disuelto entre 0 a 15 mg/L; Temperatura (°C) 10 a 24; Salinidad entre 10 y 35 ppt y Turbidez (NTU) < 5 hasta 100. Martins da Silva¹⁵², establece un valor de oxígeno ideal de 6,24 mg/L, sobre el desempeño zootécnico de juveniles de tainha, similar al registrado por Matos¹⁵³, en *Mugil plantanus* 6,1 mg/L. Según, Lima et al¹⁵⁴, bajas concentraciones de oxígeno influencian en el desarrollo de las especies acuáticas y los efectos adversos se manifiestan con mayor frecuencia en la reducción del crecimiento y en la gran susceptibilidad a enfermedades. Para el caso de esta investigación se reportaron valores promedio de oxígeno de $9,50 \pm 3,05$ mg/L media que sobrepasa los rangos ideales para el desempeño zootécnico de *M. liza*, sin embargo esta concentración de oxígeno solo se mantuvo durante el tiempo de acción del producto y no de manera constante, además las variaciones en este parámetro podrían estar relacionadas a la cantidad de producto utilizado y a la degradación del mismo en el agua.

Por otra parte la temperatura en las unidades de estudio, presentó diferencias significativas entre los tratamientos control ($26,20 \pm 0,10$) con la menor media, T3 ($27,70 \pm 0,26$) y T4 ($28,50 \pm 0,10$) con la mayor media (Anexo M). Dichas oscilaciones en los rangos de temperatura fueron influenciadas por la inexistencia de un control de la misma, mediante la implementación de equipos como termostatos que permitieran mantener un equilibrio entre las unidades experimentales, por ende, los valores de temperatura obtenidos, son el resultado de unidades experimentales mantenidas a temperatura ambiente.

De acuerdo con Hoai¹⁵⁵, la temperatura es uno de los parámetros que influye en el comportamiento y desarrollo del ciclo de vida en muchas especies de parásitos, en el caso de parásitos tipo monogénias dicha variable no es la excepción; este mismo autor menciona que las condiciones ambientales como las estaciones, la temperatura del agua y la salinidad, influyen en los ciclos de vida de los parásitos, incluyendo el tiempo de generación, la fecundidad, el período embrionario y la edad

¹⁵¹ OLIVA, Alfonso. Estudio biológico preliminar para cultivo intensivo de *Mugil cephalus*. Universidad de Concepción. Chile. 2019. P. 62.

¹⁵² MARTINS DA SILVA, Eduardo, et al. Desempenho zootécnico e custos de alimentação de juvenis de tainha submetidos à restrição alimentar. Pesq. agropec. bras. vol.48 no.8 Brasília Aug. 2013. p. 908.

¹⁵³ MATOS NEVES, Luis. Influência do cultivo de tainhas (*mugil plantanus*) e camarões (*litopenaeus vannamei*) sobre o desenvolvimento de comunidades perifíticas em substrato artificial, no extremo sul do brasil (rio grande, rs). Tese de Mestre. Universidade federal do Rio Grande – FURG, Rio Grande. 2009. p. 10.

¹⁵⁴ LIMA, João et al. Op. Cit., p. 75.

¹⁵⁵ HOAI, Dinh Truong. Estratégias reprodutivas de minhocas parasitárias (Platyhelminthes, Monogenea): o impacto no manejo de parásitos na aquicultura. 2020. Aquacult Int 28, 421-447. p. 9. Em: <https://doi.org/10.1007/s10499-019-00471-6>

en la madurez sexual. Hoai¹⁵⁶ también afirma que, para la mayoría de especies monogenéticos, la tasa de desarrollo (período embrionario, longevidad de la larva, edad de la madurez sexual y vida adulta), está influenciada por factores ambientales; las bajas temperaturas del agua dan lugar a un desarrollo lento de los huevos y parásitos que a temperaturas más altas. En una investigación realizada por Ernst *et al.*,¹⁵⁷ sobre el efecto de la temperatura, la salinidad y los tratamientos químicos sobre *Benedenia seriolae*, se evidencio que el período embrionario de los óvulos de *Benedenia* sp fue de 5 días a 28 °C y 16 días a 14 °C. Además Hirazawa *et al.*,¹⁵⁸ encontró que el tiempo de vida de *Neobenedenia girellae* después de la unión de larvas al huésped de *Seriola dumerili* (Carangidae), fue más corta con el aumento de la temperatura y que además influyen fuertemente en el desarrollo del huevo, lo que puede afectar el tiempo que tarda un monogono en completar su ciclo de vida.

Tubbs *et al.*,¹⁵⁹ afirma que *B. seriolae* alcanzó la madurez sexual a los 48, 25 y 20 días a los 13, 18 y 21 °C, respectivamente. Por su parte Brazenor y Hutson¹⁶⁰ demostraron que el ciclo de vida de *Neobenedenia* sp., fue más rápido en condiciones de calor en comparación con las condiciones más frías de 10 a 13 días a 26 y 32 °C en comparación con 15 y 16 días a 22 y 24 °C.

Sin embargo, según Small¹⁶¹ el efecto de la temperatura en la eficiencia del peróxido de hidrógeno como quimioterapéutico para la acuicultura se demostró por primera vez en el control de ectoparásitos branquiales que afectaban a los peces de agua dulce; en este estudio demostraron un aumento de la mortalidad asociada al uso del peróxido de hidrógeno a temperaturas crecientes, y llevaron a recomendar tipos de manejo que reduzcan el tiempo de los baños de inmersión a temperaturas más altas. Rach *et al.*,¹⁶² demostró que la toxicidad del peróxido de hidrógeno es mayor a temperaturas más altas y sugirió que las pisciculturas deberían de

¹⁵⁶ Ibid., p. 9

¹⁵⁷ ERNST, *et al.* Effects of temperature, salinity, desiccation and chemical treatments on egg embryonation and hatching success of *Benedenia seriolae* (Monogenea: Capsalidae), a parasite of farmed *Seriola* spp. 2005. J Fish Dis 28, p. 157–164

¹⁵⁸ HIRAZAWA, *et al.* The influence of different water temperatures on *Neobenedenia girellae* (Monogenea) infection, parasite growth, egg production and emerging second generation on amberjack *Seriola dumerili* (Carangidae) and the histopathological effect of this parasite on fish skin. 2010. Aquaculture 299, p. 2–7.

¹⁵⁹ TUBBS, *et al.* Effects of temperature on fecundity in vitro, egg hatching and reproductive development of *Benedenia seriolae* and *Zeuxapta seriolae* (Monogenea) parasitic on yellowtail kingfish *Seriola lalandi*. 2005. Int J Parasitol 35:315–327

¹⁶⁰ BRAZENOR, Alexander and HUTSON, Kate. Effects of temperature and salinity on the life cycle of *Neobenedenia* sp. (Monogenea: Capsalidae) infecting farmed barramundi (*Lates calcarifer*). 2015. Parasitol Res 114:1875–1886

¹⁶¹ SMALL, Brian. Accounting for Water Temperature during Hydrogen Peroxide Treatment of Channel Catfish Eggs. 2004. North American Journal of Aquaculture. p. 162–164. En: <https://doi.org/10.1577/A03-048.1>

¹⁶² RACH, Jeff *et al.* Effect of species, life stage, and water temperature on the toxicity of hydrogen peroxide to fish. 1997. The Progressive Fish-Culturist 59, p. 41–46

proporcionar oxigenación adicional, al tratar los peces en épocas de verano para tratar de reducir la mortalidad. En cambio, en esta investigación no se evidenció un posible efecto tóxico por parte del peróxido de hidrógeno para *Mugil liza* en temperaturas que llegaron hasta los 28°C.

Diversos elementos, enzimas y compuestos, además de luz, calor y pH alto, aceleran la degradación del peróxido de hidrógeno en el agua. Russo *et al.*¹⁶³, probó la estabilidad del peróxido de hidrógeno durante las pruebas, en tanques con peces ornamentales y en estanques de arcilla sin peces. En las pruebas del tanque, grupos de 17 a 25 peces fueron colocados en sistemas estáticos separados, que consisten en un acuario de vidrio que contiene 32 litros de agua y aireación. Las concentraciones iniciales de peróxido de hidrógeno oscilaron entre 1,2 y 26,9 mg/L. Se probó la concentración de peróxido de hidrógeno 1 hora y 24 horas después de la adición de la dosis inicial. Después de 1 hora, las concentraciones no variaron significativamente de las concentraciones iniciales en todos los tanques. Sin embargo, después de 24 horas, las concentraciones en todos los tanques habían disminuido a 0,4-0,8 mg/L. El peróxido de hidrógeno parece degradarse relativamente rápido en presencia de material orgánico y aireación; sin embargo, las diferencias en las especies, las diferencias en la edad y el tamaño de los peces, así como las diferencias en los parámetros de calidad del agua y otros factores, pueden alterar la eficacia del peróxido de hidrógeno y la toxicidad en los peces.

La variable pH presento diferencias estadísticamente significativas y se determinaron entre los tratamientos control ($8,00 \pm 0,00$) con menor media y T1 ($8,83 \pm 0,28$) con mayor media (Anexo J). Rach¹⁶⁴, menciona que el pH en concentraciones de 0 a 560 mg/L de peróxido de hidrógeno oscila entre 7,56 y 7,90. En este estudio se registraron valores de pH entre 8,1 y 8,8; los cuales son mayores a los registrados anteriormente, sin embargo, a pesar de su diferencia, presentan una condición alcalina en la escala del pH para ambos casos (Anexo M).

Por su parte Rach¹⁶⁵, menciona que el peróxido de hidrógeno al entrar en contacto con el agua genera una disminución del pH y en consecuencia el agua se acidifica; sin embargo, el comportamiento del pH en este estudio, genero un efecto contrario a lo mencionado, al aumentar y en consecuencia alcalinizar el agua.

Scheuer¹⁶⁶, proporciona rangos de pH de 7,22 a 7,57 en juveniles de tainha *Mugil liza* criados en agua dulce; Matos¹⁶⁷, menciona que la media de pH en agua salada para *Mugil plantanus* es de 8,1 en verano. Según Lima J *et al.*, “el agua estuarina

¹⁶³ RUSSO, Riccardo; CURTIS, Erik and YANONG, Roy. Preliminary investigations of hydrogen peroxide treatment of selected ornamental fishes and efficacy against external bacteria and parasites in green swordtails. *Journal of Aquatic Animal Health*. 2007. p. 121–127

¹⁶⁴ RACH, Jeff. Op. Cit., p. 6.

¹⁶⁵ Ibid., p. 6.

¹⁶⁶SCHEUER, Fernanda. Op. Cit., p. 30.

¹⁶⁷ MATOS NEVES, Luis. Op. Cit., p. 10.

suele tener valores de pH que oscilan entre 8 y 9, con fluctuaciones diarias más bajas en comparación con el agua dulce. En esta investigación la media promedio de pH para todo el estudio fue de $8,41 \pm 0,35$, valor que se encuentra acorde a lo mencionado por los anteriores autores y que además confirma que “Las aplicaciones de peróxido de hidrógeno no influyen en los cambios repentinos del pH”¹⁶⁸.

De acuerdo con Kubitza¹⁶⁹ en general, los peces cultivados presentan mejores resultados de producción y salud a niveles de pH en el agua que oscilan entre 7,5 y 8,5. Este mismo autor menciona que “el pH extremo, por sí solo, deprime la actividad alimentaria, reduce el crecimiento, afecta negativamente el FCR y suprime la respuesta inmune de los peces. Además los brotes de enfermedades severas, la alta mortalidad y el aumento de los costos de producción pueden ser consecuencias de la exposición frecuente de peces al pH alto del agua”¹⁷⁰.

En esta investigación la salinidad del agua se mantuvo constante durante todo el periodo experimental (baño de 1 hora y durante los 30 días) a 35‰. Ernst *et al.*,¹⁷¹ menciona que las salinidades superiores a 50 ‰ e inferiores a 15 ‰ dan lugar a una incubación limitada o inexistente de huevos para monogenoides marinos. Brazenor e Hutson¹⁷² demostraron que el agua de mar caliente y las condiciones salinas altas (24 - 32 °C, 35 - 40 ‰) mejoraron el éxito de la eclosión de huevos, redujeron el tiempo hasta la madurez sexual y dieron lugar a parásitos que alcanzaron la madurez sexual en un tamaño mayor (a 30 - 32 °C) en comparación con las condiciones más frías (22 °C).

Por otro lado, “un aumento sustancial de la salinidad también afecta el crecimiento de las especies de peces eurihalino, principalmente debido a la gran cantidad de energía desviada en procesos homeostáticos, como la osmorregulación”¹⁷³. Por lo tanto, es necesario que los individuos encuentren niveles óptimos de salinidad, donde se encontrarán las mayores tasas de crecimiento, con el menor costo energético. En opinión de Fanta-Feofiloff, *et al.*, “los juveniles de la especie *M. curema* tienen una tasa de supervivencia más alta en salinidad de 8,5 y el consumo de oxígeno es menor (tasa de compensación metabólica más baja) en comparación con la salinidad de 1,7”¹⁷⁴.

¹⁶⁸ LIMA, João *et al.* Op. Cit., p. 75.

