



**FACULTAD DE OCEANOGRAFÍA, PESQUERÍA, CIENCIAS ALIMENTARIAS Y
ACUICULTURA**

EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA *Minthostachys
mollis* COMO SUPLEMENTO ALIMENTICIO EN EL RENDIMIENTO
PRODUCTIVO, HEMATOLÓGICO E INMUNOLÓGICO DEL SÁBALO *Brycon
amazonicus* (Spix and Agassiz, 1829)

Línea de investigación:

Desarrollo de Productos de la Acuicultura

Tesis para optar al Título Profesional de Ingeniero Pesquero Acuicultor

Autora:

Chate Benites, Zarela Jemina

Asesora:

Díaz Cachay, Catalina Beatriz
(ORCID: 0000-0003-1981-5616)

Jurado:

Zambrano Cabanillas, Abel Walter

Llontop Vélez, Carlos

Figueroa Vargas Machuca, Manuel Eduardo

Lima - Perú

2023





Reporte de Análisis de Similitud

Archivo: 1A Chate_Benites_Zarela_Jemina_Titulo_Profesional_2023

Fecha del Análisis: 20 /01/2023

Operador del Programa Informático: VARGAS MORENO MARTHA

Correo del Operador del Programa Informático: mvargas@unfv.edu.pe

Porcentaje: 10 %

Asesor: Díaz Cachay, Catalina Beatriz

Título: EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA *Minthostachys mollis* COMO SUPLEMENTO ALIMENTICIO EN EL RENDIMIENTO PRODUCTIVO, HEMATOLÓGICO E INMUNOLÓGICO DEL SÁBALO *Brycon amazonicus* (Spix and Agassiz, 1829)

Enlace: <https://secure.arkund.com/old/view/149359563-525610-536069#PcYxDoAgFATRu1BPDptBFK9iLxRQ6GNpfHuUjnFyzzuvN00e4QaTUMBRdSjhAY0ooxhHhPWJhCIJPKCu+tx1b2W9Sqbm3zn85BM4S++Hw==>

Jefe de la Oficina de Grados y Gestión del Egresado:



Firma

Nombres y Apellidos
Ing. José Eduardo Candela Díaz



Universidad Nacional
Federico Villarreal

VRIN | VICERRECTORADO
DE INVESTIGACIÓN

Facultad de Oceanografía, Pesquería, Ciencias Alimentarias y Acuicultura

EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL ACEITE ESENCIAL DE MUÑA *Minthostachys mollis* COMO SUPLEMENTO ALIMENTICIO EN EL RENDIMIENTO PRODUCTIVO, HEMATOLÓGICO E INMUNOLÓGICO DEL SÁBALO *Brycon amazonicus* (Spix and Agassiz, 1829)

Línea de investigación:

Tesis para optar al Título Profesional de Ingeniero Pesquero Acuicultor

Autora:

Chate Benites, Zarela Jemina

Asesor:

Díaz Cachay, Catalina Beatriz

Código ORCID: 0000-0003-1981-5616

Jurados:

Zambrano Cabanillas, Abel Walter

Llontop Vélez, Carlos

Figueroa Vargas Machuca, Manuel Eduardo

Lima-Perú

2023

Dedicatoria

A Jehová Dios todopoderoso por guiar mi camino, ser mi fortaleza y darme las fuerzas necesarias para cumplir todas mis metas. A mis padres: Máximo Chate y Reina Benites por confiar en mí y apoyarme incondicionalmente en este largo trayecto, a mis hermanas Keyla y Reina por acompañarme siempre y a mis pequeños hermanitos Italo y Dayza por llenarme con su ternura y amor.

Financiamiento

Esta tesis ha sido financiada por el Proyecto Concytec – Banco Mundial “Mejoramiento y Ampliación de los Servicios del Sistema Nacional de Ciencia Tecnología e Innovación Tecnológica” 8682-PE. A través de su unidad ejecutora ProCiencia, con contrato N° 116-2018-FONDECYT-BM-IADT-SE en el marco del proyecto de investigación “Mejoramiento de la productividad y resistencia a bacterias en el cultivo de sábalo *Brycon amazonicus* mediante el uso de aceites esenciales como inmunoestimulantes en el departamento de Loreto” ejecutado por el Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana (IIAP).

Agradecimientos

A Dios todopoderoso por ser la fuente de vida, por ayudarme a afrontar los momentos difíciles, brindarme su infinita fuerza y sabiduría para concluir mis estudios universitarios y la presente investigación.

A mis padres Máximo Chate y Reina Benites por ser los promotores de mis metas, apoyarme incondicionalmente, impulsarme a continuar en todo momento y ser mi motivación para continuar creciendo a diario.

Al Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica CONCYTEC-Banco Mundial por el financiamiento y ejecución de la presente investigación.

Al Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP) y a la Dirección de Investigación en Ecosistemas Acuáticos Amazónicos (AQUAREC), por brindarme sus instalaciones, equipos y apoyo en el desarrollo de la presente tesis.

A mi alma mater, la Universidad Nacional Federico Villareal y a la Facultad de Oceanografía, Pesquería y Ciencias Alimentarias por los conocimientos adquiridos en mis estudios universitarios.

A mi asesora UNFV la Mg. Ing. Catalina Díaz Cachay por sus consejos y apoyo en la realización de esta investigación.

A mi asesor IIAP el M.Sc. Ing. Christian Fernández Méndez por su dedicación, recomendaciones y su apoyo constante en la realización de los análisis y la redacción de esta investigación.

A mi querida amiga la Ing. Marjorie Ochoa Vásquez por su apoyo incondicional en la realización de los análisis, por acompañarme siempre y por su valiosa amistad que alegro mis días y me motivó a continuar este largo trayecto.

A mis hermanas Keyla y Reina por acompañarme en la realización de este proyecto, a lo largo de vida y por ser mis cómplices y amigas.

A mis mejores amigos César Alvarado y Kleberth Campos por siempre estar en los momentos difíciles aconsejándome, dándome ánimos y brindándome su apoyo incondicional.

A mis mejores amigas Yohanna Infante, Marisabel Guillermo y Priscilla Sánchez por sus palabras de ánimo, por alegrar mis días y por todos los buenos momentos compartidos.

A Jordan Gonzáles, Pedro Marca, Liz Iba Guaji, Andrés Babilonia, Jean Nava, Jhancarlo Chang, Clint Chirinos, Jonathan Arancibia, Jhoiner Vargas y a todos los profesionales y amigos que de alguna u otra manera contribuyeron a la realización de la presente investigación.

ÍNDICE DE CONTENIDO

Dedicatoria.....	ii
Financiamiento.....	iii
Agradecimientos	iv
ÍNDICE DE CONTENIDO	vi
LISTA DE TABLAS	viii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
RESUMEN	x
ABSTRACT.....	xi
I.INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Descripción de la realidad problemática	3
1.2 Antecedentes	4
1.3 Objetivos	19
1.4 Justificación.....	19
1.5 Hipótesis.....	20
II. MARCO TEÓRICO.....	22
2.1 Bases teóricas del tema de investigación	22
III. MÉTODO	38
3.1 Tipo de investigación	38
3.2 Ámbito temporal y espacial.....	38
3.3 Variables.....	39
3.4 Población y muestra	39
3.5 Diseño experimental.....	39
3.6 Procedimientos.....	40
3.7 Análisis de datos.....	49
IV. RESULTADOS	50
V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	55

VI. CONCLUSIONES	63
VII. RECOMENDACIONES	64
VIII. REFERENCIAS	65
IX. ANEXOS	89

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Características fisicoquímicas del agua de cultivo de sábalo cola roja <i>Brycon amazonicus</i>	23
Tabla 2. Características nutricionales del alimento balanceado	40
Tabla 3. Desempeño productivo de juveniles de sábalo <i>Brycon amazonicus</i> suplementados con aceite esencial de muña <i>Minthostachys mollis</i> en una dieta comercial durante 30 días	50
Tabla 4. Parámetros hematológicos, inmunológicos y bioquímicos de los juveniles de sábalo <i>Brycon amazonicus</i> suplementados con aceite esencial de muña <i>Minthostachys mollis</i> en una dieta comercial durante 30 días.....	52
Tabla 5. Composición proximal del músculo de los juveniles de sábalo <i>Brycon amazonicus</i> suplementados con aceite esencial de muña <i>Minthostachys mollis</i> en una dieta comercial durante 30 días	53
Tabla 6. Supervivencia, parámetros hematológicos y bioquímicos de juveniles de sábalo <i>Brycon amazonicus</i> después de 10 días del desafío bacteriano con <i>A. hydrophila</i>	54

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	23
Figura 2	26
Figura 3	38
Figura 4	39
Figura 5	42

RESUMEN

Objetivo: La presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de las concentraciones de aceite esencial de muña en el rendimiento productivo, hematológico e inmunológico del sábalo *Brycon amazonicus*. **Método:** El estudio fue experimental, se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con 120 juveniles de sábalo, distribuidos en 12 tanques experimentales (10 peces/tanque), alimentados con tres tratamientos 0,5%; 1% y 1,5% de aceite esencial de muña y un control con 0% de inclusión (por triplicado) y a una tasa de alimentación de 3% de la biomasa durante 30 días. Después, se evaluó los parámetros productivos, hematológicos e inmunológicos, y seguidamente se realizó el desafío bacteriano por 10 días, se inoculó a los peces con *Aeromonas hydrophila* y luego se recolectó muestras de sangre para los análisis hematológicos. **Resultados:** Los datos fueron analizados con el Análisis de Varianza (ANOVA) y con el nivel de significancia $p < 0,05$. Se obtuvo como resultado que las concentraciones de aceite esencial de muña evaluadas no tuvieron efectos significativos en los parámetros productivos, hematológicos e inmunológicos, sin embargo, la dosis 0,5% presentó una tendencia de crecimiento y mejoró numéricamente los parámetros. Asimismo, todas las dosis de aceite esencial de muña aumentaron el contenido de proteína muscular de los peces. **Conclusiones:** La suplementación con aceite esencial de muña al 0,5 % tiene potencial de crecimiento, por lo que se recomienda aumentar el periodo experimental para tener mejores resultados.

Palabras clave: *Brycon amazonicus*, aceite esencial de muña, rendimiento productivo, hematológico e inmunológico, *Aeromonas hydrophila*.

ABSTRACT

Objective: The objective of this research was to evaluate the effect of the essential oil concentrations from “*muña*” (*Minthostachys mollis*) on the productive, hematological, and immunological performance of the “*sábalo*” *Brycon amazonicus*. **Method:** The study was experimental, a completely randomized design (DCA) was used with 120 juveniles of “*sábalo*”, distributed in 12 experimental tanks (10 fish/tank), fed with three treatments; 0,5%; 1%, and 1,5% essential oil of *muña*, and a control with 0% inclusion (in triplicate) and at a feeding rate of 3% of the biomass for 30 days. Afterwards, the productive, hematological, and immunological parameters were evaluated, and then the bacterial test was executed for 10 days, the fish were inoculated with *Aeromonas hydrophila* and then blood samples were collected for hematological analysis. **Results:** The data were analyzed with the Analysis of Variance (ANOVA) and with the level of significance $p < 0,05$. It was obtained as a result that the essential oil concentrations of *muña* evaluated did not have significant effects on the productive, hematological, and immunological parameters, contrarily, the 0,5% dose presented a growth trend and numerically improved the parameters. In a similar way, all doses of *muña* essential oil increased the muscle protein content of the fish. **Conclusions:** Supplementation with 0,5% *muña* essential oil has growth potential, for that reason it is recommended to increase the experimental period to obtain better results.

Keywords: *Brycon amazonicus*, *muña* essential oil, productive, hematological, and immunological performance, *Aeromonas hydroph*

I.INTRODUCCIÓN

La Amazonía peruana posee una gran diversidad de especies ícticas con más de 1200 peces nativos registrados. Esta riqueza de especies se ha convertido en un recurso importante para la alimentación de los pobladores y ha generado actividades económicas como la pesca y la acuicultura (Ortega et al., 2012). Las especies nativas más apreciadas y cultivadas son el paco *Piaractus brachypomus*, gamitana *Colossoma macropomum* y paiche *Arapaima gigas*. Sin embargo, en los últimos años la producción de sábalo cola roja *Brycon amazonicus* está creciendo progresivamente logrando convertirse en una especie de importancia económica para la región Loreto (García-Dávila et al., 2018).

B. amazonicus es un Charácido de buen porte y con gran potencial para la acuicultura, por su rápido crecimiento, buena adaptación al cautiverio, fácil aceptación del alimento balanceado y excelente calidad de carne (Zaniboni et al., 2006; Cruz-Casallas et al., 2011). Sin embargo, una de las limitantes durante el cultivo de esta especie es la sensibilidad durante las técnicas de manipulación, Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO, 2010) estos procedimientos al igual que la captura y el transporte en el cultivo, causan estrés en los peces (Saccol et al., 2017) ocasionando desórdenes en el sistema fisiológico de los peces (Eslamloo y Falahatkar, 2014), afectando el crecimiento y tornarlos más susceptibles a enfermedades que pueden ocasionar la muerte (Davis, 2010). Los parámetros hematológicos y bioquímicos son herramientas útiles para conocer el estado fisiológico y salud de los peces (Clauss et al., 2008; Ranzani-Paiva et al., 2013); las alteraciones de estos parámetros (hematocrito, leucocitos, eritrocitos, trombocitos, hemoglobina y glucosa) son respuesta de los peces frente a situaciones de estrés, enfermedad y contaminación (Valenzuela et al., 2003; Martinez et al., 2006).

Existe la necesidad de buscar nuevas estrategias que mejoren el crecimiento y bienestar de los peces, una buena alternativa es el uso de aceites esenciales de plantas (Sutili et al.,

2017), por sus propiedades y compuestos activos como los terpenoides, fenoles, alcaloides, taninos y esteroides (Citarasu, 2010), que generan efectos biológicos beneficiosos (Perricone et al., 2015), en diferentes especies; en los rumiantes (ovejas y vacas) mejoró los parámetros de rendimiento (eficiencia alimenticia, utilización del alimento y ganancia de peso) (Tager y Krause, 2011; Giannenas et al., 2013; Hristov et al., 2013). En los peces también se ha estudiado el uso de los aceites esenciales como suplementos alimenticios en el cultivo de peces, reportándose resultados positivos como; promotores del crecimiento (Chakraborty et al., 2013), reductores del estrés (Saccol et al., 2016), anestésicos (Da Cunha et al., 2010), inmunoestimulantes, antibacterianos (Reverter et al., 2014) y antiparasitarios (De Oliveira et al., 2016).

En la región existen diferentes plantas nativas de uso ancestral con cualidades beneficiosas, considerando su importancia se han realizado investigaciones de los componentes y características del aceite esencial de estas plantas nativas peruanas, una de las más conocidas y usadas por los pobladores es la muña *Minthostachys mollis*, por su actividad antioxidante (Castro-Alayo et al., 2019), y por sus propiedades inmunoestimulantes, antimicrobianas y antibacterianas (Carhuapoma et al., 2009). La efectividad de esta planta se evaluó en *Piaractus mesopotamicus*, mediante la suplementación de aceite esencial de muña en el alimento, obteniéndose resultados positivos en el crecimiento, respuesta inmunológica y mejor estado fisiológico (Vicuña, 2019).

Por este motivo, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de las concentraciones de aceite esencial de muña en el rendimiento productivo, hematológico e inmunológico del sábalo *Brycon amazonicus*.

1.1 Descripción de la realidad problemática

El sábalo *B. amazonicus* es considerado una especie con potencial acuícola en varios países de América del Sur (Gomes y Urbinati, 2010), en nuestro país la producción está creciendo progresivamente, logrando ser una especie con buena demanda e importancia para la región Loreto, Ministerio de la Producción (PRODUCE, 2019), debido a la buena calidad de su carne, rápido crecimiento y buena conversión alimenticia (Arias, 2006). Sin embargo, es una especie que durante el cultivo presenta sensibilidad a las técnicas de manipulación (FAO, 2010), tiene comportamiento territorialista y es agresivo (Ferraz y Gomes, 2009), ambas situaciones son causantes de estrés. Cuando los peces experimentan condiciones de estrés su organismo responde produciendo cambios fisiológicos y bioquímicos, que ocasionan niveles elevados de glucosa, alteraciones hematoinmunológicas y disminución del sistema inmunitario (Kumar et al., 2015), como resultado los peces mostrarán un crecimiento lento o nulo, deficiencias en la reproducción y mayor susceptibilidad a agentes patógenos (Arturo-Rodríguez, 2012), la infección por agentes bacterianos producen enfermedades y originan mortalidades en los peces, causando pérdidas económicas para los productores acuícolas, que se ven en la necesidad de utilizar diferentes antibióticos para tratar y controlar las enfermedades; sin embargo, éstos productos dejan residuos en los peces (Liu et al., 2017) y el ambiente acuático, alterando el medio de cultivo, generando resistencia bacteriana y afectando el rendimiento productivo (Parrado et al., 2014), convirtiéndose así en un problema biológico, social y económico, porque afecta el bienestar de los peces, la salud de los consumidores y ocasiona pérdidas económicas para el sector acuícola y la sociedad (Cabello, 2004).

En nuestro país uno de los principales retos de la acuicultura es la producción de especies saludables, de buen crecimiento, libres de enfermedades y uso de antibióticos que afectan la calidad de los organismos acuáticos y la inocuidad del producto para el consumo humano (Ramírez-Gastón et al., 2018), asimismo a nivel mundial también se presenta este

desafío, por ello se están utilizando nuevas alternativas como los inmunoestimulantes (Reza et al., 2009), los compuestos naturales, las plantas medicinales y los aceites esenciales que tienen propiedades beneficiosas como promotores de la salud y el crecimiento de los peces (Fajer-Ávila et al., 2017; Dinardo et al., 2021). Sin embargo, se deben realizar investigaciones previas para conocer la dosis adecuada de los aceites esenciales en la alimentación de los peces (Dongmeza et al., 2006).

Por estas razones, la presente investigación pretende mejorar el rendimiento productivo y el sistema inmune de los peces mediante la adición del aceite esencial de muña como suplemento alimenticio, con la finalidad de obtener un producto de calidad, sanidad y rentabilidad para los productores acuícolas y los consumidores.

1.1.1 Formulación del problema

¿Cuáles son los efectos de la inclusión de concentraciones de aceite esencial de muña en el alimento sobre el rendimiento productivo, hematológico e inmunológico del sábalo *Brycon amazonicus*?

1.2 Antecedentes

Existe evidencia de trabajos de investigación en los que se han empleado diferentes fitoquímicos como extractos vegetales y aceites esenciales. Los estudios de extractos vegetales fueron: Talpur y Ikhwanuddin (2012) determinaron los efectos dietéticos del ajo *Allium sativum* sobre los parámetros hematoinmunológicos, supervivencia, crecimiento y resistencia a enfermedades contra la infección por *Vibrio harveyi* en la lubina asiática *Lates calcarifer*, seleccionaron 150 alevines de lubina con peso promedio de 20 ± 2 g, distribuyeron en grupos de alimentación con suplemento de ajo 0, 5, 10, 15 y 20 g/kg de alimento, se les suministró la dieta a una tasa del 5% del peso corporal dos veces al día durante 14 días. Determinaron el rendimiento de crecimiento y recolectaron las muestras de sangre mediante punción en la vena

caudal, seleccionando 12 peces al azar de cada grupo, para el desafío bacteriano se les inoculó por vía intraperitoneal el *Vibrio harveyi*. Los resultados indicaron un aumento significativo en el crecimiento, conversión alimenticia y ganancia de peso en los peces alimentados con 20 g de ajo/kg de alimento; en cuanto a los parámetros hematológicos también hubo un incremento en los valores de hematocrito, hemoglobina y eritrocitos; mientras que el recuento de leucocitos fue mayor con 15 g de ajo/kg de alimento. En los índices bioquímicos se observó la disminución de glucosa plasmática, lípidos totales, triglicéridos y colesterol en los peces alimentados con dietas de ajo; respecto a los valores de albúmina, proteína sérica, globulina, así como los glóbulos blancos incrementaron solo después de la exposición bacteriana, mientras que el recuento de glóbulos rojos, hematocrito y hemoglobina disminuyeron. Los peces alimentados con suplemento de ajo mostraron mayor porcentaje de supervivencia en comparación con el control. Por lo que, los autores concluyeron que el ajo actúa como promotor del crecimiento, mejora la supervivencia y tiene potencial inmunológico en los peces.

Gabriel et al. (2015) evaluaron el efecto del extracto de *Aloe vera* en el rendimiento de crecimiento, parámetros hematobioquímicos y resistencia bacteriana (*Streptococcus iniae*) en la tilapia (GIFT). El diseño experimental estuvo formado por cinco grupos por triplicado: una dieta control y cuatro dietas con extracto de *Aloe vera* al 0,5; 1; 2 y 4 %/kg de alimento; utilizaron 375 alevinos con peso promedio de $4,83 \pm 0,01$ g distribuidos aleatoriamente en 15 tanques (25 peces/tanque), se les alimentó durante 60 días hasta saciedad aparente. Después se calculó los parámetros de rendimiento, hematobioquímicos y se realizó el desafío bacteriano. Reportaron como resultado un mayor crecimiento en las dosis al 0,5; 1 y 2 % de *Aloe vera* y mayor ganancia de peso; así mismo la tasa de crecimiento absoluta, tasa de crecimiento específica, consumo de alimento e índice hepatosomático mejoró en 4%. Los parámetros hematológicos (eritrocitos, hemoglobina y hematocrito) no mostraron cambios entre los tratamientos antes del desafío, sin embargo, después del desafío los peces suplementados con

A. vera mostraron un aumento significativo ($p < 0,05$) en glóbulos rojos (RBC), hematocrito (Ht), hemoglobina (Hb), glóbulos blancos (WBC), neutrófilos, monocitos, eosinófilos, proteína sérica total, glucosa y cortisol, no obstante, el tratamiento 4% de *Aloe vera* disminuyó la cantidad de RBC, Hb, Ht, WBC, la hemoglobina corpuscular media (MCH) y el volumen corpuscular medio (MCV). Los peces no desafiados y alimentados con 0,5, 1 y 2% de *A. vera* mostraron valores significativamente más altos ($p < 0,05$) de concentración media de hemoglobina corpuscular (MCHC) en comparación a los peces del tratamiento control y 4% de *Aloe vera*. No hubo efectos significativos en la supervivencia de los peces suplementados y el control, no registró mortalidad en el ensayo de desafío. Por ello, la suplementación dietética con *Aloe vera* podría mejorar el crecimiento, la utilización del alimento y los parámetros hematobioquímicos de la tilapia cultivada.

