



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO

FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

Unidad de Integración Curricular previo
a la obtención del título de Ingeniera
Agropecuaria.

Título de la Unidad de Integración Curricular:

“EFECTO DEL QUITOSANO EN DIETA SOBRE LA
MORFOHISTOLOGÍA HEPÁTICA EN JUVENILES DE TILAPIA ROJA
(*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis mossambicus*).”

Autora:

Melanie Alexandra Casanova Erazo

Tutor de la Unidad de Integración Curricular:

Dr.: Yuniel Méndez Martínez

Mocache – Los Ríos – Ecuador

2021



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

Unidad de Integración Curricular previo
a la obtención del título de Ingeniera
Agropecuaria.

Título de la Unidad de Integración Curricular:

“EFECTO DEL QUITOSANO EN DIETA SOBRE LA
MORFOHISTOLOGÍA HEPÁTICA EN JUVENILES DE TILAPIA ROJA
(*Oreochromis niloticus x Oreochromis mossambicus*)”

Autora:

Melanie Alexandra Casanova Erazo

Director Académico:

Dr.: Yuniel Méndez Martínez

Tutor Académico:

Dr.: Edilmar Cortes Jacinto

Mocache – Los Ríos – Ecuador

2021

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **Melanie Alexandra Casanova Erazo**, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su reglamento y por la normatividad institucional vigente.

f. _____

Melanie Alexandra Casanova Erazo
C.I: 120799578-6
AUTORA



**FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
CAMPUS UNIVERSITARIO LA MARÍA**



Km. 7 ½ Vía Quevedo-El Empalme, Entrada a Mocache
Teléfonos: FCP (Fax) 783 487 UTEQ (593-05) 750 320 / 751 430 / 753 302
Fax UTEQ: (593 -05) 753 300 / 753 303 / 752 177
[E. mail. info@uteq.edu.ec](mailto:info@uteq.edu.ec) / fcp_91@yahoo.es
Quevedo – Los Ríos – Ecuador

CASILLAS
Guayaquil: 10672
Quevedo: 73

La Primera Universidad Agropecuaria del País. Acreditada

CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

El suscrito, **Ing. Méndez Martínez Yuniel PhD**, Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que la estudiante **Melanie Alexandra Casanova Erazo**, realizó el Proyecto de la Unidad de Integración Curricular titulado **“EFECTO DEL QUITOSANO EN DIETA SOBRE LA MORFOHISTOLOGÍA HEPÁTICA EN JUVENILES DE TILAPIA ROJA “(Oreochromis niloticus x Oreochromis mossambicus)”**, previo a la obtención del título de Ingeniera Agropecuaria, bajo mi dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

Atentamente,

Ing. Méndez Martínez Yuniel, PhD

DIRECTOR DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR.

CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO

Quevedo, 09 de marzo del 2021

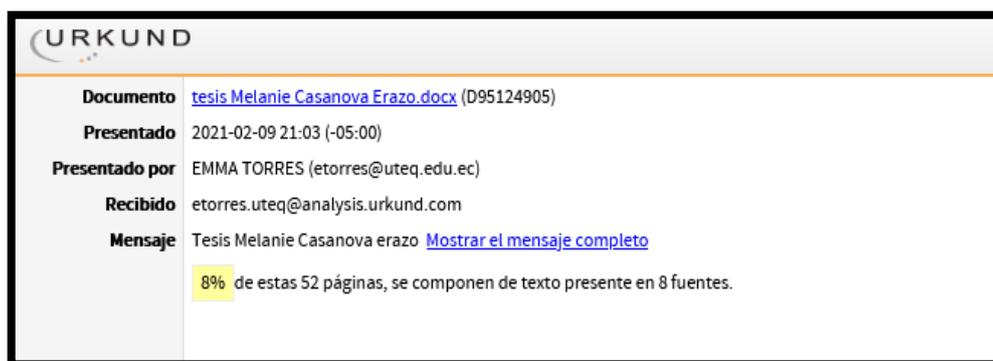
Ingeniera
Diana Veliz Zamora
COORDINADORA DE CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

De mi consideración:

Dado que el suscrito es conocedor que el proyecto de la Unidad de Integración Curricular titulado **“EFECTO DEL QUITOSANO EN DIETA SOBRE LA MORFOHISTOLOGÍA HEPÁTICA EN JUVENILES DE TILAPIA ROJA “(Oreochromis niloticus x Oreochromis mossambicus)”**, de autoría de la señorita **Melanie Alexandra Casanova Erazo**, estudiante de la carrera de INGENIERÍA AGROPECUARIA, del cual fui designado Profesor Tutor de Trabajo de investigación. Proyecto que ha sido analizado a través de la herramienta URKUND, no incluyendo las listas de fuentes de comparación entre las cuales se encuentran las páginas preliminares de caratula, declaración de auditoria, certificación, agradecimientos, dedicatoria, índices, entre otras fuentes que no son utilizadas en el texto de la tesis.

Por lo expresado, CERTIFICO que el porcentaje validado por el URKUND es de **8 % de similitud** (Figura 1), el mismo que es permitido por el mencionado Software, por lo cual solicito la continuación con los trámites pertinentes para solicitar fecha de sustentación del proyecto de la Unidad de Integración Curricular de la señorita **Melanie Alexandra Casanova Erazo**.

Figura 1. Certificación del porcentaje de confiabilidad (92%) y similitud (8%) de URKUND.



URKUND	
Documento	tesis Melanie Casanova Erazo.docx (D95124905)
Presentado	2021-02-09 21:03 (-05:00)
Presentado por	EMMA TORRES (etorres@uteq.edu.ec)
Recibido	etorres.uteq@analysis.urkund.com
Mensaje	Tesis Melanie Casanova erazo Mostrar el mensaje completo
	8% de estas 52 páginas, se componen de texto presente en 8 fuentes.

Ing. Méndez Martínez Yuniel, PhD
DOCENTE DIRECTOR



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO

FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

PROYECTO DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Título:

**“EFECTO DEL QUITOSANO EN DIETA SOBRE LA MORFOHISTOLOGÍA
HEPÁTICA EN JUVENILES DE TILAPIA ROJA “(*Oreochromis niloticus* x
Oreochromis mossambicus).”**

Presentado a la Comisión Académica como requisito previo a la obtención del título de
Ingeniera Agropecuaria.

Aprobado por:

Dr.: Jorge Rodríguez Tobar
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Dr.: Orly Cevallos Falquez
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dr.: Martín González Vélez
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi madre Martha Erazo que desde el cielo siempre guío mi camino, que después de su partida sentí que sin ella no lograría nada, y aquí mi encuentro logrando mi más ansiado deseo. Está siempre en mi mente y es eso lo que me dio fuerza para seguir adelante y cumplir mis sueños.

A mi más grande amor mi hijo Jorge Matías Cocha Casanova, eres mi orgullo y mi gran motivación, libras mi mente de todas las adversidades que se presentan, y me impulsas a cada día superarme para ofrecerte siempre lo mejor. No es fácil, eso lo sé, pero tal vez si no te tuviera, no habría logrado tantas grandes cosas, tal vez mi vida sería diferente sin ti.

A la persona que Dios puso en mi camino para ser pilar fundamental en mi vida Renzo Cocha la ayuda que me has brindado ha sido sumamente importante, estuviste a mi lado en los momentos y situaciones más difíciles, siempre ayudándome. No fue sencillo culminar con éxito este proyecto, sin embargo, siempre me diste aliento para continuar y nunca debilitarme diciéndome “TU PUEDES” por eso y muchas cosas más ¡Gracias!

Agradezco a mis abuelos maternos y paternos por su apoyo incondicional en todo momento, siempre dándome una mano y aconsejándome a lo largo de mi vida, a toda mi familia que siempre creyó en mí, en que si podía lograr mis sueños y salir adelante a todos ustedes infinitas gracias.

A mi papá que de alguna u otra forma cuando tenía alguna dificultad siempre me ayudó a lo largo de mi carrera como estudiante.

A mi tía Andrea Alexandra Casanova Cevallos, que siempre cuidó y estuvo pendiente en todo momento de mi vida desde que mi mamá falleció, convirtiéndose en mi segunda mamá.

A mi director de tesis, Dr. Yuniel Méndez Martínez, por su dedicación y esfuerzo. Quien con sus conocimientos y paciencia supo guiarme para que yo pueda concluir con éxito este proyecto.

Y por último la institución que me abrió sus puertas durante seis años la “UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO” donde viví momentos inolvidables y que llevaré grabado en mi corazón por siempre ¡gracias!

DEDICATORIA

A Dios y a toda mi familia, quienes son pilares fundamentales en mi vida, con mucho amor y cariño, les dedico todo mi esfuerzo, en reconocimiento a todo el sacrificio puesto para que yo pueda estudiar y seguir adelante en mi carrera como estudiante.

Melanie Alexandra Casanova Erazo.

RESUMEN

La investigación se llevó a cabo en el Campus “La María”, perteneciente a la Universidad Técnica Estatal de Quevedo. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto del quitosano en dieta sobre la morfohistología hepática en juveniles de tilapia roja (*Oreochromis x Oreochromis niloticus*). Se emplearon tres dietas experimentales con inclusión de quitosano al 0 (control), 2 y 4% en juveniles de tilapia roja. Se aplicó un diseño completamente al azar (DCA), para tres tratamientos con tres repeticiones (tanques experimentales) con una densidad de 15 juveniles de tilapia/tanque. El periodo de cultivo tuvo una duración de 55 días, luego se disectaron los hígados y procesaron por histología. Se obtuvieron diferencias significativas ($p < 0.05$) para las variables área, diámetro y volumen del hepatocito, donde el mayor promedio lo registró el T3 (4% de quitosano en la dieta), respectivamente. Con respecto a las variables citoplasma de los hepatocitos y la relación área citoplasma/ área nuclear (μm^2) de los hepatocitos, los mayores promedios ($p < 0.05$) se presentaron en las dietas con inclusión al 2 % y 4% de quitosano. Los valores más altos en diámetro del núcleo se reportaron en el T3 (4% de quitosano en la dieta). En los diámetros de las sinusoides los mayores valores los reportaron los tratamientos con inclusión de quitosano destacando el T3; en el índice hepatosomático (IHS) no se registró diferencia significativa ($p > 0.05$), el mayor promedio se dio en el T2; se puede concluir que la inclusión de quitosano favoreció la morfohistología hepática.

Palabras claves: Índice hepatosomático, sinusoides, hepatocitos, biopolímero, nutrición

ABSTRACT

The research was carried out at the "La María" Campus, belonging to the Quevedo State Technical University. The objective of the work was to evaluate the effect of dietary chitosan on liver morphohistology in juvenile red tilapia (*Oreochromis x Oreochromis niloticus*). Three experimental diets were used with chitosan inclusion at 0 (control), 2 and 4% in red tilapia juveniles. A completely randomized design (CRD) was applied for three treatments with three replicates (experimental tanks) at a density of 15 tilapia juveniles/tank. The culture period lasted 55 days, then the livers were dissected and processed by histology. Significant differences ($p < 0.05$) were obtained for the variables hepatocyte area, diameter and volume, where the highest average was recorded for T3 (4% chitosan in the diet), respectively. With respect to the variables hepatocyte cytoplasm and hepatocyte cytoplasm/nuclear area ratio (μm^2), the highest averages ($p < 0.05$) were presented in the diets with 2% and 4% chitosan inclusion. The highest values in nucleus diameter were reported at T3 (4% chitosan in the diet). In the sinusoid diameters, the highest values were reported by the treatments with chitosan inclusion, with T3 standing out; in the hepatosomatic index (IHS), there was no significant difference ($p > 0.05$), the highest average was in T2; it can be concluded that the inclusion of chitosan favored hepatic morphohistology.

Key words: Hepatosomatic index, sinusoids, hepatocytes, biopolymer, nutrition

TABLA DE CONTENIDO

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS	i
CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR	ii
CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO	iii
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS	iv
AGRADECIMIENTOS	v
DEDICATORIA	vi
RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
CÓDIGO DUBLIN	iii
Introducción	1
CAPÍTULO I	3
CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	3
1.1. Problema de investigación.	4
1.1.2. Formulación del problema	5
1.1.3. Sistematización del problema	5
1.2. Objetivos	6
1.2.1. Objetivo general.	6
1.2.2. Objetivos específicos	6
1.3. Justificación.	7
CAPÍTULO II	8
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN	8
2.1. Marco conceptual	9
2.2. Marco referencial	10
2.2.1. Quitina	10
2.2.2. Obtención de quitosano.	10
2.2.3. Antecedentes del quitosano.	11
2.2.4. Aplicaciones del quitosano	11
2.2.4.1. Industria de alimentos y bebidas	11
2.2.4.2. Tratamiento de aguas.	12
2.2.4.3. En la agricultura	12
2.2.5. Propiedades fisicoquímicas.	12

2.2.6.	Quitosano en la alimentación de tilapias.	13
2.2.7.	Origen y distribución de la tilapia.	13
2.2.8.	Antecedentes de la tilapia.	14
2.2.9.	Taxonomía de la tilapia roja.	14
2.2.10.	Tilapia roja en América.	15
2.2.11.	Producción de tilapia roja en el Ecuador.	15
2.2.12.	Morfología externa de la tilapia.	16
2.2.13.	Morfología interna de la tilapia.	17
2.2.13.1.	Sistema digestivo.	17
2.2.13.2.	Sistema endocrino.	17
2.2.13.3.	Sistema respiratorio.	18
2.2.13.4.	Sistema excretor.	18
2.2.13.5.	Aparato reproductor.	18
2.2.14.	Ciclo de vida de la tilapia roja.	18
2.2.14.1.	Desarrollo embrionario.	18
2.2.14.2.	Fase larval.	18
2.2.14.3.	Alevín.	19
2.2.14.4.	Juvenil.	19
2.2.14.5.	Adulto.	19
2.2.15.	Sistemas de Cultivo.	19
2.2.15.1.	Cultivo Extensivo.	19
2.2.15.2.	Cultivo Semi-Intensivo.	20
2.2.15.3.	Cultivo intensivo.	20
2.2.15.4.	Cultivo Super-intensivo.	20
2.2.16.	Calidad del agua para el cultivo de tilapia roja.	20
2.2.16.1.	Temperatura.	20
2.2.16.2.	Oxígeno.	21
2.2.16.3.	pH.	21
2.2.16.4.	Amoniaco.	21
2.2.17.	Hábitos alimenticios.	21
2.2.18.	Importancia de la nutrición en las tilapias.	22
2.2.19.	Requerimientos nutricionales de la tilapia.	22
2.2.19.1.	Energía.	23
2.2.19.2.	Proteína cruda y aminoácidos.	23
2.2.19.3.	Lípidos.	23