¹⁶⁹ KUBITZA, Fernando. El parámetro de calidad del agua a menudo ignorado: pH. Global Aquaculture Advocate. 2017. p. 2.

¹⁷⁰ Ibid., p. 2.

¹⁷¹ ERNST, *et al.* Op. cit., p. 10.

¹⁷² BRAZENOR, Alexander y HUTSON, Kate. Op. cit., p.

¹⁷³ CARDONA, Luis. Habitat selection by grey mullets (*Osteichthyes, Mugilidae*) in Mediterranean estuaries: the role of salinity. Sci. Mar. 70: 443–455, 2006. P. 444.

¹⁷⁴ FANTA-FEOFILOFF, E. et al. Effect of salinity on the behavior and oxygen consumption of *Mugil curema* (Pisces: *Mugilidae*). Physiology and Behavior, 36: 1029–1034, 1986. P. 1033.

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 CONCLUSIONES

- La mejor concentración de peróxido de hidrógeno con respecto al tiempo en el test *in vitro*, para el control de infestaciones con *Neobenedenia* sp., fue de 350 mg/L (T5), la cual obtuvo un tiempo de acción de 3,6 minutos.
- *In vivo* se obtuvieron mortalidades de *Neobenedenia* sp., del 100% en concentraciones que oscilaron entre 200 y 350 mg/L de peróxido de hidrógeno, obteniendo una supervivencia al final del experimento del 100% de los juveniles de Tainha.
- La reinfestación parasitaria en *M. liza* al final del experimento (30 días después de la inmersión con el producto), fue del 0% en concentraciones de 200 hasta 350 mg/L, por tanto, se demuestra la efectividad del producto en la inhibición del ciclo de vida del parásito.
- A pesar de que dentro de las variables hematológicas de *Mugil liza*, la glucosa y hemoglobina presentaron diferencias significativas entre los tratamientos, los valores estimados están dentro del rango fisiológicamente permisible.
- Los resultados obtenidos en el hemograma permiten concluir que los juveniles de *Mugil liza* no estaban anémicos.
- Los parámetros físico químicos con diferencias significativas entre los tratamientos, se mantuvieron dentro de los rangos óptimos para el manejo zootécnico de *Mugil liza*.
- Existe una relación altamente significativa entre el oxígeno y la temperatura, por lo que la variabilidad del oxígeno en las unidades experimentales se explica en un 70% por la variabilidad en la temperatura del agua y por la adición del producto en los tratamientos evaluados.

6.2 RECOMENDACIONES

- Basados en los resultados anteriores se recomienda usar concentraciones con rangos entre los 200 hasta 300 mg/L de peróxido de hidrógeno para el control de *Neobenedenia* sp.
- Teniendo en cuenta que los resultados obtenidos con las diferentes concentraciones de peróxido de hidrógeno fueron eficaces en el control de

Neobenedenia sp., se recomienda realizar pruebas toxicológicas con el fin de profundizar sobre el comportamiento de *Mugil liza* bajo la influencia del producto.

- Para futuras investigaciones se sugiere llevar a cabo pruebas histológicas que permitan determinar los daños causados en los tejidos por la adición del producto (branquias, hígado) o por la influencia del parásito (tegumento) en *Mugil liza*.
- Se recomienda evaluar el producto en las diferentes fases del parásito, para obtener información precisa sobre el efecto del peróxido de hidrógeno en el ciclo de vida del mismo.
- Para posteriores investigaciones se recomienda establecer o clasificar los niveles de infestación parasitaria, mediante la realización de estudios específicos para *Mugil liza*, que permitan determinar la infestación mínima para esta especie en condiciones de confinamiento.
- Para obtener datos más concretos de estrés en *Mugil liza*, se recomienda realizar un análisis de cortisol que permita medir el estado de estrés crónico en los individuos.
- Difundir el protocolo de manejo de control del ectoparásito *Neobenedenia* sp., y manejo en cultivo de *M. liza*, de acuerdo a la presente investigación.

7. BIBLIOGRÁFIA

- ALAYE-RAHY, Norma, y MORALES José. Parámetros hematológicos y células sanguíneas de organismos juveniles del pescado blanco (*Chirostoma estor estor*) cultivados en Pátzcuaro, Michoacán. México. 2013. Hidrobiológica 23: 340-347. P. 344
- ALVAREZ-PELLITERO, Pilar. Fish immunity and parasite infections: from innate immunity to immunoprophylactic prospects. 2008. Vet. Immunol. Immunopathol. 126:171–198.
- ARTHANARI, Mohan y DHANAPALAN, Senthilkumar. Assessment of the haematological and serum biochemical parameters of three commercially important freshwater fishes in river Cauvery Velur, Namakkal district, Tamil Nadu, India. 2016. Int J Fish Aquat Stud 4. p. 157.
- BALDISSEROTTO, Bernardo y GOMES, Levy de Carvalho. Espécies nativas para piscicultura no Brasil. 2013. UFMS: Santa Maria. p. 200.
- BARANDICA, Lilian y TORT, Luis. Neuroendocrinología e inmunología de la respuesta al estrés en peces, Revista. Académica. Colombiana de Ciencias, ISSN 0370-3908, 2008, p.267, 269.
- BASTARDO Asmine y BARBERÁN Rosario. Parámetros hematológicos de la paragua, *Chaetodipterus faber* (Broussonet) (Pices: Ephippidae), en condiciones de cultivo. 2004. Zoo Trop 22: 361-370.
- BONDAD-REANTASO, Melba, *et al.* Disease and health management in Asian aquaculture. 2005. En: Vet. Parasitol. 132:249–72. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.07.005>
- BOWMAN, Dwighht. Parasitología para Veterinarios. Novena edición. Elsevier: Barcelona, España. 2011. ISBN 978-84-8086-705-4. p. 1
- BRASIL. CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE – CONAMA.
- BRAZENOR, Alexander and HUTSON, Kate. Effects of temperature and salinity on the life cycle of *Neobenedenia* sp. (Monogenea: Capsalidae) infecting farmed barramundi (*Lates calcarifer*). 2015. Parasitol Res 114:1875–1886
- BUSH, Albert *et al.* Parasitology Meets Ecology on Its Own Terms: Margolis et al. Revisited. The Journal of parasitology. Vol. 83. 1997. p. 578.

CAMPOS *et al.* Permanganato de potássio como agente terapêutico no controle de *Epistylis* sp., em cachara *Pseudoplatystoma reticulatum* e seus efeitos na hematologia. Inst. Pesca, São Paulo. 2014. p. 159.

CARDONA, Luis. Habitat selection by grey mullets (*Osteichthyes, Mugilidae*) in Mediterranean estuaries: the role of salinity. Sci. Mar. 70: 443–455, 2006. P. 444.

CASTELLÓ, Francesc. Piscicultura Marina en Latinoamérica. En: Publicaciones i Edicions de la Universitat de Barcelona, Barcelona. 2013. p. 312. ISBN 978-84-475-3436-4

CERQUEIRA, Vinicius. Cultivo de peixes marinhos. En: Carlos Rogério Poli; Annia Teclia Poli; Edemar Andreatta; Elpídio Beltrame. (Org.). Aqüicultura: Experiências Brasileiras. Florianópolis: Multitarefa Editora Ltda., 2004, v. 1, p. 369-406.

CHAMBERS, Clinton y ERNST, I. Dispersal of the skin fluke *Benedenia seriolae* (Monogenea: *Capsalidae*) by tidal currents and implications for sea-cage farming of *Seriola* sp. En: Aquaculture, v.250, 2005. p.60-69.

CÓRDOVA, Mauren. Utilización de *monogenea* (ectoparásitos de branquias) para la caracterización de las poblaciones de *serrasalmus rhombeus* en la cuenca amazónica de Bolivia. Cochabamba, Bolivia. Universidad Mayor de San Simón. 2004. p. 10 - 11.

DALBÓ, Amalia, *et al.* Hematological and morphometric blood value of four cultured species of economically important tropical foodfish. 2015. Neotrop Ichthyol 13: 439-446. doi: 10.1590/1982-0224-20140115

ERNST, *et al.* Effects of temperature, salinity, desiccation and chemical treatments on egg embryonation and hatching success of *Benedenia seriolae* (Monogenea: Capsalidae), a parasite of farmed *Seriola* spp. 2005. J Fish Dis 28, p. 157–164

FAJER-ÁVILA, Emma, *et al.* Effectiveness of freshwater treatment against *Lepeophtheirus simplex* (Copepoda: *Caligidae*) and *Neobenedenia* sp. (Monogenea: *Capsalidae*), skin parasites of bullseye puffer fish, *Sphoeroides annulatus* reared in tanks. 2008. En: Aquaculture 284:277–280. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.07.027>

FANTA-FEOFILOFF, E. *et al.* Effect of salinity on the behavior and oxygen consumption of *Mugil curema* (Pisces: *Mugilidae*). Physiology and Behavior, 36: 1029–1034, 1986. P. 1033.

FLORES, Carolina. Respuestas neuroendócrinas al estrés en peces teleósteos. Revista de ictiología, ISSN 0327-6090 2002 p.61.

FURLEY, Tatiana Heid; PERÔNICO, Clayton (Org.). Guia técnico de monitoramento dos efeitos ambientais em corpos hídricos. 2015. Vitória Es: Instituto Aplysia. 264 p.

GANGUILHET, Gabriela. Avaliação dos parâmetros hematológicos e bioquímicos de *Mugil liza* e *Mugil curema* como possíveis biomarcadores de impactos antrópicos na estação ecológica de Carijós. Tese de graduação, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil. 2019. p. 46-59.

GIMÉNEZ, Gemma, et al. Effects of a peroxide-based commercial on bacterial load of larval rearing water and on larval survival of two species of Sparidae under intensive culture: preliminary study. En: Aquaculture Research 40, 504-508. 2009. p. 93.

GOMIERO, Leandro y BRAGA, Francisco. Relação peso-comprimento e fator de condição de *Brycon opalinus* (*Pisces, Characiformes*) no Parque Estadual da Serra do Mar-Núcleo Santa Virgínia, Mata Atlântica, Estado de São Paulo, Brasil. 2006. Acta Scientiarum: Biological Sciences, p. 135-141.

HIRAZAWA, Noritaka, et al. Investigation of the toxicological and histopathological effects of hydrogen peroxide bath treatments at different concentrations on *Seriola* species and the effectiveness of these treatments on *Neobenedenia girellae* (Monogenea) infestations. 2017. En: Aquaculture 479:217–224. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.05.019>

HIRAZAWA, et al. The influence of different water temperatures on *Neobenedenia girellae* (Monogenea) infection, parasite growth, egg production and emerging second generation on amberjack *Seriola dumerili* (Carangidae) and the histopathological effect of this parasite on fish skin. 2010. Aquaculture 299, p. 2–7.

HIRAZAWA, Noritaka; ISHIZUKA, Risa Y HAGIWARA, Hiroko. The effects of *Neobenedenia girellae* (Monogenea) infection on host amberjack *Seriola dumerili* (Carangidae): Hematological and histopathological analyses. 2016a. En: Aquaculture 461, p.32–39. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.04.007>

HOAI, Dinh Truong. Estratégias reprodutivas de minhocas parasitárias (Platyhelminthes, Monogenea): o impacto no manejo de parasitas na aquicultura. 2020. Aquacult Int 28, 421-447. p. 1. Em: <https://doi.org/10.1007/s10499-019-00471-6>

JERÔNIMO, Gabriela, et al., Haematological and histopathological analysis in South American fish *Piaractus mesopotamicus* parasitized by monogenean (*Dactylogyridae*). Braz J Biol 74: 1000- 1006. doi: 10.1590/1519-6984.09513. 2014. p. 1003.

KHON, Anna; JUSTO, Marcia y COHEN, Simone. Monogenoidea. En: EIRAS, J.C., VELLOSO, A. L. & PEREIRA, J. Parasitos de peixes marinhos de América do Sul. Furg: Rio Grande. 2016. p. 51.

KUBITZA, Fernando. El parámetro de calidad del agua a menudo ignorado: pH. Global Aquaculture Advocate. 2017. p. 2.

LIMA, João et al. Utilização de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) no incremento de oxigênio dissolvido em cultivo de *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). Pesq. agropec. pernamb., Recife, 2012. v. 17. Em: <https://doi.org/10.12661/pap.2012.013>, p. 73.

MAGNADÓTTIR, Bergliot. Innate immunity of fish (overview). 2006. Fish Shellfish Immunol. 20:137–51. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2004.09.006>

MARTINEZ, Claudia; AZEVEDO, Fabio y WINKALER, Elissandra. Toxicidade e efeitos da amônia em peixes neotropicais. In: Cyrino, J.E.P.; Urbinati, E.C. (Eds). Tópicos especiais em biologia aquática e aquicultura. Jaboticabal: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática. 2006. p. 81-95.

MARTÍNEZ, Enrique et al. Detección de parásitos en peces marinos destinados al consumo humano en Lima Metropolitana. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú. Lima, Perú. 2017. p. 162 – 164

MARTINS DA SILVA, Eduardo et al. Desempenho zootécnico e custos de alimentação de juvenis de Tainha submetidos à restrição alimentar. Pesq. agropec. bras. vol.48 no.8 Brasília Aug. 2013. p. 908.