Adel et al. (2015) estudiaron los efectos de la menta *Mentha piperita* en la dieta sobre el crecimiento, la composición química corporal y los parámetros hematológicos e inmunológicos de alevines de pez blanco del Caspio (*Rutilus frisii kutum*), utilizaron 480 alevines de peso promedio $1,12 \pm 0,14$ g distribuidos en 4 grupos de 120 peces divididos en 3 tanques por grupo (40 peces por tanque) que fueron alimentados con extracto de menta (0%, 1%, 2% y 3%) a una tasa de alimentación de 4-6% del peso corporal, tres veces al día y durante 8 semanas (56 días). Después se realizó la biometría para el cálculo de los parámetros productivos, se sacrificó a 5 peces de cada tanque para el análisis de composición proximal (humedad, lípidos, proteína bruta y cenizas) y se recolectó las muestras de sangre para los análisis hematológicos, bioquímicos e inmunológicos, contenido de inmunoglobulina sérica (IgM) y la actividad de la lisozima sérica. Los resultados reportaron que el extracto de menta aumentó la tasa de crecimiento de los alevines de pez blanco del Caspio en especial con la dosis más alta 3%, la composición proximal no mostró cambios con la administración dietética, los parámetros hematológicos (eritrocitos, leucocitos, hematocrito, hemoglobina y neutrófilos)

aumentaron en todos los tratamientos, siendo estadísticamente significativos con las dosis 2% y 3%, el número de monocitos y eosinófilos no presentó diferencia significativa entre los tratamientos, por el contrario los linfocitos disminuyeron significativamente con 3% de extracto de menta; la proteína total sérica, actividad de lisozima e IgM y la actividad de estallido respiratorio de los leucocitos sanguíneos aumentó. Concluyeron que la administración de menta al 3% mejora el rendimiento del crecimiento, la respuesta hematológica e inmunológica y promueve el uso de recursos naturales como la menta.

Los estudios de aceites esenciales relevantes en la presente investigación, Ribeiro (2015) evaluó el potencial inmunoestimulante del aceite esencial de *Mentha piperita* sobre el rendimiento y fisiología del tambaqui *Colossoma macropomum*, trabajó con 240 peces distribuidos en 12 tanques de 500 L (20 peces/tanque) y sometidos a cuatro tratamientos de aceite esencial de menta (0; 0,5; 1,0 y 1,5%) con tres repeticiones cada uno y alimentados por 30 días, después anestesió a los peces, recolectó las muestras de sangre para evaluar los parámetros hematológicos, calculó los parámetros productivos e inoculó a cada pez con $1,5 \times 10^8$ UFC/ml de *Aeromonas hydrophila*, después de siete días de desafío bacteriano evaluó los parámetros hematológicos y bioquímicos. Obtuvo como resultado que la inclusión de aceite esencial de menta no influyó en los parámetros productivos, no hubo mortalidad de peces durante todo el período experimental, la concentración de hemoglobina aumentó ($P < 0,05$) en peces alimentados con 0,5% y 1,5% de aceite, la albúmina aumentó con 1% y el colesterol incrementó en todos los grupos, después del desafío bacteriano se produjo disminución en la hemoglobina con 1,5% de aceite esencial de menta, VCM con 1,0%; el MCHC con 0% y 1,5% y la albúmina aumentó con 0 y 1,0%; el colesterol con el control (0%); y los niveles de triglicéridos aumentaron con 0; 0,5 y 1,5% de aceite en la dieta. Al finalizar, concluyó que el aceite esencial de *M. piperita* promovió la respuesta inmune y podría usarse hasta 1,0% como suplemento alimenticio.

Ribeiro et al. (2016) evaluaron el potencial inmunoestimulante del aceite esencial de menta *Mentha piperita* en la dieta del tambaqui *Colossoma macropomum*, los peces con un peso promedio de $36,0 \pm 7,7$ g se distribuyeron al azar en 12 tanques de agua (20 peces por tanque) con una capacidad de 500 litros, los tanques estaban conectados a un filtro biológico, con el flujo de agua continuo y aireación constante. Los peces fueron alimentados a saciedad con cuatro tratamientos que contienen 0; 0,5; 1,0; 1,5% de inclusión de aceite por kg de alimento, cada tratamiento por triplicado. Después de este período de alimentación de 30 días, se recolectó las muestras de sangre mediante punción de la vena caudal a quince peces de cada tratamiento, los demás peces fueron inoculados por vía intraperitoneal con *Aeromonas hydrophila* y después de 7 días se recolectaron las muestras de sangre para los análisis. Obtuvieron como resultado el aumento significativo de la hemoglobina en los peces alimentados con 0,5 y 1,5% de aceite de menta, la albúmina aumentó en los que fueron alimentados con 1,0%, el colesterol aumentó en todos los grupos con aceite, los triglicéridos incrementaron en los peces alimentados con 0,5% y no se registró mortalidad. Luego de la exposición bacteriana, obtuvieron que los valores de la hemoglobina y el volumen corpuscular medio disminuyeron en los tratamientos con 1,5% y 1,0% respectivamente, al igual que la concentración corpuscular media de la hemoglobina en 0 y 1,5%; por otro lado, hubo incremento en los valores de proteína con 0 y 1,5%, albúmina en 0 y 1,0%, colesterol en el control y los niveles de triglicéridos en 0, 0,5 y 1,5%. Concluyeron que el aceite esencial tiene influencia en los parámetros hematológicos y bioquímicos del tambaqui, recomendando su inclusión hasta en 1,0% por kg de dieta (debido a los cambios fisiológicos causados) y sugiriendo realizar estudios adicionales para obtener mayor información de los efectos fisiológicos en tambaqui.

Ngugi et al. (2016) evaluaron los efectos de la administración de aceite esencial extraído de la cáscara de la fruta de limón amargo (*Citrus limon*) sobre el desempeño de

crecimiento, parámetros bioquímicos, hematoinmunológicos y posible resistencia a enfermedades en alevines de *Labeo victorianus* desafiados con *Aeromonas hydrophila*; los peces (4 semanas de edad) se distribuyeron en cinco grupos (por triplicado) y se alimentaron con suplemento de extracto de aceite esencial de *C. limon* al 1%, 2%, 5% y 8% a una tasa de alimentación de 4% de la biomasa durante 28 días. Para el cálculo del rendimiento de crecimiento se pesaron a los peces, se recolectaron las muestras de sangre para los análisis hematológicos, bioquímicos e inmunológicos. Después seleccionaron a 12 peces de cada grupo y les inoculó 0,10 ml de *Aeromonas hydrophila* por suspensión intraperitoneal. Los resultados mostraron que la inclusión de *C. limon* aumentó significativamente la ganancia de peso en todos los tratamientos, los parámetros hematoinmunológicos, glóbulos rojos (RBC), recuentos de glóbulos blancos (WBC), hematocrito (Htc), hemoglobina celular media (MCH), concentración media de hemoglobina celular (MCHC) y neutrófilos incrementaron al aumentar la concentración desde el 1% al 5%. En los parámetros bioquímicos, la proteína total y la albúmina de los peces antes y después del desafío fueron mayores en los grupos alimentados con aceite esencial de *C. limon*; después del desafío bacteriano todos los grupos tratados mostraron mayor supervivencia que el control ($P < 0,05$). Concluyeron que la adición hasta el 5% de extracto de aceite esencial de cáscaras de limón *C. limón* demostró tener efectos positivos como promotor del crecimiento, fortalecimiento del sistema inmunológico y prevención de enfermedades en alevinos de *Labeo victorianus*.

Mohamadi-Saei et al. (2016) estudiaron los efectos del aceite esencial de satureja *Satureja khuzestanica* y mirto *Myrtus communis* en el crecimiento, supervivencia, bioquímica sérica y la hematología de la trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss*, utilizando 4500 juveniles de trucha arco iris (peso promedio de 5 ± 2 gramos) que repartieron al azar en 18 tanques con seis tratamientos triplicados: control, inmunidad complemento, 300 mg/kg de satureja, 500 mg/kg de satureja, 300 mg/kg de mirto y 500 mg/kg de mirto. Los peces fueron alimentados

con alimento comercial suplementado a una tasa de alimentación de 10% del peso corporal durante 60 días, después realizaron la biometría y recolectaron las muestras de sangre. En los resultados encontraron que los tratamientos con 300 mg/kg de aceite esencial de satureja y mirto tuvieron mejores valores de crecimiento específico y tasa de supervivencia, los parámetros hematológicos reportaron que las concentraciones de hemoglobina no tuvieron diferencia significativa entre tratamientos ($P > 0,05$) y los niveles más bajos y más altos de hematocrito se observaron en los grupos alimentados con 500 y 300 mg/kg de mirto, respectivamente, la cantidad de hemoglobina no fue significativa entre tratamientos, en los leucocitos el recuento más alto obtuvieron con 300 mg/kg de los aceites esenciales de satureja y mirto, el mismo tratamiento reveló los mayores niveles de hematocrito, proteína total y albúmina, pero los valores de glucosa y colesterol disminuyeron significativamente en comparación con el control y solo con 500 mg/kg de satureja incrementó la glucosa. Por lo tanto, según los resultados concluyeron que la suplementación dietética de 300 mg/kg de los aceites esenciales de satureja y mirto ejerció un impacto positivo en el rendimiento del crecimiento, la eficiencia alimentaria y los factores hematológicos de la trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss*.

Al-Sagheer et al. (2017) investigaron los efectos de la suplementación dietética con aceite esencial de limoncillo *Cymbopogon citratus* (LEO) y geranio *Pelargonium graveolens* (GEO) sobre el crecimiento, inmunidad, respuestas antioxidantes y resistencia a enfermedades de tilapia *Oreochromis niloticus*. Los trescientos peces ($3,04 \pm 0,003$ g) de tilapia del Nilo se separaron al azar en cinco grupos, 60 peces/grupo (cada uno tenía tres réplicas de 20 peces), los tratamientos fueron los siguientes: dieta basal (G1), dietas suplementadas con limoncillo LEO a 200 y 400 mg/kg dieta (G2 y G3) y dietas suplementadas con geranio GEO a 200 y 400 mg/kg dieta (G4 y G5) y fueron alimentados durante 12 semanas. Los peces se pesaron cada 2 semanas para determinar los parámetros de rendimiento. Al finalizar el periodo de

alimentación, recolectaron muestras de sangre de la vena caudal, extrajeron el plasma sanguíneo para los análisis bioquímicos y sacrificaron a 5 peces de cada tanque para los análisis de composición química (cenizas, humedad, lípidos crudos y proteína cruda). Después se realizó el desafío bacteriano, inyectaron a los peces por vía intraperitoneal 0,1 ml de *Aeromonas hydrophila* $1,5 \times 10^8$ células/ml, controlaron a los peces para observar los signos clínicos, lesiones y mortalidad diaria durante 2 semanas. En los resultados encontraron que los peces alimentados con LEO a 200 y 400 mg/kg y GEO a 400 mg/kg mejoraron significativamente los parámetros de crecimiento (peso final, aumento de peso diario, tasa de crecimiento específico e índice de eficiencia proteica), asimismo todos los tratamientos mostraron aumento significativo en el contenido de proteína corporal pero no tuvieron efectos en el contenido de cenizas, humedad y grasas. La actividad de la lisozima y los niveles totales de inmunoglobulinas IgM aumentaron significativamente en LEO a 200 mg/kg y GEO a 400 mg/kg. Después del desafío bacteriano con *A. hydrophila*, todos los tratamientos tuvieron una alta tasa de supervivencia. En conclusión, la suplementación con los aceites esenciales de limoncillo LEO y geranio GEO puede ser una buena alternativa para mejorar el rendimiento del crecimiento, el estado oxidativo, las respuestas inmunitarias y la resistencia a las enfermedades.

Brum et al. (2017) evaluaron los efectos de la suplementación dietética del aceite esencial de clavo de albahaca *Ocimum gratissimum* y jengibre *Zingiber officinale* en el crecimiento, parámetros hemato-inmunológicos y supervivencia de la tilapia del Nilo *Oreochromis niloticus*, utilizaron 1080 alevines de tilapia del Nilo (longitud total $3,92 \pm 0,36$ cm y peso $1,84 \pm 0,52$ g) distribuidos aleatoriamente en 24 tanques de 100 litros con 45 peces por tanque, en un sistema de recirculación, con filtros mecánicos, biológicos, UV y aireación constante con termostato regulado a 26° C y fotoperiodo controlado (12 h). Los peces fueron alimentados durante 55 días con siete dietas experimentales: control (cuatro repeticiones),

clavo de albahaca al 0,5% (tres repeticiones), 1,0% (tres repeticiones) y 1,5% (cuatro repeticiones) y jengibre al 0,5% (tres repeticiones), 1,0% (tres repeticiones) y 1,5% (cuatro repeticiones), cada 10 días calcularon el peso de los peces para ajustar el suministro de alimentación y las muestras de sangre se recolectaron a los 35 y 55 días de suplementación a 20 peces por tratamiento, después se infectó a los peces con *Streptococcus agalactiae* y se registró la mortalidad. En los resultados encontraron que el tratamiento con clavo de albahaca al 0,5% mejoró significativamente la conversión alimenticia y el peso final, a los 35 días el valor de hematocrito en el tratamiento con 0,5% de jengibre fue significativamente mayor que el 1,0% de clavo de albahaca, el CHCM mostró un efecto contrario, con 0,5% de jengibre encontraron valores menores que 1,0% de clavo de albahaca y en los neutrófilos el tratamiento con mayor cantidad de neutrófilos fue con 1,0% de clavo de albahaca. Después de 55 días, el hematocrito con 0,5% de jengibre no mostró cambios respecto al control, asimismo la concentración de hemoglobina de los peces alimentados con 0,5% de jengibre y 1,0% de albahaca no difirieron del control, en el recuento de los leucocitos, solo los neutrófilos aumentaron con jengibre al 1,0% en comparación con jengibre 0,5% y 1,5% y todos los tratamientos excepto el 1,5% de jengibre mostraron una mayor actividad fagocítica. Después del desafío, el único grupo con 100% de supervivencia fue 0,5% de jengibre. Por lo tanto, concluyeron que la suplementación dietética con aceites esenciales mejoró el crecimiento, las respuestas inmunitarias y la resistencia a las enfermedades.

De Souza et al. (2018) evaluaron el efecto dietético del aceite esencial de *Lippia alba* (EOLA) sobre el rendimiento de crecimiento, las variables bioquímicas y hematológicas y la supervivencia de los juveniles de tilapia del Nilo *Oreochromis niloticus* después de la infección con *Aeromonas spp.* El diseño experimental fue completamente al azar con cinco tratamientos y cuatro repeticiones, se utilizaron juveniles de tilapia del Nilo ($16,24 \pm 0,10$ gramos y $10,21 \pm 0,02$ centímetros) distribuidos en 20 tanques ($n=15$ peces/tanque) y alimentados con cinco

dietas (0,0; 0,25; 0,50; 1,0; y 2,0 ml de EOLA/kg de dieta) durante 45 días. Después de este periodo anestesiaron a los peces y recolectaron muestras de sangre para los análisis hematológicos, también se realizó el desafío bacteriano con *Aeromonas spp.* y se observaron durante 14 días. En los resultados no encontraron diferencias significativas en el peso final, aumento de peso, longitud y crecimiento específico de los peces alimentados con aceite esencial de *Lippia alba*, en los parámetros hematológicos los valores de hemoglobina y concentración de hemoglobina corpuscular media no difirieron entre los tratamientos, los niveles plasmáticos de glucosa, triglicéridos, proteínas totales y albúmina, no se vieron influenciados por la adición dietética del aceite esencial. Sin embargo, el tratamiento con 2,0 ml de EOLA/kg de dieta mejoró la tasa de conversión alimenticia, el factor de condición, aumentó la actividad de la lisozima y el hematocrito, y disminuyó los niveles de globulina plasmática en comparación con el grupo de control. La supervivencia de los peces infectados con *Aeromonas spp.* fue mayor en los alimentados con 2,0 ml de EOLA/kg de dieta en comparación con los demás tratamientos. Por lo tanto, concluyeron y recomendaron la inclusión de 2,0 ml de EOLA/kg de dieta para los juveniles de tilapia del Nilo porque mejoró los parámetros productivos, hematológicos, la actividad inmunológica y la supervivencia frente a la infección bacteriana.

Ribeiro et al. (2018) investigaron el efecto antioxidante del aceite esencial *Mentha piperita* y la resistencia contra *Aeromonas hydrophila* en tambaqui *Colossoma macropomum* (Serassalmidae), utilizando aceite en concentraciones de 0%; 0,5%; 1,0% y 1,5% por kilogramo de alimento comercial (32% de proteína cruda PB) durante 30 días en 12 tanques de agua de 500 L (20 peces por tanque) con un sistema cerrado de flujo de agua continuo y aireación constante. Los parámetros hematológicos e inmunológicos se determinaron después de los 30 días a 5 peces de cada tanque, los demás fueron desafiados con *Aeromonas hydrophila* usando la inoculación intraperitoneal a una concentración de $1,5 \times 10^8$ UFC/ml y luego de 7

días recolectaron muestras de sangre para el análisis de los parámetros hematológicos. Los resultados mostraron que la suplementación con aceite esencial de menta no alteró los parámetros hematológicos (leucocitos, linfocitos, neutrófilos, eosinófilos y trombocitos), los monocitos aumentaron en el tratamiento con 1,5% y disminuyeron con 0,5%; la actividad respiratoria de los leucocitos no tuvo influencia del aceite esencial ni antes ni después del desafío, el tambaqui no presentó signos clínicos ni alteraciones después del desafío, el aceite esencial de *M. piperita* al 1,0% redujo significativamente la abundancia de monogenoides mostrando sus efectos antihelmínticos. Por ello, sugirieron que se realicen futuros estudios de la utilización y efectividad de los inmunoestimulantes y aceites esenciales.

Vicuña (2019) evaluó el efecto inmunoestimulante del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) frente al patógeno *Aeromonas hydrophila* en *Piaractus mesopotamicus* (pacú), trabajó con 180 juveniles distribuidos en 4 grupos con 3 repeticiones, adicionó el aceite esencial de muña al alimento en cuatro concentraciones 0%; 0,5%; 1% y 2% y lo proporcionó a los peces durante 30 días, luego evaluó parámetros productivos (peso y longitud); seguidamente realizó el desafío inmunológico con *A. hydrophila* y después de 24 horas evaluó la respuesta inmune innata mediante un hemograma completo, Burst Respiratorio, lisozimas y actividad bactericida en suero. Los resultados mostraron que la dosis 1% de aceite esencial aumentó la ganancia de talla comercial, el mayor porcentaje de hematocrito se encontró en las dosis 2% y 1%, el aumento significativo de los parámetros hematológicos (hematocrito, hemoglobina y eritrocitos) y mayor Burt respiratorio en la dosis 1% frente al desafío con *A. hydrophila*. Concluyó que la suplementación con 1% de aceite esencial de muña promueve el crecimiento, mejora la respuesta hematológica y antígena frente al patógeno.

De Souza-Silva et al. (2019) evaluaron la influencia del aceite esencial de *Mentha piperita* en la alimentación de la tilapia del Nilo *Oreochromis niloticus*, utilizaron 300 peces (peso promedio de 5 gramos) divididos en 20 tanques con 15 peces por tanque y en 5

tratamientos de alimentación (dieta suplementada con aceite esencial de menta *Mentha piperita* al 0,075%; 0,125%, 0,25%, dieta control y dieta control con alcohol), cada tratamiento por cuadruplicado y alimentados durante 50 días. Después de este periodo recolectaron muestras de sangre para el análisis hematológico y realizaron el desafío bacteriano con *Streptococcus agalactiae* durante 7 días. Los índices de rendimiento zootécnico fueron calculados cada 15 días, durante el tiempo de experimentación. En los resultados encontraron que los parámetros zootécnicos (peso, longitud, aumento de peso, tasa de crecimiento específica y eficiencia alimenticia) y hematoinmunológicos (eritrocitos, hematocrito, hemoglobina, VCM, HCM, CHCM, leucocitos, trombocitos, linfocitos, neutrófilos y monocitos) no mostraron diferencia significativa, en la resistencia bacteriana, encontraron mayor supervivencia en los peces alimentados con 0,25% de aceite esencial de menta en comparación a los demás grupos. Concluyendo que el aceite esencial de menta al 0,25% aumentó la resistencia de la tilapia del Nilo frente a *S. agalactiae* manteniendo una supervivencia significativa.

Heluy et al. (2020) evaluaron los efectos del aceite esencial de orégano *Origanum vulgare* en el rendimiento del crecimiento, los niveles de glucosa en sangre, la composición corporal y la morfometría intestinal de la tilapia del Nilo *Oreochromis niloticus*. El diseño experimental fue completamente al azar con cinco tratamientos y cuatro repeticiones, se distribuyeron 600 alevinos de tilapia ($1,47 \pm 0,39$ g y $4,16 \pm 0,43$ cm) en veinte tanques de polietileno (100 L) a una densidad de 30 peces/tanque alimentados con cinco dietas, una dieta control (0 g/kg) y cuatro dietas suplementadas (0,75; 1,5; 2,25 y 3 g/kg de aceite esencial de orégano) durante 64 días. Al finalizar este periodo, se anestesiaron a los peces y se recolectaron muestras de sangre por punción caudal para calcular la concentración de glucosa, realizaron la biometría (peso y talla), sacrificaron a los peces, pesaron el hígado y las vísceras para determinar el índice hepatosomático y viscerosomático y se muestreo el músculo de los peces para el análisis de composición corporal (cenizas, humedad, extracto de éter y proteína). En los

resultados de rendimiento encontraron que solo el tratamiento con 1,5 g/kg de aceite esencial de orégano disminuyó significativamente respecto al control, los otros tratamientos suplementados no mostraron efectos, la glucosa plasmática no fue influenciada por la suplementación, el contenido de composición corporal tampoco mostro cambios. El análisis de morfometría intestinal reveló un efecto significativo en la longitud de las vellosidades, que aumentó con la proporción de aceite esencial de orégano en la dieta. Concluyeron que la adición de 3,0 g/kg de aceite esencial de orégano puede actuar como estimulante del desarrollo de las vellosidades intestinales y, en consecuencia, como promotor del crecimiento.