2.2.19.4. Minerales y vitaminas.	24
2.2.20. Índice hepatosomático.	24
2.2.21. Salud hepática: Un constante desafío en la acuicultura.	24
2.2.22. Investigaciones relacionadas.	25
CAPÍTULO III	26
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	26
3.1. Localización.	27
3.1.1. Condiciones climáticas.	27
3.2. Tipo de investigación.	27
3.2.1. Exploratoria.	27
3.2.2. Experimental.	28
3.3. Método de investigación.	28
3.3.1. Método inductivo-deductivo.	28
3.3.2. Método analítico.	28
3.3.3. Método estadístico.	28
3.4. Fuentes de recopilación de información.	28
3.5. Diseño de la investigación.	29
3.5.1. Análisis de la varianza.	29
3.6. Instrumentos de investigación.	30
3.6.1. Formulación, elaboración y bromatología de dietas experimentales.	30
3.6.2. Condiciones de cultivo de los peces.	31
3.6.3. Obtención de muestras hepáticas.	32
3.6.4. Histológica por tinción Hematoxilina y Eosina (H&E)	32
3.6.3.1. Fijación	32
3.6.3.2. Deshidratación y aclaración	33
Aclaración:.....	33
3.6.3.3. Inclusión	33
3.6.3.4. Corte	33
3.6.3.5. Coloración con Hematoxilina - Eosina	34
3.6.2.6. Observación y fotodigitalización	35
3.8. Recursos humanos y materiales.	37
3.8.1. Materiales y equipos.	38
3.8.1.1. Materiales y equipos de oficina.	38
3.8.1.2. Materiales y equipos de laboratorio.	38
3.8.1.3. Ingredientes y alimentos.	39

CAPÍTULO IV	40
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	40
4.1. Hepatocitos.	41
4.2. Sinusoides a nivel hepático.....	46
4.3. Índice hepatosomático.	48
CAPÍTULO V.....	49
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	49
5.1. Conclusiones.....	50
5.2. Recomendaciones.	51
CAPÍTULO VI	52
BIBLIOGRAFÍA	52
6.1. Referencias bibliográficas.....	53
CAPÍTULO VI	59
ANEXOS	59

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica de la tilapia roja.....	14
Tabla 2. Niveles óptimos de proteína en función al peso del pez.....	23
Tabla 3. Condiciones climáticas del Campus “La María”.....	27
Tabla 4. ANOVA.....	29
Tabla 5. Formulación y composición química de dietas experimentales con diferentes niveles de inclusión de quitosano.	31
Tabla 6. Descripción de los tratamientos.....	37
Tabla 7. Variables de respuesta de los hepatocitos de tilapia juvenil con inclusión de distintos porcentaje de quitosano en la dieta.....	45

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fórmula química del quitosano (28).....	10
Figura 2. Espécimen de tilapia roja (35)	15
Figura 3. Hígado sano de tilapia roja (8).....	17
Figura 4. Corte transversal de hígado en juveniles de tilapia roja expuestos a diferentes niveles de quitosano en dieta. C	42

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Diámetro sinusoide (μm) de tilapia juvenil con inclusión de quitosano en la dieta.	47
Gráfico 2. Área sinusoide (μm^2) de tilapia juvenil con inclusión de quitosano en la dieta.	47
Gráfico 3. Índice hepatosomático en juveniles de tilapia roja.	48

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1	29
Ecuación 2	35
Ecuación 3	35
Ecuación 4	35
Ecuación 5	35
Ecuación 6	36
Ecuación 7	36
Ecuación 8	36
Ecuación 9	36
Ecuación 10	36
Ecuación 11	36
Ecuación 12	36

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Análisis de varianza del área del hepatocito (μm^2).....	60
Anexo 2. Análisis de varianza del diámetro del hepatocito (μm).	60
Anexo 3. Análisis de varianza del volumen de hepatocitos (μm^3).....	60
Anexo 4. Análisis de varianza del Área del citoplasma (μm^2).	60
Anexo 5. Análisis de varianza del volumen de citoplasma (μm^3).	60
Anexo 6. Análisis de varianza de la relación de hepatocitos área citoplasma/ área nuclear (μm^2). .	60
Anexo 7. Análisis de varianza del área del núcleo (μm^2).....	61
Anexo 8. Análisis de varianza del diámetro núcleo (μm).	61
Anexo 9. Análisis de varianza del volumen del núcleo (μm^3).....	61
Anexo 10. Análisis de varianza del diámetro (μm) del sinusoides.....	61
Anexo 11. Análisis de varianza del área sinusoides (μm^2).....	61
Anexo 12. Análisis de varianza del índice hepatosomático.....	61
Anexo 13. Sinusoides a nivel hepático.....	62
Anexo 14. Índice hepatosomático	62
Anexo 15. Captura de peces.....	62
Anexo 16. Extracción del hígado.	62
Anexo 17. Disección del hígado de tilapia.	63
Anexo 18. Pesaje del hígado.	63
Anexo 19. Fijación en solución de Davidson y etiquetado por tratamiento.....	63
Anexo 20. Quitosano.....	63
Anexo 21. Mezcla de macroingredientes.	63
Anexo 22. Dietas pasadas por molino de carne 2mm.	63
Anexo 23. Pesaje de las dietas.....	64
Anexo 24. Pellets en fundas herméticas.....	64
Anexo 25. Refrigeración a 4°C.	64
Anexo 26. Premezcla vitamínica.....	64
Anexo 27. Desmembración de los juveniles de tilapia roja.....	64
Anexo 28. Balanceado palletizado y seco.	64

CÓDIGO DUBLIN.

Título:	“Efecto del quitosano en dieta sobre la morfohistología hepática en juveniles de tilapia roja (<i>Oreochromis mossambicus</i> x <i>Oreochromis niloticus</i>).”				
Autor:	Melanie Alexandra Casanova Erazo				
Palabras Clave:	Índice hepatosomático	Sinusoides	Hepatocitos	Biopolímero	Nutrición
Editorial:	Quevedo: UTEQ, 2021.				
Resumen:	<p>La investigación se llevó a cabo en el Campus “La María”, perteneciente a la Universidad Técnica Estatal de Quevedo. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto del quitosano en dieta sobre la morfohistología hepática en juveniles de tilapia roja (<i>Oreochromis</i> x <i>Oreochromis niloticus</i>). Se emplearon tres dietas experimentales con inclusión de quitosano al 0 (control), 2 y 4% en juveniles de tilapia roja. Se aplicó un diseño completamente al azar (DCA), para tres tratamientos con tres repeticiones (tanques experimentales) con una densidad de 15 juveniles de tilapia/tanque. El periodo de cultivo tuvo una duración de 55 días, luego se disectaron los hígados y procesaron por histología. Se obtuvieron diferencias significativas ($p < 0.05$) para las variables área, diámetro y volumen del hepatocito, donde el mayor promedio lo registró el T3 (4% de quitosano en la dieta), respectivamente. Con respecto a las variables citoplasma de los hepatocitos y la relación área citoplasma/ área nuclear (μm^2) de los hepatocitos, los mayores promedios ($p < 0.05$) se presentaron en las dietas con inclusión al 2 % y 4% de quitosano. Los valores más altos en diámetro del núcleo se reportaron en el T3 (4% de quitosano en la dieta). En los diámetros de las sinusoides los mayores valores los reportaron los tratamientos con inclusión de quitosano destacando el T3; en el índice hepatosomático (IHS) no se registró diferencia significativa ($p > 0.05$), el mayor promedio se dio en el T2; se puede concluir que la inclusión de quitosano favoreció la morfohistología hepática.</p>				

Abstract:	<p>The research was carried out at the "La María" Campus, belonging to the Quevedo State Technical University. The objective of the work was to evaluate the effect of dietary chitosan on liver morphohistology in juvenile red tilapia (<i>Oreochromis x Oreochromis niloticus</i>). Three experimental diets were used with chitosan inclusion at 0 (control), 2 and 4% in red tilapia juveniles. A completely randomized design (CRD) was applied for three treatments with three replicates (experimental tanks) at a density of 15 tilapia juveniles/tank. The culture period lasted 55 days, then the livers were dissected and processed by histology. Significant differences ($p < 0.05$) were obtained for the variables hepatocyte area, diameter and volume, where the highest average was recorded for T3 (4% chitosan in the diet), respectively. With respect to the variables hepatocyte cytoplasm and hepatocyte cytoplasm/nuclear area ratio (μm^2), the highest averages ($p < 0.05$) were presented in the diets with 2% and 4% chitosan inclusion. The highest values in nucleus diameter were reported at T3 (4% chitosan in the diet). In the sinusoid diameters, the highest values were reported by the treatments with chitosan inclusion, with T3 standing out; in the hepatosomatic index (IHS), there was no significant difference ($p > 0.05$), the highest average was in T2; it can be concluded that the inclusion of chitosan favored hepatic morphohistology.</p>
Descripción:	84 hojas
URL:	

Introducción.

La tilapia roja (*Oreochromis* sp.) es uno de los peces que más se cultiva en las explotaciones acuícolas del mundo, por sus hábitos alimentarios, rápido crecimiento, por su coloración atractiva, por su docilidad, facilidad de manejo, condiciones favorables para la experimentación (1), por expresar entre sus características fenotípicas genes de las especies *O. niloticus*, *O. aureus*, *O. mosambicus* y *O. hornorum* (2), convirtiéndola en la especie ideal para producción en estanques bajo sistemas extensivos o intensivos (3). Por su parte, en América Latina, la tilapia roja es la especie íctica cultivada más importante y constituye la base de la piscicultura comercial en países como Colombia, Venezuela y Ecuador (4).

Uno de los factores esenciales en el cultivo de esta especie es la alimentación, la cual representa una fracción significativa en los costos de producción, llegando a superar el 50% de los costos totales, esto indica que su producción puede ser limitada por el incremento actual de los costos asociados a la alimentación (5). Ese menor o mayor costo del alimento concentrado depende de la composición, y el manejo del mismo determina el impacto que pueda tener sobre el desarrollo de las granjas (6). No obstante, en la actualidad existe una tendencia mundial por parte de los investigadores en la búsqueda de fuentes alternativas que permitan mejorar el rendimiento productivo, mantener el mismo perfil nutricional, disminuir la presentación de enfermedades e incrementar el margen de ganancia económica (7), (8), pero a su vez orientadas a una producción cada vez más orgánica y sustentable (9),

Ante ello, materias primas como el quitosano surgen como una posibilidad en la composición de dietas para los peces disminuyendo los costos de producción (10), mediante su inclusión en la alimentación. Este bioestimulante posee diversas propiedades (espesante, gelificante y emulsificante) y se viene usando ampliamente en la industria y la agricultura como: mejorador de texturas, estabilizante del color, aditivo con características nutricionales, y recientemente como aditivo para la alimentación animal (11). Incluso hay registros actuales que presentan su potencial para aumentar la productividad de los animales al conservar el mismo grado de producción con una menor ingesta de alimento(12).

Sin embargo, tomando en cuenta que las enfermedades relacionadas con la nutrición cada vez son más frecuentes, y que ocupan una parte importante de aquellas que afectan en general a los peces y en este caso las tilapias, provocando lesiones degenerativas en diversos

órganos, principalmente a nivel hepático, donde aquellas relacionadas con alteraciones de tipo hígado se han venido convirtiendo en un problema preocupante y poco caracterizado en la producción nacional (8). Este importante órgano no posee la típica arquitectura lobular característica que se encuentran en los mamíferos (13), no obstante; en términos anatómicos posee una mayor complejidad, dado que además de asumir funciones hepáticas también se atribuye funciones pancreáticas; lo que le permite metabolizar todas las sustancias que se transportan por vía sanguínea, por lo cual, se podría determinar su importancia como referente histológico para el análisis del daño tisular causado por sustancias contaminantes y dañinas en la alimentación (14).

Por lo expuesto anteriormente, la presente investigación busca evaluar el efecto de tres distintas dosis de quitosano en la inclusión de dietas sobre la morfohistología hepática en juveniles de tilapia roja, lo cual permitirá determinar la viabilidad en el uso de este bioproducto en la alimentación de esta especie en cautiverio.

CAPÍTULO I
CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Problema de investigación.

1.1.1. Planteamiento del problema.

Si bien la piscicultura se muestra como una opción de producción en la zona agropecuaria, con excelentes perspectivas a futuro para nuestro país. Ésta en Ecuador es más considerada un arte que una ciencia debido a que se desconocen algunos aspectos técnicos y prácticos relacionados con esta actividad, al mismo tiempo es exiguo el desarrollo de nuevas alternativas para la alimentación, dependiendo únicamente de la importación de materias primas convencionales, destinadas a la elaboración de piensos que demandan estos sistemas productivos (15, 16). Tomando en cuenta la creciente popularidad de la tilapia roja entre los consumidores y las obvias necesidades de producción de alimentos, ponen de manifiesto la importancia de buscar alternativas de producción (17), como la inclusión del quitosano en las dietas alimenticias. Sin embargo, el primer paso para determinar si este importante bioestimulante surtirá efectos positivos sobre los parámetros hepáticos es realizar un análisis morfo histológico de los hígados de cada espécimen y de esta manera determinar la viabilidad de su uso.

Diagnóstico.

Hasta la fecha son escasos los estudios que evalúen la inclusión de quitosano en la dieta de peces en cautiverio como la tilapia roja, mucho menos en términos hepáticos, donde realmente se mide el impacto negativo (alteraciones hepáticas) o positivos en su caso, los cuales se verían reflejados en la buena salud y aumento de parámetros productivos del cultivo.

Pronóstico.

A partir de la presente investigación se demostrará el efecto del quitosano en la alimentación de juveniles de tilapia roja sobre la morfohistología hepática, lo cual de obtener resultados positivos permitirá aprovechar un sinnúmero de propiedades que posee este bioestimulante, brindando mayores ventajas en el cultivo de esta y demás especies de interés acuícola.

1.1.2. Formulación del problema.

¿Cómo influirán los niveles de inclusión de quitosano en la dieta de los juveniles de tilapia roja sobre la morfohistología hepática?

1.1.3. Sistematización del problema.

¿Cómo influirá el quitosano en dieta sobre la respuesta de los hepatocitos de juveniles de tilapia roja?

¿Qué efecto causara la inclusión de quitosano en la dieta sobre los sinusoides a nivel hepático en juveniles de tilapia roja?