MATOS NEVES, Luis. Influência do cultivo de Tainhas (*mugil platanus*) e camarões (*litopenaeus vannamei*) sobre o desenvolvimento de comunidades perifíticas em substrato artificial, no extremo sul do brasil (rio grande, rs). Tese de Mestre. Universidade federal do Rio Grande – FURG, Rio Grande. 2009. p. 10.

MEIRA-FILHO, Mario, et al. Toxicidade e avaliação parasiticida in vivo e in vitro do ácido acético em ectoparasitos metazoários em juvenis de *Mugil liza*. Tese, Universidade Federal de Rio Grande, Rio Grande, Brasil. 2017. p. 3.

MERAJ, Maryum, et al. Hematological profiling of *Triplophysa marmorata* (Heckel 1838) from water bodies of Kashmir HimalayaA Perspective. J Fish Aquat Sci 11: 296- 303 doi: 10.3923/jfas.2016.296.303. 2016. p. 300.

MEZA, Fernando. Carga parasitaria e índices biológicos y hematológicos en híbridos de tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis mossambicus*) cultivada en

agua de mar. Tesis de maestria. Ensenada, Baja California. Mexico. 2015. p. 17 - 19.

MIGAUD, Herve, et al. Comparative ploidy response to experimental hydrogen peroxide exposure in Atlantic salmon (*Salmo salar*). Institute of Aquaculture, University of Stirling, Stirling, FK9 4LA, UK. 2018. p. 3.

MIRANDA-FILHO, Kleber, et al. Tainha. Espécies nativas para a piscicultura no Brasil. UFSM, Santa Maria. En: Baldisseroto, B. e Gomes, L. C. (Org.). 2010. p. 541-552.

OCAMPO, Ana y CAMBEROS, Luis. Diagnóstico de estrés en peces. Universidad Nacional Autónoma de México. Revista Redalyc ISSN: 0301-5092. México D.F. 1999. p. 33.

OCHOA, Daniel y GONZÁLEZ, Jaime. En: Estrés oxidativo en peces inducido por contaminantes ambientales. Revista de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. p 115, 117. (p. 115-126).

OGAWA, K. Diseases of cultured marine fishes caused by *Platyhelminthes* (Monogenea, Digenea, Cestoda). 2015. En: Parasitology 142:178–195. <https://doi.org/10.1017/S0031182014000808>

OHASHI, H., et al. Antiparasitic effect of calcium and magnesium ion-free buffer treatments against a common monogenean *Neobenedenia girellae*. 2007. Parasitology 134:229–236. <https://doi.org/10.1017/S0031182006001430>

OHNO, Yasuhiro; KAWANO, Fumi y HIRAZAWA, Noritaka. Susceptibility by amberjack (*Seriola dumerili*), yellowtail (*S-quinqueradiata*) and Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) to *Neobenedenia girellae* (Monogenea) infection and their acquired protection. 2008. En: Aquaculture 274:30–35. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.11.013>

OLIVA, Alfonso. Estudio biológico preliminar para cultivo intensivo de *Mugil cephalus*. Universidad de Concepción. Chile. 2019. P. 62.

OLIVEIRA, Idili da Rocha y SOARES, Lucy Satiko. Alimentação da Tainha *Mugil platanus*, Gunther 1880 (Pisces Mugilidae) da região estuarino-lagunar de Cananéia, 1996. São Paulo, Brasil. Boletim do Instituto de Pesca, 23, 95-104.

OLIVEIRA, Sandra. Estrutura de comunidades ícticas do sistema lagunar de Piratininga-Itaipu, Niterói, RJ. Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1997. p. 288.

PAHOR-FILHO, Eduardo, et al. Parasitology of juvenile mullet (*Mugil liza*) and effect of formaldehyde on parasites and hosts. Aquaculture, 354–355. 2012, p. 3

PANTOJA, Ángela. Concentración letal 50 (CL₅₀) del sulfonato de alquilbenceno de cadena lineal (LAS) en larvas de (*Rhamdia quelen*). Pasto, Colombia. Tesis de grado para optar al título de ingeniera acuícola. Universidad de Nariño. 2015. P. 30 y 31.

PRIETO, Adela. La prevención y el control de enfermedades en el cultivo e peces. España. 2004. p. 10. En: Libro Blanco de la Ictiopatología. Revista Electrónica de Veterinaria REDVET. ISSN 1695-7504, https://www.adiveter.com/ftp_public/articulo899.pdf.

QUIROZ, Romero. Parasicología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. Noriega Editores. 5° Ed. Santa Cruz - Bolivia. 1994. p. 111

RACH, et al. Effect of species, life stage, and water temperature on the toxicity of hydrogen peroxide to fish. 1997. The Progressive Fish-Culturist 59, p. 41–46

RACH, Jeff; GAIKOWSKI, Mark e RASMSAY, Robert. Ecácia do peróxido de hidrogênio no controle de infestações parasitárias em peixes criados em incubatórios. 2011. Revista de Saude Animal Aquatica, Em: [https://doi.org/10.1577/1548-8667\(2000\)012<0267:EOHPTC>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8667(2000)012<0267:EOHPTC>2.0.CO;2). p. 1-2.

RANZANI PAIVA, María José, et al. Métodos para analise hematológica em peixes. Maringá. Universidade estadual de Maringá. 2013. p. 13 – 117.

RANZANI-PAIVA, Maria José, ISHIKAWA, Carlos. Haematological Characteristics Of Freshwater-Reared And Wild Mullet, *Mugil Platanus* Günther (Osteichthyes, Mugilloae). 1996. Revista Brasileira de Zoologia, São Paulo, v. 13, n. 3, p. 563.

RICO, Andreu, et al. Use of veterinary medicines, feed additives and probiotics in four major internationally traded aquaculture species farmed in Asia. 2013. En: Aquaculture 412–413:231–243. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.07.028>

ROBERTA, Lyrio Santos. Avaliação da contaminação de óleo no ambiente estuarino da Baía de Guanabara (RJ) pela determinação fluorimétrica de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) na bílis de peixes *Mugil liza*. 2006. Rio de Janeiro. Puc rio certificação digital 0410380.

ROCHA, Arthur, et al. Metabolic demand and growth of juveniles of *Centropomus parallelus* as function of salinity. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 316. 2004. P. 157-165.

RODRÍGUEZ, Miranda *et al.* En: Boletín del Programa Nacional de Sanidad Acuícola y la Red de Diagnóstico. Universidad Autónoma Metropolitana, Xochimilco. Editorial CONAPESCA. 2001 p. 14.

ROQUE, *et al.* Physiological stress responses of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) to hydrogen peroxide (H₂O₂) exposure. 2010. Aquaculture 304, p. 104–107

RUSSO, Riccardo; CURTIS, Erik and YANONG, Roy. Preliminary investigations of hydrogen peroxide treatment of selected ornamental fishes and efficacy against external bacteria and parasites in green swordtails. Journal of Aquatic Animal Health. 2007. p. 121–127

SÁEZ *et al.* Parámetros hematológicos y de bioquímica sanguínea en diez especies de peces marinos capturados por pesquería artesanal en la Bahía del Callao, Perú. 2018. Rev Inv Vet Perú 29(4): 1161-1177. P. 1170.

SANCHES, Eduardo y VIANNA, Rogério. Ocorrência de *Neobenedenia melleni* (monogenea: Capsalidae) em garoupa-verdadeira, *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834), cultivada em tanques-rede. En: Arquivos de Ciências do mar, Fortaleza. 2007. p. 97.

SÁNCHEZ, Ingrid, *et al.* Respuesta hematológica y bioquímica en juveniles de Paiche *Arapaima Gigas* sometidos a diferentes concentraciones de amonio. Instituto de investigaciones de la Amazonía peruana. Folia amazónica. vol. 26 (1) 2017. p. 54. Doi: <https://doi.org/10.24841/fa.v26i1.418>

SARAVANAN, Manoharan, *et al.* Ecotoxicological impacts of clofibric acid and diclofenac in common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings: Hematological, biochemical, ionoregulatory and enzymological responses. 2011. Journal of Hazardous Materials, 195:188–194.

SCHEUER, Fernanda. Efeito da dureza da água em juvenis de Tainha (*Mugil liza*) criados em água doce. Tese de Mestrado. Universidade federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2017., p. 33.

SHAPIRO, Leland. The Variety of Parasites. En: Pathology and parasitology for veterinary technicians. 2005. ISBN 978-1-4018-3745-7. p. 111.

SHARP, Natasha, *et al.* Efficacy of Aqui-S, formalin and praziquantel against the monogeneans, *Benedenia seriolae* and *Zeuxapta seriolae*, infecting yellowtail kingfish *Seriola lalandi* in New Zealand. 2004. En: Aquaculture 236:67–83. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.02.005>

SILVA, Andreza y GONÇALVES, Roberto. Espécies reativas do oxigênio e as doenças respiratórias em grandes animais. 2010. Ciência Rural, [s.l.], v. 40, n. 4,

p.994-1002, 26 mar. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0103-84782010005000037>.

SMALL, Brian. Accounting for Water Temperature during Hydrogen Peroxide Treatment of Channel Catfish Eggs. 2004. North American Journal of Aquaculture. p. 162–164. En: <https://doi.org/10.1577/A03-048.1>

STRYKOWSKI, Jennifer y SCHECH, Joseph. Effectiveness of recommended euthanasia methods in larval zebrafish (*Danio rerio*). 2015. J Am Assoc Lab Anim Sci. 54(1):81-84.

THONET, Dennis y HARGIS, William. Monogenea (*platyhelminthes*) as hazards for fish in confinement. 1991. En: Annu. Rev. Fish Dis. 1:133–153. [https://doi.org/10.1016/0959-8030\(91\)90027-H](https://doi.org/10.1016/0959-8030(91)90027-H)

TORANZO, Alicia et al. Uso de peróxido de hidrogênio contra o patógeno do peixe *Tenacibaculum maritimum* e seu efeito no pregado infectado (*Scophthalmus maximus*). 2006. Aquaculture. V. 257. Em: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.02.043>, p. 1.

TORT, Lluis; BALASCH, Joan y MACKENZIE, Simon. Fish immune system. A crossroads between innate and adaptive responses Immunologia, 22 (2003), pp. 277-286.

TRASVIÑA, Gabriela. Influencia de compuestos anti-parasitarios de origen natural en la respuesta inmune y control de la infección con *Neobenedenia sp* en *Seriola lalandi*. La paz, Baja California. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. 2018. p.8.

TUBBS, et al. Effects of temperature on fecundity in vitro, egg hatching and reproductive development of *Benedenia seriolae* and *Zeuxapta seriolae* (Monogenea) parasitic on yellowtail kingfish *Seriola lalandi*. 2005. Int J Parasitol 35:315–327

VAZZOLER, Anna. Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática. Apresentação de Paulo de Tarso da Cunha Chaves -- Maringá : EDUEM ; São Paulo : SBI, 1996. 169 p. : il. 1996. Nupélia, Maringá, p. 129

WENDELAAR, Bonga. The stress response in fish. Physiological Reviews 77. 1997. P. 591-625.

WHITTINGTON, Ian. *Benedenia seriolae* and *Neobenedenia* Species. in: Woo, P.T.K., Buchmann, K. (Eds.), Fish Parasites: Pathobiology and Protection. CABI, Wallingford, Oxfordshire, UK., 2012. p. 225–244.

YAMAMOTO, Shinji y FUKUSHIMA, Atsuhiro. Shading of net cage is an effective control measure against skin fluke *Neobenedenia girellae* infection in chub mackerel *Scomber japonicus*. 2014. En: Fish. Sci. 80:1021–1026.
<https://doi.org/10.1007/s12562-014- 0781-3>

YAMAMOTO, Shinji, et al. Efficacy of oral praziquantel treatment against the skin fluke infection of cultured chub mackerel, *Scomber japonicus*. 2011. p. 53–57. En: Aquaculture 319: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.06.045>

ANEXOS

Anexo A. Análisis estadístico para la variable tiempo de acción del peróxido de hidrógeno test in vitro.

Estadísticos descriptivos Variable dependiente: Tiempo.

	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Control	3	60,0000	,00000	,00000	60,0000	60,0000	60,00	60,00
Tratamiento 1	3	32,0000	,00000	,00000	32,0000	32,0000	32,00	32,00
Tratamiento 2	3	15,0000	,00000	,00000	15,0000	15,0000	15,00	15,00
Tratamiento 3	3	10,0000	,00000	,00000	10,0000	10,0000	10,00	10,00
Tratamiento 4	3	9,3333	,57735	,33333	7,8991	10,7676	9,00	10,00
Tratamiento 5	3	3,6667	,57735	,33333	2,2324	5,1009	3,00	4,00
Total	18	21,6667	19,85240	4,67925	11,7943	31,5390	3,00	60,00

Análisis de Varianza. Variable Dependiente Tiempo.

	Suma de cuadrados	GI	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	6698,667	5	1339,733	12057,600	,000
Dentro de grupos	1,333	12	,111		
Total	6700,000	17			

Subconjuntos homogéneos. HSD Tukey^a Tiempo.