Lopes et al. (2020) evaluaron los efectos de la suplementación dietética con el aceite esencial de fruta de limon *Citrus latifolia* (EOCL) sobre el crecimiento, supervivencia, morfología del tracto intestinal y los parámetros metabólicos del tambaqui *Colossoma macropomum*, utilizaron 160 juveniles de tambaqui (longitud estándar $3,53 \pm 2,0$ cm y peso corporal inicial $2,21 \pm 0,5$ g) que fueron divididos en veinte tanques de 150 L (ocho peces por tanque) en un sistema de recirculación y alimentados con 5 tratamientos (control; 0,25; 0,5; 1,0 y 2,0 ml de EOCL/kg de dieta) con cuatro réplicas por tratamiento y durante 60 días. Durante el periodo de alimentación a los 30 y 60 días se pesaron y midieron a los peces para el análisis de los parámetros de rendimiento y crecimiento. En los resultados encontraron que no hubo diferencia significativa en los parámetros de crecimiento evaluados, sin embargo, los peces alimentados con 1,0 y 2,0 ml de EOCL/kg de dieta presentaron una mayor supervivencia y todos los tratamientos con aceite esencial mostraron mayor altura y longitud del pliegue intestinal en comparación con el grupo de control. Los parámetros bioquímicos (niveles de glucosa, glucógeno, lactato y proteínas en el hígado y el músculo) se alteraron significativamente por la adición del aceite esencial de fruta de limón. Por lo tanto, concluyeron que el tratamiento con 1 ml de aceite esencial de fruta de limón *Citrus latifolia*

mejoró la supervivencia, aumentó la capacidad antioxidante de los tejidos y el área intestinal de absorción, por lo que recomendaron su adición en el alimento de los peces.

Monteiro et al. (2021) evaluaron los efectos del aceite esencial (AE) de *Lippia sidoides*, *Ocimum gratissimum*, y *Zingiber officinale* en la dieta del tambaqui *Colossoma macropomum* y los parámetros de crecimiento, hematológicos e inmunológicos, utilizaron 305 juveniles de tambaqui ($18,72 \pm 1,01$ g; $10,55 \pm 0,95$ cm) distribuidos aleatoriamente en 21 tanques de 350 litros ($n = 15$ peces por tanque) y en siete tratamientos por triplicado. Las siete dietas contenían 32% de proteína cruda y aceite esencial de la siguiente manera: control (0 g de AE / kg alimento); 0,625 y 1,25 g de *L. sidoides*/kg; 1,25 y 5,0 g de *O. gratissimum*/kg; 1,25 y 5,0 g de *Z. officinale*/kg. Los peces fueron alimentados dos veces al día hasta una aparente saciedad durante 60 días, realizaron la biometría a los 30 y 60 días de alimentación, después extrajeron sangre de nueve peces por tratamiento para evaluar el desempeño zootécnico y los parámetros hematológicos, bioquímicos e inmunológicos del tambaqui, luego los peces fueron desafiados con *Aeromonas hydrophila*, y se controló la mortalidad durante 10 días. En los resultados encontraron que los parámetros de rendimiento (peso final, talla final, ganancia de peso, factor de condición y supervivencia) no presentaron diferencia significativa ($p > 0,05$) entre los tratamientos, asimismo los parámetros hematológicos (hematocrito, hemoglobina, recuento de glóbulos rojos, volumen corpuscular medio, concentración de hemoglobina corpuscular media y leucocitos totales) no mostraron diferencias significativas ($p > 0,05$), sin embargo, se encontró que los valores de trombocitos totales fueron significativamente mayores ($p < 0,05$) en los tratamientos con el aceite esencial de *O. gratissimum* (1,25 g /kg y 5,0 g/kg) a los 30, 60 días y después del desafío bacteriano. En los parámetros bioquímicos, no se encontró diferencia significativa en los valores de proteína total ni entre los tratamientos ni entre el tiempo, sin embargo, los valores de glucosa plasmática fueron significativamente menores en los tratamientos con el aceite esencial de *L. sidoides* en comparación al control al final de los 30

días de alimentación. La tasa de supervivencia entre los peces alimentados con la dieta que contiene 0,625 g de *L. sidoides*/kg fue significativamente mayor (40%) al grupo control a los 10 días después de la infección, sin embargo, no se observaron diferencias significativas en los tratamientos con AE de *O. gratissimum* y *Z. officinale*. Concluyendo que los aceites esenciales de *L. sidoides*, *O. gratissimum*, y *Z. officinale* no afectaron el desempeño zootécnico y los parámetros hematológicos en tambaqui a concentraciones de 0,625 y 1,25 g/kg; 1,25 y 5,0 g/kg; 1,25 y 5,0 g/kg en la dieta. Además, los peces infectados alimentados con 0,625 g de *L. sidoides*/kg tuvieron una tasa de supervivencia del 40% después de la exposición, mientras que el grupo de control tuvo una supervivencia del 20%, por lo que se necesitan más estudios específicos con diferentes concentraciones de aceite esencial, tiempo de alimentación y tratamiento para la *Aeromoniasis*.

Carneiro et al. (2021) estudiaron los efectos de la suplementación dietética del aceite esencial de orégano *Origanum vulgare* en el rendimiento de crecimiento, los parámetros bioquímicos, la histomorfometría intestinal, la composición corporal total y el crecimiento muscular del bagre *Lophiosilurus alexandri*, utilizando 80 juveniles de bagre (peso corporal inicial $15,7 \pm 1,8$ g y longitud $9,5 \pm 0,45$) se distribuyeron aleatoriamente en 16 tanques circulares con 5 peces por tanque en sistema de recirculación (RAS) con filtros mecánicos, biológicos y ultravioleta, aireación continua y sistema de calefacción. Los peces fueron alimentados con dietas suplementadas con aceite esencial de orégano al 0; 1,0; 2,0 y 4,0 g/kg durante 13 semanas. Después de este periodo, realizaron la biometría, pesaron y midieron a los peces para calcular los parámetros de rendimiento, recolectaron muestras de sangre de la vena caudal y sacrificaron a los peces para retirar las vísceras y el músculo, registrando el peso para calcular los índices somáticos y muestras de músculo para el análisis de crecimiento muscular y composición química. Los resultados se analizaron según el análisis polinomial y obtuvieron que la ganancia de peso, la ganancia de longitud y la tasa de crecimiento específico mejoraron

en peces alimentados con dietas suplementadas con aceite esencial de orégano siendo 2,37; 2,56 y 2,33 g/kg los respectivos niveles que maximizan estas variables, la glucosa plasmática, el colesterol, los triglicéridos, el contenido de proteína corporal y las fibras musculares hiperplásicas se maximizaron con 2,10 y 2,25 g/kg, respectivamente. Los porcentajes de humedad corporal, lípidos totales, cenizas y fibras musculares hipertróficas no fueron influenciados por el aceite esencial. Concluyendo que la suplementación dietética con 2,10–2,56 g/kg de aceite esencial de orégano mejora el rendimiento del crecimiento, la retención de proteínas corporales y el crecimiento muscular de *Lophiosilurus alexandri*.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

- Evaluar el efecto de las concentraciones de aceite esencial de muña en el rendimiento productivo, hematológico e inmunológico del sábalo *Brycon amazonicus*.

1.3.2 Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de las concentraciones de aceite esencial de muña en los parámetros de desempeño productivo del sábalo.
- Evaluar el efecto de las concentraciones de aceite esencial de muña en los valores hematológicos e inmunológicos del sábalo.
- Determinar el efecto de las concentraciones de aceite esencial de muña en la composición corporal del músculo de sábalo.
- Evaluar la sobrevivencia y los valores hematológicos e inmunológicos después del desafío bacteriano con *Aeromonas hydrophila*.

1.4 Justificación

La presente investigación se enfocó en mejorar el cultivo de sábalo, especie con buena demanda e importancia económica en la región Loreto (PRODUCE, 2019), su cultivo tiene

como limitante la sensibilidad a los procedimientos de manipulación, captura y transporte, situaciones que le ocasionan estrés (FAO, 2010). Frente a esta problemática el estudio ofrece una nueva alternativa para mitigar los efectos causados por la manipulación y el estrés en los sistemas de cultivos mediante la inclusión de aceites esenciales en la alimentación del sábalo para mejorar la productividad y prevenir las enfermedades.

De la revisión de estudios previos se pudo determinar los diversos beneficios de la suplementación de dietas con aceites esenciales para peces, debido a sus propiedades inmunoestimulantes y actividades antibacterianas actúan como promotores del crecimiento, reducen el estrés, son potenciadores del sistema inmunológico y son agentes antibacterianos (Chakraborty y Hancz, 2011). Los aceites que han sido investigados en su mayoría son de origen natural, son compuestos biodegradables que no generan residuos en los peces, no contaminan el medio ambiente y no constituyen una amenaza para la salud humana, por lo que, son una buena opción para incluirlas en las dietas y así evitar el uso excesivo de antibióticos que ocasionan grandes pérdidas económicas debido a la resistencia que generan (Stratev et al., 2017). Teniendo en cuenta estas propiedades en varios países se ha estudiado la efectividad de las plantas medicinales en Cuba, México (Prieto et al., 2005), India, Tailandia, Japón y Turquía (Fajer-Ávila et al., 2017).

En nuestro país el estudio de los aceites esenciales como suplementos alimenticios en los peces todavía es incipiente, por ello el presente estudio es importante para promover nuestros recursos, dar a conocer los beneficios de las plantas medicinales en la acuicultura e incentivar a las futuras investigaciones. Asimismo, se pretende contribuir al desarrollo de la actividad acuícola en la región amazónica y potenciar el cultivo de las especies nativas para el beneficio de los productores y consumidores.

1.5 Hipótesis

Hipótesis nula

El aceite esencial de muña *Minthostachys mollis* como suplemento alimenticio no tiene un efecto positivo en el rendimiento productivo, composición corporal y valores hematológico e inmunológico del sábalo *Brycon amazonicus*.

Hipótesis alternante

El aceite esencial de muña “*Minthostachys mollis*” como suplemento alimenticio tiene un efecto positivo en el rendimiento productivo, composición corporal y valores hematológico e inmunológico del sábalo *Brycon amazonicus*.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Bases teóricas del tema de investigación

2.1.1 *Sábalo cola roja Brycon amazonicus*

2.1.1.1 Clasificación taxonómica. El *Brycon amazonicus* es conocido comúnmente como; sábalo cola roja (Perú), yamú (Colombia) y matrinxã (Brasil) (FAO, 2010) (Figura 1), su clasificación taxonómica, Integrated Taxonomic Information System (ITIS):

Reino	: <i>Animalia</i>
Filo	: <i>Chordata</i>
Clase	: <i>Teleostei</i>
Orden	: <i>Characiformes</i>
Familia	: <i>Characidae</i>
Genero	: <i>Brycon</i>
Especie	: <i>Brycon amazonicus</i> (Spix y Agassiz, 1829)

2.1.1.2 Características generales. El *Brycon amazonicus* (Spix y Agassiz, 1829) es un carácido nativo de la cuenca del río Amazonas, río Orinoco y el río Esequibo de Guyana, ampliamente distribuido en Perú, Brasil, Colombia, Venezuela y Guyana (Lima, 2017). Es la especie más grande del género alcanzando una longitud de 60 centímetros, cuerpo robusto, alargado, de color plateado con la región dorsal más oscura, rojizo en la parte superior de la cabeza y distinguiéndose por tener la base de la aleta anal y la parte ventral de color claro (García-Dávila et al., 2018). En su medio natural realiza migraciones tróficas para alimentarse de semillas, flores, restos de vegetales e insectos, teniendo un hábito de alimentación omnívoro (Pizango-Paima et al., 2001; Izel et al., 2004). Además, es una especie importante para la economía de los pobladores amazónicos por su demanda, palatabilidad y con excelentes características para la acuicultura (De Oliveira et al., 2017).

Figura 1

Sábalo cola roja Brycon amazonicus



Fuente: García-Dávila et al. (2018)

2.1.1.3 Características físico-químicas del agua de cultivo. Los valores óptimos para el cultivo de sábalo cola roja *Brycon amazonicus* se encuentran en la Tabla 1.

Tabla 1

Características fisicoquímicas del agua de cultivo de sábalo cola roja Brycon amazonicus

Parámetros	Unidad	Rangos
Temperatura	C°	26 - 31
Oxígeno disuelto	mg/l	>3
pH	Unidades	6,0 – 8,0
Amonio	mg/l	<0,02

Fuente: Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero (FONDEPES, 2017)

2.1.1.4 Cultivo en cautiverio. El sábalo *Brycon amazonicus* posee excelentes características para el cultivo por su fácil adaptación al cautiverio, al alimento balanceado y su buena calidad de la carne, por lo que constituye una especie con gran potencial (Cruz-Casallas et al., 2011). La alimentación durante el cultivo se realiza con alimento balanceado de 25 a 30% de proteína bruta y la tasa de alimentación diaria recomendable es de 3% de la biomasa, suministrada de dos a tres veces al día. En estas condiciones se han reportado conversiones de 1,5 a 2 en periodos de cinco a seis meses con 400-500 gramos de peso (Arias et al., 2003). Sin embargo, su cultivo no se ha intensificado a gran escala, porque hay factores productivos que no están desarrollados, por eso, se ha realizado investigaciones en; larvicultura por la alta mortalidad y el canibalismo (Carvalho et al., 2018), en la etapa juvenil por su comportamiento territorial y agresivo (Wolkers et al., 2012). Además, debido a su naturaleza dinámica y sensible al manejo se han realizado estudios sobre las respuestas fisiológicas ante el estrés por captura (Hoshiba et al., 2009), transporte, densidad (Abreu et al., 2008; Urbinati et al., 2004) y comportamiento (Wolkers et al., 2015; Serra et al., 2015).

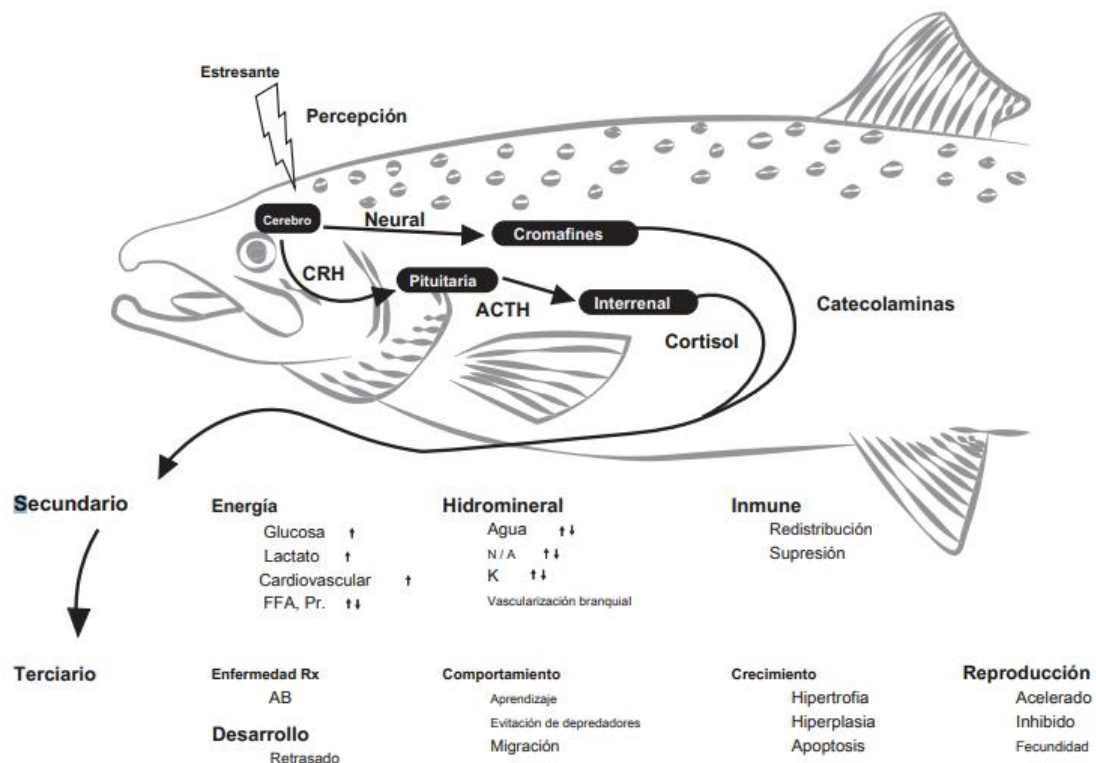
2.1.2 Estrés y respuesta fisiológica de los peces

En los sistemas de cultivo hay varios factores estresantes para los peces, como los ambientales (temperatura, luz y oxígeno), químicos (calidad de agua) y de procedimiento (manipulación, captura, transporte y confinamiento) (Kumar et al., 2015). El estrés es la respuesta del organismo frente a un desafío externo que produce cambios fisiológicos para mantener la homeostasis, se clasifica de acuerdo a la duración de los agentes estresantes en agudo y crónico; los agudos son aquellos de corta duración y variable intensidad, como escapar de un depredador o ser perseguido y atrapado por una red, los crónicos son aquellos de duración prolongada y que perduran en el tiempo, como por ejemplo la inapropiada densidad de cultivo y la posición inferior en la jerarquía social (Schreck y Tort, 2016). El proceso del estrés inicia con la percepción del estímulo estresante por el cerebro y desencadena una secuencia de

respuestas fisiológicas (Figura 2), la respuesta primaria inicia con la activación del sistema Cerebro-Simpático-Cromafín, la cual sintetiza y libera catecolaminas a la sangre, principalmente adrenalina y noradrenalina (Wendelaar, 2011), paralelamente se da la estimulación del eje hipotalámico-pituitario-interrenal (HPI), proceso lento que sintetiza hormonas corticosteroides y tiene como producto final la liberación del cortisol al plasma sanguíneo, por eso, los niveles altos de cortisol son indicadores del estrés primario en los peces (Barton, 2002). Estos sucesos generan una serie de respuestas secundarias, que están centradas en el abastecimiento de energía; el cortisol ingresa al hígado (órgano principal de almacenamiento de energía), rompe las moléculas de glucógeno para liberar glucosa al plasma y poder obtener la energía necesaria para hacer frente al estrés. Por lo tanto, los niveles altos de glucosa son buenos indicadores del estrés secundario en los peces. Asimismo, las catecolaminas provocan cambios en la circulación sanguínea y el oxígeno, causando cambios hematológicos y alteraciones osmóticas e iónicas (Kumar et al., 2015). La continua exposición al factor estresante provoca las respuestas terciarias, ocasionando cambios en el comportamiento, disminución del crecimiento, inhibición de la reproducción y la resistencia a enfermedades, afectando negativamente el rendimiento productivo (Barton, 2002).

Figura 2

Representación de las respuestas fisiológicas (primaria, secundaria y terciaria) de los peces frente a situaciones de estrés



Fuente: Schreck y Tort (2016)

2.1.3 Sistema inmune de los peces

Los peces habitan en un medio junto a una gran variedad de agentes infecciosos (bacterias, virus, hongos, parásitos y protozoos) que pueden causar enfermedades cuando los peces se encuentran en condiciones adversas, para hacer frente a estas situaciones los peces poseen un sistema inmunológico que está compuesto por un conjunto de componentes celulares y humorales para la defensa de su organismo, este se divide en dos categorías: sistema inmune innato (o no específico) y sistema inmune adquirido (o específico) (Secombes y Wang, 2012).

El sistema inmune innato es la primera línea de defensa contra los patógenos, está conformado por el tegumento (piel y mucus); los componentes celulares de defensa (leucocitos, macrófagos, granulocitos, neutrófilos, eosinófilos), células citotóxicas no específicas) y los

componentes humorales (sistema del complemento) (Urbinati et al., 2020). Los patógenos enfrentan primero la barrera epitelial, formada por el tegumento, la piel y el mucus que se encargan de secretar componentes bactericidas para evitar la entrada de estos microorganismos (Magnadóttir, 2006), sin embargo, si el patógeno logra la invasión tisular, los primeros en la defensa son los leucocitos, seguidamente son reconocidos y capturados por las células antígenas (macrófagos, neutrófilos y eosinófilos), los macrófagos que poseen defensas antimicrobianas, eliminan a los patógenos por medio de la fagocitosis (Penagos et al., 2008) y por la producción de moléculas reactivas de oxígeno, nitrógeno y citosinas inflamatorias (Wiegertjes et al., 2016); los monocitos participan en la fagocitosis, tienen actividad citotóxica, cuando migran a los tejidos, se denominan macrófagos y presentan actividad de estallido respiratorio; los neutrófilos poseen mecanismos antimicrobianos, sustancias citotóxicas y tienen la capacidad de desgranularse en el espacio extracelular, siendo capaces de destruir diversos patógenos intracelulares y extracelulares (Rieger y Barreda, 2011), y también están los eosinófilos que se distribuyen en el tejido conectivo, las branquias, tracto gastrointestinal y torrente sanguíneo cuando hay una infestación de parásitos, se encuentran en los procesos inflamatorios y la defensa celular por desgranulación. Estas células del sistema innato tienen la función de vincularse con el sistema adquirido para continuar con el proceso de defensa (Urbinati et al., 2020).

El sistema adquirido o específico es la segunda línea de defensa, produce dos tipos de respuestas, celulares (linfocitos T) y humorales (linfocitos B). En la respuesta inmunitaria celular se activan los linfocitos T, célula específica encargada de recibir y reconocer al agente invasor (previamente procesado por las células antígenas), después del reconocimiento la célula T secreta citosinas que activan a los linfocitos B para la producción de anticuerpos (respuestas humorales). Los anticuerpos se unen para inactivar al agente invasor (virus, microbios o bacterias) y bloquear su capacidad de unirse a células huésped, pero si este logra

infectar a las células huésped, el linfocito T se encargará de eliminarlas antes que pueda replicarse (Secombes y Wang, 2012).

2.1.4 Hematología en peces

La hematología es una herramienta útil para evaluar el estado de salud de los peces y las condiciones fisiológicas, se realiza mediante el análisis de los parámetros hematológicos; eritrocitos, hematocrito (Hct), hemoglobina (Hb), volumen corpuscular medio (VCM), hemoglobina corpuscular media (HCM), concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) y cantidad de leucocitos, los cuales están influenciados por los factores intrínsecos (edad, sexo y especie) y sufren cambios y alteraciones con los factores extrínsecos (temperatura, calidad del agua, manipulación, captura y densidad) y las situaciones de estrés y enfermedad (Burgos-Aceves et al., 2019). Los parámetros hematológicos de los peces son afectados principalmente por el estrés, produce alteraciones en la cantidad de hemoglobina y el recuento de eritrocitos (indicadores de estrés por contaminación), asimismo los cambios en el recuento diferencial de leucocitos son indicadores principales de estrés crónico. Por lo tanto, las variaciones de los parámetros hematológicos son importantes para el diagnóstico de patógenos y enfermedades infecciosas en los peces (Ahmed et al., 2020)

2.1.4.1 Eritrocitos. Los eritrocitos o glóbulos rojos son las células más abundantes de la sangre, en los vertebrados se caracterizan por poseer núcleo y su función principal es el transporte de oxígeno a las células y tejidos, también tienen la capacidad de detectar patrones moleculares de patógenos específicos, desempeñando un papel importante en la respuesta inmunológica (Shen et al., 2018). Los eritrocitos son formados por el órgano linfoide (riñón) y producidos por hematopoyesis, donde se da la maduración celular y la diferenciación, de acuerdo a su estructura los eritrocitos son denominados maduros e inmaduros. Los eritrocitos maduros tienen una forma ovalada, alargada, con núcleo de menor tamaño en comparación al citoplasma y los eritrocitos inmaduros que son redondeados y con núcleo de mayor proporción

que el citoplasma (Claver y Quaglia, 2009). En un hemograma es normal encontrar mayor cantidad de eritrocitos maduros y una mínima cantidad de eritrocitos inmaduros, debido a la eritropoyesis. Sin embargo, la presencia de eritrocitos inmaduros también puede ser una respuesta al estrés por factores ambientales como hipoxia, toxinas o cambios de temperatura (Clauss et al., 2008).