¿Podrá el índice hepatosomático servir como referencia del efecto del quitosano incluido en la dieta?

1.2. Objetivos.

1.2.1. Objetivo general.

Evaluar el efecto del quitosano en dieta sobre la morfohistología hepática en juveniles de tilapia roja (*Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis niloticus*).

1.2.2. Objetivos específicos.

- Determinar el efecto de quitosano en dieta sobre los hepatocitos de juveniles de tilapia roja.
- Evaluar el efecto de la inclusión del quitosano en dieta sobre los sinusoides a nivel hepático en juveniles de tilapia roja.
- Analizar el índice hepatosomático en juveniles de tilapia roja alimentados con diferentes niveles de inclusión quitosano en dieta.

1.3. Justificación.

La producción mundial de alimentos procedentes de la acuicultura ha tenido un incremento anual promedio de 6,7 % con rendimientos actuales de más de 90,4 millones de toneladas. Este producto provee el 25% de la proteína de origen animal en países desarrollados y el 75% en países en vía de desarrollo. Las tendencias indican que en el futuro esta actividad podría ser la principal fuente productora de alimentos de origen acuático. Dentro de la acuicultura se destaca la producción de la tilapia roja por su alto nivel proteico, bajo costo de producción, alta adaptabilidad a diferentes ambientes de producción y precio de venta asequible respecto a otras especies. Sobrepasando el millón de toneladas a nivel mundial, es después de las carpas, el pez más cultivado (18, 19).

Por ello, el estado mundial de la pesca y la acuicultura pone en relieve la importancia de la producción de esta especie en particular para la alimentación, nutrición y el empleo de millones de personas, muchas de las cuales tienen grandes dificultades para mantener medios de vida razonables (20). Por lo tanto, siendo la alimentación el punto clave dentro de su producción, se considera necesario analizar nuevas alternativas que permitan producir cada vez más y de mejor manera.

Para lo cual se requiere evaluar la inclusión de aditivos con grandes propiedades nutraceuticas en la alimentación como el uso del quitosano, el cual ya ha sido implementado con éxito en otros campos de producción; sin embargo, se desconoce su efecto sobre la morfohistología hepática de peces como la tilapia roja.

La cual es de gran importancia al momento de describir las características estructurales dentro de los parámetros normales, o a su vez aportar nociones valiosas que permitan determinar lesiones y enfermedades (14), que se podrían generar conforme aumente el porcentaje de inclusión del quitosano.

CAPÍTULO II
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. Marco conceptual.

Oreochromis sp.

Su nombre común es tilapia roja, y es resultado del cruce de cuatro especies de tilapias, tres africanas y una israelí. Estos cruces tienen una misión puramente comercial, ya que se trata de una de las tilapias más comercializadas para su consumo (21).

Dieta.

Es lo que un individuo consume de manera habitual en el curso del día (22).

Quitosano.

El quitosano es un copolímero compuesto de unidades de 2-Acetilamina-2-desoxi- β -D-(+)-Glucopiranososa y 2-amino-2-desoxi- β -D-Glucopiranososa (23).

Hepatocitos.

Los hepatocitos son las células del hígado y forman aproximadamente el 80 % de este órgano. Se disponen formando láminas de una célula de espesor que se unen unas con otras a modo de esponja (24).

Morfohistología hepática.

Es una disciplina curricular que estudia la forma, estructura tanto externa como interna del hígado; así como las leyes y principios que rigen su organización, desarrollo y relaciones con el medio externo (25).

2.2. Marco referencial.

2.2.1. Quitina.

La quitina es el polímero más abundante después de la celulosa. Está presente en la pared celular de hongos, levaduras y en el exoesqueleto de los invertebrados como cangrejos e insectos y a partir de esta se obtiene el quitosano (26).

La presencia de grupos amina en la cadena del polímero convierte al quitosano en uno de los materiales más versátiles que se han estudiado durante un período de tiempo porque puede sufrir diversas modificaciones, como la inmovilización enzimática, el injerto y la formación de películas. Entrecruzamiento, etc., de los que se pueden obtener materiales con características adecuadas, que pueden ser inmediatamente utilizados en biotecnología, biomedicina, agricultura, y muchos más (27).

2.2.2. Obtención de quitosano.

El proceso inicia con la recepción de la materia prima, normalmente los desechos de la industria pesquera como los exoesqueletos de camarón, cangrejo, langosta y otros son los más utilizados; luego se procede al descarnado y la molienda, en este punto comienza la transformación fisicoquímica de los exoesqueletos de camarón, los cuales son sometidos a dos procesos de desproteínización, uno de desmineralización y finalmente a la desacetilación en donde se obtiene el quitosano (23). A continuación, se muestra la fórmula del quitosano.

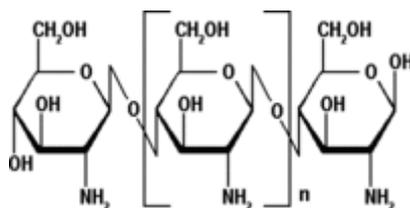


Figura 1. Fórmula química del quitosano (28).

2.2.3. Antecedentes del quitosano.

Factores como el incremento en las aplicaciones en los sectores agroquímico y salud manejan el comercio de estos biopolímeros, también el aumento de la demanda de los países en desarrollo como Asia, América Latina y Medio Oriente. Japón es el mercado más grande del mundo, seguido por Estados Unidos, y el mercado más grande es la región de Asia-Pacífico, con una tasa de crecimiento anual. 12% (23).

Esto se debe a la adopción temprana de este producto en la industria japonesa para tratar aguas residuales industriales. Además, cabe mencionar que existen abundantes materias primas en esta zona, y los japoneses también son conscientes de los beneficios económicos y medioambientales que aporta este producto (29).

La región Latino Americana no figura a nivel mundial entre los principales productores de este biopolímero, a pesar de ello está tiene la capacidad de generar hasta el 12% del material quitinoso que se produce a nivel mundial, con alrededor de unas 170.000 toneladas/año de desechos sólidos aprovechables para producir alrededor de unas 25.000 toneladas/año de quitina (23).

2.2.4. Aplicaciones del quitosano.

Las aplicaciones del quitosano son muy amplias, existiendo sectores en los que su utilización es habitual y conocida, y otros en los que constituye actualmente una interesante vía de investigación. A continuación, se muestran algunas de las aplicaciones de este biopolímero (27).

2.2.4.1. Industria de alimentos y bebidas.

En la industria alimentaria, el quitosano se ha utilizado como aditivos alimentarios (espesantes, gelificantes y emulsionantes), recubrimientos protectores comestibles y aplicaciones en procesos industriales, como residuos de piensos la proteína se recupera de los ovoproductos y se utiliza como clarificante (agua) en la industria de bebidas. (Jugo de vino, manzana y zanahoria) sin afectar el color. Con respecto a los recubrimientos

comestibles, las películas de quitosano son fuertes, duraderas y flexibles, y sus propiedades mecánicas son similares a las de los polímeros comerciales de resistencia media. El papel de la quitina-quitosano como agente protector de los alimentos frente a microorganismos (como bacterias, levaduras y hongos) es de gran importancia para obtener los alimentos menos procesados y retrasar la aparición de olores desagradables en la carne. Las bacterias con una concentración superior al 0,02% pueden resistir a E. coli (27).

2.2.4.2. Tratamiento de aguas.

El quitosano ha mostrado ser un buen coagulante en la potabilización de las aguas, sin embargo, son pocas las investigaciones desarrolladas sobre su efectividad en aguas de residuales complejas como las aguas de producción de petróleo (APP). Investigadores de la Universidad del Zulia realizaron un estudio donde se evaluó el uso del quitosano como coagulante durante el tratamiento de APP, demostrando su eficiencia en la remoción de turbidez, color, DQO e hidrocarburos, lo que representa una alternativa de tratamiento para estas aguas (27).

2.2.4.3. En la agricultura

Por su gran potencial de aplicación en la agricultura, se augura que se utilizarán con una mayor extensión, principalmente como sustitutos de los actuales plaguicidas químicos o como reguladores del crecimiento de las plantas (27).

2.2.5. Propiedades fisicoquímicas.

Sus propiedades fisicoquímicas, tales como; su biodegradabilidad, biocompatibilidad, atoxicidad, inmunogenicidad, actividad bactericida, fungicida, antiviral y biocida. El contenido de nitrógeno del quitosano puro es aproximadamente del 6,89%, el grupo amino libre en la estructura del quitosano le proporciona un comportamiento marcadamente básico, además le confiere ciertas características fisicoquímicas de gran interés industrial. Este biopolímero adquiere el nombre de quitosano cuando el grado de desacetilación de la quitina es mayor o igual al 50% y quitosano cuando es del 100%, sus grupos amino permiten que se

solubilice fácilmente en medios ácidos, confiriéndole una innumerable cantidad de aplicaciones (23).

2.2.6. Quitosano en la alimentación de tilapias.

Se ha comprobado que el quitosano promueve el sistema inmunológico de los peces, protegiendo así a los peces de cultivo de enfermedades bacterianas. Sin embargo, algunos estudios también han demostrado que el quitosano tiene un efecto negativo sobre el crecimiento de la tilapia, lo que puede estar relacionado con la absorción de nutrientes y el tamaño del quitosano. Mediante el uso de la nanotecnología, se produjeron nanopartículas de quitosano como transportadores de fármacos que las liberan de forma controlada. Las nanopartículas de quitosano muestran una actividad biológica más fuerte. Varios investigadores informan que las nanopartículas de quitosano pueden optimar el rendimiento del crecimiento y la calidad de la carne de la tilapia (30).

2.2.7. Origen y distribución de la tilapia.

La tilapia es un pez originario de África y Oriente Próximo, por sus características y adaptabilidad, se considera una opción ideal para la piscicultura en zonas rurales, especialmente en el Congo Belga. Desde 1924, su cultivo en Kenia se ha fortalecido, pero en Malasia, en el Lejano Oriente, se han cosechado los mejores resultados y se ha cultivado gradualmente en todo el mundo (31).

La tilapia se ha introducido rápidamente en otros países tropicales y subtropicales del mundo, cultivándose en 85 países, y el 98% de toda la producción se realiza fuera del ambiente normal de las tilapias, recibiendo el sobrenombre de las gallinas acuáticas, ante la aparente facilidad de su cultivo soportado en la rusticidad para su manejo, alta adaptabilidad a diferentes condiciones del medio, en algunos casos aún las más extremas, fácil reproducción, alta resistencia a enfermedades, alta productividad, generalmente herbívoras aunque aceptan todo tipo de alimentos tanto naturales como artificiales, incluyendo los producidos por intermedio de la fertilización orgánica o química lo que las convierte en peces omnívoros (31).

Por otra parte, la tilapia roja nace como resultado de varios cruces entre especies de tilapia africana, convirtiéndose en el más cultivado a nivel mundial, por sus condiciones de adaptabilidad, reproductivos, resistencia a enfermedades, además su potencial comercialización debido a sus características nutritivas para el consumo humano y su bajo costo de producción (32).

2.2.8. Antecedentes de la tilapia.

Debido a la importancia nutricional de la época, el consumo y comercialización de tilapia se inició en África a principios del siglo XX. En 1940, la tilapia se introdujo por primera vez en la tilapia de Mozambique en Asia: *Oreochromis mossambicu*. Durante la Segunda Guerra Mundial, el ejército japonés distribuyó esta especie en el sudeste asiático. A partir de ello la FAO registra su cultivo comercial en el sudeste asiático, cercano Oriente, África, Europa, Estados Unidos y Latinoamérica. Actualmente la especie *Oreochromis mossambicu* ha sido reemplazada en gran parte por la tilapia del Nilo, *O. Niloticus*, por su mejor adaptabilidad a estanques. En la actualidad, la producción acuícola de tilapia se ha globalizado con una gran expansión a nivel mundial (33).

2.2.9. Taxonomía de la tilapia roja.

La clasificación taxonómica se presenta en la siguiente tabla:

Tabla 1. Clasificación taxonómica de la tilapia roja

Taxonomía de la tilapia roja	
Reino	Animal
Phylum	Cordata
Grupo	Craniana (Vertebrata)
Clase	Osteichtys
Orden	Perciformes
Familia	Cichlidae
Género	<i>Oreochromis</i> sp.

Elaborado: Autora

Fuente: (34).



Figura 2. *Espécimen de tilapia roja* (35)

2.2.10. Tilapia roja en América.

Actualmente Ecuador, Costa Rica y Honduras, ocupan los primeros lugares en abastecimiento de filete fresco de tilapia a Estados Unidos, siendo este un mercado potencial para los productores de tilapia. Caso particular es el de Ecuador quien reorientó sus cultivos de langostinos hacia los de tilapia, ante el devastador impacto del virus de la mancha blanca en 1999 (36).

Asimismo, existen otros países que logran grandes producciones anuales de tilapia, como México que produce 102.000 Tm, Brasil con aproximadamente 100.000 Tm y Colombia con 23.000 Tm, las mismas que son destinadas para el consumo interno. Los países que han podido tecnificar su producción intensivamente son Taiwán y Ecuador. Dichos países se abastecen de sus propios Hatcherys (laboratorio de semillas de alevines de tilapia), que luego son alimentados monitoreando su crecimiento. Cabe destacar que los alevines revertidos sexualmente a machos logran crecer en un tiempo más corto que el de las hembras. Posteriormente son engordados en las pozas hasta tener el peso óptimo, según lo que pida el consumidor (36).

2.2.11. Producción de tilapia roja en el Ecuador.

La primera especie de tilapia introducida al Ecuador fue mossambica (*Oreochromis mossambicus*) la cual provino desde Colombia, y fue cultivada el 19 de octubre de 1965 en la zona de Santo Domingo de los Colorados (37). Por ruptura del muro perimetral del

estanque ocasionó que se escaparan la mayoría de los ejemplares. Posteriormente, piscicultores particulares introducen desde Brasil en el año 1974, la tilapia nilótica (*Oreochromis nilotica*). A inicios de los 80 se introduce al país el híbrido rojo de tilapia (*Oreochromis* spp), es la especie que predomina en los cultivos comerciales hasta la actualidad, que tienen como destino el mercado interno y la exportación (filetes frescos)(33).

En el Ecuador hoy en día, existen más de 2.300 ha de espejo de agua que son destinadas al cultivo de tilapia roja, con una producción anual de 22.000 Tm. Las provincias del Guayas y El Oro son grandes productoras de tilapia roja, pero hay que señalar que durante los últimos años se ha extendido esta producción hacia nuevas zonas de Manabí, Esmeraldas, noroccidente de Pichincha y en el Oriente ecuatoriano. En el año 2000, Ecuador desplazó a Costa Rica y se convirtió en un importante abastecedor de filetes frescos a Estados Unidos. Las empresas ecuatorianas que se dedican a la comercialización del producto hacia Estados Unidos y la Unión Europea son:

- Aquamar
- Empacadora Nacional (ENACA)
- Industria Pesquera Santa Priscila
- El Rosario S.A (38).