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
Tratamiento 5	3	3,6667				
Tratamiento 4	3		9,3333			
Tratamiento 3	3			10,0000		
Tratamiento 2	3				15,0000	
Tratamiento 1	3					32,0000
Control	3					60,0000

Sig.		1,000	,214	1,000	1,000	1,000
------	--	-------	------	-------	-------	-------

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000

Pruebas post hoc. Comparaciones múltiples HSD Tukey. Variable dependiente Tiempo.

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Control	Tratamiento 1	28,00000*	,27217	,000	27,0858	28,9142
	Tratamiento 2	45,00000*	,27217	,000	44,0858	45,9142
	Tratamiento 3	50,00000*	,27217	,000	49,0858	50,9142
	Tratamiento 4	50,66667*	,27217	,000	49,7525	51,5808
	Tratamiento 5	56,33333*	,27217	,000	55,4192	57,2475
Tratamiento 1	Control	-28,00000*	,27217	,000	-28,9142	-27,0858
	Tratamiento 2	17,00000*	,27217	,000	16,0858	17,9142
	Tratamiento 3	22,00000*	,27217	,000	21,0858	22,9142
	Tratamiento 4	22,66667*	,27217	,000	21,7525	23,5808
	Tratamiento 5	28,33333*	,27217	,000	27,4192	29,2475
Tratamiento 2	Control	-45,00000*	,27217	,000	-45,9142	-44,0858
	Tratamiento 1	-17,00000*	,27217	,000	-17,9142	-16,0858
	Tratamiento 3	5,00000*	,27217	,000	4,0858	5,9142
	Tratamiento 4	5,66667*	,27217	,000	4,7525	6,5808
	Tratamiento 5	11,33333*	,27217	,000	10,4192	12,2475
Tratamiento 3	Control	-50,00000*	,27217	,000	-50,9142	-49,0858
	Tratamiento 1	-22,00000*	,27217	,000	-22,9142	-21,0858
	Tratamiento 2	-5,00000*	,27217	,000	-5,9142	-4,0858

	Tratamiento 4	,66667	,27217	,214	-,2475	1,5808
	Tratamiento 5	6,33333*	,27217	,000	5,4192	7,2475
Tratamiento 4	Control	-50,66667*	,27217	,000	-51,5808	-49,7525
	Tratamiento 1	-22,66667*	,27217	,000	-23,5808	-21,7525
	Tratamiento 2	-5,66667*	,27217	,000	-6,5808	-4,7525
	Tratamiento 3	-,66667	,27217	,214	-1,5808	,2475
	Tratamiento 5	5,66667*	,27217	,000	4,7525	6,5808
Tratamiento 5	Control	-56,33333*	,27217	,000	-57,2475	-55,4192
	Tratamiento 1	-28,33333*	,27217	,000	-29,2475	-27,4192
	Tratamiento 2	-11,33333*	,27217	,000	-12,2475	-10,4192
	Tratamiento 3	-6,33333*	,27217	,000	-7,2475	-5,4192
	Tratamiento 4	-5,66667*	,27217	,000	-6,5808	-4,7525

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Anexo B. Análisis estadístico mortalidad de *Neobenedenia sp.*, test in vitro.

Pruebas de efectos inter-sujetos. Variable dependiente: Mortalidad

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	250,000 ^a	5	50,000	6,338 E+31	,000
Intersección	1250,000	1	1250,000	1,584 E+33	,000
Tiempo	250,000	5	50,000	6,338 E+31	,000
Error	9,466E-30	12	7,889E-31		
Total	1500,000	18			
Total corregido	250,000	17			

a. R al cuadrado = 1,000 (R al cuadrado ajustada = 1,000)

Subconjuntos homogéneos HSD Tukey^{a,b} Mortalidad

Tiempo	N	Subconjunto	
		1	2
60 minutos	3	,0000	

32 minutos	3		10,0000
15 minutos	3		10,0000
10 minutos	3		10,0000
9 minutos	3		10,0000
4 minutos	3		10,0000
Sig.		1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = 7,889E-31.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000

b. Alfa = 0.05

Anexo C. Análisis estadísticos variables zootécnicas al inicio del estudio test in vivo.

Estadísticos descriptivos Variable dependiente: Peso Inicial

	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Control	9	36,5411	5,58595	1,86198	32,2474	40,8349	24,30	43,29
150 mg/L	9	36,8533	6,82694	2,27565	31,6057	42,1010	27,52	46,56
200 mg/L	9	33,5900	4,85307	1,61769	29,8596	37,3204	26,68	43,12
250 mg/L	9	32,8522	5,36469	1,78823	28,7286	36,9759	26,06	40,77
300 mg/L	9	33,8000	6,58969	2,19656	28,7347	38,8653	21,55	43,20
300 mg/L	9	37,8644	6,92228	2,30743	32,5435	43,1854	21,54	44,57
Total	54	35,2502	6,09206	,82902	33,5874	36,9130	21,54	46,56

Análisis de Varianza. Variable Dependiente Peso inicial.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	195,124	5	39,025	1,057	,396
Dentro de grupos	1771,873	48	36,914		
Total	1966,997	53			

Comparaciones múltiples Prueba Pos hoc HSD Tukey. Variable dependiente: Peso Inicial

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Control	150 mg/L	-,31222	2,86411	1,000	-8,8126	8,1881
	200 mg/L	2,95111	2,86411	,905	-5,5493	11,4515
	250 mg/L	3,68889	2,86411	,790	-4,8115	12,1893
	300 mg/L	2,74111	2,86411	,929	-5,7593	11,2415
	300 mg/L	-1,32333	2,86411	,997	-9,8237	7,1770
150 mg/L	Control	,31222	2,86411	1,000	-8,1881	8,8126
	200 mg/L	3,26333	2,86411	,862	-5,2370	11,7637
	250 mg/L	4,00111	2,86411	,729	-4,4993	12,5015
	300 mg/L	3,05333	2,86411	,892	-5,4470	11,5537
	300 mg/L	-1,01111	2,86411	,999	-9,5115	7,4893
200 mg/L	Control	-2,95111	2,86411	,905	-11,4515	5,5493
	150 mg/L	-3,26333	2,86411	,862	-11,7637	5,2370
	250 mg/L	,73778	2,86411	1,000	-7,7626	9,2381
	300 mg/L	-,21000	2,86411	1,000	-8,7104	8,2904
	300 mg/L	-4,27444	2,86411	,671	-12,7748	4,2259
250 mg/L	Control	-3,68889	2,86411	,790	-12,1893	4,8115
	150 mg/L	-4,00111	2,86411	,729	-12,5015	4,4993
	200 mg/L	,73778	2,86411	1,000	-9,2381	7,7626
	300 mg/L	-,94778	2,86411	,999	-9,4481	7,5526
	300 mg/L	-5,01222	2,86411	,507	-13,5126	3,4881
300 mg/L	Control	-2,74111	2,86411	,929	-11,2415	5,7593
	150 mg/L	-3,05333	2,86411	,892	-11,5537	5,4470
	200 mg/L	-,21000	2,86411	1,000	-8,2904	8,7104
	250 mg/L	,94778	2,86411	,999	-7,5526	9,4481
	300 mg/L	-4,06444	2,86411	,715	-12,5648	4,4359
300 mg/L	Control	1,32333	2,86411	,997	-7,1770	9,8237
	150 mg/L	1,01111	2,86411	,999	-7,4893	9,5115
	200 mg/L	4,27444	2,86411	,671	-4,2259	12,7748
	250 mg/L	5,01222	2,86411	,507	-3,4881	13,5126
	300 mg/L	4,06444	2,86411	,715	-4,4359	12,5648

Subconjuntos homogéneos. HSD Tukey^a Peso inicial.

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
250 mg/L	9	32,8522

200 mg/L	9	33,5900
300 mg/L	9	33,8000
Control	9	36,5411
150 mg/L	9	36,8533
300 mg/L	9	37,8644
Sig.		,507
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.		
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 9,000.		

Estadísticos descriptivos Variable dependiente: Longitud Inicial

	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Control	9	12,0111	,74237	,24746	11,4405	12,5817	10,50	13,00
150 mg/L	9	12,2778	,87433	,29144	11,6057	12,9498	11,00	13,50
200 mg/L	9	12,0111	,60093	,20031	11,5492	12,4730	11,20	13,20
250 mg/L	9	11,7222	,59325	,19775	11,2662	12,1782	10,80	12,50
300 mg/L	9	11,8000	,90139	,30046	11,1071	12,4929	10,10	12,90
300 mg/L	9	12,5222	,64377	,21459	12,0274	13,0171	11,30	13,40
Total	54	12,0574	,75326	,10251	11,8518	12,2630	10,10	13,50

Análisis de Varianza. Variable Dependiente Longitud Inicial.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	4,028	5	,806	1,485	,212
Dentro de grupos	26,044	48	,543		
Total	30,072	53			

Comparaciones múltiples Prueba Pos hoc HSD Tukey. Variable dependiente: Longitud Inicial

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior

	150 mg/L	-,26667	,34724	,972	-1,2972	,7639
	200 mg/L	,00000	,34724	1,000	-1,0306	1,0306
	250 mg/L	,28889	,34724	,960	-,7417	1,3195
	300 mg/L	,21111	,34724	,990	-,8195	1,2417
	300 mg/L	-,51111	,34724	,683	-1,5417	,5195
150 mg/L	Control	,26667	,34724	,972	-,7639	1,2972
	200 mg/L	,26667	,34724	,972	-,7639	1,2972
	250 mg/L	,55556	,34724	,603	-,4750	1,5861
	300 mg/L	,47778	,34724	,741	-,5528	1,5084
	300 mg/L	-,24444	,34724	,981	-1,2750	,7861
200 mg/L	Control	,00000	,34724	1,000	-1,0306	1,0306
	150 mg/L	-,26667	,34724	,972	-,1,2972	,7639
	250 mg/L	,28889	,34724	,960	-,7417	1,3195
	300 mg/L	,21111	,34724	,990	-,8195	1,2417
	300 mg/L	-,51111	,34724	,683	-1,5417	,5195
250 mg/L	Control	-,28889	,34724	,960	-1,3195	,7417
	150 mg/L	-,55556	,34724	,603	-1,5861	,4750
	200 mg/L	-,28889	,34724	,960	-1,3195	,7417
	300 mg/L	,07778	,34724	1,000	-1,1084	,9528
	300 mg/L	-,80000	,34724	,213	-1,8306	,2306
300 mg/L	Control	-,21111	,34724	,990	-1,2417	,8195
	150 mg/L	-,47778	,34724	,741	-1,5084	,5528
	200 mg/L	-,21111	,34724	,990	-1,2417	,8195
	250 mg/L	,07778	,34724	1,000	-,9528	1,1084
	300 mg/L	-,72222	,34724	,315	-1,7528	,3084
300 mg/L	Control	,51111	,34724	,683	-,5195	1,5417
	150 mg/L	,24444	,34724	,981	-,7861	1,2750
	200 mg/L	,51111	,34724	,683	-,5195	1,5417
	250 mg/L	,80000	,34724	,213	-,2306	1,8306
	300 mg/L	,72222	,34724	,315	-,3084	1,7528

Subconjuntos homogéneos. HSD Tukey^a Longitud Inicial

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
250 mg/L	9	11,7222
300 mg/L	9	11,8000
200 mg/L	9	12,0111
Control	9	12,0111
150 mg/L	9	12,2778
300 mg/L	9	12,5222
Sig.		,213

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 9,000.

Anexo D. Análisis estadísticos variables zootécnicas al final del estudio test in vivo.