2.1.4.2 Hemoglobina. La hemoglobina es la proteína principal de los eritrocitos, ayuda en el transporte de oxígeno, también tiene funciones adaptativas, como mediadores entre el organismo y el medio ambiente, cuando los peces experimentan variaciones y disponibilidad de O₂, salinidad, composición iónica, pH y temperatura, la hemoglobina identifica los cambios en el medio y adapta fisiológicamente al organismo (Verde et al., 2011). Las concentraciones normales de hemoglobina de los teleósteos oscilan entre 5 y 10 g / dL (Grant, 2015).

2.1.4.3 Hematocrito o Volumen de células empaquetadas (PCV). El hematocrito o volumen de células empaquetadas (PCV) es la concentración de glóbulos rojos por volumen de sangre, se expresa como porcentaje y su valor normal en teleósteos se encuentra en un rango de 20% a 45%. Sin embargo, los factores extrínsecos (temperatura, calidad del agua, manipulación, captura y densidad) y el estrés provocan variaciones en los porcentajes de hematocrito, generando alteraciones y enfermedades como la anemia (Grant, 2015).

2.1.4.4 Índices hematimétricos. Los índices hematimétricos son el volumen corpuscular medio (VCM), hemoglobina corpuscular media (HCM) y la concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM), parámetros que se calculan a partir del porcentaje de hematocrito, concentración de hemoglobina y recuento total de eritrocitos. Por lo general, los peces óseos tienen mayor cantidad de índices hematimétricos en comparación con el hematocrito, la hemoglobina y los eritrocitos, sin embargo, sus valores pueden cambiar dependiendo la especie, la estación, la madurez celular (cuanto más madura, más grande es la célula, lo que aumenta los valores) y la dieta (Grant, 2015).

2.1.4.5 Leucocitos. Los leucocitos o glóbulos blancos son las células sanguíneas más importantes del sistema inmunológico, sus principales componentes son los macrófagos, monocitos, neutrófilos y linfocitos, tienen función fagocítica, bactericida y potentes actividades citotóxicas para defender al organismo de los patógenos como bacterias, virus y parásitos (Dotta et al., 2014; Fischer et al., 2006). Los niveles de glóbulos blancos son indicadores de las alteraciones de la función inmunológica en situaciones adversas, el recuento de leucocitos aumenta en peces infectados y se reduce en peces expuestos a sustancias tóxicas (De Pedro et al., 2005)

2.1.5 *Aeromonas hydrophila* en peces

La acuicultura es una actividad económica importante a nivel mundial, es un sector de producción para la alimentación humana, con buena demanda y rápido crecimiento (FAO, 2018). El cultivo intensivo de peces trae consigo situaciones estresantes como la manipulación, captura, transporte y confinamiento, procedimientos que producen cambios en el sistema fisiológico y generan susceptibilidad a enfermedades infecciosas (Sánchez-Muros et al., 2017). En los últimos años una de las enfermedades que ha causado grandes pérdidas económicas son las infecciones bacterianas por *Aeromonas hydrophila*, afectando la producción acuícola en varios países como Estados Unidos (Peatman et al., 2018), Brasil (Tavares-Dias y Martins, 2017), Uruguay (Perretta et al., 2018), y México (Zepeda-Velázquez, 2015).

La *Aeromonas hydrophila* es una bacteria gramnegativa que en condiciones normales habita en ambientes acuáticos y en la microbiota intestinal de los peces sanos, sin embargo, se convierte en una amenaza para los peces cuando estos se encuentran bajo situaciones de estrés, aprovechando para atacar el sistema inmunológico (Dong et al., 2016). Este mecanismo bacteriano puede deberse a la propiedad que tienen las bacterias para reconocer y responder a las hormonas de estrés (catecolaminas y cortisol) liberadas por los peces, causando infección

bacteriana (Silva et al., 2021) y provocando signos clínicos como septicemia hemorrágica en bazo, hígado y riñones, hinchazón abdominal, descamación epitelial, natación errática (Dias et al., 2016), despigmentación de la epidermis, ulceración dorsal, ulceración ventral, hinchazón abdominal e inflamación del ano, branquias pálidas, manchas blancas en la vesícula biliar, manchas hemorrágicas en el corazón y el cerebro (Da Silva et al., 2011). El estudio de Garcia et al. (2009) reportó características clínico patológicas en el pacú *Piaractus mesopotamicus* después de 24 horas de la inoculación (cavidad abdominal con ascitis), en el segundo día los peces presentaron una coloración negruzca, un hematoma, hemorragia anal, aletas pélvicas hemorrágicas y rotas y con muerte a las pocas horas. Asimismo, la infección bacteriana producida por *Aeromonas hydrophila* también infecta a los seres humanos causando gastroenteritis, heridas de los tejidos blandos, enfermedad diarreica y hasta septicemia, por lo que el organismo es considerado una amenaza para la salud pública y de los peces (Sha et al., 2002; Rey et al., 2009). Una medida para contrarrestar estos efectos fue la utilización de antibióticos, sin embargo, su uso masivo ha ocasionado daños en la microflora y resistencia bacteriana en los peces (Tu et al., 2009). Por lo tanto, se han buscado nuevas alternativas como los fitoquímicos y aceites esenciales que tienen propiedades antimicrobianas y antioxidantes que mejoran el sistema inmunológico, ayudan a prevenir y contrarrestar las enfermedades bacterianas sin causar ningún impacto ambiental en la salud de los peces (Chakraborty y Hancz, 2011).

2.1.6 Aceites esenciales

Los aceites esenciales son sustancias químicas, líquidas y volátiles obtenidos de material vegetal como flores, hojas, semillas, hierba, frutos y raíces (Burt, 2004; Edris, 2007). Los principales componentes de los aceites esenciales son los terpenos y terpenoides, el otro grupo son los componentes aromáticos (alcoholes, aldehídos y fenoles) y alifáticos que se encuentran en menor proporción (Bakkali et al., 2008), compuestos activos que son originados

por procesos metabólicos de las plantas y su composición química varía de acuerdo a la especie y tipo de planta, también a la parte de planta, etapa de desarrollo y las características de cultivo de la planta como suelo, clima, estación, hora, día y fecha del año (Góra et al., 2002). Asimismo, los métodos de extracción también influyen significativamente en los componentes químicos y propiedades de los aceites esenciales, los métodos más usados son la hidrodestilación, la destilación al vapor, el prensado en frío, la extracción con solvente y los métodos simultáneos de destilación-extracción, entre otros (Reyes-Jurado et al., 2015). Los principios activos de los aceites esenciales tienen propiedades beneficiosas en la nutrición y salud animal, reportando efectos positivos como reductores del estrés, promotor del crecimiento, estimulación del apetito y propiedades antimicrobianas en los peces y organismos acuáticos (Citarasu, 2010; Sutili et al., 2017).

2.1.6.1 Mecanismos de acción. Los fitoquímicos y aceites esenciales reportan diferentes mecanismos de acción como promotores del crecimiento, inmunoestimulantes y actividad antibacteriana, antiestrés y antiparasitarios (Sutili et al., 2017).

2.1.6.2 Promotores del crecimiento. Los aceites esenciales tienen efectos beneficiosos en el rendimiento productivo de los peces, actúan como promotores del crecimiento debido a sus propiedades antimicrobianas que mejoran la microflora intestinal y la digestión (Chakraborty et al., 2013), también a su efecto promotor del crecimiento de las vellosidades intestinales que favorecen la salud intestinal, mejorando la absorción y utilización de los nutrientes (Valladão et al., 2017). Además, tienen propiedades que estimulan el apetito y aumentan la ingesta de alimento, mejorando la ganancia de peso y los parámetros productivos de los peces (Talpur, 2014). Efectos que han sido reportados en el aceite esencial de orégano *Origanum heracleoticum* L. y menta *Mentha piperita*, aumentaron la ganancia de peso, tasa de crecimiento, consumo de alimento, factor de condición y conversión alimenticia de los peces (Zheng et al., 2009; Adel et al., 2015).

2.1.6.3 Agentes inmunoestimulantes. Los inmunoestimulantes son sustancias químicas que mejoran la respuesta inmunitaria como la proliferación de los linfocitos, leucocitos y la activación sistema complemento (Chakraborty y Hancz, 2011). Los fitoquímicos son buenos inmunoestimulantes, por sus compuestos activos que inhiben y bloquean la replicación de las células huésped, mejoran la actividad fagocítica y fortalecen el sistema inmunológico adaptativo e innato de los peces (Harikrishnan et al., 2011). Efectos que han sido evaluados en los peces, la tilapia Mozambique *Oreochromis mossambicus* alimentada con aceite esencial de limón cítrico e infectada con *Edwardsiella tarda* mostró una respuesta positiva al aumentar el recuento de leucocitos (Baba et al., 2016). El bagre plateado *Rhamdia quelen* suplementado con aceite esencial de *Origanum majorana* mostró niveles altos de linfocitos y una alta tasa de supervivencia después del desafío con *Aeromonas hydrophila*, lo que indica la estimulación del sistema inmunológico (Da Cunha et al., 2018).

2.1.6.4 Agentes antibacterianos. Las propiedades antibacterianas (los fenoles, los polisacáridos, los proteoglicanos y los flavonoides) de los aceites esenciales desempeñan un papel importante en la prevención y el control de patógenos (Citarasu, 2010), porque inhiben el crecimiento de células bacterianas y de metabolitos bacterianos tóxicos por medio de las interacciones con las membranas biológicas de las bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, siendo más eficaces frente a la grampositiva por la composición de la membrana celular (Nazzaro et al., 2013). Las actividades antibacterianas de los aceites esenciales se han reportado en diferentes especies de peces frente a bacterias, el aceite esencial de *Origanum onites* mejoró la respuesta de la trucha *Oncorhynchus mykiss* frente a *Lactococcus garvieae*, (Diler et al., 2016), el aceite esencial de limón cítrico *Citrus limon* en la tilapia Mozambique *Oreochromis mossambicus* frente a *Edwardsiella tarda* (Baba et al., 2016) y el aceite esencial de orégano *Origanum heracleoticum L.* en el bagre del canal *Ictalurus punctatus* frente a *Aeromonas hydrophila* (Zheng et al., 2009). Al actuar como resistentes antibacterianos también mejoran la

supervivencia de los peces, la suplementación dietética con orégano aumentó la supervivencia de la tilapia del Nilo frente a *Streptococcus agalactiae* y también mejoró el índice bactericida y la actividad de la lisozima (Espirito-Santo et al., 2019).

2.1.7 Muña *Minthostachys mollis*

La muña *Minthostachys mollis* es una planta nativa, habita en la serranía peruana entre los 2500 y 3500 msnm (Cano et al., 2008), pertenece al género de los arbustos aromáticos y leñosos, distribuidos en los andes de América de Sur en Argentina, Bolivia, Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela (Torrenegra-Alarcón et al., 2016), conocido por sus virtudes terapéuticas en la medicina ancestral y por su actividad antibacteriana (Carhuapoma et al., 2009). Es un género de importancia comercial, etnobotánica, farmacológica por sus aceites esenciales (Schmidt-Lebuhn, 2008).

2.1.7.1 Clasificación taxonómica. La clasificación taxonómica es la siguiente:

Reino:	<i>Vegetal</i>
División:	<i>Magnoliophyta</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida</i>
Orden:	<i>Tubiflorae</i>
Familia:	<i>Lamiaceae</i> (<i>Labiatae</i>)
Genero:	<i>Minthostachys</i>
Especie:	<i>Mollis</i> (Freire-Fierro, 2004)

2.1.7.2 Aceite esencial de muña *Minthostachys mollis*. El aceite esencial de muña es un líquido incoloro, oloroso y de sabor ligeramente picante, es obtenido por destilación con vapor húmedo o vapor seco (Castro, 2012), su composición química está formada por terpenos, fenoles, saponinas, taninos, alcaloides y esteroides (Huari, 2014). No obstante, los componentes varían de acuerdo a la especie, el lugar de procedencia y cultivo de la planta (Castro- Alayo et al., 2019).

2.1.7.3 Componentes principales. El aceite esencial de la muña está compuesto principalmente por monoterpenos como la pulegona, mentona, carvacrol, timol y otros componentes en menor proporción (Baca, 2017).

A. Pulegona. La pulegona es el terpeno más importante del aceite esencial de *Minthostachys mollis*, utilizado en perfumería y saborizantes, es altamente tóxico en grandes cantidades propiedad que podría ser la causa de los efectos del aceite de muña contra los patógenos (Baca, 2017), también puede provocar el aborto y dañar el hígado, es usado como pesticida para mascotas y tratamiento de enfermedades respiratorias. Es compuesto principal del aceite de poleo *Mentha pulegium L.* y también se encuentra presente en algunos aceites de la familia *Lamiaceae* como la menta *Mentha piperita L.* (Barceloux, 2008).

B. Mentona. La mentona junto a la pulegona conforman el 75% de los compuestos terpénicos del aceite de muña, es una cetona de sabor áspero y amargo, posee propiedades digestivas y un olor característico (Castro, 2012). Las propiedades de la mentona derivan predominantemente del (2)-mentol, es uno de los principales componentes de la menta *Mentha piperita* y posee actividad antioxidante y antimicrobiana (Davis, 2005; Khodja et al., 2018).

C. Carvacrol. Es la tercera sustancia más importante del aceite esencial de muña (Castro, 2012). El carvacrol o 2-metil-5-(1-metiletil)-fenol es un fenol monoterpénico, se encuentra en plantas aromáticas y aceites esenciales de la familia Labiatae (*Origanum, Satureja, Thymbra, Thymus* y *Corydothymus*), es utilizado como agente aromatizante, aditivo

alimentario y en la medicina tradicional por sus propiedades biológicas como antioxidante, antitumoral, antiinflamatorio, analgésico y por su actividad antiparasitaria, insecticida y antimicrobiana (Nostro y Papalia, 2012).

D. Timol. El timol es un componente menor del aceite esencial de muña (Baca, 2017). Es un fenol monoterpénico constituyente principal del aceite esencial de tomillo *Thymus vulgaris* L. (Lamiaceae), posee varias propiedades terapéuticas para el tratamiento de enfermedades del sistemas respiratorio, nervioso y cardiovascular, además tiene actividades antimicrobianas, antioxidantes, anticancerígenas, antiinflamatorias y antiespasmódicas (Salehi et al., 2018).

2.1.7.4 Propiedades antimicrobianas. Las investigaciones demuestran que la actividad antibacteriana del aceite esencial de muña depende de los compuestos químicos de la planta y varía de acuerdo al lugar de cultivo. Carhuapoma et al. (2009) reportó que el aceite esencial muña *Minthostachys milis* “ruyaq muña” procedente de la provincia de Huanta (Ayacucho) demostró su actividad antibacteriana contra *Shigella dysenteriae*, *Helicobacter pylori* y *Salmonella typhi*, efecto que se debió a la acción sinérgica de sus elementos (timol, acetato de timol, metileugenol, pulegona, mentona, limoneno, linalol) y en especial a la actividad antibacteriana de los compuestos fenólicos. Asimismo, el aceite de hojas de *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb proveniente de Trujillo (Venezuela) mostró un efecto inhibidor contra bacterias Gram-positivas (*Staphylococcus aéreos*, *Enterococcus faecalis* y *Bacillus subtilis*) y Gram-negativas (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhi* y *Pseudomonas aeruginosa*), que probablemente se debió al papel bacteriano de la pulegona, trans-mentona y el germacreno-D (Mora et al., 2009). No obstante, Torrenegra-Alarcón et al. (2016) mencionaron que la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (procedente de Colombia) contra *Staphylococcus aureus*,

Staphylococcus epidermidis y *Escherichia coli* se debió a la gran cantidad de monoterpenos oxigenados y al carvacrol como agente antimicrobiano principal.

III. MÉTODO

3.1 Tipo de investigación

El presente trabajo de investigación fue experimental, permitió conocer la influencia del aceite esencial de muña en el rendimiento productivo, hematológico e inmunológico del sábalo *Brycon amazonicus*.

3.2 Ámbito temporal y espacial

El trabajo experimental se realizó en las instalaciones del Centro de Investigaciones Fernando Alcántara Bocanegra (CIFAB) de la Dirección de Investigación en Ecosistemas Acuáticos (AQUAREC) del Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP), sede Iquitos, ubicado en el margen derecho de la carretera Iquitos - Nauta en el Km 4.5, Quistococha, distrito de San Juan Bautista, provincia de Maynas, región Loreto. Geográficamente ubicado a 3° 45' 0586'' de Latitud sur, 73° 14' 4097'' de Longitud oeste y altitud de 122,4 msnm.

Figura 3

Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana (IIAP)



3.3 Variables

3.3.1 Variable independiente

Las concentraciones (0%; 0,5%; 1% y 1,5%) de aceite esencial de muña en el alimento.

3.3.2 Variables dependientes

Rendimiento productivo, hematológico e inmunológico del sábalo *Brycon amazonicus*.

3.4 Población y muestra

La población y muestra estuvo conformada por 120 juveniles de sábalo *Brycon amazonicus* de $47,8 \pm 7,7$ g de peso y longitud total de $15,2 \pm 0,7$ cm, obtenidos por reproducción inducida en el Centro de Investigaciones Fernando Alcántara Bocanegra (CIFAB) del Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP).

3.5 Diseño experimental

Se utilizó el diseño completamente al azar (DCA) (figura 4), se emplearon cuatro tratamientos: tres con inclusión de 0,5%; 1% y 1,5% de aceite esencial de muña y un control sin aceite (0%), con tres repeticiones por tratamiento. Se distribuyeron aleatoriamente 120 peces en 12 unidades experimentales (tanques), con 10 peces por tanque. El periodo experimental fue de 40 días.

Figura 4

Distribución de los tratamientos con sus respectivas réplicas (R) en los tanques experimentales



3.6 Procedimientos

3.6.1 Aclimatación de los peces

Los 120 juveniles de sábalo *Brycon amazonicus* fueron transportados en bandejas de plástico de un estanque de tierra a un tanque de adaptación de 385 cm de largo x 186 cm de ancho x 46 cm de altura de llenado de agua, con un volumen de 3294,06 litros de agua mezclada con 50% de agua de estanque y 50% de agua de lluvia, esta mezcla de agua se realizó para que los peces se adapten poco a poco al cambio de agua. Se colocó un suministro constante de aireación (24 horas) durante 7 días, a diario se limpió y se realizó recambios de agua al 30%.

3.6.2 Unidades experimentales

Se utilizaron 12 tanques de concreto revestido con cerámica color azul (186 cm de largo x 136 cm de ancho x 44 cm alto) conteniendo 600 litros de agua, cada tanque contaba con un filtro mecánico de esponja y aireación contante, fueron cubiertos con tapas de listones de madera (1" x 2") y malla nylon verde de 1 mm de abertura. La densidad en cada tanque fue de 10 peces/tanque.

3.6.3 Dieta experimental

Se utilizó el alimento balanceado para peces Aquatech® (NALTECH Nutritional Technologies S.A.C) (Tabla 2), para la inclusión del aceite de muña.

Tabla 2

Características nutricionales del Alimento balanceado Aquatech®

Nutrientes	(%)
Proteína (Mín)	28
Lípidos (Mín)	5
Fibra (Máx)	8

Ceniza (Máx.)	10
Humedad (Máx.)	12

Fuente: Aquatech® (Naltech Nutritional Technologies S.A.C).

3.6.4 Inclusión del aceite esencial de muña al alimento balanceado

La inclusión de aceite esencial de muña *Minthostachys mollis* (**Anexo A**) en el alimento balanceado para peces Aquatech® se realizó por el método de aspersion manual (Dairiki et al., 2013), el cual consistió en elaborar soluciones con alcohol 96° y aceite esencial de cada concentración y adicinarla al alimento utilizando un pulverizador manual (**Anexo B**).

Para conocer la cantidad adecuada de alcohol a utilizarse se realizaron pruebas con diferentes cantidades de alcohol de 96° por cada 100 gramos de alimento balanceado (**Anexo C**), se pesó el aceite esencial de muña y el alcohol de 96° (**Anexo D y E**). Se obtuvo que 10 g de alcohol logra la mejor distribución en el alimento. Por lo tanto, se estableció que 10 g de alcohol de 96° es la cantidad apropiada para 100 g de alimento balanceado.

El alimento balanceado se ubicó en fuentes de plástico, previamente rotuladas de acuerdo al tratamiento correspondiente. La solución de aceite y alcohol de 96° se esparció por todo el alimento con un pulverizador manual con movimientos continuos del alimento para lograr que la solución se distribuya homogéneamente (**Anexo F**). El alimento balanceado se dejó secar a temperatura ambiente (28 °C) por 24 horas (**Anexo G**). Posteriormente se colocó el alimento en frascos de plástico y se almacenó en refrigeración a 4°C.

3.6.5 Alimentación

El alimento se proporcionó en una tasa de alimentación del 3% de la biomasa y con frecuencia de alimentación de tres veces al día (8:00, 12:30 y 17:00 horas). Culminado el período de alimentación se recogió el alimento no consumido de cada tanque para calcular la cantidad de alimento ingerido.

3.6.6 Medición de parámetros de calidad de agua

El monitoreo de los parámetros de calidad de agua como el oxígeno, temperatura, pH y conductividad se realizó de forma interdiaria con una frecuencia de dos veces al día (10 y 16 horas) con la ayuda del Multiparámetro (HANNA Instruments HI98194), la concentración de amoníaco y nitritos se midió dos veces a la semana a través de un fotómetro (HANNA Instruments HI83203).

Figura 5

Multiparámetro (HANNA Instruments HI98194) y Fotómetro (HANNA Instruments HI83203).