2.2.12. Morfología externa de la tilapia.

El cuerpo suele estar comprimido. La boca es larga y ancha, delimitada por labios gruesos. Tienen dientes cónicos y ocasionalmente incisivos. Tiene una fosa nasal a cada lado de la cabeza, que sirve como entrada y salida de la cavidad nasal al mismo tiempo (39).

El movimiento de la tilapia tiene aletas pares e impares. La doble aleta está formada por las aletas pectoral y pélvica. Las aletas dorsal, caudal y anal son números impares. La aleta caudal es redonda, truncada y rara vez se abre, al igual que en todos los peces, la aleta mantiene el cuerpo en equilibrio al nadar y sumergirse en el agua (39).

2.2.13. Morfología interna de la tilapia.

2.2.13.1. Sistema digestivo.

La tilapia presenta una dentadura especializada y branquiespinas para obtener su alimento natural. La tilapia cuenta con pequeños dientes en la pre-maxila superior e inferior. Estos dientes, con forma similar a un formil 0 cincel, son utilizados para raspar algas y otros tipos de microorganismos de las superficies de piedras y otros objetos sumergidos en el agua. Las branquiespinas son pequeñas protuberancias presentes en el arca de cartílago que da sostén físico a cada branquia. El conjunto de branquiespinas de cada branquia actúa como un filtro de partículas en el agua. El material acumulado en las espinas es atrapado en maca y transferido a la faringe. Luego es triturado por acción de sus dientes faríngeos y tragado (40).

2.2.13.2. Sistema endocrino.

El hígado (grande y delgado) y la vesícula biliar (verde) están conectados al intestino a través del conducto biliar, que es responsable de transportar la bilis para descomponer los alimentos. El páncreas es difícil de ver a simple vista porque está contenido en la grasa alrededor del píloro y el ciego en forma de pequeños fragmentos redondos (41).

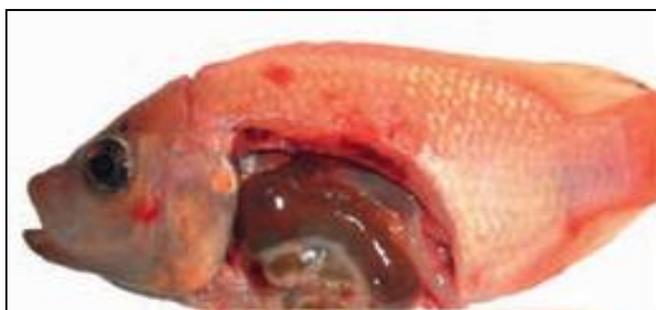


Figura 3. *Hígado sano de tilapia roja (8).*

2.2.13.3. Sistema respiratorio.

Compuesto por el corazón que es (bilobular). Branquias que es encargado de tomar el oxígeno que esta disuelto en el agua, funciona a través de difusión (41).

2.2.13.4. Sistema excretor.

Consiste en un riñón con un solo glomérulo. La sangre fluye a través de la sangre a través de los uréteres, que se secretan en la vejiga y salen (41).

2.2.13.5. Aparato reproductor.

El aparato reproductor está compuesto por un par de gónadas, que en las hembras son ovarios tubulares alargados con diámetros variables. Los testículos en los machos también están emparejados y tienen la apariencia de pequeños sacos alargados (42).

2.2.14. Ciclo de vida de la tilapia roja.

2.2.14.1. Desarrollo embrionario.

Se realiza la fecundación, mientras avanza la separación celular las células empiezan a envolver el vitelo hasta rodearlo enteramente, dejando en el extremo una apertura que después se cierra. Luego, una vez captada la mayoría del organismo, el embrión empieza a girar dentro del espacio peri vitelino, aquel desplazamiento giratorio y los otros movimientos se realizan más enérgicos previo a la eclosión. Los metabolitos del embrión tienen dentro varias enzimas que trabajan sobre la membrana del huevo y la disuelven a partir de adentro, permitiendo al embrión romperla y salir de forma fácil. El periodo de vida de la tilapia comprende solo 4 fases simples (17).

2.2.14.2. Fase larval.

Es la etapa de desarrollo después del embrión y la eclosión, que dura alrededor de 3 a 5 días; en esta etapa, el tamaño de la larva posterior es de 0.5 a 1 cm, con un saco vitelino en el abdomen, para su alimentación en el primer día. después del nacimiento (17).

2.2.14.3. Alevín.

La etapa de desarrollo embrionario y posterior a la eclosión dura aproximadamente de 3 a 5 días; en esta etapa, las especies de peces tienen un tamaño de 0,5 a 1 cm y tienen un saco vitelino en el abdomen, para su alimentación el primer día después del nacimiento (43).

2.2.14.4. Juvenil.

Peces de entre 5 y 10 cm de tamaño pueden crecer hasta los 2 meses y pueden recibir una dieta equilibrada para su crecimiento. (44).

2.2.14.5. Adulto.

Esta es la etapa final del desarrollo, las tilapias miden entre 18 y 25 cm y pesan entre 150 y 300 gramos, características que se adquirieron a los 3,5 meses de edad. (43).

2.2.15. Sistemas de Cultivo.

2.2.15.1. Cultivo Extensivo.

Este tipo de cultivo se suele desarrollar con una inversión muy baja y se espera que proporcione a las personas alimentos a bajo costo. El tamaño final del pez no es importante, siempre que alcance una escala comercial y sea mucho más pequeño que el tipo de pez. Alimentos utilizados en la producción. En este sistema, la densidad es de 0,5 a 3,0 peces por metro cuadrado, dependiendo del tamaño del pescado que se venderá, y se utilizan de 1 a 5 hectáreas de estanques y rara vez se reemplazan. Como forma de promover la ingestión de pescado, implica el uso de fertilizantes orgánicos (como excrementos de aves, excrementos de cerdo, excrementos de carne, etc.) para promover el desarrollo de la productividad primaria. Actualmente, los subproductos agrícolas se utilizan como alimentos complementarios, como el salvado (arroz), productos intermedios de trigo, etc. El rendimiento del sistema suele ser de 4.000 10.000 kg / ha / año, con factores de conversión Desde 1-1.4 (45).

2.2.15.2. Cultivo Semi-Intensivo.

Este sistema requiere recambios de agua, cada semana, del 50 al 60%. Siempre será necesario incorporar sistemas de filtración, para eliminar especies ajenas al cultivo. La alimentación, consiste en suministrar alimento artificial, con niveles de proteína acorde a la etapa del ciclo. La densidad de cultivo varía entre 3 y 8 peces / m³ y se generan rangos de producción de 15 a 32 ton/ha/año (tonelada x hectárea x año), para factores de conversión alimenticia de 1.3 a 1.5 peces (32).

2.2.15.3. Cultivo intensivo.

Se realiza en estanques artificiales con fines comerciales, y la calidad del agua es controlada permanentemente. La comida es básicamente un concentrado con bajo contenido en abonos. La densidad de población final es de 5 a 20 peces / m², dependiendo del reemplazo y / o aireación que se proporcione al estanque (46).

2.2.15.4. Cultivo Super-intensivo.

Estos sistemas aprovechan al máximo la capacidad del agua y los estanques. Teniendo un control total de todos los factores, especialmente la calidad del agua, la aireación y la nutrición. Utilizando alimentos concentrados con alto contenido de proteínas y que no contengan abonos. La densidad de población final supera los 20 peces / m² (46).

2.2.16. Calidad del agua para el cultivo de tilapia roja.

2.2.16.1. Temperatura.

Para el cultivo de tilapia, la temperatura debe fluctuar entre 28 y 32 ° C. Los cambios de temperatura afectan directamente la tasa metabólica, cuanto mayor es la temperatura, mayor es la tasa metabólica y mayor es el consumo de oxígeno (47).

2.2.16.2. Oxígeno.

Un elemento indispensable para la sobrevivencia de cualquier pez es la suficiente concentración de oxígeno. La concentración normal de este gas para la producción es de 5 ppm (5 mg/l), ya que a concentraciones menores el metabolismo y el crecimiento disminuyen. Cuando falta oxígeno en el agua, los peces suben a la superficie e intentan aspirar aire por la boca, nadan de lado o se agrupan en las entradas de agua (48).

2.2.16.3. pH.

El cultivo requiere un pH promedio de 7.5 en el estanque para promover el desarrollo de la productividad natural en el estanque. Cuanto más estable sea el pH, mejores serán las condiciones propicias para la productividad natural, que es una fuente importante de alimento en el estanque (49).

2.2.16.4. Amoníaco.

Las tilapias, a diferencia de otros peces, son tolerantes a diversas sustancias tóxicas, entre estas se encuentran los desechos metabólicos excretados por los mismos peces o los excedentes de alimento no consumidos, que quedan en el fondo del estanque, estos, por ciertos procesos bioquímicos se convierten en amonio, sin embargo, la concentración de este compuesto nunca deberá ser superior a 0.1 ppm/l (50).

2.2.17. Hábitos alimenticios.

La tilapia es un pez omnívoro, es decir, se alimenta de todos los alimentos del agua, como algas, insectos, frutas y una variedad de alimentos naturales, pero también es fácil adaptarse a comer piensos concentrados para potenciar aún más su cultivo, y se ha logrado un alto rendimiento en un corto período de tiempo y el rendimiento de la carne de pescado fue extremadamente alto (51). Los juveniles se alimentan preferentemente de fitoplancton y zooplancton, incluso permiten alimentos preparados que se aplican en la ingesta de alimentos de pollos. Los adultos comen plancton, algas filamentosas varias plantas y detritus vegetales. Tienen la posibilidad de ser alimentados artificialmente con desechos de arroz, soya, cacao,

harina, tortas de oleaginosas y hojas de plantas de camote. La base de la dieta de la tilapia es un alimento natural que crece en el agua, y su contenido en proteínas es de aproximadamente el 55% (peso seco), por lo que cuando la densidad de peces es alta (cultivo intensivo) es necesario utilizar suplementos proteicos (50).

2.2.18. Importancia de la nutrición en las tilapias.

La producción de tilapia depende principalmente de la nutrición, La tilapia es un organismo omnívoro y sus necesidades y tipos de alimentos varían con la edad. En su entorno natural juvenil, se alimentan de fitoplancton, zooplancton y pequeños crustáceos. Sin embargo, en el sistema de producción, el uso de alimentos balanceados representa alrededor del 50% del costo de producción, por lo que una mala gestión del alimento o planes de alimentación insuficientes pueden reducir en gran medida la rentabilidad de la granja. La cantidad y el tipo de alimentos a suministrar deben controlarse y evaluarse periódicamente para evitar costes excesivos (52).

La FAO señaló que es conveniente brindar alimento a los organismos cuando la temperatura ambiente es la más alta, porque a medida que aumenta la temperatura del tracto digestivo, aumentan las secreciones digestivas y la acidez. En cultivos extensivos o semi-extensivos, se recomienda no añadir alimentos cuyo consumo y tiempo de flotabilidad supere los 15 minutos, ya que este rico alimento hará que los peces coman en exceso y no asimile por completo el alimento. En un sistema intensivo, la comida debe conservarse durante 1 a 2 minutos. La transición de la dieta desde la etapa juvenil a la edad adulta es gradual, aunque puede ocurrir de forma repentina (52).

2.2.19. Requerimientos nutricionales de la tilapia.

Los desarrollos en la determinación de los requerimientos nutricionales de la tilapia han sido basados históricamente en las metodologías dosis-respuesta y haciendo diferenciaciones entre especies. Como se mencionó anteriormente en el contexto colombiano la tilapia roja corresponde a un híbrido cuya composición genética en términos de especies se desconoce y por lo tanto su alimentación se basa en los conocimientos disponibles para especies como *O. niloticus*, sin embargo, a pesar de los avances genéticos en esta especie y la existencia a

nivel mundial de diversas líneas, no existen una definición de requerimientos específicos para cada genotipo o estirpe como los disponen otras industrias, como la avicultura (53).

2.2.19.1. Energía.

Las recomendaciones de densidad calórica de la dieta para la tilapia están fundamentadas en la premisa del efecto negativo que sobre el consumo de alimento ejercen densidades calorías altas y propenden por mantener consumos de proteína relacionados con los de energía. Dicho propósito se expresa en las especificaciones de relación proteína cruda - energía digestible, la cual tiende a disminuir en función del peso corporal con rangos óptimos para larvas (0.5 g) y alevinos (0.5 a 5 g) de 95.3 a 123 mg de proteína/kcal y para peces entre 5 y 50 g de 99.48–108 mg de proteína/kcal (53).

2.2.19.2. Proteína cruda y aminoácidos.

El nivel de proteína en el alimento depende de varios factores: el peso del pez, el tipo de cultivo (intensivo o semi-intensivo), la función fisiológica (reproducción o engorde), la forma del alimento (picado o extruido), y el rendimiento del alimento primario. Ecosistema y factores económicos.

Tabla 2. *Niveles óptimos de proteína en función al peso del pez*

Rango de peso (g)	Nivel óptimo de proteína (%)
Larva a 0,5	40-45
0,5 a 10	40-35
10 a 30	30-35
30 a 250	30-35
250 a Nivel comercial	25-30

Elaborado: Autora

Fuente: (46)

2.2.19.3. Lípidos.

Los lípidos en la alimentación de tilapia tienen dos funciones principales, una es una fuente de energía metabólica y la otra es una fuente de ácidos grasos esenciales. Los lípidos son la

principal fuente de energía (Hasta 2,25 veces de proteína), y está estrechamente relacionado con el nivel de proteína en la dieta. Por lo tanto, para un 40% de proteína, el contenido de grasa recomendado es del 6% al 8%. Cuando el contenido de proteína es del 35%, el contenido de grasa es del 4,5% al 6%, y cuando el contenido de proteína es del 25% al 30%, el contenido de grasa recomendado es del 3,5% (54).