	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Control	9	55,3544	23,54148	7,84716	37,2589	73,4500	32,33	108,94
150 mg/L	8	56,9025	8,54713	3,02187	49,7569	64,0481	38,87	63,94
200 mg/L	8	46,0538	11,93749	4,22054	36,0738	56,0337	26,34	63,79
250 mg/L	7	65,0114	12,94710	4,89354	53,0374	76,9855	44,72	82,51
300 mg/L	8	49,9125	13,36595	4,72558	38,7383	61,0867	25,78	64,50
300 mg/L	8	46,5238	3,84445	1,35922	43,3097	49,7378	41,02	51,23
Total	48	53,0919	14,79025	2,13479	48,7972	57,3865	25,78	108,94

Análisis de Varianza. Variable Dependiente Peso final.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1979,041	5	395,808	2,002	,098
Dentro de grupos	8302,275	42	197,673		
Total	10281,317	47			

Comparaciones múltiples Prueba Pos hoc HSD Tukey. Variable dependiente: Peso final

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Control	150 mg/L	-1,54806	6,83175	1,000	-21,9425	18,8464
	200 mg/L	9,30069	6,83175	,749	-11,0938	29,6952
	250 mg/L	-9,65698	7,08539	,748	-30,8086	11,4947
	300 mg/L	5,44194	6,83175	,967	-14,9525	25,8364
	300 mg/L	8,83069	6,83175	,787	-11,5638	29,2252
150 mg/L	Control	1,54806	6,83175	1,000	-18,8464	21,9425
	200 mg/L	10,84875	7,02982	,639	-10,1370	31,8345

	250 mg/L	-8,10893	7,27655	,873	-29,8312	13,6134
	300 mg/L	6,99000	7,02982	,917	-13,9957	27,9757
	300 mg/L	10,37875	7,02982	,681	-10,6070	31,3645
200 mg/L	Control	-9,30069	6,83175	,749	-29,6952	11,0938
	150 mg/L	-10,84875	7,02982	,639	-31,8345	10,1370
	250 mg/L	-18,95768	7,27655	,118	-40,6800	2,7646
	300 mg/L	-3,85875	7,02982	,994	-24,8445	17,1270
	300 mg/L	-,47000	7,02982	1,000	-21,4557	20,5157
250 mg/L	Control	9,65698	7,08539	,748	-11,4947	30,8086
	150 mg/L	8,10893	7,27655	,873	-13,6134	29,8312
	200 mg/L	18,95768	7,27655	,118	-2,7646	40,6800
	300 mg/L	15,09893	7,27655	,320	-6,6234	36,8212
	300 mg/L	18,48768	7,27655	,136	-3,2346	40,2100
300 mg/L	Control	-5,44194	6,83175	,967	-25,8364	14,9525
	150 mg/L	-6,99000	7,02982	,917	-27,9757	13,9957
	200 mg/L	3,85875	7,02982	,994	-17,1270	24,8445
	250 mg/L	-15,09893	7,27655	,320	-36,8212	6,6234
	300 mg/L	3,38875	7,02982	,997	-17,5970	24,3745
300 mg/L	Control	-8,83069	6,83175	,787	-29,2252	11,5638
	150 mg/L	-10,37875	7,02982	,681	-31,3645	10,6070
	200 mg/L	,47000	7,02982	1,000	-20,5157	21,4557
	250 mg/L	-18,48768	7,27655	,136	-40,2100	3,2346
	300 mg/L	-3,38875	7,02982	,997	-24,3745	17,5970

Subconjuntos homogéneos. HSD Tukey^a Peso final.

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
200 mg/L	8	46,0538
300 mg/L	8	46,5238
300 mg/L	8	49,9125
Control	9	55,3544
150 mg/L	8	56,9025
250 mg/L	7	65,0114
Sig.		,099

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 7,958.

b. Los tamaños de grupo no son iguales. Se utiliza la media armónica de los tamaños de grupo. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

Estadísticos descriptivos Variable dependiente: Longitud Final.

	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Control	9	13,4111	1,66015	,55338	12,1350	14,6872	11,50	16,90
150 mg/L	8	13,7250	,86808	,30691	12,9993	14,4507	12,00	14,70
200 mg/L	8	13,0625	1,18072	,41745	12,0754	14,0496	11,00	14,50
250 mg/L	7	14,3714	,82404	,31146	13,6093	15,1335	13,20	15,70
300 mg/L	8	13,1125	1,38196	,48860	11,9572	14,2678	10,60	14,50
300 mg/L	8	13,2625	,44701	,15804	12,8888	13,6362	12,70	14,20
Total	48	13,4708	1,17473	,16956	13,1297	13,8119	10,60	16,90

Análisis de Varianza. Variable Dependiente Longitud Final.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	8,935	5	1,787	1,342	,266
Dentro de grupos	55,924	42	1,332		
Total	64,859	47			

Comparaciones múltiples Prueba Pos hoc HSD Tukey. Variable dependiente: Longitud Final.

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Control	150 mg/L	-,31389	,56070	,993	-1,9877	1,3600
	200 mg/L	,34861	,56070	,989	-1,3252	2,0225
	250 mg/L	-,96032	,58152	,570	-2,6963	,7757
	300 mg/L	,29861	,56070	,995	-1,3752	1,9725
	300 mg/L	,14861	,56070	1,000	-1,5252	1,8225
150 mg/L	Control	,31389	,56070	,993	-1,3600	1,9877
	200 mg/L	,66250	,57696	,858	-1,0599	2,3849
	250 mg/L	-,64643	,59721	,886	-2,4293	1,1364
	300 mg/L	,61250	,57696	,894	-1,1099	2,3349

	300 mg/L	,46250	,57696	,966	-1,2599	2,1849
200 mg/L	Control	-,34861	,56070	,989	-2,0225	1,3252
	150 mg/L	-,66250	,57696	,858	-2,3849	1,0599
	250 mg/L	-1,30893	,59721	,263	-3,0918	,4739
	300 mg/L	-,05000	,57696	1,000	-1,7724	1,6724
	300 mg/L	-,20000	,57696	,999	-1,9224	1,5224
250 mg/L	Control	,96032	,58152	,570	-,7757	2,6963
	150 mg/L	,64643	,59721	,886	-1,1364	2,4293
	200 mg/L	1,30893	,59721	,263	-,4739	3,0918
	300 mg/L	1,25893	,59721	,303	-,5239	3,0418
	300 mg/L	1,10893	,59721	,442	-,6739	2,8918
300 mg/L	Control	-,29861	,56070	,995	-1,9725	1,3752
	150 mg/L	-,61250	,57696	,894	-2,3349	1,1099
	200 mg/L	,05000	,57696	1,000	-1,6724	1,7724
	250 mg/L	-1,25893	,59721	,303	-3,0418	,5239
	300 mg/L	-,15000	,57696	1,000	-1,8724	1,5724
300 mg/L	Control	-,14861	,56070	1,000	-1,8225	1,5252
	150 mg/L	-,46250	,57696	,966	-2,1849	1,2599
	200 mg/L	,20000	,57696	,999	-1,5224	1,9224
	250 mg/L	-1,10893	,59721	,442	-2,8918	,6739
	300 mg/L	,15000	,57696	1,000	-1,5724	1,8724

Subconjuntos homogéneos. HSD Tukey^a Longitud Final.

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
200 mg/L	8	13,0625
300 mg/L	8	13,1125
300 mg/L	8	13,2625
Control	9	13,4111
150 mg/L	8	13,7250
250 mg/L	7	14,3714
Sig.		,232

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 7,958.

b. Los tamaños de grupo no son iguales. Se utiliza la media armónica de los tamaños de grupo. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

Anexo E. Parasitos. Análisis estadístico variable Abundancia media test in vivo.

Estadísticos descriptivos Variable dependiente: Abundancia media.

	N	Media	Desv Desviación	Desv Error	95% de intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Control	3	99,33	16,921	9,770	57,30	141,37	85	118
Tratamiento 1	3	1,00	,000	,000	1,00	1,00	1	1
Tratamiento 2	3	,00	,000	,000	,00	,00	0	0
Tratamiento 3	3	,00	,000	,000	,00	,00	0	0
Tratamiento 4	3	,00	,000	,000	,00	,00	0	0
Tratamiento 5	3	,33	,577	,333	-1,10	1,77	0	1
Total	18	16,78	38,433	9,059	-2,33	35,89	0	118

Análisis de Varianza. Variable Dependiente Abundancia media.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	24537,778	5	4907,556	102,716	,000
Dentro de grupos	573,333	12	47,778		
Total	25111,111	17			

Comparaciones múltiples Prueba Pos hoc HSD Tukey. Variable dependiente: Abundancia media.

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Desv Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Control	150 mg/L	98,333*	5,644	,000	79,38	117,29
	200 mg/L	99,333*	5,644	,000	80,38	118,29
	250 mg/L	99,333*	5,644	,000	80,38	118,29
	300 mg/L	99,333*	5,644	,000	80,38	118,29
	350 mg/L	99,000*	5,644	,000	80,04	117,96

	Control	-98,333*	5,644	,000	-117,29	-79,38
150 mg/L	200 mg/L	1,000	5,644	1,000	-17,96	19,96
	250 mg/L	1,000	5,644	1,000	-17,96	19,96
	300 mg/L	1,000	5,644	1,000	-17,96	19,96
	350 mg/L	,667	5,644	1,000	-18,29	19,62
	Control	-99,333*	5,644	,000	-118,29	-80,38
200 mg/L	150 mg/L	-1,000	5,644	1,000	-19,96	17,96
	250 mg/L	,000	5,644	1,000	-18,96	18,96
	300 mg/L	,000	5,644	1,000	-18,96	18,96
	350 mg/L	-,333	5,644	1,000	-19,29	18,62
	Control	-99,333*	5,644	,000	-118,29	-80,38
250 mg/L	150 mg/L	-1,000	5,644	1,000	-19,96	17,96
	200 mg/L	,000	5,644	1,000	-18,96	18,96
	300 mg/L	,000	5,644	1,000	-18,96	18,96
	350 mg/L	-,333	5,644	1,000	-19,29	18,62
	Control	-99,333*	5,644	,000	-118,29	-80,38
300 mg/L	150 mg/L	-1,000	5,644	1,000	-19,96	17,96
	200 mg/L	,000	5,644	1,000	-18,96	18,96
	250 mg/L	,000	5,644	1,000	-18,96	18,96
	350 mg/L	-,333	5,644	1,000	-19,29	18,62
	Control	-99,000*	5,644	,000	-117,96	-80,04
350 mg/L	150 mg/L	-,667	5,644	1,000	-19,62	18,29
	200 mg/L	,333	5,644	1,000	-18,62	19,29
	250 mg/L	,333	5,644	1,000	-18,62	19,29
	300 mg/L	,333	5,644	1,000	-18,62	19,29
	Control	-99,000*	5,644	,000	-117,96	-80,04

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Subconjuntos homogéneos. HSD Tukey^a Abundancia media

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
200 mg/L	3	,00	
250 mg/L	3	,00	
300 mg/L	3	,00	
350 mg/L	3	,33	

150 mg/L	3	1,00	
Control	3		99,33
Sig.		1,000	1,000
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.			
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.			

Anexo F. Parasitosis. Datos de mortalidad test in vivo.

Tratamientos	Replicas	Peces totales	Total de parásitos	Parasitos muertos	% Mortalidad
Control	1	6	255	0	0
	2	6	355	0	0
	3	6	286	0	0
T1 (150mg/L)	1	6	91	89	98
	2	6	100	98	98
	3	6	88	86	98
T2 (200mg/L)	1	6	99	98	99
	2	6	119	119	100
	3	6	98	98	100
T3 (250mg/L)	1	6	117	116	99
	2	6	107	107	100
	3	6	102	102	100
T4 (300mg/L)	1	6	95	95	100
	2	6	112	111	99
	3	6	119	119	100
T5 (350 mg/L)	1	6	157	157	100
	2	6	105	105	100
	3	6	123	121	98

Datos de mortalidad por tratamiento test in vivo.

Tratamientos	# Total de parásitos	Parásitos muertos	% Mortalidad
Control	896	0	0
T1 (150mg/L)	279	273	98
T2 (200mg/L)	316	315	100
T3 (250mg/L)	326	325	100
T4 (300mg/L)	326	325	100
T5 (350mg/L)	385	383	100

Anexo G. Parasitos. Análisis estadístico variable Reinfestación parasitaria.

Estadísticos descriptivos Variable dependiente: Reinfestación parasitaria

	N	Media	Desv Desviación	Desv Error	95% de intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Control	4	242,75	6,449	3,224	232,49	253,01	235	249
150 mg/L	4	3,75	,957	,479	2,23	5,27	3	5
200 mg/L	4	,00	,000	,000	,00	,00	0	0
250 mg/L	4	,00	,000	,000	,00	,00	0	0
300 mg/L	4	,00	,000	,000	,00	,00	0	0
350 mg/L	4	,00	,000	,000	,00	,00	0	0
Total	24	41,08	92,169	18,814	2,16	80,00	0	249

Análisis de Varianza. Variable Dependiente Reinfestación parasitaria

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	195258,333	5	39051,667	5513,176	,000
Dentro de grupos	127,500	18	7,083		
Total	195385,833	23			

Comparaciones múltiples Prueba Pos hoc HSD Tukey. Variable dependiente: Reinfestación parasitaria

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Desv Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Control	150 mg/L	239,000*	1,882	,000	233,02	244,98
	200 mg/L	242,750*	1,882	,000	236,77	248,73
	250 mg/L	242,750*	1,882	,000	236,77	248,73
	300 mg/L	242,750*	1,882	,000	236,77	248,73
	350 mg/L	242,750*	1,882	,000	236,77	248,73
150 mg/L	Control	-239,000*	1,882	,000	-244,98	-233,02
	200 mg/L	3,750	1,882	,384	-2,23	9,73

	250 mg/L	3,750	1,882	,384	-2,23	9,73
	300 mg/L	3,750	1,882	,384	-2,23	9,73
	350 mg/L	3,750	1,882	,384	-2,23	9,73
200 mg/L	Control	-242,750*	1,882	,000	-248,73	-236,77
	150 mg/L	-3,750	1,882	,384	-9,73	2,23
	250 mg/L	,000	1,882	1,000	-5,98	5,98
	300 mg/L	,000	1,882	1,000	-5,98	5,98
	350 mg/L	,000	1,882	1,000	-5,98	5,98
250 mg/L	Control	-242,750*	1,882	,000	-248,73	-236,77
	150 mg/L	-3,750	1,882	,384	-9,73	2,23
	200 mg/L	,000	1,882	1,000	-5,98	5,98
	300 mg/L	,000	1,882	1,000	-5,98	5,98
	350 mg/L	,000	1,882	1,000	-5,98	5,98
300 mg/L	Control	-242,750*	1,882	,000	-248,73	-236,77
	150 mg/L	-3,750	1,882	,384	-9,73	2,23
	200 mg/L	,000	1,882	1,000	-5,98	5,98
	250 mg/L	,000	1,882	1,000	-5,98	5,98
	350 mg/L	,000	1,882	1,000	-5,98	5,98
350 mg/L	Control	-242,750*	1,882	,000	-248,73	-236,77
	150 mg/L	-3,750	1,882	,384	-9,73	2,23
	200 mg/L	,000	1,882	1,000	-5,98	5,98
	250 mg/L	,000	1,882	1,000	-5,98	5,98
	300 mg/L	,000	1,882	1,000	-5,98	5,98

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Subconjuntos homogéneos. HSD Tukey^a Reinfestación parasitaria

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
200 mg/L	4	,00	
250 mg/L	4	,00	
300 mg/L	4	,00	
350 mg/L	4	,00	
150 mg/L	4	3,75	
Control	4		242,75
Sig.		,384	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4,000.