3.6.7 Limpieza y mantenimiento de las unidades experimentales

Durante los primeros 10 días las unidades experimentales se limpiaron y sifonearon diariamente para extraer los residuos sólidos, posteriormente se colocaron filtros de esponja a cada tanque que permitieron mantener los sifoneos menos frecuentes y recambios de agua a una vez por semana.

3.6.8 Evaluaciones biométricas

Los muestreos se realizaron a los 30 días experimentales, en los días de muestreo no se proporcionó alimento a los peces. Para todos los muestreos se anestesió a los peces con eugenol (27,4 $\mu\text{l/L}$) durante diez minutos (**Anexo H**), cuando los peces alcanzaron la sedación se

procedió con la medición de los 120 individuos, se obtuvo la longitud total (mm) con un ictiómetro (**Anexo I**) y el peso (g) con una balanza de precisión 0,1 g (**Anexo J**).

3.6.9 Índices de desempeño productivo

Los índices zootécnicos fueron evaluados para analizar el efecto del alimento en el crecimiento de los juveniles de sábalo *Brycon amazonicus*. Se calcularon de la siguiente manera:

- a. **Ganancia de Longitud (GL)**. Se calculó restando la longitud promedio final con la longitud promedio inicial.

$$GL = \overline{LF} - \overline{LI}$$

- b. **Ganancia de Peso (GP)**. Se calculó restando el peso promedio final con el peso promedio inicial.

$$GP = \overline{PF} - \overline{PI}$$

- c. **Ganancia de peso diario (GPD)**. Se calculó dividiendo la ganancia de peso (peso promedio final-peso promedio inicial) entre el número de días experimentales.

$$GPD = \frac{GP}{N^{\circ} d. exp} = \frac{\overline{PF} - \overline{PI}}{N^{\circ} dias experimentales}$$

- d. **Tasa de crecimiento específico (TCE %)**. Se calculó restando el logaritmo natural del peso final menos el logaritmo natural del peso inicial entre el número de días de experimentación todo por cien.

$$TCE (\%) = \frac{\ln(PF) - \ln(PI)}{N^{\circ} dias experimentales} \times 100$$

- e. **Tasa de crecimiento relativo (TCR %).** Se calculó restando el peso final y el peso inicial entre el peso inicial por cien.

$$TCR (\%) = \frac{PF - PI}{PI} \times 100$$

- f. **Índice de conversión alimenticia aparente (ICAA).** Se obtuvo dividiendo la cantidad de alimento suministrado entre la biomasa ganada.

$$ICAA = \frac{\text{Cantidad de alimento suministrado}}{\text{biomasa ganada}}$$

- g. **Consumo de alimento diario.** La cantidad de alimento suministrado se calculó para cada tanque de peces, considerando una tasa de alimentación de 3% de la biomasa de peces. La ración de alimento correspondiente para cada tanque se pesó y se proporcionó a los peces, luego se pesó el alimento restante y por diferencia se obtuvo la cantidad de alimento consumido. Para lo cual se usaron las siguientes fórmulas:

Biomasa (B)

$$B = N^{\circ} \text{ de individuos } \times \text{ peso promedio}$$

Alimento suministrado (AS)

$$AS = \frac{\text{Tasa de alimentacion } \times \text{ Biomasa}}{100}$$

- h. **Factor de condición (k %).** Se obtuvo dividiendo el peso total entre la longitud elevada al cubo por cien.

$$k (\%) = \frac{P}{L^3} \times 100$$

- i. **Índice viscerosomático.** Se calculó dividiendo el peso de las vísceras entre el peso corporal por cien.

$$IVS = \frac{\text{Peso de las vísceras}}{\text{peso corporal}} \times 100$$

- j. **Índice hepatosomático.** Se calculó dividiendo el peso del hígado entre el peso corporal por cien.

$$IHS = \frac{\text{Peso del hígado}}{\text{peso corporal}} \times 100$$

- k. **Sobrevivencia (S %).** Se obtiene dividiendo el número de peces cosechados entre el número de peces sembrados por cien.

$$S(\%) = \frac{N^{\circ} \text{ peces cosechados}}{N^{\circ} \text{ peces sembrados}} \times 100$$

3.6.10 Análisis bromatológicos

Los análisis bromatológicos del músculo de los sábalos en estudio se realizaron en el Laboratorio de Bromatología y Limnología del Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP). Los análisis realizados fueron cenizas o material mineral (MM), humedad (H), extracto etéreo (EE) o lípidos y proteína bruta (PB) y extracto libre de nitrógeno (ELN), estos análisis se realizaron siguiendo el Sistema Weende y las recomendaciones de la A.O.A.C (FAO, 1993). Para lo cual, se sacrificó a los peces, se fileteó el músculo (**Anexo L**) y se trituró los filetes hasta obtener las muestras para los análisis respectivos.

3.6.10.1 Cenizas o Material mineral (C). El contenido de cenizas o minerales totales se determinó mediante la calcinación de las muestras en una mufla a una temperatura de 600° C por 6 horas.

3.6.10.2 Humedad (H). El contenido de humedad de las muestras se determinó por la pérdida de peso de la muestra después de ser sometida a secado a una temperatura de 105°C, hasta conseguir un peso constante.

3.6.10.3 Grasa o Lípidos crudos (LC). El análisis consistió en extraer la grasa de la muestra con un solvente (Hexano) en el equipo de extracción Soxhlet.

3.6.10.4 Proteína bruta (PB). El contenido de proteína se determinó mediante el método de Kjeldahl, que nos permitió calcular el contenido de nitrógeno total en la muestra, luego de pasar por un proceso de digestión, destilación y titulación. Para el cálculo final del porcentaje de proteína se utilizó el contenido de nitrógeno y 6,25 como el factor de conversión.

3.6.11 Colecta de muestras de sangre

La colecta de muestras de sangre se realizó a los 30 y 40 días de experimentación (**Anexo K**). Los peces anestesiados se colocaron sobre una esponja, con toallas húmedas se cubrió los ojos y se extrajo 1 ml de sangre de la vena caudal con la ayuda de jeringas desechables de 3 ml que contenían EDTA (10%), la sangre extraída se distribuyó en 2 tubos: una parte en tubos de 2 ml para análisis hematológicos, las cuales se conservaron en refrigeración (4° C) y la otra parte se colocó en tubos de 0,5 ml para análisis bioquímicos, estas muestras se centrifugaron a 100 rpm por 5 minutos para obtener el plasma sanguíneo que se conservó a -20° C.

3.6.12 Parámetros hematológicos

Los parámetros hematológicos evaluados fueron:

3.6.12.1 Hematocrito. Se determinó por el método del microhematocrito (Goldenfarb et al., 1971), para ello se llenaron los capilares con muestras de sangre y se centrifugaron a 100 rpm por 10 minutos.

3.6.12.2 Concentración de hemoglobina (Hb). Se determinó por el método de la cianometahemoglobina (Laboratorios DIAGTEST®) utilizando un espectrofotómetro para la lectura de las muestras a 540 nm.

3.6.12.3 Número de eritrocitos (Er). El conteo de eritrocitos se realizó en la cámara de Neubauer, haciendo una dilución de 1/200 con solución Natt-Herrick (Natt y Herrick, 1952), después se observó en el microscopio utilizando el aumento de 40x y se contaron 5 cuadrantes.

3.6.12.4 Índices hematimétricos. El cálculo de los índices hematimétricos: volumen corpuscular medio (VCM), hemoglobina corpuscular media (HCM) y la concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) se realizó según el método de Wintrobe (1934) y con las siguientes fórmulas:

a. Volumen corpuscular medio (VCM)

$$VCM (fL) = (\% \text{ de hematocrito} / N. \text{eritrocitos}) \times 10$$

b. Hemoglobina corpuscular media (HCM)

$$HCM (pg) = (\text{hemoglobina} / N. \text{eritrocitos}) \times 10$$

c. Concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM)

$$CHCM (g dL) = (\text{hemoglobina} / \% \text{ de hematocrito}) \times 100$$

3.6.12.5 Número de leucocitos. El conteo de leucocitos se realizó en la cámara de Neubauer, haciendo una dilución de 1/20 con solución Natt-Herrick (Natt y Herrick, 1952), después se observaron en el microscopio utilizando el aumento de 40x y se contaron 4 cuadrantes.

3.6.12.6 Recuento diferencial de leucocitos. Es el conteo del número de los distintos tipos de leucocitos (neutrófilos, eosinófilos, basófilos, linfocitos, monocitos), para ello se realizaron frotis sanguíneos teñidos con reactivo Rosenfeld (Rosenfeld, 1947) por un período de 10 minutos, luego se observó en el microscopio utilizando el aumento de 100x y se identificaron siguiendo el criterio de Tavares-Dias y Moraes (2004).

3.6.13 *Parámetros bioquímicos*

Se evaluó los parámetros bioquímicos como proteínas totales, glucosa y albúmina utilizando los kits del Laboratorio Diagnostic Systems DiaSys®. La concentración de proteínas totales se determinó por el método fotométrico de Biuret a 540 nm, la glucosa por el método fotométrico enzimático GOP-PAP a 500 nm y la albúmina por el método fotométrico con verde de bromocresol a 578 nm con kit Wiener Lab®. Las lecturas se realizaron en un espectrofotómetro UV visible (Thermo Scientific, Genesys 6, USA).

3.6.14 *Inoculación de Aeromonas hydrophila*

3.6.14.1 Preparación del inóculo. Se utilizó la cepa comercial de *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966 (Kwik Stik plus, Microbiologics Inc.), esta cepa se activó de acuerdo a las instrucciones del fabricante, después se sembró en el caldo BHI (Brain Heart Infusion) por 48 horas a una temperatura de 36°C, luego se realizó la siembra en agar GSP para la identificación de la bacteria, incubándose durante el mismo período y temperatura. Posteriormente se extrajo una colonia y se colocó en un matraz con caldo nutritivo BHI incubándose a 36°C y en agitación a 170 rpm por un período de 48 horas, transcurrido este tiempo se extrajo una alícuota que se diluyó 100 veces con PBS (Phosphate Buffered Saline), luego se colocó 1 µl de esta solución en la cámara de Neubauer y se realizó el conteo en el microscopio a 40X, por último se determinó la concentración bacteriana multiplicando el número de células contadas por el factor de dilución, dando como resultado $2,475 \times 10^{11}$ UFC/ml.

3.6.14.2 Desafío bacteriano. Se realizó el desafío con la bacteria *Aeromonas hydrophila* a los 30 días de experimento mediante la inoculación por vía intraperitoneal a 5 peces de cada tanque experimental con jeringas descartables estériles de 0,2 ml a una concentración de $2,475 \times 10^{11}$ UFC/ml por individuo.

3.7 Análisis de datos

Los datos obtenidos fueron almacenados y procesados en una hoja de cálculo de Microsoft Excel, los resultados de los índices zootécnicos y los parámetros hematológicos fueron analizados con el Análisis de Varianza (ANOVA), para la comparación de pares se empleó la Prueba de Tuckey, el criterio de significancia fue $p < 0,05$ con el software estadístico Sigma Plot 11.

IV. RESULTADOS

4.1 Desempeño productivo de los juveniles de sábalo

En la Tabla 3 se muestra los resultados finales del desempeño productivo según el análisis de varianza (ANOVA), en la longitud total final se encontró un mejor crecimiento en el tratamiento 0,5% estadísticamente significativo ($p < 0,05$) en comparación con los tratamientos 1 y 1,5%, pero sin diferencia significativa ($p > 0,05$) con el tratamiento 0% (control). Los valores del peso final, ganancia de peso, ganancia de peso diario, tasa de crecimiento específico y tasa de crecimiento relativo muestran un mejor crecimiento en el tratamiento 0 y 0,5% estadísticamente significativo ($p < 0,05$) en comparación con el tratamiento 1,5% pero no presentan diferencia significativa ($p > 0,05$) con el tratamiento 1%. En el consumo de alimento diario los tratamientos 0 y 0,5% tienen el mejor consumo de alimento sobre los tratamientos 1% y 1,5%, mostrando una disminución de consumo de alimento a medida que se incrementa la dosis del aceite esencial. En el factor de condición el tratamiento 0% tiene el mejor valor y solo presenta diferencia significativa ($p < 0,05$) con el tratamiento 1,5% y los tratamientos 0,5 y 1% no presentan diferencia con ninguno de los tratamientos ($p > 0,05$). Los parámetros de eficiencia alimenticia, índice de conversión alimenticia aparente, índice viscerosomático y hepatosomático no muestran diferencia significativa entre los tratamientos ($p > 0,05$). La sobrevivencia durante el período experimental de 30 días fue de 100% para todos los tratamientos.

Tabla 3

Desempeño productivo de juveniles de sábalo Brycon amazonicus suplementados con aceite esencial de muña Minthostachys mollis en una dieta comercial durante 30 días

Parámetros	0%	0,5%	1%	1,5%
Peso Final (g)	78,7 ± 14,3 ^a	81,1 ± 16,4 ^a	71,8 ± 13,8 ^{ab}	67,1 ± 12,0 ^b
Longitud Total Final (cm)	17,9 ± 1,1 ^{ab}	18,3 ± 1,1 ^b	17,6 ± 1,0 ^a	17,3 ± 0,9 ^a

Ganancia de Peso (g)	31,1 ± 0,8 ^a	33,0 ± 5,1 ^a	25,3 ± 4,7 ^{ab}	18,1 ± 3,1 ^b
GPD (g/día)	1,0 ± 0,0 ^a	1,1 ± 0,2 ^a	0,8 ± 0,2 ^{ab}	0,6 ± 0,1 ^b
TCE (%/día)	1,7 ± 0,5 ^a	1,7 ± 0,2 ^a	1,4 ± 0,2 ^{ab}	1,1 ± 0,2 ^b
TCR (%)	65,5 ± 2,0 ^a	68,7 ± 9,5 ^a	54,4 ± 9,7 ^{ab}	37,2 ± 7,9 ^b
Eficiencia Alimenticia (%)	70,4 ± 1,8 ^a	70 ± 7,8 ^a	63,4 ± 9,4 ^a	52,1 ± 9,3 ^a
ICAA	1,4 ± 0,5 ^a	1,4 ± 0,2 ^a	1,6 ± 0,3 ^a	2,0 ± 0,4 ^a
CAD (g/día)	14,7 ± 0,3 ^a	15,7 ± 0,7 ^a	13,3 ± 0,6 ^b	11,6 ± 0,3 ^c
Factor de condición	1,35 ± 0,1 ^a	1,31 ± 0,1 ^{ab}	1,31 ± 0,1 ^{ab}	1,27 ± 0,1 ^b
Índice viscerosomático (%)	9,3 ± 1,1 ^a	9,3 ± 0,8 ^a	8,4 ± 0,5 ^a	8,5 ± 0,9
Índice hepatosomático (%)	1,8 ± 0,3 ^a	1,8 ± 0,4 ^a	1,7 ± 0,2 ^a	1,6 ± 0,2 ^a
Sobrevivencia (%)	100	100	100	100

GPD= Ganancia de peso diario; TCE= Tasa de crecimiento específico; TCR= Tasa de crecimiento relativo; ICAA = Índice de conversión alimenticia aparente y CAD= Consumo de alimento diario. Las letras distintas en superíndice significan que son diferentes estadísticamente ($P < 0,05$).

4.2 Parámetros hematológicos de los juveniles de sábalo

En los resultados de los parámetros hematológicos y bioquímicos, se encontró que en la serie eritrocítica los valores del hematocrito, eritrocito, hemoglobina, HCM, CHCM de los tratamientos no muestran diferencia significativa entre sí ($p > 0,05$); para el VCM se aprecia que el tratamiento 0,5% muestra un incremento significativo ($p < 0,05$) con 1,5% y sin diferencia significativa ($p > 0,05$) con el tratamiento 0 y 1%, mostrándose una reducción del VCM a medida que se incrementa la concentración del aceite esencial. En la serie leucocítica, los leucocitos, linfocitos, neutrófilos y monocitos no tienen diferencia significativa ($p > 0,05$) entre los tratamientos, a pesar que en el tratamiento 0,5% se incrementa ligeramente los valores de leucocitos y linfocitos; en los heterófilos el tratamiento 0,5% presenta el menor valor significativo ($p < 0,05$) con el tratamiento 0%, pero sin diferencia ($p > 0,05$) con 1 y 1,5%. En los

parámetros bioquímicos, se encontró que el tratamiento 1,5% presentó mayor concentración de glucosa y diferencia significativa ($p < 0,05$) con los tratamientos 0; 0,5 y 1%, para la albúmina y la proteína no se encontró diferencia significativa ($p > 0,05$) entre los tratamientos.

Tabla 4

*Parámetros hematológicos, inmunológicos y bioquímicos de los juveniles de sábalo *Brycon amazonicus* suplementados con aceite esencial de muña *Minthostachys mollis* en una dieta comercial durante 30 días*

Parámetros	0%	0,5%	1%	1,5%
Hematocrito (%)	40,3 ± 4,4 ^a	38,9 ± 5,8 ^a	42 ± 2,3 ^a	38,1 ± 2,6 ^a
Eritrocitos (x10 ⁶ cel/μL)	1,8 ± 0,3 ^a	1,7 ± 0,3 ^a	1,9 ± 0,3 ^a	1,9 ± 0,3 ^a
Hemoglobina (g/dL)	9,5 ± 0,8 ^a	10,1 ± 2,9 ^a	9,5 ± 3,6 ^a	9 ± 3,8 ^a
VCM (fL)	232,6 ± 21,1 ^{ab}	242,3 ± 28,8 ^a	217,6 ± 15,5 ^{ab}	188,9 ± 16,5 ^b
HCM (pg)	53,1 ± 8,6 ^a	57,6 ± 11,5 ^a	54,3 ± 10,1 ^a	46,0 ± 4,9 ^a
CHCM (g/dL)	23,8 ± 1,7 ^a	24,3 ± 4,1 ^a	26,1 ± 6,5 ^a	27,5 ± 6,2 ^a
Leucocitos (10 ³ /μL)	8,6 ± 3,5 ^a	11,1 ± 4 ^a	7,8 ± 2,7 ^a	9,1 ± 4 ^a
Linfocitos (10 ³ /μL)	5,2 ± 2,2 ^a	6,7 ± 2,9 ^a	5,0 ± 1,7 ^a	5,0 ± 2,4 ^a
Neutrófilos (10 ³ /μL)	2,2 ± 0,4 ^a	3,1 ± 1,6 ^a	2,3 ± 1,4 ^a	3,4 ± 1,6 ^a
Monocitos (10 ³ /μL)	0,5 ± 0,3 ^a	0,6 ± 0,4 ^a	0,5 ± 0,3 ^a	0,6 ± 0,3 ^a
Heterófilos (10 ³ /μL)	0,12 ± 0,15 ^a	0,03 ± 0,06 ^b	0,08 ± 0,08 ^{ab}	0,05 ± 0,08 ^{ab}
Glucosa (mg/dL)	76,1 ± 14,1 ^a	89,3 ± 18,4 ^a	73,0 ± 13,3 ^a	114,8 ± 26,3 ^b
Albúmina (g/dL)	1,8 ± 0,2 ^a	1,7 ± 0,3 ^a	1,6 ± 0,2 ^a	1,6 ± 0,3 ^a
Proteína (g/dL)	3,2 ± 0,3 ^a	2,9 ± 0,4 ^a	2,8 ± 0,5 ^a	2,9 ± 0,5 ^a

VCM = volumen corpuscular medio, HCM = hemoglobina corpuscular media y CHCM = concentración de hemoglobina corpuscular media. Las letras distintas en superíndice significan que son diferentes estadísticamente ($p < 0,05$).

4.3 Composición corporal de los juveniles de sábalo

La composición corporal de los peces nos muestra que los valores de humedad, cenizas y lípidos de los tratamientos no tienen diferencia significativa entre sí ($p > 0,05$); para el porcentaje de proteína se encontró que los tratamientos con aceite esencial de muña (0,5; 1 y

1,5%) muestran un incremento de proteína significativo ($p < 0,05$) en comparación con el tratamiento 0% (control).

Tabla 5

*Composición proximal del músculo de los juveniles de sábalo *Brycon amazonicus* suplementados con aceite esencial de muña *Minthostachys mollis* en una dieta comercial durante 30 días*

Composición	0%	0,5%	1%	1,5%
Humedad (%)	77,6 ± 0,5 ^a	77,4 ± 0,8 ^a	77,5 ± 0,7 ^a	77,0 ± 0,3 ^a
Ceniza (%)	1,3 ± 0,1 ^a	1,4 ± 0,1 ^a	1,4 ± 0,1 ^a	1,3 ± 0,0 ^a
Lípidos (%)	1,5 ± 0,3 ^a	1,4 ± 0,3 ^a	1,3 ± 0,3 ^a	1,4 ± 0,2 ^a
Proteína (%)	19,1 ± 0,3 ^a	19,9 ± 0,7 ^b	19,9 ± 0,5 ^b	19,8 ± 0,3 ^b

Valores promedio de la misma fila que tienen letras iguales no muestran diferencias significativas ($P > 0,05$). Las letras distintas en superíndice significan que son diferentes estadísticamente ($p < 0,05$).

4.4 Desafío bacteriano con *Aeromonas hydrophila*

En los peces sometidos al desafío bacteriano con *Aeromonas hydrophila* por 10 días se encontró que no hay diferencia significativa ($p > 0,05$) entre los tratamientos a nivel de sobrevivencia. En la serie eritrocítica (hematocrito, eritrocitos, hemoglobina, VCM, HCM y CHCM) los tratamientos no tienen diferencia significativa ($p > 0,05$), solo se muestra un ligero incremento de hemoglobina en 1, pero no significativo. Así mismo el conteo de los leucocitos, linfocitos, neutrófilos, monocitos y heterófilos de los tratamientos no tienen diferencia significativa ($p > 0,05$), pero se aprecia que el tratamiento 0,5% muestra un ligero incremento de los leucocitos, linfocitos y monocitos no significativo, al comparar los conteos de leucocitos con los 30 días observamos que hubo un incremento después del desafío bacteriano con *A. hydrophila*. En los valores bioquímicos, se encontró que el tratamiento 1,5% tuvo menor concentración de glucosa significativa ($p < 0,05$) en comparación de los tratamientos 0; 0,5 y

1%; para la albúmina y la proteína no se encontró diferencia significativa ($p>0,05$) entre los tratamientos.