2.2.19.4. Minerales y vitaminas.

Poca información está disponible en cuanto a los requerimientos de minerales para tilapia. Los minerales en los que mayor información ha sido generada son: calcio, fósforo, magnesio, zinc, manganeso, potasio, hierro y cromo. Los requerimientos de minerales varían en función del peso corporal y el contenido de minerales presentes en el agua de cultivo. El fósforo constituye un elemento crítico en la nutrición de los peces, incluida la tilapia dado su impacto ambiental. Al respecto en la actualidad surge la necesidad de mejorar la disponibilidad del fósforo de los recursos vegetales con el uso de fitasas. La necesidad de inclusión de vitaminas en la dieta de tilapias depende del sistema de cultivo puesto que, en sistemas extensivos con una adecuada productividad primaria, ésta puede aportar una cantidad suficiente de estos nutrientes; en contraste, en cultivos intensivos donde el alimento natural es mínimo se deben adicionar vitaminas a la dieta mediante el uso de premezclas que suplen la totalidad de los requerimientos (53).

2.2.20. Índice hepatosomático.

Proporción del peso del hígado con respecto al peso corporal total, la cual se utiliza para medir las reservas de energía de un animal, especialmente de los peces (55).

2.2.21. Salud hepática: Un constante desafío en la acuicultura.

La salud hepática de los peces se ve afectada por una gran cantidad de factores, los cuales están asociados en su mayoría a la intensificación de la industria acuícola. Las características de la dieta y la susceptibilidad de las distintas especies pueden dar origen a problemas como la lipidosis hepática, mientras que el uso de antibióticos también puede causar daños en el hígado. En el caso de las micotoxinas, considerando sus efectos y la dificultad de garantizar

su ausencia en los alimentos, es fundamental encontrar una forma segura y efectiva de controlar este riesgo (56).

2.2.22. Investigaciones relacionadas.

- Abd El-Naby et al (30), demostraron a través de su investigación, Los científicos informan que los suplementos dietéticos con nanopartículas de quitosano tendrán un impacto positivo en el valor comercial de la tilapia *O. niloticus* en términos de crecimiento, composición corporal, recuento bacteriano intestinal, enzimas digestivas, hematología, respuesta inmune y condición hepática. A pesar de la mayor utilización de piensos y proteínas, se redujeron las características hematológicas, las actividades de amilasa y lipasa, el contenido de grasa bruta y el número de bacterias anaeróbicas en los peces que consumían 5 g por kilogramo de dieta. La dosis más baja de 3 g / kg también es suficiente para aumentar ciertos parámetros como el rendimiento del crecimiento y el número de bacterias aeróbicas y anaeróbicas.

- Abdel (57), realizó un experimento, el cual consistió en alimentar tilapias del Nilo con nanopartículas de quitosano a niveles de 0,0 y 1,0 g/kg en la dieta durante tres semanas y después fueron desafiados con diferentes bacterias patogénicas vía una inyección intraperitoneal. Los resultados mostraron que los peces alimentados con una dieta enriquecida con nanopartículas de quitosano mostraron menos mortalidad con todas las cepas bacterianas. El investigador concluyó que la dieta con nanopartículas de quitosano protege a la tilapia del Nilo eficientemente contra las infecciones por *A. hydrophila*, *A. sobria*, y *Streptococcus agalactiae*, con un relativo alto nivel de protección de 93.3%.

- Yildirin y Beck (58), en su investigación evaluaron el efecto del quitosano sobre agentes bacteriales causantes de enfermedades en peces de agua cálida, y en el estudio determinaron que el quitosano y su derivado el oligosacárido lactato exhibieron actividad antibacteriana contra las tres bacterias evaluadas y su actividad fue dosis dependiente. Ambos compuestos inhibieron completamente el crecimiento de *A. hydrophila* a 0.8% y *E. ictaluri* y *F. columnare* a 0.4% o concentraciones más altas.

CAPÍTULO III
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Localización.

La primera fase se llevó a cabo en el laboratorio de acuicultura, en los predios de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Facultad de Ciencias Pecuarias, Campus “La María” cuya ubicación geográfica es de 01°06’13” de latitud sur y 79°29’22” de longitud oeste y a una altura de 73 msnm. Y la segunda fase se realizó en el Centro Nacional de Investigaciones Marinas - CENAIM, ubicado en Santa Elena, en la parroquia de San Pedro de Manglaralto, cuya ubicación geográfica es de 1° 57’18,3” de latitud sur y 80°43’44,1” de longitud oeste.

3.1.1. Condiciones climáticas.

Se detallan las condiciones climáticas del Laboratorio de Acuicultura, ubicado en el Campus “La María”, en la tabla 3.

Tabla 3. *Condiciones climáticas del Campus “La María”*

Datos meteorológicos	Valores promedios
Temperatura (°C)	24,2
Humedad relativa (%)	77,4
Precipitación (mm anual)	1537
Heliofanía (horas luz año)	823
Zona ecológica	Bosque húmedo-tropical (bh-T)

Elaborado: Autora

Fuente: (59).

3.2. Tipo de investigación.

En el ensayo se aplicó el siguiente tipo de investigación:

3.2.1. Exploratoria.

Se empleó con el propósito de estimar el efecto la inclusión del quitosano en la dieta sobre la morfohistología hepática en juveniles de tilapia roja.

3.2.2. Experimental.

En este caso, se alimentaron juveniles de tilapia roja con inclusión de quitosano en dieta y se evaluó la respuesta histológica hepática.

3.3. Método de investigación.

Los métodos de investigación que se aplicó en el presente estudio fueron los siguientes:

3.3.1. Método inductivo-deductivo.

Se aplicó este tipo de investigación, ya que se partió de un problema hacia una posible solución, en este caso, las diversas bondades que posee el quitosano incidieron positivamente sobre la respuesta hepatosomática de tilapia roja.

3.3.2. Método analítico.

El análisis se utilizó para estudiar la viabilidad del uso de porcentajes de inclusión de quitosano en la alimentación de juveniles de tilapia roja, con el fin de mejorar respuesta hepatosomática.

3.3.3. Método estadístico.

Con un software libre, y Excel se ordenaron y tabularon los datos obtenidos.

3.4. Fuentes de recopilación de información.

La información primaria se obtuvo directamente del ensayo a evaluarse, donde los diferentes resultados brindaron la información requerida. Mientras, la información secundaria expuesta en los diferentes capítulos se tomó de las siguientes fuentes: artículos científicos, boletines, informes técnicos, libros, tesis, sitios web, etc.

3.5. Diseño de la investigación.

En la presente investigación se utilizó un diseño completamente al Azar (DCA), conformado por tres tratamientos con inclusión de quitosano (0%, 2% y 4%) en dieta a partir de los resultados en trabajos realizados Zaki Mohamed et al (60), cada uno de los tratamientos constará de tres repeticiones (tanques experimentales operados en 90 L de agua), con una densidad de 15 **juveniles/tanque**. Los cuales se colocarán en 9 tanques para un **total de 135 peces**. Para la comparación de medias entre los tratamientos se realizó un ANOVA y se efectuó el test de Tukey ($p \leq 0,05$). En la tabla 4, se detalla la descripción de los tratamientos.

3.5.1. Análisis de la varianza.

El esquema del análisis de la varianza se presentará en la tabla 4:

Tabla 4. ANOVA.

Fuente de variación		Grados de libertad
Tratamientos	(t - 1)	2
Error Experimental	t (r- 1)	6
Total	(t.r) - 1	8

Elaborado: Autora.

Para este experimento se empleó un modelo matemático cuyo esquema es el siguiente:

Ecuación 1

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ijk} \quad (61).$$

Donde:

Y_{ij} = Total de una observación.

μ = Media de la población.

T_i = Efecto del tratamiento.

E_{ij} = Efecto aleatorio (Error experimental).

3.6. Instrumentos de investigación.

3.6.1. Formulación, elaboración y bromatología de dietas experimentales.

Las dietas se formularon utilizando LINDO Systems, Inc. IL, USA. Se formularon y prepararon siguiendo las instrucciones sobre otras especies. Todos los componentes se tamizaron con una malla de 250 μm , se pesaron con una báscula digital y cada dieta se preparó mezclando todos los macro ingredientes en una licuadora industrial hasta lograr una mezcla homogénea, los micro ingredientes y los aceites también se mezclaron particularmente antes de agregarlos a la mezcla de los macro ingredientes. Durante este paso se agregó el 30% de su peso en agua. Ver en tabla 5 los ingredientes de las dietas experimentales. El alimento fue pasado por un molino de carne que produce gránulos de 2 mm para realizar los pellets. El producto adquirido se secó durante 8 horas a 45 °C en una estufa. Los gránulos secos se fraccionaron en bolsas de plástico herméticas y fueron almacenadas en refrigerador a -4 °C hasta cada uso (62).

A los ingredientes y dietas se realizó análisis bromatológico, se determinó el contenido de humedad mediante horno y se secó cada dieta a 105°C. Para obtener la ceniza, cada muestra se incineró a 550°C y se colocó en un horno de mufla. Para evaluar la grasa se utilizó la técnica de extracción de Soxhlet, se extrae la grasa de la muestra con éter de petróleo, se evapora el solvente y luego se evalúa en porcentaje en peso. (62).

Para determinar el contenido de proteínas. Se utilizó el método Kjeldahl para evaluar el contenido total de nitrógeno en la muestra después de haber sido digerida con ácido sulfúrico en presencia de un catalizador de mercurio o selenio. La fibra se obtiene por el método de Weende y el residuo se digiere con ácido sulfúrico e hidróxido de sodio y se calcina. La diferencia de peso después de la calcinación indica la cantidad de fibra presente.

Los extractos libres de nitrógeno son un tipo de sistema Weende y se obtienen mediante diferencias; $ELN = 100 - (\text{ceniza} + \text{extracto etéreo} + \text{proteína} + \text{fibra})$ (62).

La determinación de energía se obtuvo al comprimir una muestra para formar una pastilla fue colocada en una cápsula pequeña de cuarzo, la cápsula con la muestra se coloca en la bomba calorimétrica automática donde se produce la combustión, en este proceso se produce un cambio de temperatura convirtiendo la señal en Kcal/Kg, el calorímetro mide las cantidades de calor liberadas por el alimento (63). Ver en tabla 5 la composición bromatología de las dietas.

Tabla 5. *Formulación y composición química de dietas experimentales con diferentes niveles de inclusión de quitosano.*

Materia prima	Niveles de Quitosano en Dietas (%)		
	0	2	4
Harina de pescado ²	46.50	46.50	46.50
Pasta de soya ⁴	28.00	28.00	28.00
Harina de trigo ¹	13.90	13.90	13.90
Harina de maíz ¹	4.00	2.00	1.00
Quitosano ⁵	0.00	2.00	4.00
Aceite vegetal ¹	1.00	1.00	1.00
Aceite de pescado ³	1.50	1.50	1.50
Alginato de sodio ⁶	2.00	2.00	2.00
Premezclas minerales ¹	1.00	1.00	1.00
Premezclas vitamínicas ¹	2.00	2.00	2.00
Vitamina C ¹	0.10	0.10	0.10

Composición proximal real (% Materia Seca)

Materia seca (%)	94.68	94.02	93.80
Ceniza (%)	8.20	10.10	12.01
Grasa (%)	7.15	8.01	7.18
Proteína (%)	32.07	32.47	32.22
Fibra (%)	5.63	5.92	6.66
E.L.N. (%) [*]	46.95	43.50	41.93
Energía Bruta (kJ/g) [*]	18.38	18.22	17.57

¹ Supermaxi: Quevedo. ² Comercial "El Gordillo" - Santo Domingo de los Tsáchilas. ³ Santa Elena ⁴ Valencia (Avícola) ⁵ China ⁶ México.

^{*} E.L.N.N: (Extracto libre de nitrógeno) = 100 - (% de proteína cruda + % grasa cruda + % ceniza + % fibra). * Calculado utilizando factores de 23,4 kJ / g, 39,2 kJ / g, 17,2 kJ / g para proteínas, grasas y carbohidratos(63).

3.6.2. Condiciones de cultivo de los peces.

Todos los tanques eran sifonados todas las mañanas antes de alimentarlos para desechar las heces y alimentos sobrantes y el 20% de agua se reemplazaba. Los alevines inicialmente fueron alimentados a una tasa del 5% de la biomasa día⁻¹ dividido en dos raciones a las 9:00

horas y a las 17:00 horas, Se realizó el control de los parámetros físico-químicos del agua cada 15 días, la temperatura se midió con un termómetro de mercurio, se mantuvo temperaturas entre 25.0 y 26.0 °C, el pH y los parámetros químicos del agua se determinó mediante la utilización del kit colorimétrico (Saltwater Master Test Kit) manteniendo un pH de 7.8, amonio desde 0.05 a 0.08 mg L⁻¹, nitritos de 0.50 – 1.0 mg L⁻¹ y nitratos de 20 – 40 mg L⁻¹ mientras que el oxígeno disuelto se evaluó con un medidor de oxígeno dando un rango entre de 4.06 a 5.0 mg L⁻¹.

3.6.3. Obtención de muestras hepáticas.

Una vez finalizado el periodo de cultivo, se sacrificaron los juveniles de tilapia roja con inyección de solución de Davidson. Luego se disectaron con bisturí haciendo un corte ventral con el fin de obtener el órgano hepático, los cuales se pesaron y se colocaron en frasco esterilizado con la solución de Davidson para realizar el endurecimiento (Solución Davidson) durante un lapso de 24 horas. Transcurrido ese tiempo, se cambió la solución por alcohol al 70%, de esta manera se trasladaron al Centro Nacional de Investigaciones Marinas (CENAIM), y continuar con el procedimiento histológico.

3.6.4. Histológica por tinción Hematoxilina y Eosina (H&E)

Los pasos en el protocolo de la técnica consistieron en: Fijación, deshidratación, aclaramiento e imbibición, inclusión de tejido en parafina, corte con micrótopo 5 µm y fijación de tejido en placa, para finalmente teñir con H&E (Luna, 1968). Para esto, se procesaron las placas siguiendo la metodología:

3.6.3.1. Fijación

El proceso de fijación preserva los tejidos deteniendo la autólisis y a la vez permite que los tejidos permanezcan sin cambios apreciables luego de subsecuentes tratamientos. La fijación se hizo inmediatamente después de obtenidos los hígados ya que cualquier demora seca el tejido y acelera la autólisis. Las muestras se fijaron en solución Davidson al 10% por 24 horas, debidamente etiquetados o rotulados para ser colocados en el autotecnichon.