Anexo H. Hematología. Análisis estadístico glucosa test in vivo.

Estadísticos descriptivos Variable dependiente: Glucosa.

	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Control	9	129,1111	41,48628	13,82876	97,2219	161,0003	68,00	180,00
150 mg/L	9	166,6667	47,40517	15,80172	130,2278	203,1055	87,00	222,00
200 mg/L	9	146,6667	29,05168	9,68389	124,3356	168,9978	114,00	206,00
250 mg/L	9	129,8889	40,53531	13,51177	98,7307	161,0471	70,00	192,00
300 mg/L	9	104,3333	34,51087	11,50362	77,8059	130,8607	67,00	166,00
350 mg/L	9	128,7778	37,03639	12,34546	100,3091	157,2465	64,00	184,00
Total	54	134,2407	41,60095	5,66117	122,8859	145,5956	64,00	222,00

Análisis de Varianza. Variable Dependiente Glucosa.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	19578,537	5	3915,707	2,605	,037
Dentro de grupos	72145,333	48	1503,028		
Total	91723,870	53			

Comparaciones múltiples Prueba Pos hoc HSD Tukey. Variable dependiente: Glucosa.

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Control	150 mg/L	-37,55556	18,27584	,328	-91,7963	16,6852
	200 mg/L	-17,55556	18,27584	,928	-71,7963	36,6852
	250 mg/L	-7,77778	18,27584	1,000	-55,0185	53,4630
	300 mg/L	24,77778	18,27584	,753	-29,4630	79,0185
	300 mg/L	,33333	18,27584	1,000	-53,9074	54,5741
150 mg/L	Control	37,55556	18,27584	,328	-16,6852	91,7963
	200 mg/L	20,00000	18,27584	,881	-34,2408	74,2408

	250 mg/L	36,77778	18,27584	,351	-17,4630	91,0185
	300 mg/L	62,33333*	18,27584	,016	8,0926	116,5741
	300 mg/L	37,88889	18,27584	,318	-16,3519	92,1296
200 mg/L	Control	17,55556	18,27584	,928	-36,6852	71,7963
	150 mg/L	-20,00000	18,27584	,881	-74,2408	34,2408
	250 mg/L	16,77778	18,27584	,940	-37,4630	71,0185
	300 mg/L	42,33333	18,27584	,208	-11,9074	96,5741
	300 mg/L	17,88889	18,27584	,922	-36,3519	72,1296
250 mg/L	Control	,77778	18,27584	1,000	-53,4630	55,0185
	150 mg/L	-36,77778	18,27584	,351	-91,0185	17,4630
	200 mg/L	-16,77778	18,27584	,940	-71,0185	37,4630
	300 mg/L	25,55556	18,27584	,728	-28,6852	79,7963
	300 mg/L	1,11111	18,27584	1,000	-53,1296	55,3519
300 mg/L	Control	-24,77778	18,27584	,753	-79,0185	29,4630
	150 mg/L	-62,33333*	18,27584	,016	-116,5741	-8,0926
	200 mg/L	-42,33333	18,27584	,208	-96,5741	11,9074
	250 mg/L	-25,55556	18,27584	,728	-79,7963	28,6852
	300 mg/L	-24,44444	18,27584	,763	-78,6852	29,7963
350 mg/L	Control	-,33333	18,27584	1,000	-54,5741	53,9074
	150 mg/L	-37,88889	18,27584	,318	-92,1296	16,3519
	200 mg/L	-17,88889	18,27584	,922	-72,1296	36,3519
	250 mg/L	-1,11111	18,27584	1,000	-55,3519	53,1296
	300 mg/L	24,44444	18,27584	,763	-29,7963	78,6852

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Subconjuntos homogéneos. HSD Tukey^a Glucosa.

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
300 mg/L	9	104,3333	
350 mg/L	9	128,7778	128,7778
Control	9	129,1111	129,1111
250 mg/L	9	129,8889	129,8889
200 mg/L	9	146,6667	146,6667
150 mg/L	9		166,6667
Sig.		,208	,318

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 9,000.

Anexo I. Hematología. Análisis estadístico hemoglobina test in vivo.

Estadísticos descriptivos Variable dependiente: Hemoglobina.

	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Control	9	13,9600	1,29503	,43168	12,9646	14,9554	11,98	15,96
150 mg/L	9	14,8300	1,86951	,62317	13,3930	16,2670	12,19	18,21
200 mg/L	9	14,0378	2,48282	,82761	12,1293	15,9462	10,04	17,84
250 mg/L	9	17,7111	2,20631	,73544	16,0152	19,4070	13,25	20,25
300 mg/L	9	17,1767	2,53500	,84500	15,2281	19,1252	13,38	21,83
350 mg/L	9	15,4300	1,23265	,41088	14,4825	16,3775	13,79	17,58
Total	54	15,5243	2,40731	,32759	14,8672	16,1813	10,04	21,83

Análisis de Varianza. Variable Dependiente Hemoglobina.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	113,942	5	22,788	5,662	,000
Dentro de grupos	193,200	48	4,025		
Total	307,142	53			

Comparaciones múltiples Prueba Pos hoc HSD Tukey. Variable dependiente: Hemoglobina.

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Control	150 mg/L	-,87000	,94575	,939	-3,6769	1,9369
	200 mg/L	-,07778	,94575	1,000	-2,8847	2,7291
	250 mg/L	-3,75111*	,94575	,003	-6,5580	-,9442
	300 mg/L	-3,21667*	,94575	,016	-6,0236	-,4098
	300 mg/L	-1,47000	,94575	,632	-4,2769	1,3369
150 mg/L	Control	,87000	,94575	,939	-1,9369	3,6769
	200 mg/L	,79222	,94575	,959	-2,0147	3,5991
	250 mg/L	-2,88111*	,94575	,041	-5,6880	-,0742
	300 mg/L	-2,34667	,94575	,150	-5,1536	,4602
	300 mg/L	-,60000	,94575	,988	-3,4069	2,2069
200 mg/L	Control	,07778	,94575	1,000	-2,7291	2,8847
	150 mg/L	-,79222	,94575	,959	-3,5991	2,0147

	250 mg/L	-3,67333*	,94575	,004	-6,4802	-,8664
	300 mg/L	-3,13889*	,94575	,020	-5,9458	-,3320
	300 mg/L	-1,39222	,94575	,683	-4,1991	1,4147
250 mg/L	Control	3,75111*	,94575	,003	,9442	6,5580
	150 mg/L	2,88111*	,94575	,041	,0742	5,6880
	200 mg/L	3,67333*	,94575	,004	,8664	6,4802
	300 mg/L	,53444	,94575	,993	-2,2724	3,3413
	300 mg/L	2,28111	,94575	,173	-,5258	5,0880
300 mg/L	Control	3,21667*	,94575	,016	,4098	6,0236
	150 mg/L	2,34667	,94575	,150	-,4602	5,1536
	200 mg/L	3,13889*	,94575	,020	,3320	5,9458
	250 mg/L	-,53444	,94575	,993	-3,3413	2,2724
	300 mg/L	1,74667	,94575	,447	-1,0602	4,5536
300 mg/L	Control	1,47000	,94575	,632	-1,3369	4,2769
	150 mg/L	,60000	,94575	,988	-2,2069	3,4069
	200 mg/L	1,39222	,94575	,683	-1,4147	4,1991
	250 mg/L	-2,28111	,94575	,173	-5,0880	,5258
	300 mg/L	-1,74667	,94575	,447	-4,5536	1,0602

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Subconjuntos homogéneos. HSD Tukey^a Hemoglobina.

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Control	9	13,9600		
200 mg/L	9	14,0378		
150 mg/L	9	14,8300	14,8300	
350 mg/L	9	15,4300	15,4300	15,4300
300 mg/L	9		17,1767	17,1767
250 mg/L	9			17,7111
Sig.		,632	,150	,173

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 9,000.

Anexo J. Hematología. Análisis estadístico % de hematocrito test in vivo.

Estadísticos descriptivos Variable dependiente: Hematocrito.

	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		

Control	9	24,1111	5,53273	1,84424	19,8583	28,3639	16,00	32,00
150 mg/L	9	23,7778	2,99073	,99691	21,4789	26,0767	20,00	28,00
200 mg/L	9	26,4444	4,39065	1,46355	23,0695	29,8194	20,00	34,00
250 mg/L	9	25,4444	3,04594	1,01531	23,1031	27,7858	21,00	30,00
300 mg/L	9	25,3333	4,21307	1,40436	22,0949	28,5718	20,00	32,00
300 mg/L	9	26,2222	3,15348	1,05116	23,7982	28,6462	22,00	31,00
Total	54	25,2222	3,93181	,53505	24,1490	26,2954	16,00	34,00

Análisis de Varianza. Variable Dependiente Hematócrito.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	52,889	5	10,578	,662	,654
Dentro de grupos	766,444	48	15,968		
Total	819,333	53			

Comparaciones múltiples Prueba Pos hoc HSD Tukey. Variable dependiente: Hematócrito.

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Control	150 mg/L	,33333	1,88371	1,000	-5,2573	5,9240
	200 mg/L	-2,33333	1,88371	,816	-7,9240	3,2573
	250 mg/L	-1,33333	1,88371	,980	-6,9240	4,2573
	300 mg/L	-1,22222	1,88371	,987	-6,8129	4,3684
	300 mg/L	-2,11111	1,88371	,870	-7,7018	3,4795
150 mg/L	Control	-,33333	1,88371	1,000	-5,9240	5,2573
	200 mg/L	-2,66667	1,88371	,717	-8,2573	2,9240
	250 mg/L	-1,66667	1,88371	,948	-7,2573	3,9240
	300 mg/L	-1,55556	1,88371	,961	-7,1462	4,0351
	300 mg/L	-2,44444	1,88371	,785	-8,0351	3,1462
200 mg/L	Control	2,33333	1,88371	,816	-3,2573	7,9240
	150 mg/L	2,66667	1,88371	,717	-2,9240	8,2573
	250 mg/L	1,00000	1,88371	,995	-4,5906	6,5906
	300 mg/L	1,11111	1,88371	,991	-4,4795	6,7018
	300 mg/L	,22222	1,88371	1,000	-5,3684	5,8129

250 mg/L	Control	1,33333	1,88371	,980	-4,2573	6,9240
	150 mg/L	1,66667	1,88371	,948	-3,9240	7,2573
	200 mg/L	-1,00000	1,88371	,995	-6,5906	4,5906
	300 mg/L	,11111	1,88371	1,000	-5,4795	5,7018
	300 mg/L	-,77778	1,88371	,998	-6,3684	4,8129
300 mg/L	Control	1,22222	1,88371	,987	-4,3684	6,8129
	150 mg/L	1,55556	1,88371	,961	-4,0351	7,1462
	200 mg/L	-1,11111	1,88371	,991	-6,7018	4,4795
	250 mg/L	-,11111	1,88371	1,000	-5,7018	5,4795
	300 mg/L	-,88889	1,88371	,997	-6,4795	4,7018
300 mg/L	Control	2,11111	1,88371	,870	-3,4795	7,7018
	150 mg/L	2,44444	1,88371	,785	-3,1462	8,0351
	200 mg/L	-,22222	1,88371	1,000	-5,8129	5,3684
	250 mg/L	,77778	1,88371	,998	-4,8129	6,3684
	300 mg/L	,88889	1,88371	,997	-4,7018	6,4795

Subconjuntos homogéneos. HSD Tukey^a Hematocrito.

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	
150 mg/L	9		23,7778
Control	9		24,1111
300 mg/L	9		25,3333
250 mg/L	9		25,4444
300 mg/L	9		26,2222
200 mg/L	9		26,4444
Sig.			,717

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 9,000.

Anexo K. Hematología. Análisis estadístico eritrocitos test in vivo.