Tabla 6

Sobrevivencia, parámetros hematológicos y bioquímicos de juveniles de sábalo Brycon amazonicus después de 10 días del desafío bacteriano con A. hydrophila

Parámetros	0%	0,5%	1%	1,5%
Sobrevivencia (%)	100 ^a	100 ^a	93,3 ± 11,5 ^a	100 ^a
Hematocrito (%)	46,8 ± 8,3 ^a	42,6 ± 6,4 ^a	47,0 ± 5,1 ^a	45,1 ± 4,9 ^a
Eritrocitos (x10⁶ cel/μL)	1,9 ± 0,3 ^a	1,7 ± 0,5 ^a	2,1 ± 0,3 ^a	2,0 ± 0,3 ^a
Hemoglobina (g/dL)	8,5 ± 1,1 ^a	8,0 ± 1,3 ^a	9,1 ± 0,8 ^a	8,4 ± 0,4 ^a
VCM (fL)	232,0 ± 28,8 ^a	232,9 ± 33,3 ^a	231,2 ± 27,5 ^a	232,3 ± 32,0 ^a
HCM (pg)	42,3 ± 4,7 ^a	42,3 ± 5,1 ^a	44,8 ± 5,9 ^a	41,9 ± 4,4 ^a
CHCM (g/dL)	18,4 ± 2,0 ^a	18,9 ± 3,7 ^a	19,4 ± 1,5 ^a	17,5 ± 1,3 ^a
Leucocitos (10³/μL)	23,1 ± 11,6 ^a	28,2 ± 14,1 ^a	25,2 ± 13,9 ^a	14,8 ± 7,0 ^a
Linfocitos (10³/μL)	8,8 ± 5,2 ^a	15,2 ± 9,5 ^a	13,7 ± 5,6 ^a	9,1 ± 5,6 ^a
Neutrófilos (10³/μL)	3,2 ± 0,7 ^a	2,3 ± 1,3 ^a	3,5 ± 1,5 ^a	3,0 ± 1,2 ^a
Monocitos (10³/μL)	1,4 ± 1,7 ^a	4,9 ± 5,3 ^a	0,9 ± 1,3 ^a	0,8 ± 0,6 ^a
Heterófilos (10³/μL)	0,7 ± 1,0 ^a	0,1 ± 0,3 ^a	0,1 ± 0,4 ^a	0,0 ± 0,0 ^a
Glucosa (mg/dL)	97,1 ± 27,2 ^a	113,3 ± 19,3 ^a	97,5 ± 30,5 ^a	87,4 ± 31,5 ^b
Albúmina (g/dL)	1,6 ± 0,3 ^a	1,4 ± 0,2 ^a	1,6 ± 0,1 ^a	1,6 ± 0,2 ^a
Proteína (g/dL)	3,7 ± 0,7 ^a	3,2 ± 0,4 ^a	3,7 ± 0,4 ^a	3,6 ± 0,5 ^a

VCM = volumen corpuscular medio, HCM = hemoglobina corpuscular media y CHCM = concentración de hemoglobina corpuscular media. Las letras distintas en superíndice significan que son diferentes estadísticamente ($p<0,05$).

V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

5.1 Desempeño productivo

En los últimos años diversos estudios de inclusión de aceites esenciales en la alimentación han reportado efectos beneficiosos en el rendimiento productivo de varias especies, en los rumiantes (ovejas y vacas), la suplementación con aceite esencial mejora la utilización del alimento, la ganancia de peso, eficiencia alimenticia y el rendimiento productivo (Giannenas et al., 2013; Hristov et al., 2013; Tager y Krause, 2011), en los peces producen efectos biológicos beneficiosos como moduladores de la digestión, mejor utilización de los alimentos, promotores del crecimiento y el rendimiento productivo (Sutili et al., 2017).

En el presente estudio se encontró que la suplementación con aceite esencial de muña (0,5%; 1% y 1,5%) a los 30 días, no tuvo efecto significativo en los parámetros de crecimiento (longitud final, peso final, GP, GPD, TCE, TCR) de los juveniles de sábalo *Brycon amazonicus*, sin embargo, el tratamiento 0,5% presentó un ligero aumento en los parámetros numéricamente mayor a las demás dosis, pero sin diferencia significativa con el tratamiento control. Asimismo, los parámetros de eficiencia alimenticia, índice de conversión alimenticia aparente, índice viscerosomático, hepatosomático y supervivencia no presentaron cambios entre los tratamientos. Los estudios del uso del aceite esencial de muña *Minthostachys mollis* en los animales son escasos, a pesar de poseer propiedades inmunoestimulantes (Carhuapoma et al., 2009). Vicuña (2019) evaluó los efectos del aceite esencial de muña como suplemento en el alimento a diferentes concentraciones (0%; 0,5%, 1% y 2%), mostrando que la dosis al 1% mejoró solo la ganancia de longitud en juveniles de paco *Piaractus mesopotamicus* después de 30 días de alimentación. De manera similar a nuestros resultados De Souza-Silva et al. (2019) reportó que la suplementación con aceite esencial de menta *Mentha piperita* (0,075%; 0,125%, 0,25%), durante 50 días no tuvo efectos en los parámetros zootécnicos (peso, longitud, aumento de peso, tasa de crecimiento específica y eficiencia alimenticia) en la tilapia del Nilo,

atribuyéndose posiblemente a las bajas concentraciones de aceite esencial usadas, ya que el efecto depende de las dosis utilizadas (Harikrishnan et al., 2011). Así mismo, existen diferentes aceites esenciales (*Lippia sidoides*, *Ocimum gratissimum* y *Zingiber officinale*) que tampoco tuvieron efectos significativos en el desempeño productivo (peso final, talla final, ganancia de peso, conversión alimenticia, factor de condición y supervivencia) en peces (Castro et al., 2021). Del mismo modo la suplementación con orégano *Origanum vulgare* y aceite esencial de limón cítrico *Citrus limón* no presentaron cambios significativos en el índice de conversión alimenticia en peces (Baba et al., 2016; Espirito-Santo et al., 2019). Sin embargo, otros estudios con aceites esenciales de la misma familia han informado resultados beneficiosos; el aceite esencial de menta *Mentha piperita* en pez blanco del Caspio *Rutilus frisii kutum* y el aceite esencial de orégano *Origanum heracleoticum* L. en bagre de canal *Ictalurus punctatus* mejoraron el rendimiento productivo (Zheng et al., 2009; Adel et al., 2015). La diferencia de los resultados en el desempeño productivo puede deberse a las diferentes concentraciones usadas y respuesta de cada especie de pez para metabolizar y asimilar los alimentos con aceite esencial (Chakraborty et al., 2013).

En el consumo de alimento diario se encontró que los valores del tratamiento 0,5% y el control (0%) no mostraron diferencia significativa, no obstante, a medida que se incrementó la concentración de aceite esencial (1% y 1,5%) disminuyó el consumo de alimento. Resultados similares encontró Vicuña (2019) al evaluar la aceptación del alimento con aceite esencial de muña, obtuvo que las dosis mayores de 3% de aceite esencial de muña son rechazadas por el paco *Piaractus mesopotamicus* y la dosis 2% tiene menor aceptación y reducción del consumo de alimento. Un estudio de suplementación alimenticia con carvacrol (compuesto activo del aceite esencial de muña) reportó que las altas concentraciones (40 g/kg) en la dieta disminuyeron la ingesta de alimento, afectando el desempeño productivo de *Colossoma macropomum* (Silva et al., 2021), explicando que el consumo de alimento

disminuye por las elevadas concentraciones de extracto vegetal que alteraron la palatabilidad del alimento (Dongmeza et al., 2006).

En el factor de condición se observó que el tratamiento 1,5% de aceite esencial de muña disminuyó significativamente en comparación al control y los valores de los tratamientos 0,5% y 1% no mostraron diferencia significativa con ningún tratamiento. El estudio de Silva et al. (2021) también reportó un efecto similar, la concentración más alta de carvacrol (40 g/kg) disminuyó significativamente el factor de condición de *Colossoma macropomum* presentando un menor rendimiento y estado de salud.

5.2 Parámetros hematológicos, inmunológicos y bioquímicos

Los fitoquímicos (aceites esenciales y extractos vegetales) mejoran el estado fisiológico de los peces frente a diversas situaciones como el estrés, infecciones bacterianas y enfermedades, debido a sus compuestos con propiedades inmunoestimulantes y antimicrobianas (Chakraborty y Hancz, 2011). La suplementación con aceite esencial de muña no tuvo efectos en los parámetros de la serie eritrocitaria (hematocrito, eritrocitos, hemoglobina, HCM, CHCM) y estos se encuentran dentro del rango reportado por Arias et al. (2003) para el yamú *B. amazonicus* (ex *B. siebenthalae*). Similares resultados se reportaron para trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss* con aceite esencial de jengibre *Zingiber officinale*, semilla negra *Nigella sativa* y flor de cono *Echinacea angustifolia* (Fadefard et al., 2018) y tilapia del Nilo *Oreochromis niloticus* con una mezcla de extractos de propóleo y aloe *Aloe barbadensis* (Dotta et al., 2014). Sin embargo, en *Piaractus mesopotamicus* alimentado con aceite esencial de muña solo el porcentaje de hematocrito se incrementó en los tratamientos con 1% y 2% (Vicuña, 2019). El VCM de los peces disminuye en los tratamientos con mayor concentración de aceite esencial similar a lo reportado por Gabriel et al. (2015) con 2% y 4% de *Aloe vera* en tilapia *Oreochromis niloticus* y en tambaqui *Colossoma macropomum* con

altas concentraciones de carvacrol (Silva et al., 2021). Un estudio de suplementación dietética con inulina prebiótica al 3% disminuyó significativamente el porcentaje de VCM en juveniles de beluga *Huso huso*, resultado que se obtuvo en el tratamiento con menor consumo de alimento (Reza et al., 2009). Asimismo, se encontró que el VCM de los juveniles de tambaqui alimentados con 1% de aceite esencial de *Menta piperita*, disminuyó después de la exposición bacteriana, efecto que probablemente se debió a la eritropoyesis (generación de eritrocitos) (Ribeiro et al., 2016). El incremento de la eritropoyesis, es un proceso que ocurre para evitar el estado anémico de los peces (Ahmed et al., 2020). Por ello, se puede inferir que la disminución del VCM en el tratamiento con 1,5% de aceite esencial de muña, se debió al menor consumo de alimento, que causó anemia en los peces y activó la eritropoyesis.

Estudios han demostrado el efecto inmunoestimulante de los aceites esenciales y extractos vegetales al aumentar el recuento de glóbulos blancos y mejorar la respuesta inmune de los peces (Ngugi et al., 2015; Baba et al., 2016). No obstante, la serie leucocítica (leucocitos, linfocitos, neutrófilos, monocitos) de los juveniles de sábalo *Brycon amazonicus* no tuvo influencia del aceite esencial de muña. Al igual a lo reportado para *Colossoma macropomum* con aceite esencial de menta *Mentha piperita* (Ribeiro et al., 2018) y tilapia del Nilo *Oreochromis niloticus* suplementada con aceites esenciales de jengibre *Zingiber officinale* y clavo de albahaca *Ocimum gratissimum* (Brum et al., 2017). Sin embargo, hubo disminución de los heterófilos en el tratamiento 0,5%; otros estudios también reportaron esta disminución en esturión *Huso huso* alimentados con dietas suplementadas de timol-carvacrol (Ahmadifar et al., 2014) y trucha *Oncorhynchus mykiss* alimentados con dietas de timol-carvacrol procedentes de *Origanum vulgare* (Ahmadifar et al., 2011). Esta disminución podría deberse a extractos y aceites vegetales que aumentan la respuesta inmunológica incrementando la cantidad de linfocitos y disminuyendo los heterófilos (Da Cunha et al., 2018), debido a la relación y función de cada leucocito, al ser los linfocitos células de defensa y producción de inmunoglobulina

mientras que los heterófilos son leucocitos fagocíticos primarios que proliferan como respuesta a la inflamación y el estrés (Davis et al., 2008).

La suplementación con aceite esencial de muña no influyó en los valores de albúmina y proteína como lo reportado para tambaqui *Colossoma macropomum* con aceite esencial de menta *Mentha piperita* (Ribeiro et al., 2016) y tilapia *Oreochromis mossambicus* con aceite esencial de *Citrus limon* no presentó diferencias relevantes (Baba et al., 2016). Solo la glucosa incrementó en la mayor concentración de aceite esencial de muña (1,5%), así como la suplementación dietética con aceite esencial de satureja *Satureja khuzestanica* (500 mg/kg) (Mohamadi-Saei et al., 2016). El aumento de los niveles de glucosa en sangre podría ser consecuencia del agotamiento de las reservas de glucógeno hepático que activaron la gluconeogénesis (Dinardo et al., 2021). Se reportó que la glucosa hepática y muscular del tambaqui *Colossoma macropomum* aumentó con 1% de aceite esencial de fruta de limón *Citrus latifolia*, tratamiento con menor crecimiento e índice hepatosomático, resultados que podrían explicar la reducción significativa de las reservas de glucógeno (Lopes et al., 2020).

5.3 Composición corporal

La composición corporal de los juveniles de sábalo *Brycon amazonicus* alimentados con aceite esencial de muña no presentaron cambios en la composición de humedad, cenizas y lípidos, no obstante, si tuvieron un efecto significativo en el porcentaje de proteína mostrando valores mayores sobre el tratamiento control, pero sin tener variaciones entre las dosis de aceite esencial. Resultados similares fueron obtenidos por Zheng et al. (2009), encontró que el aceite esencial de orégano *Origanum heracleoticum* L. no influyó en el contenido corporal de humedad, cenizas y lípidos del bagre de canal *Ictalurus punctatus*, pero sí tuvo efectos positivos aumentando la cantidad de proteína significativamente frente al tratamiento control. Asimismo, Carneiro et al. (2021) reportó que la suplementación con aceite esencial de orégano *Origanum vulgare* no tiene efectos en el porcentaje de humedad corporal, lípidos totales y

cenizas, pero si mejora la retención de proteína corporal y el crecimiento muscular del bagre *Lophiosilurus alexandri*. Sin embargo, los estudios demuestran que la influencia de los aceites esenciales en la composición corporal varía de acuerdo a las especies, los alevinos de tilapia del Nilo *Oreochromis niloticus* suplementados con aceite esencial de orégano *Origanum vulgare* no reportaron cambios en el contenido de humedad, extracto etéreo, proteína cruda, cenizas y carbohidratos (Heluy et al., 2020).

Investigaciones preliminares encontraron que los aceites esenciales de limoncillo *Cymbopogon citratus* y geranio *Pelargonium graveolens* suplementados al alimento no tuvieron efectos en la composición corporal de humedad, grasa y cenizas de tilapia del Nilo *Oreochromis niloticus* no obstante incrementaron significativamente la cantidad de proteína muscular frente al grupo control, indicando que probablemente se debió al efecto regulador de los aceites esenciales en la microbiota que mejoran la digestión, utilización de nutrientes y la sedimentación de la proteína en el músculo (Al-Sagheer et al., 2017). Estos efectos podrían explicarse con los resultados de Valladão et al. (2017), en su evaluación de la morfología intestinal de la tilapia del Nilo *Oreochromis niloticus* L. alimentada con suplemento de aceite esencial de árbol de té *Melaleuca alternifolia* encontró que el aceite esencial promovió el crecimiento de las vellosidades intestinales, presentando un intestino más sano y con mayor superficie intestinal que podría ocasionar una mejor absorción y asimilación de nutrientes corporales.

5.4 Desafío bacteriano

La suplementación dietética con aceites esenciales mejora la resistencia de los peces frente a las infecciones bacterianas, fortalece el sistema inmunológico y previene enfermedades (Da Cunha et al., 2018). Las dosis de aceite esencial de muña evaluadas no influyeron en la sobrevivencia de los juveniles de sábalo *Brycon amazonicus* infectados con *Aeromonas*

hydrophila. Similar a lo encontrado para el tambaqui *Colossoma macropomum* con aceite esencial de menta *Mentha piperita* (Ribeiro, 2015). Efecto que también es reportado para inmunoestimulantes como la vitamina C y E en el pacú *Piaractus mesopotamicus* desafiado con *Aeromonas hydrophila* (García et al., 2009). Sin embargo, estudios han informado resultados significativos en el porcentaje de supervivencia de los peces suplementados con extractos vegetales y aceites esenciales (Ngugi et al., 2016; De Souza et al., 2018). Probablemente no se observaron efectos en la sobrevivencia debido a que la dosis usada no fue suficiente para causar enfermedad en los peces (Talpur y Ikhwanuddin, 2012).

Los valores de la serie eritrocítica (hematocrito, eritrocitos, hemoglobina, VCM, HCM y CHCM) y los parámetros bioquímicos de albúmina y proteína no mostraron variaciones después de 10 días de desafío bacteriano con *Aeromonas hydrophila*. Del mismo modo Ribeiro et al. (2016) reportó resultados similares para el tambaqui *Colossoma macropomum*, los tratamientos con aceite esencial de menta *Mentha piperita* no mostraron cambios después del desafío bacteriano. El recuento de la serie blanca (leucocitos, linfocitos, neutrófilos, monocitos y heterófilos) post desafío no presentó diferencias entre los tratamientos evaluados, sin embargo, en contraste con los valores del día 30 se encontró un notable incremento en los leucocitos, linfocitos y monocitos en algunas concentraciones de aceite. El incremento de la cantidad de glóbulos blancos (leucocitos) es una respuesta innata del organismo frente a una infección (De Pedro et al., 2005). Así mismo, Talpur y Ikhwanuddin, (2012) encontraron que la lubina asiática *Lates calcarifer* alimentada con ajo *Allium sativum* reportó un aumento de leucocitos y neutrófilos después de la exposición bacteriana con *Vibrio harveyi*, explicando que el incremento de leucocitos es una respuesta a la infección y estrés causados por la bacteria y en los neutrófilos se debe a la estimulación del mecanismo de defensa para hacer frente al patógeno. Los niveles de glucosa mostraron una disminución significativa en el tratamiento 1.5% post desafío, contrario a otros autores que mostraron mayores variaciones en los peces

en comparación a la dieta sin aceite esencial, probablemente al ser el grupo de peces que menos alimento consumió durante los 30 días de ensayo, sufrió alteración del valor de glucosa como respuesta fisiológica (Ribeiro et al., 2018; Talpur, 2014).

VI. CONCLUSIONES

- En el presente trabajo las concentraciones de aceite esencial de muña evaluadas no presentaron efectos significativos en el rendimiento productivo, hematológico e inmunológico del sábalo *Brycon amazonicus*, sin embargo, la dosis 0,5% de aceite esencial de muña mejoró numéricamente los parámetros de crecimiento, hematológicos e inmunológicos, por lo que se concluye que el aceite esencial de muña tiene potencial de crecimiento y podría tener un mayor efecto en un tiempo de alimentación mayor.
- Los parámetros de desempeño productivo (longitud final, peso final, GP, GPD, TCE, TCR) de los juveniles de sábalo mostraron un ligero incremento no significativo con la dosis 0,5% de aceite esencial de muña, siendo la dosis más aceptada y con mayor consumo de alimento por los peces.
- Los valores hematológicos e inmunológicos del sábalo no fueron influenciados significativamente por la suplementación con aceite esencial de muña durante 30 días, pero la dosis 0,5% mostro un ligero aumento de la cantidad de hemoglobina, leucocitos y linfocitos.
- Las concentraciones (0,5%; 1% y 1,5%) de aceite esencial de muña tuvieron efectos beneficiosos en la composición corporal del sábalo, incrementaron significativamente el contenido de proteína muscular sin alterar los porcentajes de humedad, cenizas y lípidos.
- La sobrevivencia y los valores hematológicos e inmunológicos de los juveniles de sábalo desafiados con *Aeromonas hydrophila* por 10 días no mostraron cambios significativos entre los tratamientos evaluados, pero el tratamiento 0,5% de aceite esencial de muña incrementó ligeramente los valores de leucocitos, linfocitos y monocitos.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar futuros estudios duplicando el tiempo de alimentación con las dosis 0,5% y 1% de aceite esencial de muña, para evaluar su efecto en el rendimiento productivo, hematológico e inmunológico y obtener resultados concretos como suplementos dietéticos.
- Realizar el análisis de cromatografía de gases para identificar los componentes del aceite esencial de muña y conocer su efecto en el crecimiento y rendimiento productivo de los peces.
- Analizar las muestras de sangre inmediatamente para tener un recuento exacto de los parámetros hematológicos (eritrocitos y leucocitos), realizar el análisis de Burst respiratorio (BR) y evaluar la actividad de las lisozimas para conocer un efecto más amplio del sistema inmunológico.
- Evaluar la morfología intestinal de los peces suplementados con aceite esencial de muña para conocer los mecanismos de acción del sistema digestivo, la absorción de nutrientes y su efecto en la composición corporal del músculo del sábalo.
- Utilizar el método de siembra en placas para el cultivo de *Aeromonas hydrophila* para calcular el recuento de bacterias y determinar la dosis adecuada de inoculación para el sábalo.