3.6.3.2. Deshidratación y aclaración

•t• Deshidratación

Para remover toda el agua de las muestras (tejidos), se tiene el siguiente recorrido:

1. Alcohol 70% 1 hora
2. Alcohol 80% 1 hora
3. Alcohol 90% 1 hora
4. Alcohol 95% 1 hora
5. Alcohol 100% 1 hora
6. Alcohol 100% 1 hora

Aclaración:

1. En Xilolpuro I 1 hora
2. En Xilolpuro II 1 hora

3.6.3.3. Inclusión

Las muestras procedentes del xilol II se sumergieron en recipientes con parafina, este proceso de sumergir el tejido en una sustancia firme tal como la parafina es el medio de inclusión más utilizado con más frecuencia. Una vez incluidos los tejidos en la parafina I se llevó la muestra a la estufa a una temperatura de 60° C por espacio de 1 hora se trasladaron a la parafina II, también a temperatura de 60° C por espacio de 1 hora para luego proceder al bloqueo de las muestras.

3.6.3.4. Corte

Una vez extraídos los tejidos de la parafina, se procedió a la orientación e inclusión de tejidos en los moldes (placas de Leukart) con parafina diluida (caliente), para la orientación de la muestra se usaron pinzas. Los bloques formados fueron llevados a refrigeración por espacio de 1 hora, para endurecer la parafina lo cual favorece con el corte de las muestras, se procede al corte mediante el micrótopo deslizante.

El corte de las muestras nos permitió obtener "las cintas" de las mismas. Estas cintas mediante pinzas se colocaron en un flotador de tejidos (que contiene agua caliente: Baño

María 50°C). El Baño María extiende los cortes histológicos (evitar la presencia de arrugas y aire atrapado); una vez bien extendidos los cortes, estos se colocaron en las láminas portaobjetos recubiertas con albumina de Mayer (que favorece la adhesión de los cortes).

3.6.3.5. Coloración con Hematoxilina - Eosina

Para teñir los cortes histológicos adheridos en los portaobjetos se siguió los siguientes pasos:

Empezamos colocando las láminas en el portaobjetos en el xilol (xilol I) por 15 minutos para eliminar la parafina de los cortes; luego se pasó al otro recipiente con xilol (xilol II) para completar la eliminación de la parafina. Después de las láminas se trasladaron a los alcoholes de una batería de hidratación:

1. Alcohol 100% 1 minuto
2. Alcohol 100% 1 minuto
3. Alcohol 95% 1 minuto
4. Alcohol 90% 1 minuto
5. Alcohol 80% 1 minuto
6. Alcohol 70% 1 minuto
7. Agua corriente, 1 minuto

Luego se procedió a la coloración siguiendo los siguientes pasos:

1. Hematoxilina de Mayer, 5 minutos
2. Agua corriente, 10 minutos
3. Agua destilada, 1 minuto
4. Eosina, 20 segundos
5. Alcohol 70% 1 minuto
6. Alcohol 80% 1 minuto
7. Alcohol 90% 1 minuto
8. Alcohol 95% 1 minuto
9. Alcohol 100% 1 minuto
10. Alcohol 100% 1 minuto

Finalmente se procedió al montaje (final de los cortes teñidos) usando unas gotas de bálsamo de Canada y laminillas cubreobjetos. Se dejó secar el bálsamo para luego hacer las evaluaciones correspondientes y etiquetar las láminas.

3.6.2.6. Observación y fotodigitalización

Una vez realizados los cortes histológicos, fijados en placa y teñidos con la técnica de H&E, se procedió a realizar su observación utilizando un microscopio con el objetivo de 40X, y se seleccionaron las mejores imágenes, se fotodigitalizaron y se tomaron las medidas utilizando el *software Scion Image* de libre distribución.

3.6.5. Variables Evaluadas

- Área total del hepatocito.

Ecuación 2.

$$\text{Área del hepatocito } (\mu\text{m}^2) = \pi \times r^2 \text{ (64).}$$

- Diámetro hepatocito (HD).

Ecuación 3.

$$\text{HD } (\mu\text{m}) = \text{media} - \text{HD más} + \text{HD menos} \text{ (64).}$$

- Volumen total del hepatocito (VH).

Ecuación 4.

$$\text{VH } (\mu\text{m}^3) = 4 / 3\pi R^3 \text{ (R = HA } \times \pi^2 \text{) (64)}$$

- Área del núcleo del hepatocito (NA).

Ecuación 5

$$\text{AN } (\mu\text{m}^2) = \pi \times r^2 \text{ (64)}$$

- Diámetro del núcleo del hepatocito (ND).

Ecuación 6.

$$\text{ND } (\mu\text{m}) = \text{media} - \text{ND más} + \text{ND menos} \text{ (64)}$$

- Volumen del Núcleo del hepatocito (NV).

Ecuación 7.

$$NV (\mu\text{m}^3) = 4 / 3\pi R^3 (R = An \times \pi^2)(64).$$

- Área citoplasma del hepatocito (CA).

Ecuación 8.

$$CA (\mu\text{m}^2) = \text{media} - (HA - NA) (64)$$

- Volumen del citoplasma del hepatocito (CV).

Ecuación 9.

$$CV (\mu\text{m}^3) = 4 / 3\pi R^3 (R = CA \times \pi^2)(64)$$

- Relación área citoplasmática y área nuclear del hepatocito (HR).

Ecuación 10.

$$HR (\mu\text{m}^2) = \text{media} (CA / NA) (64).$$

Donde:

CA= Área del citoplasma.

NA=Área nuclear.

- Área de Sinusoide (AS).

Ecuación 11.

$$AS (\mu\text{m}^2) = \pi \times r^2 (64)$$

- Diámetro del sinusoide.

Ecuación 12.

$$SD (\mu\text{m}^2) = \text{media} - \text{media 3 en 3 sinusoides}(64).$$

- Índice hepatosomático (IH).

Ecuación 13.

$$IH (\%) = 100 * (\text{peso del hígado} / \text{peso corporal}) (65).$$

3.7. Tratamiento de los datos.

Se presentaron los análisis estadísticos de los resultados como medias y la desviación estándar. Además, serán aplicados las pruebas de Barlett y Kolgomoron – Smirnoy ($P < 0,05$) previo al (ANOVA). Cuando se observen valores significativos de F, se empleó la prueba de Tukey para comparar diferencias entre medias, en $P < 0,05$. Para ello se empleó el software INFOSTAT. En la tabla 6 se muestra los tratamientos en estudio.

Tabla 6. Descripción de los tratamientos

N^a	Tratamientos	Repeticiones (Tanques Experimentales)	Juveniles de tilapia roja / Repetición	Total de juveniles de tilapia roja /Tratamiento
T0	Dieta 0 % de quitosano	3	15	45
T1	Dieta 2 % de quitosano	3	15	45
T2	Dieta 4 % de quitosano	3	15	45
Total				135

Elaborado: Autora.

3.8. Recursos humanos y materiales.

Talento humano que contribuyo a la realización del presente proyecto de investigación:

- Director del proyecto de investigación Dr. Yuniel Méndez Martínez.
- Estudiante y autora del proyecto de investigación Melanie Alexandra Casanova Erazo.

3.8.1. Materiales y equipos.

3.8.1.1. Materiales y equipos de oficina.

- Bolígrafo
- Cámara digital
- Carpeta
- Hojas A4
- Impresora
- Internet
- Libreta de apuntes
- Ordenador

3.8.1.2. Materiales y equipos de laboratorio.

- Alevines de tilapia roja
- Bombas de agua
- Bombas de oxígeno (oxigenación)
- Tanques de plástico de 100 L
- Red de pesca
- Alcohol (70%)
- Microscopio
- Balanza electrónica
- Mandil
- Botas
- Cofia
- Guantes
- Mascarilla
- Bisturí
- Pinzas
- Bandejas de acero inoxidable
- Jeringas
- Frascos esterilizados

- Solución de Davidson
- Hematoxilina y eosina

3.8.1.3. Ingredientes y alimentos.

- Harina de trigo
- Harina de pescado.
- Harina de maíz.
- Pasta de soya.
- Aceite de pescado.
- Aceite vegetal.
- Vitamina C.
- Premezcla mineral.
- Premezcla vitamínica.
- Alginato de sodio.
- Quitosano.

CAPÍTULO IV
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Hepatocitos.

Entre las variables evaluadas se encontró diferencia significativa ($p < 0,05$) para el área, diámetro y volumen del hepatocito de los tratamientos T2 (2% de quitosano en la dieta) y T3 (4% de quitosano en la dieta), con respecto al tratamiento testigo T1 (0% de quitosano en la dieta) que registro el menor promedio. El mayor promedio de estas variables se registró en el T3 (4% de quitosano en la dieta) ver (Tabla 6). En la (Figura 4) se muestran los cortes histológicos en hígado de juveniles de tilapia roja expuestos a diferentes niveles de quitosano en dieta con coloración H-E.400X.

Los valores obtenidos en área de hepatocitos en este estudio fueron superiores a los reportados por Rezende *et al.* (66), en su estudio de nanopartículas de dióxido de titanio en tilapias juveniles, donde obtuvieron un valor en área de hepatocitos de $8,57 \mu\text{m}^2$, al trabajar con 1.0 mgL^{-1} de concentración. Los hepatocitos observados en el presente trabajo fueron de morfología redonda, lo cual coincide con lo planteado por Li, Pan, Zhang y Yu (67), quienes indican que la adicción de quitosano produce en los hepatocitos una morfología redonda con muchas micro vellosidades, lo que significa células sanas, además ayuda a la aceleración de las actividades metabólicas como secreción de albumina y síntesis de urea.

Los valores obtenidos en diámetro de hepatocito, en este estudio, son superiores a los reportados por Palma, Caliri, y Cáceres (68), al realizar la caracterización histológica e histoquímica del hígado de la perca criolla (*Percichthys trucha*), donde obtuvieron un valor de $4,48 \mu\text{m}$. Esta diferencia se puede deber a la especie o a lo descrito por Dawood *et al.* (69), en su estudio de nanopartículas de quitosano de origen marino como mejorador de las características histofométricas en salmonete gris; donde sostienen que la inclusión de quitosano en la dieta de peces ayuda a aumentar el diámetro de las células, además mejora la integridad de las células epiteliales y ayuda a mejorar las actividades de lisozima y fagocíticas.

El mayor volumen de hepatocito se registró en el tratamiento con una mayor inclusión quitosano el T3 (4% de quitosano en la dieta). Fadl *et al.* (70), al estudiar el efecto del quitosano en el crecimiento, inmunidad, composición corporal e hepatología en tilapia del Nilo; encontraron que la inclusión de 5g/ kg quitosano en la dieta, produjo un hígado normal y un correcto tamaño de los hepatocitos sin causar alteraciones.

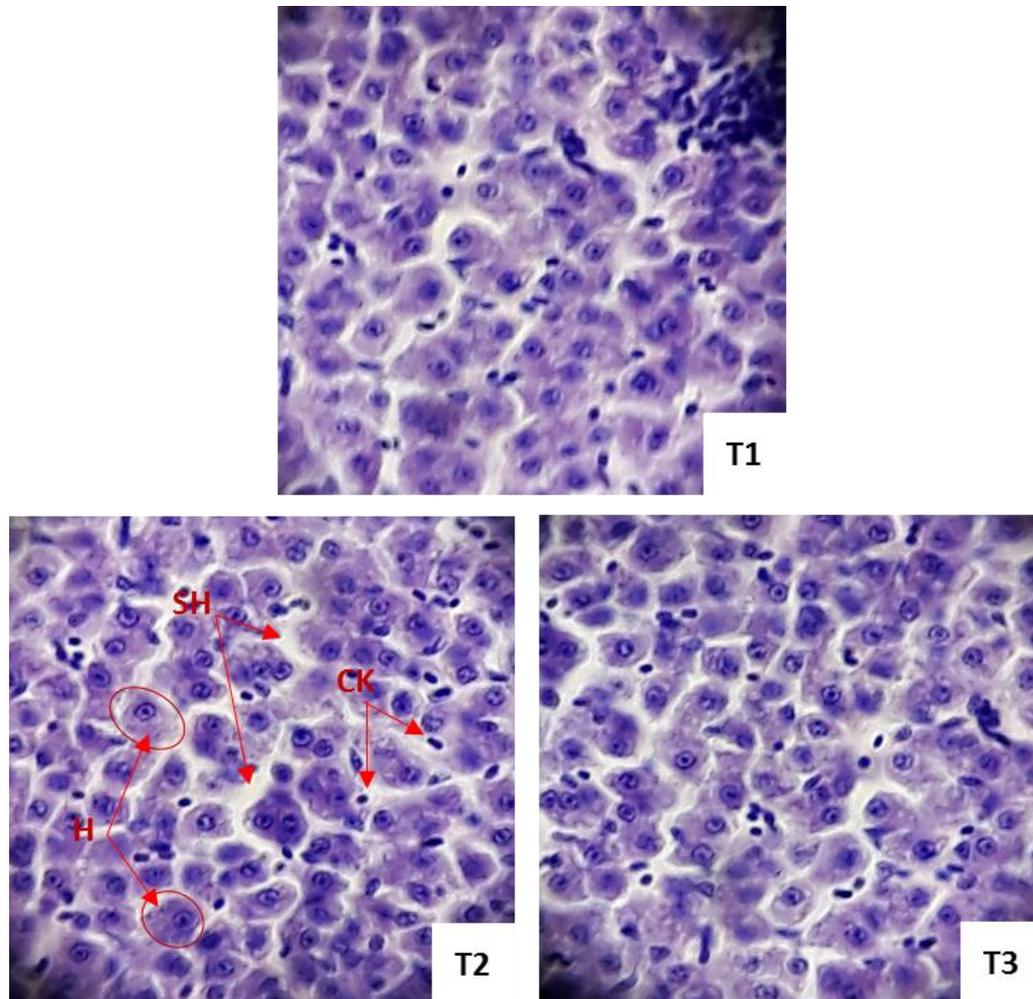


Figura 4. Corte transversal de hígado en juveniles de tilapia roja expuestos a diferentes niveles de quitosano en dieta. Coloración H-E.400X. Se observan hepatocitos (H) con núcleos bien definidos conteniendo nucléolos. Células de Kupffer (CK). Sinusoides hepático (SH).

De acuerdo al análisis de varianza existió diferencia estadística ($p \leq 0,05$) para las variables área del citoplasma (μm^2) y volumen de citoplasma (μm^3) de los tratamientos que tuvieron inclusión de quitosano con respecto al tratamiento control (T1, 0% de inclusión de quitosano en la dieta). Los mayores promedios en área y volumen del citoplasma se registraron en el T3 (4% de quitosano en la dieta), con un valor de $78,71\mu\text{m}^2$ y $626,63\mu\text{m}^3$

respectivamente. En la relación de hepatocitos área citoplasma/área nuclear (μm^2) se encontró diferencias estadísticas ($p \leq 0,05$) de los tratamientos T2 y T3 con respecto al tratamiento (T1, 0% de quitosano en la dieta) que obtuvo el menor valor con $6,56\mu\text{m}^2$ ver (Tabla 6.).