Estadísticos descriptivos Variable dependiente: Eritrocitos

	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Control	9	2,8711	,40498	,13499	2,5598	3,1824	2,33	3,48
150 mg/L	9	3,1889	,58514	,19505	2,7391	3,6387	2,68	4,66

200 mg/L	9	3,0978	,22549	,07516	2,9245	3,2711	2,72	3,51
250 mg/L	9	3,1056	,23485	,07828	2,9250	3,2861	2,69	3,39
300 mg/L	9	2,9911	,23449	,07816	2,8109	3,1714	2,74	3,41
300 mg/L	9	3,1656	,25652	,08551	2,9684	3,3627	2,73	3,48
Total	54	3,0700	,35034	,04768	2,9744	3,1656	2,33	4,66

Análisis de Varianza. Variable Dependiente Eritrocitos

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,640	5	,128	1,047	,401
Dentro de grupos	5,865	48	,122		
Total	6,505	53			

Comparaciones múltiples Prueba Pos hoc HSD Tukey. Variable dependiente: Eritrocitos

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Control	150 mg/L	-,31778	,16479	,398	-,8068	,1713
	200 mg/L	-,22667	,16479	,741	-,7157	,2624
	250 mg/L	-,23444	,16479	,713	-,7235	,2546
	300 mg/L	-,12000	,16479	,977	-,6091	,3691
	300 mg/L	-,29444	,16479	,484	-,7835	,1946
150 mg/L	Control	,31778	,16479	,398	-,1713	,8068
	200 mg/L	,09111	,16479	,994	-,3980	,5802
	250 mg/L	,08333	,16479	,996	-,4057	,5724
	300 mg/L	,19778	,16479	,835	-,2913	,6868
	300 mg/L	,02333	,16479	1,000	-,4657	,5124
200 mg/L	Control	,22667	,16479	,741	-,2624	,7157
	150 mg/L	-,09111	,16479	,994	-,5802	,3980
	250 mg/L	-,00778	,16479	1,000	-,4968	,4813
	300 mg/L	,10667	,16479	,987	-,3824	,5957
	300 mg/L	-,06778	,16479	,998	-,5568	,4213
250 mg/L	Control	,23444	,16479	,713	-,2546	,7235
	150 mg/L	-,08333	,16479	,996	-,5724	,4057
	200 mg/L	,00778	,16479	1,000	-,4813	,4968

	300 mg/L	,11444	,16479	,982	-,3746	,6035
	300 mg/L	-,06000	,16479	,999	-,5491	,4291
300 mg/L	Control	,12000	,16479	,977	-,3691	,6091
	150 mg/L	-,19778	,16479	,835	-,6868	,2913
	200 mg/L	-,10667	,16479	,987	-,5957	,3824
	250 mg/L	-,11444	,16479	,982	-,6035	,3746
	300 mg/L	-,17444	,16479	,895	-,6635	,3146
300 mg/L	Control	,29444	,16479	,484	-,1946	,7835
	150 mg/L	-,02333	,16479	1,000	-,5124	,4657
	200 mg/L	,06778	,16479	,998	-,4213	,5568
	250 mg/L	,06000	,16479	,999	-,4291	,5491
	300 mg/L	,17444	,16479	,895	-,3146	,6635

Subconjuntos homogéneos. HSD Tukey^a Eritrocitos

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	
Control	9		2,8711
300 mg/L	9		2,9911
200 mg/L	9		3,0978
250 mg/L	9		3,1056
300 mg/L	9		3,1656
150 mg/L	9		3,1889
Sig.			,398

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 9,000.

Anexo L. Índices hematimétricos. Análisis estadístico VCM, HCM, CHCM.

Estadísticos descriptivos Variable dependiente: VCM, HCM, CHCM.

	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo	
					Límite inferior	Límite superior			
VCM	Control	9	83,1178	12,25698	4,08566	73,6962	92,5393	68,67	104,20
	150 mg/L	9	74,8389	7,35988	2,45329	69,1816	80,4962	60,15	82,37

	200 mg/L	9	85,072 2	11,65850	3,8861 7	76,110 7	94,033 7	69,77	108,80
	250 mg/L	9	81,417 8	8,29185	2,7639 5	75,044 1	87,791 5	70,02	97,84
	300 mg/L	9	83,984 4	9,45614	3,1520 5	76,715 8	91,253 1	72,79	99,53
	350 mg/L	9	82,335 6	8,41508	2,8050 3	75,867 2	88,804 0	63,31	92,31
	Total	5 4	81,794 4	9,85692	1,3413 6	79,104 0	84,484 9	60,15	108,80
HCM	Control	9	6,1033	1,47201	,49067	4,9718	7,2348	4,14	7,84
	150 mg/L	9	6,4222	1,39975	,46658	5,3463	7,4982	4,48	8,47
	200 mg/L	9	5,6267	,93008	,31003	4,9117	6,3416	4,76	7,31
	250 mg/L	9	7,1267	1,32842	,44281	6,1056	8,1478	5,30	9,20
	300 mg/L	9	6,9811	1,46270	,48757	5,8568	8,1054	5,05	9,12
	350 mg/L	9	6,0322	,99393	,33131	5,2682	6,7962	4,77	7,23
	Total	5 4	6,3820	1,33343	,18146	6,0181	6,7460	4,14	9,20
CHCM	Control	9	61,022 2	14,72172	4,9072 4	49,706 1	72,338 3	41,35	78,38
	150 mg/L	9	64,220 0	13,99807	4,6660 2	53,460 1	74,979 9	44,80	84,70
	200 mg/L	9	56,274 4	9,29219	3,0974 0	49,131 8	63,417 1	47,63	73,07
	250 mg/L	9	71,246 7	13,27198	4,4239 9	61,044 9	81,448 4	53,02	91,95
	300 mg/L	9	69,808 9	14,62847	4,8761 6	58,564 5	81,053 3	50,50	91,16
	350 mg/L	9	60,326 7	9,94888	3,3162 9	52,679 3	67,974 1	47,70	72,34
	Total	5 4	63,816 5	13,33065	1,8140 7	60,177 9	67,455 0	41,35	91,95

Análisis de Varianza. Variable Dependiente VCM, HCM, CHCM.

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
VCM	Entre grupos	594,950	5	118,990	1,254	,299

	Dentro de grupos	4554,471	48	94,885		
	Total	5149,421	53			
HCM	Entre grupos	15,170	5	3,034	1,842	,122
	Dentro de grupos	79,066	48	1,647		
	Total	94,236	53			
CHCM	Entre grupos	1513,336	5	302,667	1,838	,123
	Dentro de grupos	7905,101	48	164,690		
	Total	9418,437	53			

Comparaciones múltiples Prueba Pos hoc HSD Tukey. Variable dependiente: VCM, HCM, CHCM.

Variable dep endiente	(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
VCM	Control	150 mg/L	8,27889	4,59190	,474	-5,3494	21,9072
		200 mg/L	-1,95444	4,59190	,998	-15,5827	11,6738
		250 mg/L	1,70000	4,59190	,999	-11,9283	15,3283
		300 mg/L	-,86667	4,59190	1,000	-14,4949	12,7616
		300 mg/L	,78222	4,59190	1,000	-12,8460	14,4105
	150 mg/L	Control	-8,27889	4,59190	,474	-21,9072	5,3494
		200 mg/L	-10,23333	4,59190	,244	-23,8616	3,3949
		250 mg/L	-6,57889	4,59190	,707	-20,2072	7,0494
		300 mg/L	-9,14556	4,59190	,362	-22,7738	4,4827
		300 mg/L	-7,49667	4,59190	,582	-21,1249	6,1316
	200 mg/L	Control	1,95444	4,59190	,998	-11,6738	15,5827
		150 mg/L	10,23333	4,59190	,244	-3,3949	23,8616
		250 mg/L	3,65444	4,59190	,967	-9,9738	17,2827
		300 mg/L	1,08778	4,59190	1,000	-12,5405	14,7160

		300 mg/L	2,73667	4,59190	,991	- 10,8916	16,3649
250 mg/L	Control	-1,70000	4,59190	,999	- 15,3283	11,9283	
	150 mg/L	6,57889	4,59190	,707	-7,0494	20,2072	
	200 mg/L	-3,65444	4,59190	,967	- 17,2827	9,9738	
	300 mg/L	-2,56667	4,59190	,993	- 16,1949	11,0616	
	300 mg/L	-,91778	4,59190	1,000	- 14,5460	12,7105	
300 mg/L	Control	,86667	4,59190	1,000	- 12,7616	14,4949	
	150 mg/L	9,14556	4,59190	,362	-4,4827	22,7738	
	200 mg/L	-1,08778	4,59190	1,000	- 14,7160	12,5405	
	250 mg/L	2,56667	4,59190	,993	- 11,0616	16,1949	
	300 mg/L	1,64889	4,59190	,999	- 11,9794	15,2772	
300 mg/L	Control	-,78222	4,59190	1,000	- 14,4105	12,8460	
	150 mg/L	7,49667	4,59190	,582	-6,1316	21,1249	
	200 mg/L	-2,73667	4,59190	,991	- 16,3649	10,8916	
	250 mg/L	,91778	4,59190	1,000	- 12,7105	14,5460	
	300 mg/L	-1,64889	4,59190	,999	- 15,2772	11,9794	
HCM	Control	150 mg/L	-,31889	,60502	,995	-2,1145	1,4767
		200 mg/L	,47667	,60502	,968	-1,3190	2,2723
		250 mg/L	-1,02333	,60502	,544	-2,8190	,7723
		300 mg/L	-,87778	,60502	,696	-2,6734	,9178
		300 mg/L	,07111	,60502	1,000	-1,7245	1,8667
	150 mg/L	Control	,31889	,60502	,995	-1,4767	2,1145
		200 mg/L	,79556	,60502	,775	-1,0001	2,5912
		250 mg/L	-,70444	,60502	,851	-2,5001	1,0912
		300 mg/L	-,55889	,60502	,938	-2,3545	1,2367
		300 mg/L	,39000	,60502	,987	-1,4056	2,1856
	200 mg/L	Control	-,47667	,60502	,968	-2,2723	1,3190
		150 mg/L	-,79556	,60502	,775	-2,5912	1,0001
		250 mg/L	-1,50000	,60502	,151	-3,2956	,2956
		300 mg/L	-1,35444	,60502	,240	-3,1501	,4412

		300 mg/L	-40556	,60502	,984	-2,2012	1,3901
250 mg/L	Control	1,02333	,60502	,544	-,7723	2,8190	
	150 mg/L	,70444	,60502	,851	-1,0912	2,5001	
	200 mg/L	1,50000	,60502	,151	-,2956	3,2956	
	300 mg/L	,14556	,60502	1,000	-1,6501	1,9412	
	300 mg/L	1,09444	,60502	,470	-,7012	2,8901	
300 mg/L	Control	,87778	,60502	,696	-,9178	2,6734	
	150 mg/L	,55889	,60502	,938	-1,2367	2,3545	
	200 mg/L	1,35444	,60502	,240	-,4412	3,1501	
	250 mg/L	-,14556	,60502	1,000	-1,9412	1,6501	
	300 mg/L	,94889	,60502	,623	-,8467	2,7445	
300 mg/L	Control	-,07111	,60502	1,000	-1,8667	1,7245	
	150 mg/L	-,39000	,60502	,987	-2,1856	1,4056	
	200 mg/L	,40556	,60502	,984	-1,3901	2,2012	
	250 mg/L	-1,09444	,60502	,470	-2,8901	,7012	
	300 mg/L	-,94889	,60502	,623	-2,7445	,8467	
CHCM	Control	150 mg/L	-3,19778	6,04960	,995	-	14,7568
		200 mg/L	4,74778	6,04960	,969	-	22,7024
		250 mg/L	-10,22444	6,04960	,545	-	7,7301
		300 mg/L	-8,78667	6,04960	,695	-	9,1679
		300 mg/L	,69556	6,04960	1,000	-	18,6501
	150 mg/L	Control	3,19778	6,04960	,995	-	21,1524
		200 mg/L	7,94556	6,04960	,776	-	25,9001
		250 mg/L	-7,02667	6,04960	,853	-	10,9279
		300 mg/L	-5,58889	6,04960	,938	-	23,3657
		300 mg/L	3,89333	6,04960	,987	-	21,8479
	200 mg/L	Control	-4,74778	6,04960	,969	-	13,2068
		150 mg/L	-7,94556	6,04960	,776	-	10,0090
		250 mg/L	-14,97222	6,04960	,152	-	2,9824

		300 mg/L	-13,53444	6,04960	,240	- 31,4890	4,4201
		300 mg/L	-4,05222	6,04960	,984	- 22,0068	13,9024
250 mg/L	Control	10,22444	6,04960	,545	-7,7301	28,1790	
	150 mg/L	7,02667	6,04960	,853	- 10,9279	24,9812	
	200 mg/L	14,97222	6,04960	,152	-2,9824	32,9268	
	300 mg/L	1,43778	6,04960	1,000	- 16,5168	19,3924	
	300 mg/L	10,92000	6,04960	,472	-7,0346	28,8746	
300 mg/L	Control	8,78667	6,04960	,695	-9,1679	26,7412	
	150 mg/L	5,58889	6,04960	,938	- 12,3657	23,5435	
	200 mg/L	13,53444	6,04960	,240	-4,4201	31,4890	
	250 mg/L	-1,43778	6,04960	1,000	- 19,3924	16,5168	
	300 mg/L	9,48222	6,04960	,623	-8,4724	27,4368	
300 mg/L	Control	-,69556	6,04960	1,000	- 18,6501	17,2590	
	150 mg/L	-3,89333	6,04960	,987	- 21,8479	14,0612	
	200 mg/L	4,05222	6,04960	,984	- 13,9024	22,0068	
	250 mg/L	-10,92000	6,04960	,472	- 28,8746	7,0346	
	300 mg/L	-9,48222	6,04960	,623	- 27,4368	8,4724	

Subconjuntos homogéneos. HSD Tukey^a VCM

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
150 mg/L	9	74,8389
250 mg/L	9	81,4178
300 mg/L	9	82,3356
Control	9	83,1178
300 mg/L	9	83,9844
200 mg/L	9	85,0722
Sig.		,244
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.		
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 9,000.		