VIII. REFERENCIAS

- Abreu, J., Sanabria-Ochoa, A., Gonçalves, F. y Urbinati, E. (2008). Stress responses of juvenile matrinxã (*Brycon amazonicus*) after transport in a closed system under different loading densities. *Ciência Rural*, 38(5), pp. 1413-1417. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782008000500034>
- Adel, M., Abedian, A., Zorriehzakra, J., Nematolahi, A. y Esteban, M. (2015). Effects of dietary peppermint (*Mentha piperita*) on growth performance, chemical body composition and hematological and immune parameters of fry Caspian white fish (*Rutilus frisii kutum*). *Fish & Shellfish Immunology*, 45(2), pp. 841–847. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.06.010>
- Ahmadifar, E., Falahatkar, B. y Akrami, R. (2011). Effects of dietary thymol-carvacrol on growth performance, hematological parameters and tissue composition of juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of Applied Ichthyology*, 27(4), pp. 1057-1060. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2011.01763.x>
- Ahmadifar, E., Razeghi-Mansour, M., Keramat-Amirkolaie, A. y Fadaii-Rayeni, M. (2014). Growth efficiency, survival and haematological changes in great sturgeon (*Huso huso* Linnaeus, 1758) juveniles fed diets supplemented with different levels of thymol–carvacrol. *Animal Feed Science and Technology*, 198, pp. 304–308. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.08.012>
- Ahmed, I., Reshi, Q. y Fazio, F. (2020). The influence of the endogenous and exogenous factors on hematological parameters in different fish species: a review. *Aquaculture International*, 28, pp. 869–899. <https://doi.org/10.1007/s10499-019-00501-3>
- Al-Sagheer, A., Mahmoud, H., Reda, F., Mahgoub, S. y Ayyat, M. (2017). Supplementation of diets for *Oreochromis niloticus* with essential oil extracts from lemongrass

- (*Cymbopogon citratus*) and geranium (*Pelargonium graveolens*) and effects on growth, intestinal microbiota, antioxidant and immune activities. *Aquaculture Nutrition*, 24(3), pp. 1006–1014. <https://doi.org/10.1111/anu.12637>
- Arias, J., Benavides, M., Hernández, G. y Eslava, P. (2003). Valoración hematológica y química sanguínea del yamú *Brycon siebenthalae*, en tres etapas de cultivo. *Orinoquia*, 7(1-2), pp. 34-41. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=89670206>
- Arias, J. (2006). Estado actual del conocimiento sobre el yamú, *Brycon amazonicus*. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 19(2), pp. 125-133. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=295022982002>
- Arturo-Rodríguez, C. (2012). El estrés en peces de granja. *Revista de Investigación Pecuaria*, 1(1), pp. 47-52. <https://revistas.udenar.edu.co/index.php/revip/article/view/386/400>
- Baba, E., Acar, Ü., Öntaş, C., Kesbiç, O. y Yılmaz, S. (2016). Evaluation of *Citrus limon* peels essential oil on growth performance, immune response of Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus* challenged with *Edwardsiella tarda*. *Aquaculture*, 465, pp. 13–18. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.08.023>
- Baca, C. (2017). *Efecto inhibitorio del aceite esencial “muña” Minthostachys mollis sobre el género Proteus, causantes de infecciones del tracto urinario*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional del Altiplano]. Repositorio Institucional UNA. <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/20.500.14082/4777>
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. e Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), pp. 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>

- Barceloux, D. (2008). Pennyroyal and Pulegone (*Mentha pulegium L.*) En *Medical Toxicology of Natural Substances: Foods, Fungi, Medicinal Herbs, Plants, and Venomous Animals* (pp. 563-567). John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/9780470330319.ch82>
- Barton, B. (2002). Stress in Fishes: A Diversity of Responses with Particular Reference to Changes in Circulating Corticosteroids. *Integrative and Comparative Biology*, 42, pp. 517–525. <https://doi.org/10.1093/icb/42.3.517>
- Brum, A., Pereira, S., Owatari, M., Chagas, E., Chaves, F., Mouriño, J. y Martins, M. (2017). Effect of dietary essential oils of clove basil and ginger on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) following challenge with *Streptococcus agalactiae*. *Aquaculture*, 468(1), pp. 235–243. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.10.020>
- Burgos-Aceves, M., Lionetti, L. y Faggio, C. (2019). Multidisciplinary haematology as prognostic device in environmental and xenobiotic stress-induced response in fish. *Science of The Total Environment*, 670, pp. 1170-1183. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.275>
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), pp. 223–253. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>
- Cabello, F. (2004). Antibióticos y acuicultura en Chile: consecuencias para la salud humana y animal. *Revista Médica de Chile*, 132(8), pp. 1001-1006. <https://doi.org/10.4067/s0034-98872004000800014>
- Cano, C., Bonilla, P., Roque, M. y Ruiz, J. (2008). Actividad antimicótica in vitro y metabolitos del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña). *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 25(3), pp. 298-301.

http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342008000300008

Carhuapoma, M., López, S., Andamayo, D. y Bell, C. (2009). Aceite esencial de «muña» - *Minthostachys mollis* Grises- y su efecto antibacteriano frente a cuatro cepas de bacterias Gram negativas. *Revista Academia Perú Salud*,16(2), pp. 51-56.
https://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/rev_academia/2009_n2/pdf/a14v16n2.pdf

Carhuapoma, M., López, S., Roque, M., Velapatiño, B., Bell, C. y Whu, D. (2009). Actividad Antibacteriana del Aceite esencial de *Minthostachys mollis* Griseb “Ruyaq muña”. *Ciencia e Investigación*, 12(2), pp. 83-89.
<https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/view/3404>

Carneiro, C., Assis, C., Modesto, A., Maciel, J., Campelo, D., Luz, R., Zuanon, J. y Salaro, A. (2021). Oregano essential oil (*Origanum vulgare*) dietary supplementation improved growth performance, body protein retention and muscle hyperplasia of the Neotropical catfish *Lophiosilurus alexandri*. *Aquaculture Nutrition*, 27(4), pp. 1221-1231.
<https://doi.org/10.1111/anu.13263>

Carvalho, T., De Souza, E., de, Pinheiro-Da-Silva, J. y Villacorta-Correa, M., (2018). Effect of body size heterogeneity on the aggressive behavior of larvae of matrinxã, *Brycon amazonicus* (Characiformes, Bryconidae). *Acta Amazonica*, 48(4), pp. 304–310. <http://dx.doi.org/10.1590/1809-4392201800541>

Castro, M. (2012). *Comparación de los compuestos terpénicos del aceite esencial de muña (Minthostachys mollis) extraídos de las hojas frescas y secas* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional del Centro del Perú]. Repositorio Institucional UNCP.
<https://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12894/2659/Castro%20Mattos.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Castro-Alayo, E, Chávez-Quintana, S., Auquiñivín-Silva, E., Fernández-Jeri, A., Acha-De la Cruz, O., Rodríguez-Hamamura, N., Olivas-Orozco, G. y Sepúlveda-Ahumada, D. (2019). Aceites esenciales de plantas nativas del Perú: Efecto del lugar de cultivo en las características fisicoquímicas y actividad antioxidante. *Scientia Agropecuaria*, 10(4), pp. 479-487. <https://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2019.04.04>
- Chakraborty, S. y Hancz, C. (2011). Application of phytochemicals as immunostimulant, antipathogenic and antistress agents in finfish culture. *Reviews in Aquaculture*, 3(3), pp. 103–119. <https://doi.org/10.1111/j.1753-5131.2011.01048.x>
- Chakraborty, S., Horn, P. y Hancz, C. (2013). Application of phytochemicals as growth-promoters and endocrine modulators in fish culture. *Reviews in Aquaculture*, 6(1), pp. 1–19. <https://doi.org/10.1111/raq.12021>
- Citarasu, T. (2010). Herbal biomedicines: a new opportunity for aquaculture industry. *Aquaculture International*, 18(3), pp. 403–414. <http://doi.org/10.1007/s10499-009-9253-7>
- Clauss, T., Dove, A. y Arnold, J. (2008). Hematologic Disorders of Fish. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, 11(3), pp. 445-462. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2008.03.007>
- Claver, J. y Quaglia, A. (2009). Comparative Morphology, Development, and Function of Blood Cells in Nonmammalian Vertebrates. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 18(2), pp. 87–97. <https://doi.org/10.1053/j.jepm.2009.04.006>
- Cruz-Casallas, P., Medina-Robles, V. y Velasco-Santamaría, Y. (2011). Fish farming of native species in Colombia: Current situation and perspectives. *Aquaculture Research*, 42(6), pp. 823–831. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.02855.x>

- Da Cunha, M., de Barros, F., de Oliveira-Garcia, L., de Lima-Veeck, A., Heinzmann, B., Loro, V., Emanuelli, T. y Baldisserotto, B. (2010). Essential oil of *Lippia alba*: A new anesthetic for silver catfish, *Rhamdia quelen*. *Aquaculture*, 306(1-4), pp. 403–406. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.06.014>
- Da Cunha, J., de Ávila-Scheeren, C., Fausto, V., de Melo, L., Henneman, B., Frizzo, C., de Almeida-Vaucher, R., de Vargas, A. y Baldisserotto, B. (2018). The antibacterial and physiological effects of pure and nanoencapsulated *Origanum majorana* essential oil on fish infected with *Aeromonas hydrophila*. *Microbial Pathogenesis*, 124, pp. 116–121. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.08.040>
- Da Cunha, J., Heinzmann, B. y Baldisserotto, B. (2018). The effects of essential oils and their major compounds on fish bacterial pathogens - a review. *Journal of Applied Microbiology*, 125(2), pp. 328–344. <https://doi.org/10.1111/jam.13911>
- Dairiki, J., Majolo, C., Chagas, E., Maia-Chaves, F., de Oliveira, M. y de Morais, I. (2013). Procedimento para a inclusão de óleos essenciais na alimentação de peixes. *Circular Técnica*, 42. Embrapa. <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/100643/1/Circ-Tec-42.pdf>
- Da Silva, B., Mouriño, J., Vieira, F., Jatobá, A., Seiffert, W. y Martins, M. (2011). Haemorrhagic septicaemia in the hybrid surubim (*Pseudoplatystoma corruscans*×*Pseudoplatystoma fasciatum*) caused by *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture Research*, 43(6), pp. 908–916. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.02905.x>
- Davis, E. (2005). Monoterpene Metabolism. Cloning, Expression, and Characterization of Menthone Reductases from Peppermint. *Plant Physiology*, 137(3), pp. 873–881. <https://doi.org/10.1104/pp.104.053306>

- Davis, A., Maney, D. y Maerz, J. (2008). The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists. *Functional Ecology*, 22(5), pp. 760–772. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2008.01467.x>
- Davis, M. (2010). Fish stress and mortality can be predicted using reflex impairment. *Fish and Fisheries*, 11(1), pp. 1-11. <https://doi.org/10.1111/j.1467-2979.2009.00331.x>
- De Oliveira, G., Neto, F., Ruiz, M., Acchile, M., Chagas, E., Maia-Chaves, F. y Martins, M. (2016). Essential oils of *Lippia sidoides* and *Mentha piperita* against monogenean parasites and their influence on the hematology of Nile tilapia. *Aquaculture*, 450, pp. 182–186. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.07.029>
- De Oliveira, R., Santos, M., Bernardino, G., Hrbek, T. y Farias, I. P. (2017). From river to farm: an evaluation of genetic diversity in wild and aquaculture stocks of *Brycon amazonicus* (Spix & Agassiz, 1829), Characidae, Bryconinae. *Hydrobiologia*, 805(1), pp. 75–88. <https://doi.org/10.1007/s10750-017-3278-0>
- De Pedro, N., Guijarro, A., López-Patino, M., Martínez-Álvarez, R. y Delgado, M. (2005). Daily and seasonal variations in haematological and blood biochemical parameters in the tench, *Tinca tinca* Linnaeus, 1758. *Aquaculture Research*, 36(12), pp. 1185–1196. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2005.01338.x>
- De Souza, R., de Souza, E. M., da Costa, M., Melo, J., Baldisserotto, B. y Copatti, C. (2018). Dietary addition of the essential oil from *Lippia alba* to Nile tilapia and its effect after inoculation with *Aeromonas spp.* *Aquaculture Nutrition*, 25(1), pp. 39-45. <https://doi.org/10.1111/anu.12827>
- De Souza-Silva, L., de Pádua-Pereira, U., De Oliveira, H., Brasil, E., Pereira, S., Chagas, E., Alves G., Cardoso, L., Pedreira, J. y Martins, M. (2019). Hemato-immunological and zootechnical parameters of Nile tilapia fed essential oil of *Mentha piperita* after

- challenge with *Streptococcus agalactiae*. *Aquaculture*, (506), pp. 205-211.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.03.035>
- Dias, M., Sampaio, L., Proietti-Junior, A., Yoshioka, E., Rodrigues, D., Rodriguez, A., Ribeiro, R., Faria, F., Ozório, R. y Tavares-Dias, M. (2016). Lethal dose and clinical signs of *Aeromonas hydrophila* in *Arapaima gigas* (Arapaimidae), the giant fish from Amazon. *Veterinary Microbiology*, 188, pp. 12–15. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2016.04.001>
- Diler, O., Gormez, O., Diler, I. y Metin, S. (2016). Effect of oregano (*Origanum onites* L.) essential oil on growth, lysozyme and antioxidant activity and resistance against *Lactococcus garvieae* in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Nutrition*, 23(4), pp. 844-851. <https://doi.org/10.1111/anu.12451>
- Dinardo, F., Maggiolino, A., Casalino, E., Deflorio, M. y Centoducati, G. (2021). A Multi-Biomarker Approach in European Sea Bass Exposed to Dynamic Temperature Changes under Dietary Supplementation with *Origanum vulgare* Essential Oil. *Animals*, 11(4), pp. 982. <https://doi.org/10.3390/ani11040982>
- Dong, Y., Liu, J., Pang, M., Du, H., Wang, N., Awan, F., Lu, C. y Liu, Y. (2016). Catecholamine-Stimulated Growth of *Aeromonas hydrophila* Requires the TonB2 Energy Transduction System but Is Independent of the Amonabactin Siderophore. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 6(183), pp. 1-12. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2016.00183>
- Dongmeza, E., Siddhuraju, P., Francis, G. y Becker, K. (2006). Effects of dehydrated methanol extracts of moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves and three of its fractions on growth performance and feed nutrient assimilation in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Aquaculture*, 261(1), pp. 407–422. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.08.006>

- Dotta, G., de Andrade, J., Tavares-Gonçalves, E., Brum, A., Mattos, J., Maraschin, M. y Martins, M. (2014). Leukocyte phagocytosis and lysozyme activity in Nile tilapia fed supplemented diet with natural extracts of propolis and *Aloe barbadensis*. *Fish & Shellfish Immunology*, 39(2), pp. 280–284. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.05.020>
- Edris, A. (2007). Pharmaceutical and therapeutic Potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. *Phytotherapy Research*, 21(4), pp. 308–323. <https://doi.org/10.1002/ptr.2072>
- Eslamloo, K. y Falahatkar, B. (2014). Variations of Some Physiological and Immunological Parameters in Siberian Sturgeon (*Acipenser baerii*, Brandt, 1869) Subjected to an Acute Stressor. *Journal of Applied Animal Welfare Science*, 17(1), pp. 29-42. <https://doi.org/10.1080/10888705.2014.856243>
- Espirito-Santo, A., Brito, T., Brandão, L., Tavares, G., Leibowitz, M., Prado, S., Ferraz, V., Hoyos, D., Turra, E., Teixeira, E., Figueiredo, H., Leal, C. y Ribeiro, P. (2019). Dietary supplementation of dry oregano leaves increases the innate immunity and resistance of Nile tilapia against *Streptococcus agalactiae* infection. *World Aquaculture Society*, 51, pp. 418–436. <https://doi.org/10.1111/jwas.12602>
- Fadeifard, F., Raissy, M., Jafarian, M., Boroujeni, H., Rahimi, M. y Faghani, M. (2018). Effects of black seed (*Nigella sativa*), ginger (*Zingiber officinale*) and cone flower (*Echinacea angustifolia*) on the immune system of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 70(1), pp. 199–204. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-8489>
- Fajer-Ávila, E., Medina-Guerrero, R. y Morales-Serna, F. (2017). Estrategias para la prevención y control de las enfermedades parasitarias de la tilapia. *Acta agrícola y pecuaria*, 3(2), pp. 25-31. <https://biblat.unam.mx/es/revista/acta-agricola-y-pecuaria>

pecuaria/articulo/estrategias-para-la-prevencion-y-control-de-las-enfermedades-parasitarias-de-la-tilapia

FAO (1993). *Manual de técnicas para laboratorio de nutrición de peces y crustáceos* (Proyecto GCP/RLA/102/ITA). Apoyo a las Actividades Regionales de Acuicultura para América Latina y el Caribe (AQUILA II). <http://www.fao.org/3/AB489S/AB489S00.htm#TOC>

FAO (2010). *Peces nativos de agua dulce de América del Sur de interés para la acuicultura: Una síntesis del estado de desarrollo tecnológico de su cultivo*. Organización Mundial de las Naciones Unidas – FAO. Serie Acuicultura en Latinoamérica N°1. https://www.observatorio-acuicultura.es/sites/default/files/imagenes/adjuntos/libros/peces_nativos_agua_dulce_america_sur_interes_acuicultura_fao.pdf

FAO (2018). *El estado mundial de la Pesca y Acuicultura. Cumplir los objetivos de desarrollo sostenible*. Organización Mundial de las Naciones Unidas-FAO. <https://www.fao.org/documents/card/es/c/I9540ES/>

Ferraz, B. y Gomes, L. (2009). Social relationship as inducer of immunological and stress responses in matrinxã (*Brycon amazonicus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 153(3), pp. 293-296. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2009.03.002>

Fischer, U., Utke, K., Somamoto, T., Köllner, B., Ototake, M. y Nakanishi, T. (2006). Cytotoxic activities of fish leucocytes. *Fish & Shellfish Immunology*, 20(2), pp. 209–226. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2005.03.013>

FONDEPES (2017). *Protocolo de reproducción del sábalo cola roja (Brycon amazonicus)*. Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero.

<https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/2502100/Protocolo%20de%20reproducci%C3%B3n%20del%20s%C3%A1balo%20cola%20roja.pdf>

Freire-Fierro, A. (2004). *Botánica sistemática Ecuatoriana*. Missouri Botanical Garden.

https://www.academia.edu/1067237/Botanica_sistemica_ecuatoriana

Gabriel, N., Qiang, J., He, J., Ma, X., Kpundeh, M. y Xu, P. (2015). Dietary *Aloe vera* supplementation on growth performance, some haemato-biochemical parameters and disease resistance against *Streptococcus iniae* in tilapia (GIFT). *Fish & Shellfish Immunology*, 44(2), pp. 504–514. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.03.002>

García, F., Moraes, F. y Martins, M. (2009). Challenge of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) fed diets supplemented with vitamins C and E by *Aeromonas hydrophila* under different temperature. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia*, 61(2), pp. 378-385. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352009000200014>

García-Dávila, C., Sánchez, H., Flores, M., Mejía, J., Angulo, C., Castro-Ruiz, D., Estivals, G., García, A., Vargas, G., Nolorbe, C., Núñez, J., Mariac, C., Duponchelle, F. y Renno, J. (2018). *Peces de consumo de la Amazonía peruana*. Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP). https://investigacion.minam.gob.pe/observatorio/sites/default/files/garcia_libro_2018.pdf

Giannenas, I., Bonos, E., Christaki, E. y Florou-Paneri, P. (2013). Essential Oils and their Applications in Animal Nutrition. *Medicinal & Aromatic Plants*, 2(6), pp. 1-12. <http://dx.doi.org/10.4172/2167-0412.1000140>

Goldenfarb, P., Bowyer, F., Hall, E. y Brosious, E. (1971). Reproducibility in the Hematology Laboratory: The Microhematocrit Determination. *American Journal of Clinical Pathology*, 56(1), pp. 35–39. <https://doi.org/10.1093/ajcp/56.1.35>

- Gomes, L. y Urbinati, E. (2010). Matrinxã (*Brycon amazonicus*). En Baldisserotto, B. y Gomes, L. (Eds.), *Espécies Nativas Para Piscicultura No Brasil* (pp. 608–691). Universidade Federal Santa Maria.
- Góra, J., Lis, A., Kula, J., Staniszevska, M. y Wołoszyn, A. (2002). Chemical composition variability of essential oils in the ontogenesis of some plants. *Flavour and Fragrance Journal*, 17(6), pp. 445–451. <https://doi.org/10.1002/ffj.1126>
- Grant, K. (2015). Fish Hematology and Associated Disorders. *Clinics in Laboratory Medicine*, 35(3), pp. 681–701. <https://doi.org/10.1016/j.cll.2015.05.015>
- Harikrishnan, R., Balasundaram, C. y Moon-Soo, H. (2011). Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. *Aquaculture*, 317(1-4), pp. 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.03.039>
- Heluy, G., Ramos, L., Pedrosa, V., Sarturi, C., Figueiredo, P., Vidal, L., França, I. y Pereira, M. (2020). Oregano (*Origanum vulgare*) essential oil as an additive in diets for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings reared in salinized water. *Aquaculture Research*, 51(8), pp. 3237-3243. <https://doi.org/10.1111/are.14658>
- Hoshiba, M., Gonçalves, F. y Urbinati, E. (2009). Respostas fisiológicas de estresse no matrinxã (*Brycon amazonicus*) após exercício físico intenso durante a captura. *Acta Amazonica*, 39(2), pp. 445–451. <http://dx.doi.org/10.1590/S0044-59672009000200025>
- Hristov, A., Lee, C., Cassidy, T., Heyler, K., Tekippe, J., Varga, G., Corl, B. y Brandt, R. (2013). Effect of *Origanum vulgare* L. leaves on rumen fermentation, production, and milk fatty acid composition in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 96(2), pp. 1189–1202. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5975>
- Huari, G. (2014). *Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de Minthostachys mollis (muña) en Streptococcus mutans* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de

San Marcos]. Repositorio Institucional Digital UNMSM.

https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/3680/Huari_gg.pdf?sequence=1&isAllowed=y

ITIS (15 de Enero de 2023). *Brycon amazonicus* (Spix and Agassiz, 1829). Integrated Taxonomic Information System.

https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=640585#null

Izel, A., Pereira-Filho, M., Melo, L. y de Macêdo, J. (2004). Avaliação de níveis protéicos para a nutrição de juvenis de matrinxã (*Brycon cephalus*). *Acta Amazonica*, 34(2), pp. 509-520. <https://doi.org/10.1590/S0044-59672004000200005>

Khodja, N., Boulekbache, L., Chegiani, F., Dahmani, K., Bennis, F. y Madani, K. (2018). Chemical composition and antioxidant activity of phenolic compounds and essential oils from *Calamintha nepeta* L. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 15(4). <https://doi.org/10.1515/jcim-2017-0080>

Kumar, P., Thirunavukkarasu, A., Subburaj, R. y Thiagarajan, G. (2015). Concept of Stress and Its Mitigation in Aquaculture. *Advances in Marine and Brackishwater Aquaculture*, pp. 95–100. https://doi.org/10.1007/978-81-322-2271-2_10

Lima, F. (2017). A revision of the cis-andean species of the genus *Brycon* Müller & Troschel (Characiformes: Characidae). *Zootaxa*, 4222(1), pp. 1-189. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4222.1.1>

Liu, Z., Steele, J. y Meng, X. (2017). Usage, residue, and human health risk of antibiotics in Chinese aquaculture: A review. *Environmental Pollution*, 223, pp. 161–169. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.01.003>