Liu, Wen y Luo (71) , en su investigación de distintos niveles de proteína en tilapias en estado juvenil informo que el citoplasma de los hepatocitos aumentaba conforme aumentaban los niveles de proteína, el mayor tamaño se consiguió con 35% de proteína al 5% del peso corporal día. En la relación de hepatocitos área citoplasma/área nuclear (μm^2); indica que lo hepatocitos en la proporción de área citoplasmática fueron agrandados mientras el área del núcleo se redujo en correlación positiva con la proteína. Wu *et al.* (72), en su estudio sobre la administración de fármacos a base de quitosano en peces menciona que el quitosano aumenta la proteína sérica total, albumina y globulina, también eleva las respuestas antioxidantes de los peces, además los autores indican que el quitosano aumenta la mucoadhesión y mejora la capacidad de transporte a través de la membrana celular .

Según el análisis de varianza en las variables área, diámetro y volumen del núcleo el tratamiento T3 difiere ($p \leq 0,05$) del T2, pero no ($p > 0,05$) del T1, sin embargo el T2 no difiere ($p > 0,05$) del T1. El T3 (4% de quitosano en la dieta) presento el mayor promedio con un área de núcleo de $9,83\mu\text{m}^2$ y un diámetro de núcleo de $3,53$, presentando diferencia estadística para el tratamiento T2 (2% de quitosano en la dieta) que obtuvo el menor valor con un área de núcleo de $8,28\mu\text{m}^2$ y un diámetro de $3,24\mu\text{m}$. En la variable volumen del núcleo el mayor promedio se registró en el T3 (4% de quitosano en la dieta) con $23,38\mu\text{m}^3$, presentando diferencia estadística para el T2 (2% de quitosano que en la dieta) que obtuvo el menor volumen del núcleo con $18,10\mu\text{m}^3$.

Marcon *et al.* (73), en su investigación de la evaluación histológica del hígado en *Astyanax Bimaculatus*; señala que el aumento en el tamaño de los núcleos de los hepatocitos se puede considerar como una respuesta a la activación de la función hepática como consecuencia de un aumento de la actividad metabólica, mientras que disminución

del tamaño de los núcleos se puede asociar a la multiplicación de los hepatocitos durante el reemplazo de las células dañadas.

Abdel-Gawad *et al.* (74), al estudiar el carboximetilquitosano (CMC) como modulador del riesgo genotóxico y estrés oxidativo del ácido perfluorooctanoico (PFOA) en tilapias; reporto que la dieta contaminada con PFOA mostro ruptura en las cadenas del ADN en los núcleos de los hepatocitos, estos núcleos presentaron un mayor tamaño. En dietas tratadas con CMC mostraron menor ruptura del ADN en comparación con las células de pescado tratadas con PFOA.

Tabla 7. Variables de respuesta de los hepatocitos de tilapia juvenil con inclusión de distintos porcentaje de quitosano en la dieta.

Hepatocitos	Testigo 0% de quitosano en la dieta	2% de quitosano en la dieta	4% de quitosano en la dieta	CV	F	P > 0.05
	T1	T2	T3			
área de hepatocitos (μm^2)	66,17 \pm 1,77b	79,38 \pm 6,51a	88,54 \pm 3,38a	5,59	19,98	0,0022
diámetro del hepatocito (μm)	8,97 \pm 0,18b	9,93 \pm 0,43a	10,43 \pm 0,20a	3,12	17,77	0,003
volumen de hepatocitos (μm^3)	414,56 \pm 16,92b	541,75 \pm 63,23a	650,01 \pm 36,97a	8,11	22,12	0,0017
Área del citoplasma (μm^2)	57,07 \pm 1,84b	71,11 \pm 6,38a	78,71 \pm 3,00a	6,10	20,41	0,0021
volumen de citoplasma (μm^3)	393,67 \pm 17,01b	523 \pm 62,88a	626,63 \pm 35,60a	8,33	22,26	0,0017
Relación de hepatocitos área citoplasma/ área nuclear (μm^2)	6,56 \pm 0,39b	8,86 \pm 0,56a	7,86 \pm 0,14a	5,18	24,67	0,0013
área del núcleo (μm^2)	9,09 \pm 0,50ab	8,28 \pm 0,16b	9,83 \pm 0,42a	4,34	11,69	0,0085
diámetro núcleo (μm)	3,39 \pm 0,09ab	3,24 \pm 0,03b	3,53 \pm 0,08a	2,13	12,39	0,0074
volumen del núcleo (μm^3)	20,89 \pm 1,76ab	18,10 \pm 0,49b	23,38 \pm 1,45a	6,48	11,54	0,0088

Medias en cada columna con una letra en común no son significativamente diferentes, según Tukey ($p \geq 0.05$).

4.2. Sinusoides a nivel hepático.

Según el análisis de varianza los tratamientos T2 (2% de quitosano en la dieta) y T3 (4% de quitosano en la dieta), presentaron diferencia estadística ($p \leq 0,05$) para el tratamiento T1 (Testigo 0% de quitosano en la dieta), en las variables diámetro y área de sinusoides los mayores promedios se registraron en el tratamiento T3 (4% de quitosano en la dieta) con un diámetro $7,67 \mu\text{m}$ y un área de $47,94 \mu\text{m}^2$ (Gráfico 1 y 2).

Chen, Luo *et al* (75); en su estudio efecto de protectores del calcio sobre la toxicidad del cobre en *Pelteobagrus fulvidraco*, dio como resultado una ausencia de vacuolas lular y reducción del ensanchamiento sinusoidal, la adicción de calcio permitió mitigar la gravedad de las lesiones inducidas por el cobre. Mientras Gobinat y Samuthirapandia (76), en su estudio de quitosano de los desechos de concha de crustáceos y su función protectora contra el plomo en (*Oreochromis mossambicus*); se determinó que los peces alimentados con una dieta suplementada con quitosano durante diez días dieron como resultado mejoras sustanciales en los antioxidantes y también estructuras histológicas normales; los peces expuestos a plomo y alimentados con dieta estándar, mostraron varios cambios en el hígado y degeneraciones hepatocelulares, áreas vacuoladas, necrosis hemorragia y aumento en el espacio sinusoidal; no obstante los peces expuestos a plomo y tratados con la dieta de quitosano logro reducir los efectos de la toxicidad de Pb y mejoro los cambios celulares, como hipertrofia, formaciones de vacuolas y degeneraciones celulares. Zhou *et al.* (77), en su estudio del pez carpa alimentado con dietas a base de quitosano afirma que el quitosano no es toxico para el hígado, por lo cual se estima que la inclusión de quitosano no causaría alteraciones en sinusoides.

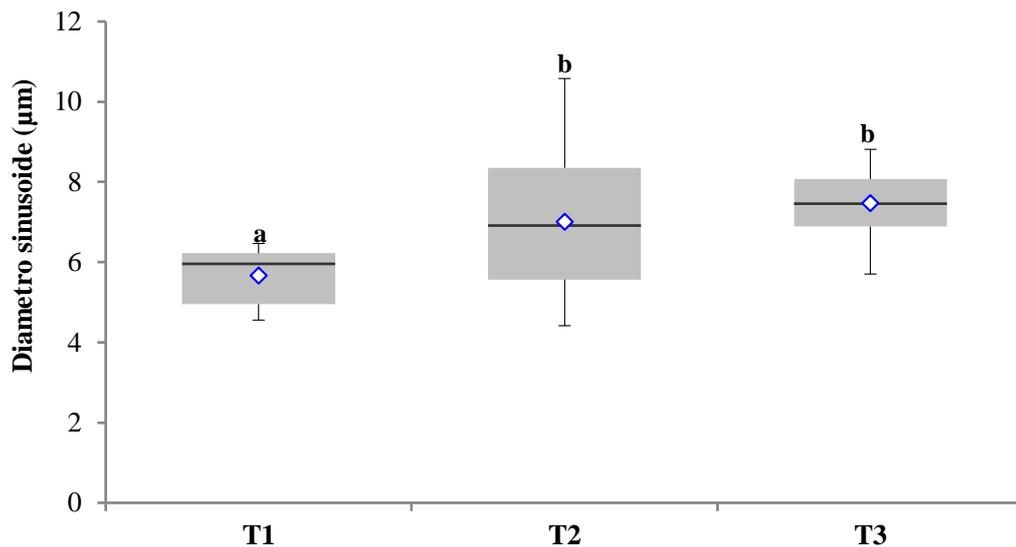


Gráfico 1. Diámetro sinusoide (μm) de tilapia juvenil con inclusión de quitosano en la dieta.

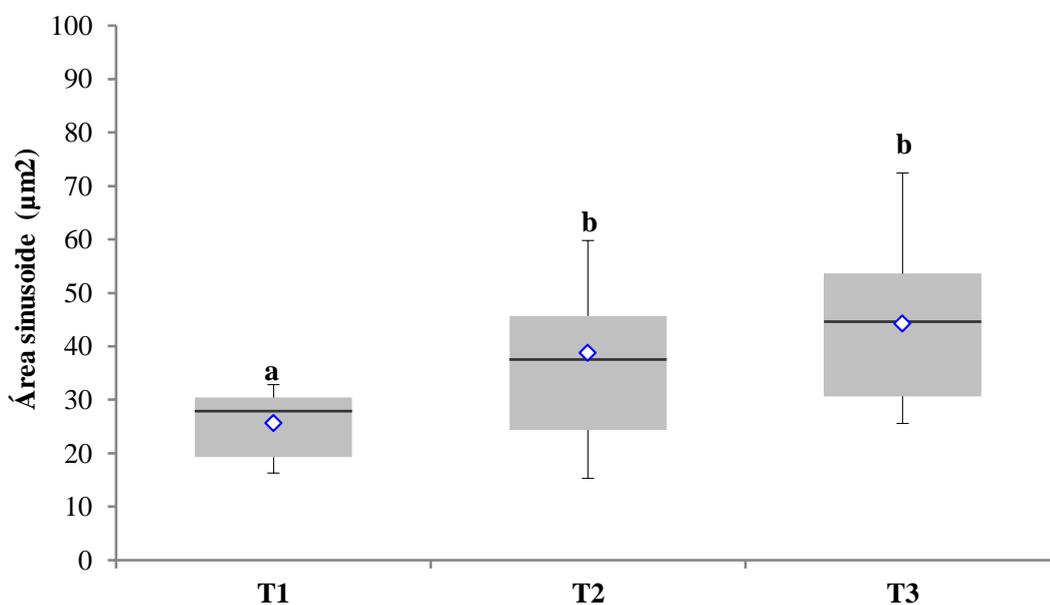


Gráfico 2. Área sinusoide (μm^2) de tilapia juvenil con inclusión de quitosano en la dieta.

4.3. Índice hepatosomático.

Según el análisis de varianza no existió diferencia estadística ($p \geq 0.05$) para la variable índice hepatosomático entre los tratamientos, el mayor valor se registró en el T2 (2% de quitosano en la dieta) con 2,38 %, el menor valor lo registró el T0 (Testigo 0% de quitosano en la dieta) con 2,03%. Abd –El Nabt *et al.* (78), al estudiar las nanopartículas de quitosano en la dieta como mejoradores del crecimiento, rendimiento de la producción e inmunidad en tilapia, los tratamientos no presentaron diferencia estadística para el índice hepatosomático, el mayor valor lo reportó la dieta con 3,0g/kg de quitosano en la dieta con un valor de 1,85 %, este valor es menor al indicado en este estudio. Los valores de esta investigación fueron similares a los obtenidos por Triana, Gutiérrez y Eslava (8), al investigar el rendimiento productivo del hígado en tilapia a través de la influencia de dos fuentes de lípidos, obteniendo 2,45 % al trabajar con el 9% de aceite de soya en la dieta. La literatura nos indica que el índice hepatosomático en un individuo es un indicador de mayores reservas energéticas almacenadas en el hígado de este individuo y por consiguiente una condición mejor, además está relacionado con un mayor peso en el hígado (77, 79).

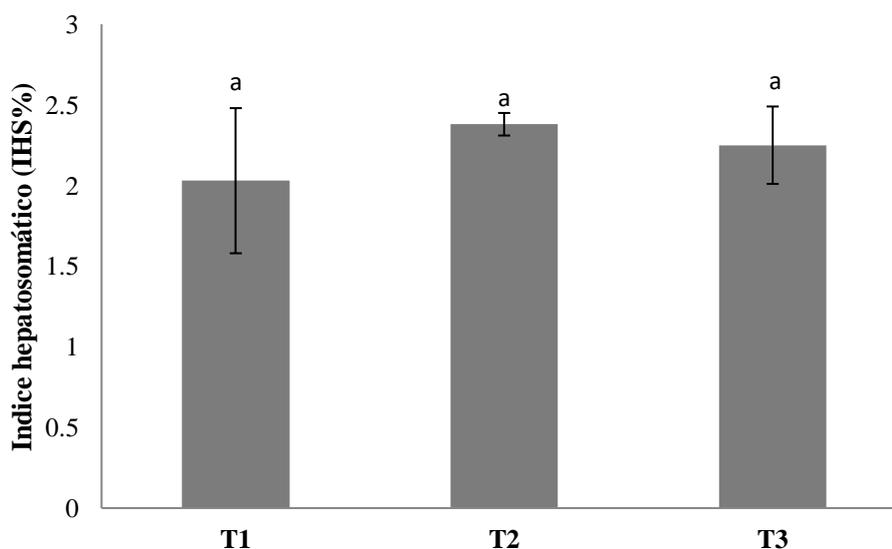


Gráfico 3. Índice hepatosomático en juveniles de tilapia roja.

CAPÍTULO V
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones.

Basándonos en los resultados obtenidos se establecen las siguientes conclusiones:

- En las variables área, diámetro y volumen del hepatocito, los mayores promedios se registraron en el T3, y los valores más altos en diámetro del núcleo se reportaron en el T3 (4% de quitosano en la dieta).
- En los diámetros de los sinusoides los mayores valores homogéneos los reportaron los tratamientos con inclusión de quitosano al 2% y 4 %, por lo cual se infiere que el quitosano mejoro los cambios celulares, como hipertrofia, formaciones de vacuolas y degeneraciones celulares, debido a que es un elemento no toxico para el hígado.
- En el índice hepatosomático (IHS), los tratamientos con inclusión de quitosano presentaron mayor promedio en especial T2 (2% de quitosano en la dieta), el (IHS) estuvo asociado a una mayor cantidad de reservas energéticas en el hígado.