Subconjuntos homogéneos. HSD Tukey^a HCM.

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
200 mg/L	9	5,6267
300 mg/L	9	6,0322
Control	9	6,1033
150 mg/L	9	6,4222
300 mg/L	9	6,9811
250 mg/L	9	7,1267
Sig.		,151

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 9,000.

Subconjuntos homogéneos. HSD Tukey^a CHCM

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
200 mg/L	9	56,2744
300 mg/L	9	60,3267
Control	9	61,0222
150 mg/L	9	64,2200
300 mg/L	9	69,8089
250 mg/L	9	71,2467
Sig.		,152

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 9,000.

Anexo M. Análisis estadísticos parámetros físicos y químicos.

Estadísticos descriptivos Variable dependiente: Oxígeno, Temperatura y Potencial de Hidrógeno.

Oxígeno		N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
						Límite inferior	Límite superior		
Oxígeno	Control	3	3,4333	1,10151	,63596	,6970	6,1696	2,70	4,70
	Tratamiento 1	3	9,1000	,10000	,05774	8,8516	9,3484	9,00	9,20
	Tratamiento 2	3	10,5000	,36056	,20817	9,6043	11,3957	10,10	10,80

	Tratamiento 3	3	9,8667	,49329	,28480	8,6413	11,0921	9,30	10,20
	Tratamiento 4	3	11,6000	,52915	,30551	10,2855	12,9145	11,00	12,00
	Tratamiento 5	3	12,5333	,37859	,21858	11,5929	13,4738	12,10	12,80
	Total	18	9,5056	3,05989	,72122	7,9839	11,0272	2,70	12,80
Temperatura	Control	3	26,2000	,10000	,05774	25,9516	26,4484	26,10	26,30
	Tratamiento 1	3	26,9000	,10000	,05774	26,6516	27,1484	26,80	27,00
	Tratamiento 2	3	27,1333	,25166	,14530	26,5082	27,7585	26,90	27,40
	Tratamiento 3	3	27,7000	,26458	,15275	27,0428	28,3572	27,50	28,00
	Tratamiento 4	3	28,5000	,10000	,05774	28,2516	28,7484	28,40	28,60
	Tratamiento 5	3	28,3333	,15275	,08819	27,9539	28,7128	28,20	28,50
	Total	18	27,4611	,84376	,19888	27,0415	27,8807	26,10	28,60
pH	Control	3	8,0000	,00000	,00000	8,0000	8,0000	8,00	8,00
	Tratamiento 1	3	8,8333	,28868	,16667	8,1162	9,5504	8,50	9,00
	Tratamiento 2	3	8,6667	,28868	,16667	7,9496	9,3838	8,50	9,00
	Tratamiento 3	3	8,3333	,28868	,16667	7,6162	9,0504	8,00	8,50
	Tratamiento 4	3	8,5000	,00000	,00000	8,5000	8,5000	8,50	8,50
	Tratamiento 5	3	8,1667	,28868	,16667	7,4496	8,8838	8,00	8,50
	Total	18	8,4167	,35355	,08333	8,2408	8,5925	8,00	9,00

Análisis de Varianza. Variable Dependiente Oxígeno, Temperatura y Potencial de Hidrógeno.

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Oxígeno	Entre grupos	155,129	5	31,026	92,156	,000
	Dentro de grupos	4,040	12	,337		
	Total	159,169	17			
Temperatura	Entre grupos	11,729	5	2,346	75,404	,000
	Dentro de grupos	,373	12	,031		

	Total	12,103	17			
pH	Entre grupos	1,458	5	,292	5,250	,009
	Dentro de grupos	,667	12	,056		
	Total	2,125	17			

Comparaciones múltiples Prueba Pos hoc HSD Tukey. Variable dependiente: Oxígeno, Temperatura y Potencial de Hidrógeno.

Variable dependiente	(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
Oxigeno	Control	Tratamiento 1	-5,66667*	,47376	,000	-7,2580	-4,0754
		Tratamiento 2	-7,06667*	,47376	,000	-8,6580	-5,4754
		Tratamiento 3	-6,43333*	,47376	,000	-8,0246	-4,8420
		Tratamiento 4	-8,16667*	,47376	,000	-9,7580	-6,5754
		Tratamiento 5	-9,10000*	,47376	,000	-10,6913	-7,5087
	Tratamiento 1	Control	5,66667*	,47376	,000	4,0754	7,2580
		Tratamiento 2	-1,40000	,47376	,097	-2,9913	,1913
		Tratamiento 3	-7,76667	,47376	,603	-2,3580	,8246
		Tratamiento 4	-2,50000*	,47376	,002	-4,0913	-,9087
		Tratamiento 5	-3,43333*	,47376	,000	-5,0246	-1,8420
	Tratamiento 2	Control	7,06667*	,47376	,000	5,4754	8,6580
		Tratamiento 1	1,40000	,47376	,097	-,1913	2,9913
		Tratamiento 3	,63333	,47376	,761	-,9580	2,2246
		Tratamiento 4	-1,10000	,47376	,257	-2,6913	,4913
		Tratamiento 5	-2,03333*	,47376	,010	-3,6246	-,4420
	Tratamiento 3	Control	6,43333*	,47376	,000	4,8420	8,0246
		Tratamiento 1	,76667	,47376	,603	-,8246	2,3580

		Tratamiento 2	-,63333	,47376	,761	-2,2246	,9580
		Tratamiento 4	-1,73333*	,47376	,030	-3,3246	-,1420
		Tratamiento 5	-2,66667*	,47376	,001	-4,2580	-1,0754
Tratamiento 4	Control	8,16667*	,47376	,000	6,5754	9,7580	
	Tratamiento 1	2,50000*	,47376	,002	,9087	4,0913	
	Tratamiento 2	1,10000	,47376	,257	-,4913	2,6913	
	Tratamiento 3	1,73333*	,47376	,030	,1420	3,3246	
	Tratamiento 5	-,93333	,47376	,410	-2,5246	,6580	
Tratamiento 5	Control	9,10000*	,47376	,000	7,5087	10,6913	
	Tratamiento 1	3,43333*	,47376	,000	1,8420	5,0246	
	Tratamiento 2	2,03333*	,47376	,010	,4420	3,6246	
	Tratamiento 3	2,66667*	,47376	,001	1,0754	4,2580	
	Tratamiento 4	,93333	,47376	,410	-,6580	2,5246	
Temperatura	Control	Tratamiento 1	-,70000*	,14402	,004	-1,1837	-,2163
		Tratamiento 2	-,93333*	,14402	,000	-1,4171	-,4496
		Tratamiento 3	-1,50000*	,14402	,000	-1,9837	-1,0163
		Tratamiento 4	-2,30000*	,14402	,000	-2,7837	-1,8163
		Tratamiento 5	-2,13333*	,14402	,000	-2,6171	-1,6496
	Tratamiento 1	Control	,70000*	,14402	,004	,2163	1,1837
		Tratamiento 2	-,23333	,14402	,602	-,7171	,2504
		Tratamiento 3	-,80000*	,14402	,001	-1,2837	-,3163
		Tratamiento 4	-1,60000*	,14402	,000	-2,0837	-1,1163
		Tratamiento 5	-1,43333*	,14402	,000	-1,9171	-,9496
		Control	,93333*	,14402	,000	,4496	1,4171

		Tratamiento 1	,23333	,14402	,602	-,2504	,7171
	Tratamiento 2	Tratamiento 3	-,56667*	,14402	,019	-1,0504	-,0829
		Tratamiento 4	-1,36667*	,14402	,000	-1,8504	-,8829
		Tratamiento 5	-1,20000*	,14402	,000	-1,6837	-,7163
		Control	1,50000*	,14402	,000	1,0163	1,9837
	Tratamiento 3	Tratamiento 1	,80000*	,14402	,001	,3163	1,2837
		Tratamiento 2	,56667*	,14402	,019	,0829	1,0504
		Tratamiento 4	-,80000*	,14402	,001	-1,2837	-,3163
		Tratamiento 5	-,63333*	,14402	,009	-1,1171	-,1496
	Tratamiento 4	Control	2,30000*	,14402	,000	1,8163	2,7837
		Tratamiento 1	1,60000*	,14402	,000	1,1163	2,0837
		Tratamiento 2	1,36667*	,14402	,000	,8829	1,8504
		Tratamiento 3	,80000*	,14402	,001	,3163	1,2837
		Tratamiento 5	,16667	,14402	,848	-,3171	,6504
	Tratamiento 5	Control	2,13333*	,14402	,000	1,6496	2,6171
		Tratamiento 1	1,43333*	,14402	,000	,9496	1,9171
		Tratamiento 2	1,20000*	,14402	,000	,7163	1,6837
		Tratamiento 3	,63333*	,14402	,009	,1496	1,1171
		Tratamiento 4	-,16667	,14402	,848	-,6504	,3171
pH	Control	Tratamiento 1	-,83333*	,19245	,010	-1,4798	-,1869
		Tratamiento 2	-,66667*	,19245	,042	-1,3131	-,0202
		Tratamiento 3	-,33333	,19245	,538	-,9798	,3131
		Tratamiento 4	-,50000	,19245	,171	-1,1464	,1464

	Tratamiento 5	-16667	,19245	,948	-,8131	,4798
Tratamiento 1	Control	,83333*	,19245	,010	,1869	1,4798
	Tratamiento 2	,16667	,19245	,948	-,4798	,8131
	Tratamiento 3	,50000	,19245	,171	-1,464	1,1464
	Tratamiento 4	,33333	,19245	,538	-,3131	,9798
	Tratamiento 5	,66667*	,19245	,042	,0202	1,3131
Tratamiento 2	Control	,66667*	,19245	,042	,0202	1,3131
	Tratamiento 1	-,16667	,19245	,948	-,8131	,4798
	Tratamiento 3	,33333	,19245	,538	-,3131	,9798
	Tratamiento 4	,16667	,19245	,948	-,4798	,8131
	Tratamiento 5	,50000	,19245	,171	-1,464	1,1464
Tratamiento 3	Control	,33333	,19245	,538	-,3131	,9798
	Tratamiento 1	-,50000	,19245	,171	-1,1464	,1464
	Tratamiento 2	-,33333	,19245	,538	-,9798	,3131
	Tratamiento 4	-,16667	,19245	,948	-,8131	,4798
	Tratamiento 5	,16667	,19245	,948	-,4798	,8131
Tratamiento 4	Control	,50000	,19245	,171	-1,464	1,1464
	Tratamiento 1	-,33333	,19245	,538	-,9798	,3131
	Tratamiento 2	-,16667	,19245	,948	-,8131	,4798
	Tratamiento 3	,16667	,19245	,948	-,4798	,8131
	Tratamiento 5	,33333	,19245	,538	-,3131	,9798
Tratamiento 5	Control	,16667	,19245	,948	-,4798	,8131
	Tratamiento 1	-,66667*	,19245	,042	-1,3131	-,0202
	Tratamiento 2	-,50000	,19245	,171	-1,1464	,1464

		Tratamiento 3	-,16667	,19245	,948	-,8131	,4798
		Tratamiento 4	-,33333	,19245	,538	-,9798	,3131
*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.							

Subconjuntos homogéneos. HSD Tukey^a Oxígeno.

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
Control	3	3,4333			
Tratamiento 1	3		9,1000		
Tratamiento 3	3		9,8667		
Tratamiento 2	3		10,5000	10,5000	
Tratamiento 4	3			11,6000	11,6000
Tratamiento 5	3				12,5333
Sig.		1,000	,097	,257	,410

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
 a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Subconjuntos homogéneos. HSD Tukey^a Temperatura.

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
Control	3	26,2000			
Tratamiento 1	3		26,9000		
Tratamiento 2	3		27,1333		
Tratamiento 3	3			27,7000	
Tratamiento 5	3				28,3333
Tratamiento 4	3				28,5000
Sig.		1,000	,602	1,000	,848

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
 a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

Subconjuntos homogéneos. HSD Tukey^a Potencial de Hidrógeno.

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Control	3	8,0000		
Tratamiento 5	3	8,1667	8,1667	
Tratamiento 3	3	8,3333	8,3333	8,3333
Tratamiento 4	3	8,5000	8,5000	8,5000
Tratamiento 2	3		8,6667	8,6667

Tratamiento 1	3			8,8333
Sig.		,171	,171	,171
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.				
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.				

Estadísticos descriptivos de la correlación de los parámetros físicos y químicos en las unidades experimentales

	Media	Desv. Desviación	N
Oxígeno	9,5056	3,05989	18
Temperatura	27,4556	,84312	18
pH	8,4222	,35572	18