- Lopes, J., Marques, N., Santos, M., Souza, C., Baldissera, M., Carvalho, R., Santos, L., Pantoja, B., Heinzmann, B. y Baldisserotto, B. (2020). Dietary limon *Citrus × latifolia* fruit peel essential oil improves antioxidant capacity of tambaqui (*Colossoma macropomum*) juveniles. *Aquaculture Research*, 51(12). <https://doi.org/10.1111/are.14771>
- Magnadóttir, B. (2006). Innate immunity of fish (overview). *Fish & Shellfish Immunology*, 20(2), pp. 137–151. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2004.09.006>
- Martinez, C., Azevedo, F. y Winkaler, E. (2006). Toxicidade e efeitos da amônia em peixes neotropicais. En Cyrino, J. y Urbinati, E. (Ed). *Tópicos especiais em biologia aquática e aqüicultura* (pp. 81-95). Jaboticabal, Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática. <http://www.uel.br/laboratorios/lefa/Cap%C3%ADtulo%206-toxicidade%20e%20efeitos%20da%20amonia%20em%20peixes%20neotropicais,%202006.pdf>
- Mohamadi-Saei, M., Beiranvand, K., Khalesi, M. y Mehrabi, F. (2016). Effects of Dietary Savory and Myrtle Essential Oils on Growth, Survival, Nutritional Indices, Serum Biochemistry, and Hematology of Farmed Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*, Fry. *Journal of the World Aquaculture Society*, 47(6), pp. 779–785. <https://doi.org/10.1111/jwas.12306>
- Monteiro, P., Brandão, F., Farias, C., de Alexandre-Sebastião, F., Majolo, C., Dairiki, J., de Oliveira, M., Chaves, F., de Almeida-O’Sullivan, F., Martins, M. y Chagas, E. (2021). Dietary supplementation with essential oils of *Lippia sidoides*, *Ocimum gratissimum* and *Zingiber officinale* on the growth and hemato-immunological parameters of *Colossoma macropomum* challenged with *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture Reports*, 19, pp. 100561. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100561>

- Mora, F., Araque, M., Rojas, L., Ramírez, R., Silva, B. y Usubillaga, A. (2009). Chemical Composition and in Vitro Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Minthostachys Mollis* (Kunth) Griseb Vaught from the Venezuelan Andes. *Natural Product Communications*, 4(7), pp. 997-1000. <https://doi.org/10.1177/1934578X0900400726>
- Natt, M. y Herrick, C. (1952). A New Blood Diluent for Counting the Erythrocytes and Leucocytes of the Chicken. *Poultry Science*, 31(4), pp. 735–738. <https://doi.org/10.3382/ps.0310735>
- Nazzaro, F., Fratianni, F., de Martino, L., Coppola, R. y de Feo, V. (2013). Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria. *Pharmaceuticals*, 6(12), pp. 1451–1474. <https://doi.org/10.3390/ph6121451>
- Ngugi, C., Oyoo-Okoth, E., Mugo-Bundi, J., Orina, P., Chemoiwa, E. y Aloo, P. (2015). Effects of dietary administration of stinging nettle (*Urtica dioica*) on the growth performance, biochemical, hematological and immunological parameters in juvenile and adult Victoria Labeo (*Labeo victorianus*) challenged with *Aeromonas hydrophila*. *Fish & Shellfish Immunology*, 44(2), pp. 533–541. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.03.025>
- Ngugi, C., Oyoo-Okoth, E. y Muchiri, M. (2016). Effects of dietary levels of essential oil (EO) extract from bitter lemon (*Citrus limon*) fruit peels on growth, biochemical, haemato-immunological parameters and disease resistance in Juvenile *Labeo victorianus* fingerlings challenged with *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture Research*, 48(5), pp. 2253–2265. <https://doi.org/10.1111/are.13062>
- Nostro, A. y Papalia, T. (2012). Antimicrobial Activity of Carvacrol: Current Progress and Future Prospectives. *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*, 7(1), pp. 28–35. <https://doi.org/10.2174/157489112799829684>

- Ortega, H., Hidalgo, M., Trevejo, G., Correa, E., Cortijo, A., Meza, V. y Espino, J. (2012). *Lista anotada de los peces de aguas continentales del Perú: Estado actual del conocimiento, distribución, usos y aspectos de conservación* (2.^a ed.). Ministerio del Ambiente; Dirección General de Diversidad Biológica - Museo de Historia Natural, UNMSM. https://museohn.unmsm.edu.pe/docs/pub_ictio/Ortega_et_al.2012Lista_Peces_Aguas_Cont.Peru.pdf
- Parrado, M., Salas, M., Hernández-Arévalo, G., Ortega, J. y Yossa, M. (2014). Variedad bacteriana en cultivos piscícolas y su resistencia a antibacterianos. *Orinoquia Suplemento*, 18(2), pp. 237- 246.
- Peatman, E., Mohammed, H., Kirby, A., Shoemaker, C., Yildirim-Aksoy, M. y Beck, B. (2018). Mechanisms of pathogen virulence and host susceptibility in virulent *Aeromonas hydrophila* infections of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*, 482, pp. 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.09.019>
- Penagos, G., Barato, P. e Iregui, C. (2008). Sistema Inmune y Vacunación de peces. *Acta Biologica Colombia*, 13(3), pp. 3-26. <http://www.scielo.org.co/pdf/abc/v14n1/v14n1a01.pdf>
- Perretta, A., Antúnez, K. y Zunino, P. (2018). Phenotypic, molecular and pathological characterization of motile aeromonads isolated from diseased fishes cultured in Uruguay. *Journal of Fish Diseases*, 41(10), pp. 1559-1569. <https://doi.org/10.1111/jfd.12864>
- Perricone, M., Arace, E., Corbo, M., Sinigaglia, M. y Bevilacqua, A. (2015). Bioactivity of essential oils: a review on their interaction with food components. *Frontiers in Microbiology*, 6(76). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00076>

- Pizango-Paima, E., Pereira-Filho, M. y de Oliveira-Pereira, M. (2001). Composição corporal e alimentar do Matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther, 1869), na Amazônia central. *Acta Amazônica*, 31(3), pp. 509. <https://doi.org/10.1590/1809-43922001313520>
- Prieto, A., de Ocampo, A., Fernández, A. y Pérez, M. (2005). El empleo de medicina natural en el control de enfermedades de organismos acuáticos y potencialidades de uso en Cuba y México. *Tip Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 8(1), pp. 38-49. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43200805>
- Produce (2019). *Anuario estadístico Pesquero y Acuicola 2018*. Ministerio de la Producción, Perú. <http://ogeiee.produce.gob.pe/index.php/shortcode/oe-documentos-publicaciones/publicaciones-anuales/item/901-anuario-estadistico-pesquero-y-acuicola-2018>
- Ramírez-Gastón, R., Sandoval, M. y Vicente, C. (2018). *Sistema nacional de innovación en pesca y acuicultura, Fundamentos y propuesta 2017-2022*. Programa Nacional de Innovación en Pesca y Acuicultura, Ministerio de la Producción, Perú. <https://repositorio.pnipa.gob.pe/handle/20.500.12864/211>
- Ranzani-Paiva, M., Pádua, S., Tavares-Dias, M., y Egami, M. (2013). *Métodos para análise hematológica em peixes*. Editorial de la Universidad Estadual de Maringá-EDUEM.
- Reverter, M., Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B. y Sasal, P. (2014). Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: Current status and future perspectives. *Aquaculture*, 433, pp. 50-61. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.05.048>
- Rey, A., Verjan, N., Ferguson, H. e Iregui, C. (2009). Pathogenesis of *Aeromonas hydrophila* strain KJ99 infection and its extracellular products in two species of fish. *Veterinary Record*, 164(16), pp. 493–499. <https://doi.org/10.1136/vr.164.16.493>

- Reyes-Jurado, F., Franco-Vega, A., Ramírez-Corona, N., Palou, E. y López-Malo, A. (2015). Essential Oils: Antimicrobial Activities, Extraction Methods, and Their Modeling. *Food Engineering Reviews*, 7(3), pp. 275–297. <https://doi.org/10.1007/s12393-014-9099-2>
- Reza, A., Abdolmajid, H., Abbas, M. y Abdolmohammad, A. (2009). Effect of Dietary Prebiotic Inulin on Growth Performance, Intestinal Microflora, Body Composition and Hematological Parameters of Juvenile Beluga, *Huso huso* (Linnaeus, 1758). *Journal of the World Aquaculture Society*, 40(6), pp. 771–779. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2009.00297.x>
- Ribeiro, S. (2015). *Potencial imunoestimulante do óleo essencial de Mentha piperita na dieta do tambaqui, Colossoma macropomum*. [Tesis de maestría, Universidad Federal do Amapá]. Repositorio UNIFAP. http://repositorio.unifap.br/bitstream/123456789/526/1/Dissertacao_PotencialImunoestimulanteOleo.pdf
- Ribeiro, S., Castelo, A., da Silva, B., Cunha, A., Proietti-Júnior, A. y Oba-Yoshioka, E. (2016). Hematological responses of tambaqui *Colossoma macropomum* (Serrassalmidae) fed with diets supplemented with essential oil from *Mentha piperita* (Lamiaceae) and challenged with *Aeromonas hydrophila*. *Acta Amazonica*, 46(1), pp. 99–106. <https://doi.org/10.1590/1809-4392201501284>
- Ribeiro, S., Malheiros, D., Guilozi, I., Majolo, C., Chaves, F., Chagas, E., de Assis, H., Tavares-Dias, M. y Yoshioka, E. (2018). Antioxidants effects and resistance against pathogens of *Colossoma macropomum* (Serrassalmidae) fed *Mentha piperita* essential oil. *Aquaculture*, 490, pp. 29–34. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.02.024>

- Rieger, A. y Barreda, D. (2011). Antimicrobial mechanisms of fish leukocytes. *Developmental & Comparative Immunology*, 35(12), pp. 1238–1245. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2011.03.009>
- Rosenfeld, G. (1947). Corante pancrômico para hematologia e citologia clínica. Nova combinação dos componentes do May-Grünwald e do Giemsa num só corante de emprego rápido. *Mem. Inst. Butantan*, 20, pp. 329-334. <https://bibliotecadigital.butantan.gov.br/arquivos/95/PDF/19.pdf>
- Saccol, E., Toni, C., Pês, T., Ourique, G., Gressler, L., Silva, L., Mourão, R., Oliveira, R., Baldisserotto, B. y Pavanto, M. (2016). Anaesthetic and antioxidant effects of *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. And *Curcuma longa* L. essential oils on tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Aquaculture Research*, 48(5), pp. 2012–2031. <https://doi.org/10.1111/are.13034>
- Saccol, E., Londero, É., Bressan, C., Salbego, J., Gressler, L., Silva, L., Mourão, R., Oliveira, R., Llesuy, S., Baldisserotto, B. y Pavanato, M. (2017). Oxidative and biochemical responses in *Brycon amazonicus* anesthetized and sedated with *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. and *Curcuma longa* L. essential oils. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, pp. 1-12. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaa.2016.08.005>
- Salehi, B., Mishra, A., Shukla, I., Sharifi-Rad, M., Contreras, M., Segura-Carretero, A., Fathi, H., Nasrabadi, N., Kobarfard, F. y Sharifi-Rad, J. (2018). Thymol, thyme, and other plant sources: Health and potential uses. *Phytotherapy Research*, 32(9), pp. 1688-1706. <https://doi.org/10.1002/ptr.6109>
- Sánchez-Muros, M., Sánchez, B., Barroso, F., Toniolo, M., Trenzado, C. y Sanz, A. (2017). Effects of rearing conditions on behavioural responses, social kinetics and

- physiological parameters in gilthead sea bream *Sparus aurata*. *Applied Animal Behaviour Science*, 197, pp. 120–128. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2017.08.004>
- Schmidt-Lebuhn, A. (2008). Ethnobotany, biochemistry and pharmacology of *Minthostachys* (Lamiaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 118(3), pp. 343-353. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.05.030>
- Schreck, C. y Tort, L. (2016). The Concept of Stress in Fish. *Fish Physiology*, 35, pp. 1-34. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802728-8.00001-1>
- Secombes, C. y Wang, T. (2012). The innate and adaptive immune system of fish. En *Infectious Disease in Aquaculture* (pp. 3–68) <https://doi.org/10.1533/9780857095732.1.3>
- Serra, M., Wolkers, C. y Urbinati, E. (2015). Novelty of the arena impairs the cortisol-related increase in the aggression of matrinxã (*Brycon amazonicus*). *Physiology & Behavior*, 141, pp. 51-57. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.01.005>
- Sha, J., Kozlova, E. y Chopra, A. (2002). Role of various enterotoxins in *Aeromonas hydrophila*-induced gastroenteritis: Generation of enterotoxin gene-deficient mutants and evaluation of their enterotoxic activity. *Infection and Immunity*, 70(4), pp. 1924–1935. <https://doi.org/10.1128/IAI.70.4.1924-1935.2002>
- Shen, Y., Wang, D., Zhao, J. y Chen, X. (2018). Fish red blood cells express immune genes and responses. *Aquaculture and Fisheries*, 3(1), pp. 14-21. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2018.01.001>
- Silva, J., Paz, A. y Val, A. (2021). Effect of carvacrol on the haemato-immunological parameters, growth and resistance of *Colossoma macropomum* (Characiformes: Serrasalminidae) infected by *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture Research*, 52(7), pp. 3291–3300. <https://doi.org/10.1111/are.15174>

- Stratev, D., Zhelyazkov, G., Noundou, X. y Krause, R. (2017). Beneficial effects of medicinal plants in fish diseases. *Aquaculture International*, 26(1), pp. 289–308. <https://doi.org/10.1007/s10499-017-0219-x>
- Sutili, F., Gatlin, D., Heinzmann, B. y Baldisserotto, B. (2017). Plant essential oils as fish diet additives: benefits on fish health and stability in feed. *Reviews in Aquaculture*, 10(3), pp. 716–726. <http://doi.org/10.1111/raq.12197>
- Tager, L. y Krause, K. (2011). Effects of essential oils on rumen fermentation, milk production, and feeding behavior in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 94(5), pp. 2455–2464. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3505>
- Talpur, A. (2014). *Mentha piperita* (Peppermint) as feed additive enhanced growth performance, survival, immune response and disease resistance of Asian seabass, *Lates calcarifer* (Bloch) against *Vibrio harveyi* infection. *Aquaculture*, 420-421, pp. 71–78. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.10.039>
- Talpur, A. y Ikhwanuddin, M. (2012). Dietary effects of garlic (*Allium sativum*) on haemato-immunological parameters, survival, growth, and disease resistance against *Vibrio harveyi* infection in Asian sea bass, *Lates calcarifer* (Bloch). *Aquaculture*, 364-365, pp. 6–12. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.07.035>
- Tavares-Dias, M. y Martins, M. (2017). An overall estimation of losses caused by diseases in the Brazilian fish farms. *Journal of Parasitic Diseases*, 41(4), pp. 913–918. <https://doi.org/10.1007/s12639-017-0938-y>
- Tavares-Días, M. y Moraes, F. (2004). *Hematologia de peixes teleósteos*. Ribeirão Preto: Villimpress.
- Torrenegra-Alarcón, M., Granados-Conde, C., Durán-Lengua, M., León-Méndez, G., Yáñez-Rueda, X., Martínez, C. y Pájaro-Castro, N. (2016). Composición Química y Actividad

- Antibacteriana del Aceite Esencial de *Minthostachys mollis*. *Orinoquia*, 20(1), pp. 69-74. http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0121-37092016000100008&script=sci_abstract&tlng=es
- Tu, F., Chu, W., Zhuang, X. y Lu, C. (2009). Effect of oral immunization with *Aeromonas hydrophila* ghosts on protection against experimental fish infection. *Letters in Applied Microbiology*, 50(1), pp. 13–17. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2009.02746.x>
- Urbinati, E., de Abreu, J., da Silva, A. y Landinez, M. (2004). Loading and transport stress of juvenile matrinxã (*Brycon cephalus*, Characidae) at various densities. *Aquaculture*, 229(1-4), pp. 389–400. [https://doi.org/10.1016/s0044-8486\(03\)00350-8](https://doi.org/10.1016/s0044-8486(03)00350-8)
- Urbinati, E., Zanuzzo, F. y Biller, J. (2020). Stress and immune system in fish. *Biology and Physiology of Freshwater Neotropical Fish*, pp. 93–114. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815872-2.00005-1>
- Valenzuela, A., Oyarzún, C., y Silva, V. (2003). Células sanguíneas de *Schroederichthys chilensis* (Guichenot 1848) (Elasmobranchii, Scyliorhinidae): La serie blanca. *Gayana*, 67(1), pp. 130-137. <https://doi.org/10.4067/s0717-65382003000100018>
- Valladão, G., Gallani, S., Pala, G., Jesus, R., Kotzent, S., Costa, J., Silva, T. y Pilarski, F. (2017). Practical diets with essential oils of plants activate the complement system and alter the intestinal morphology of Nile tilapia. *Aquaculture Research*, 48(11), pp. 5640–5649. <https://doi.org/10.1111/are.13386>
- Verde, C., Giordano, D., Russo, R., y di Prisco, G. (2011). Transport and exchange of respiratory gases in the blood-Hemoglobin Differentiation in Fishes. *Encyclopedia of Fish Physiology*, pp. 944-950. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374553-8.00111-8>
- Vicuña, A. (2019). *Evaluación del Efecto Inmunoestimulante del Aceite esencial de Minthostachys mollis (MUÑA) frente al patógeno Aeromonas hydrophila en Piaractus*

mesopotamicus (PACÚ) [Tesis de maestría, Universidad Peruana Cayetano Heredia].

Repositorio

Institucional

UPCH.

[http://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/upch/7668/Evaluacion_VicunaAlvarad](http://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/upch/7668/Evaluacion_VicunaAlvarado_Fariva.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

[o_Fariva.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/upch/7668/Evaluacion_VicunaAlvarado_Fariva.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

Wendelaar, B. (2011). Hormonal Responses to Stress. *Encyclopedia of Fish Physiology*, 1515-1523. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374553-8.00183-0>

Wiegertjes, G., Wentzel, A., Spaink, H., Elks, P. y Fink, I. (2016). Polarization of immune responses in fish: The “macrophages first” point of view. *Molecular Immunology*, 69, pp. 146–156. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2015.09.026>

Wintrobe, M. (1934). Variations on the size and haemoglobin content of erythrocytes in the blood various vertebrates. *Folia Haematologica*, 51(1), pp. 32-49.

Wolkers, C., Serra, M., Hoshiba, M. y Urbinati, E. (2012). Dietary l-tryptophan alters aggression in juvenile matrinxã *Brycon amazonicus*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 38(3), pp. 819–827. <https://link.springer.com/article/10.1007/s10695-011-9569-x>

Wolkers, C., Serra, M. y Urbinati, E. (2015). Social challenge increases cortisol and hypothalamic monoamine levels in matrinxã (*Brycon amazonicus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 41(6), pp. 1501-1508. <https://doi.org/10.1007/s10695-015-0102-5>

Zaniboni, F., Reynalte-Tataje, D. y Weingartner, M. (2006). Potencialidad del género *Brycon* en la piscicultura brasileña. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 19 (2), pp. 233-240. <https://www.redalyc.org/pdf/2950/295022982017.pdf>

Zepeda-Velázquez, A. (2015). *Aeromonas spp.*: la infección en la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) y su aislamiento en México. *Aquatic*, (42), pp. 1-16. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=49444322001>

Zheng, Z., Tan, J., Liu, H., Zhou, X., Xiang, X. y Wang, K. (2009). Evaluation of oregano essential oil (*Origanum heracleoticum L.*) on growth, antioxidant effect and resistance against *Aeromonas hydrophila* in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*, 292(3-4), pp. 214–218. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.04.025>

IX. ANEXOS

Anexo A

*Aceite esencial de muña *Minthostachys mollis**



Anexo B

Pulverizadores manuales



Anexo C

Pesado del alimento balanceado para peces Aquatech®



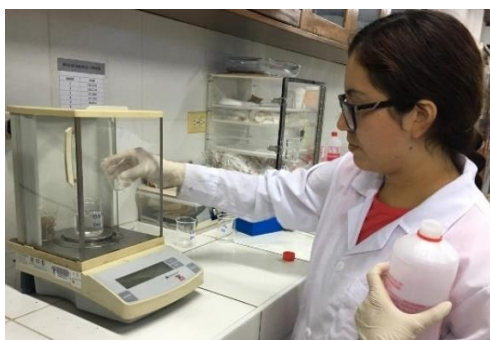
Anexo D

*Pesado del aceite esencial de muña *Minthostachys mollis**



Anexo E

Pesado del alcohol de 96°



Anexo F

Procedimiento de Adición de la solución de aceite esencial de muña alimento balanceado



Anexo G

Procedimiento de secado del alimento balanceado a temperatura ambiente



Anexo H

Anestesia de peces con eugenol



Anexo I

Medición de longitud (cm)



Anexo J

Registro de peso (g)



Anexo K

Colecta de muestras de sangre de la vena caudal



Anexo L

Obtención de filetes para análisis bromatológicos



Anexo M

Matriz de Consistencia

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLES	INDICADORES
<p>¿Cuáles son los efectos de la inclusión de concentraciones de aceite esencial de muña en el alimento sobre el rendimiento productivo, hematológico e inmunológico del sábalo <i>Brycon amazonicus</i>?</p>	<p>GENERAL</p> <p>Evaluar el efecto de las concentraciones de aceite esencial de muña en el rendimiento productivo, hematológico e inmunológico del sábalo <i>Brycon amazonicus</i></p>	<p>NULA</p> <p>El aceite esencial de muña <i>Minthostachys mollis</i> como suplemento alimenticio no tiene un efecto positivo en el rendimiento productivo, composición corporal y valores hematológico e inmunológico del sábalo <i>Brycon amazonicus</i>.</p>	<p>INDEPENDIENTE</p> <p>Las concentraciones del aceite esencial de muña <i>Minthostachys mollis</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> • 0,5% de aceite esencial de muña. • 1% de aceite esencial de muña. • 1,5% de aceite esencial de muña. <ul style="list-style-type: none"> • Los valores de crecimiento • Los valores hematológicos • Los valores inmunológicos.
	<p>ESPECIFICOS</p> <p>a. Evaluar el efecto de las concentraciones de aceite esencial de muña en los parámetros de desempeño productivo del sábalo.</p> <p>b. Evaluar el efecto de las concentraciones de aceite esencial de muña en los valores hematológicos e inmunológicos del sábalo.</p> <p>c. Determinar el efecto de las concentraciones de aceite esencial de muña en la composición corporal del músculo de sábalo.</p>	<p>ALTERNANTE</p> <p>El aceite esencial de muña “<i>Minthostachys mollis</i>” como suplemento alimenticio tiene un efecto positivo en el rendimiento productivo, composición corporal y valores hematológico e inmunológico del sábalo <i>Brycon amazonicus</i>.</p>	<p>DEPENDIENTE</p> <p>a. El rendimiento productivo del sábalo “<i>Brycon amazonicus</i>”</p> <p>b. Los parámetros hematológicos del sábalo “<i>Brycon amazonicus</i>”.</p> <p>c. Los parámetros inmunológicos del sábalo “<i>Brycon amazonicus</i>”</p>	

	<p>d. Evaluar la sobrevivencia y los valores hematológicos e inmunológicos después del desafío bacteriano con <i>Aeromonas hydrophila</i>.</p>			
--	---	--	--	--