5.2. Recomendaciones.

Según los resultados y conclusiones se recomienda:

- Se recomienda la inclusión de quitosano en las dietas para tilapias juveniles, como mejorador de las histologías hepáticas.
- Replicar la investigación con porcentajes más altos de quitosano.
- Sería interesante estudiar el efecto del quitosano como mitigador histológicos de elementos pesado, por ejemplo, el cadmio (Cd).

CAPÍTULO VI
BIBLIOGRAFÍA

6.1. Referencias bibliográficas.

1. Gutiérrez L, David C, Montoya O, Betancur E. Efecto de la inclusión en la dieta de probióticos microencapsulados sobre algunos parámetros zootécnicos en alevinos de tilapia roja (*Oreochromis sp.*). *Rev Salud Anim.* 2016;38(2):8.
2. Torres J, Muñoz E, Cárdenas H, Álvarez L, Palacio J. Caracterización de tilapia roja (*Oreochromis sp.*) con marcadores moleculares RAPD. *Acta Agronómica.* 2010;59(2):236–46.
3. Borja F, González L, Quintero V. Evaluación de alternativas para climatización de estanques con energía solar para cultivo de tilapia roja (*Oreochromis sp.*), localizados en la zona fría del Valle del Cauca, Colombia. *Rev Fac Nac Agron Medellín.* 2006;59(1):3295–310.
4. Valbuena R, Cruz P. Efecto del peso corporal y temperatura del agua sobre el consumo de oxígeno de tilapia roja (*Oreochromis sp.*). *Orinoquia.* 2006;10(1):57–63.
5. Botello A, Cisneros M, Viana M, Valdivié M, Pullés E, Téllez E, et al. Utilización de harina de caña proteica en la alimentación de juveniles de tilapia roja. *Rev Cuba Cienc Agrícola.* 2011;45(4):411–5.
6. Fraga I, Flores E, Reyes R, Llanes Y. Efecto de diferentes densidades de siembra en el engorde de tilapia roja (*Oreochromis mossambicus x O. aureus*) en jaulas colocadas en la bahía de Casilda, Cuba. *Rev Investig Mar.* 2012;32(1):16–23.
7. Miranda R, Guerrero C. Efecto de la torta de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis*) sobre el desempeño productivo de juveniles de tilapia roja (*Oreochromis sp.*). *Respuestas.* 2015;20(2):82–92.
8. Triana P, Gutierrez M, Eslava P. Rendimiento productivo e hígado graso en tilapia híbrida (*Oreochromis spp.*): Influencia de dos fuentes de lípidos. *Orinoquia.* 2013;17(2):183–96.
9. Bermúdez A, Muñoz A, Wills G. Evaluación de un sistema de alimentación orgánico sobre el desempeño productivo de la tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) cultivada en estanques de tierra. *Rev la Fac Med Vet y Zotec.* 2012;59(3):165–75.
10. Pineda H, Zuluaga C, Vertel D. Evaluación de la morfometría y el hábito alimenticio en tilapia roja *Oreochromis sp.* Y tilapia nilótica *Oreochromis niloticus* var. Chitralada bajo diferentes condiciones de manejo en dos granjas piscícolas del occidente antioqueño. *Rev Politécnica.* 2012;8(14):97–104.
11. Nieto C, Orellana V. Aplicación del quitosano como promotor de floculación para disminuir la carga contaminante. Universidad Politécnica Salesiana; 2011.
12. García A, Mandaluniz N, Arranz J, Goiri I. Inclusión de quitosano en la dieta de ovejas lecheras al inicio de la lactación. *AIDA, XIV Jornadas sobre Prod Anim.* 2011;1:222–4.
13. Sierra E, Espinosa A, Real F, Herráez P, Castro P, Fernández A. Histología y patología de los peces. Parte 1: Biología y necropsia de los peces. *Rev Canar las*

- Ciencias Vet. 2011;(1):44–51.
14. Torres G, González S, Peña E. Descripción anatómica, histológica y ultraestructural de la branquia e hígado de tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Int J Morphol*. 2010;28(3):703–12.
 15. Gutiérrez M, Salamanca G, Padilla J, Moncaleano J, Osorio M. Aspectos técnicos relacionados al sistema de explotación de tilapia roja (*Oreochromis sp.*) en el municipio de Villanueva Casanare. *Rev La Asoc Colomb Ciencias Biológicas*. 2008;20(1):7.
 16. González R, Romero O, Valdiviá M, Ponce J. Lenteja de agua, una opción en dietas para tilapia roja. *Rev Aqu*. 2013;(38):85–93.
 17. Mena A, Sumano H, Macías R. Efecto de la salinidad en el crecimiento de tilapia híbrida *Oreochromis mossambicus* (Peters) × *Oreochromis niloticus* (Linnaeus), cultivadas bajo condiciones de laboratorio. *Vet Mex*. 2002;33(1):39–48.
 18. Méndez Y, Pérez Y, Torres Y, Réyes J. Estado del arte del cultivo de tilapia roja en la mayor de las Antillas. *Biocencia*. 2018;20(2):15–24.
 19. López C, Carvajal D, Botero M. Masculinización de tilapia roja (*Oreochromis spp*) por inmersión utilizando 17 alfa-metiltestosterona. *Rev Colomb Ciencias Pecu*. 2007;20:318–26.
 20. FAO. El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2018. Roma, Italia: FAO; 2018. 250 p.
 21. Peces de acuarios. Tilapia. 2020.
 22. Guerrero A. Conceptos básicos de nutrición. 2017. p. 38.
 23. Giraldo J. Propiedades, obtención, caracterización y aplicaciones del quitosano. *Univ Concepc*. 2015;
 24. Megías M, Molist P, Pombal M. Tipos celulares hepatocito. *Atlas de Histología vegetal y animal*. Pontevedra, España: Universidad de Vigo; 2018. p. 1–8.
 25. EcuRed. Morfofisiología. *EcuRed*. 2011.
 26. Rodríguez A, Ramírez M, Rivero D, Bosquez E, Barrera L, Bautista S. Propiedades químico-estructurales y actividad biológica de la quitosana en microorganismos fitopatógenos. *Rev Chapingo Ser Hort*. 2009;15(3):307–17.
 27. Mármol Z, Páez G, Rincón M, Araujo K, Aiello C. Quitina y Quitosano polímeros amigables. Una revisión de sus aplicaciones. *Rev Tecnocientífica URU*. 2011;(1):53–8.
 28. Academic. Chitosan. *Academic*. 2020.
 29. Moreno J. Estudio de viabilidad de una planta de producción de quitosano. *Universidad Politécnica de Madrid*; 2019.
 30. Abd El-Naby F, Naiel M, Al-Sagheer AA, Negm S. Dietary chitosan nanoparticles enhance the growth, production performance, and immunity in *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*. 2018;32.
 31. Cornejo G. Respuesta morfométrica intestinal en tilapia roja (*Oreochromis sp.*)

- alimentada con pellets enriquecidos con probióticos y prebióticos. Universidad Nacional de Colombia; 2017.
32. Hsien-Tsang S, Quintanilla M. Manual sobre reproducción y cultivo de tilapia. CENDEPESCA. El Salvador, Centroamerica: CENDEPESCA; 2008. 68 p.
 33. Guamán Y. Estimación de la demanda de importación de tilapia para U.S y la importación económica para Ecuador. Universidad San Francisco de Quito; 2017.
 34. Pinza J. Manejo de reproductores y de la calidad del agua para mejora de la producción de alevines de tilapia roja (*Oreochromis sp*) en la estación piscícola fish-flow, Huila, Colombia. Universidad de Nariño; 2014.
 35. Freepik. tilapia.
 36. Ramos Y. Evaluación de la producción y rentabilidad del cultivo de tilapia roja en tres pisos altitudinales del distrito de Suyo, provincia de Ayabaca, Piura-Perú. Universidad Nacional de Loja; 2012.
 37. Mora W. Aprovechamiento de humedales para la producción de tilapia roja (*Oreochromis spp*) y tilapia nilotica (*Oreochromis niloticus*) en el barrio La Hamaca perteneciente al cantón Paltas. Universidad Nacional de Loja; 2016.
 38. Barba C. Aireación de las piscinas de cultivo de tilapia roja (*Oreochromis sp.*) y su influencia en la productividad. Escuela Politécnica Nacional; 2015.
 39. Calderón M. Análisis del proceso productivo de tilapia (*Oreochromis SP.*) en la estación experimental Monterrico del Centro de Estudios del Mar y Acuicultura CEMA, USAC. Universidad de San Carlos de Guatemala; 2018.
 40. Meyer D. Introducción a la acuicultura. Zamorano. Honduras; 2004. 163 p.
 41. Incopesca. Curso de Acuicultura Básica. Santa Clara, San Carlos: SSC-TEC; 2002.
 42. Hurtado N. Tilapia: La alternativa social y económica del tercer milenio. NH ingenieros consultores; 2000. p. 1–127.
 43. Patiño C. Caracterización de las propiedades funcionales de la carne de caballa y tilapia en refrigeración y congelación. Universidad Nacional de San Agustín; 2013.
 44. Sánchez C. Efecto de tres niveles de proteínas en el desarrollo del periodo de alevinaje de tilapia chitralada (*Oreochromis niloticus*) en tanques de eternit en la U.N.J.B.G Tacna. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann - TACNA; 2013.
 45. Pérez M, Sáenz M. Crecimiento de las tilapias *Oreochromis niloticus* en cultivo monosexual y ambos sexos, en sistemas de producción semi-intensivos. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua; 2015.
 46. Villarreal S. Elaboración de una dieta balanceada utilizando gallinaza como fuente alternativa de proteína en la alimentación de la tilapia roja macho (*Oreochromis spp.*). Universidad Técnica del Norte; 2008.
 47. Pallares P, Borbor W. Efectos del ácido omega 3 y la combinación omega 3 - omega 6 en la alimentación de tilapia roja (*Oreochromis spp.*) en la finca “El Porvenir”, pre parroquia San Gabriel del Baba, km 9 vía a Julio Moreno, en la zona de Santo Domingo. Escuela Politécnica del Ejército; 2012.

48. CEC-ITAM. Programa maestro nacional de tilapia. Buenos Aires, Argentina: ITAM; 2004. p. 342.
49. Guzman J. Estudio de factibilidad para la instalación de una piscifactoría de tilapia roja (*Oreochromis sp.*) para el mercado de Pasaje-El Oro. Universidad Técnica de Machala; 2015.
50. Rodríguez S. Engorda De “Tilapia.” Universidad Autonoma Agraria “Antonio Narro”; 2002.
51. Ríos R. Cartilla práctica para el cultivo de la tilapia (*Oreochromis sp.*). Chiriquí, Panamá: Autoridad de los Recursos Acuáticos de Panamá (ARAP); 2012. p. 31.
52. Basantes C. Evaluación del uso de balanceado orgánico vs el alimento industrial sobre la conversión alimenticia de la *Oreochromis sp* (tilapia) criada en cultivo intensivo. Universidad de Guayaquil; 2015.
53. Aguilar F. Modelos matemáticos no lineales como herramienta para evaluar el crecimiento de tilapia roja (*Oreochromis spp.*) y tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus* Var. Chitralada)” alimentadas con dietas peletizadas o extruidas. Universidad Nacional de Colombia; 2010.
54. Guerrero G. Comportamiento productivo en la engorda de tilapia gris Alimentadas con dietas a base de Colacasia esculenta en el Puyo, Ecuador. Universidad Técnica de Ambato; 2016.
55. USDA-IICA. Índice hepatosomático. United States Department of Agriculture. 2020.
56. Nutrial. Salud hepática: un constante desafío en la acuicultura. 2016.
57. Abdel N. Antimicrobial activities of chitosan nanoparticles against pathogenic microorganisms in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquac Int.* 2019;27(5):1315–30.
58. Yildirim M, Beck B. Antimicrobial activity of chitosan and a chitosan oligomer against bacterial pathogens of warmwater fish. *J Appl Microbiol.* 2017;122(6):1570–8.
59. Gárce F, Gallo K, Sánchez F. Respuesta de genotipos de maní a tres densidades de siembra y presencia de enfermedades en Quevedo, Ecuador. *Cultiv Trop.* 2015;36(3):106–10.
60. Zaki M, Salem M, Gaber M, Nour A. Effect of chitosan supplemented diet on survival, growth, feed utilization, body composition & histology of sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *World J Eng Technol.* 2015;03:38–47.
61. Vera J, Vera J. Resumen de principios de diseños experimentales. primera. Guayaquil, Ecuador: Compas; 2018. 102 p.
62. Pacheco Morales GK. Universidad Tecnica Estatal “»Quevedo». Universidad Técnica Estatal de Quevedo; 2020.
63. Goddard S. Feed Management in Intensive Aquaculture. e-conversion - Proposal for a Cluster of Excellence. 1996.
64. De Souza Filho J, Pires FS, Grisolia CK, De Sabóia-Morais SMT. Toxicological

- effects of a glyphosate-based formulation on the liver of *Poecilia reticulata*. *Curr Top Toxicol*. 2014;9(January):81–91.
65. Marco Medina M, Yoli Espinoza G, Walter Reyes A. Gonadosomatic and hepatosomatic indices in relation to the maturation and moult of the shrimp *Cryphiops caementarius* of the Pativilca River (Peru). *Rev Investig Vet del Peru*. 2019;30(3):1018–29.
 66. Rezende KFO, Bergami E, Alves KVB, Corsi I, Barbieri E. Titanium dioxide nanoparticles alter routine metabolism and cause histopathological alterations in *Oreochromis niloticus*. *Bol do Inst Pesca*. 2018;44(2).
 67. Li J, Pan J, Zhang L, Yu Y. Culture of hepatocytes on fructose-modified chitosan scaffolds. *Biomaterials*. 2015;24(13):2317–22.
 68. Palma M, Caliri M, Cáceres A. Caracterización histológica e histoquímica de branquia, hígado y riñón de perca criolla (*Percichthys trucha*, Valenciennes, 1833) para su uso en biomonitoreo ambiental. *Acta Microsc [Internet]*. 2017;26(1):32–45. Available from: <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/50211>
 69. Dawood MAO, Gewaily MS, Soliman AA, Shukry M, Amer AA, Younis EM, et al. Marine-Derived Chitosan Nanoparticles Improved the Intestinal Histomorphometrical Features in Association with the Health and Immune Response of Grey Mullet (*Liza ramada*). *Mar Drugs*. 2015;18(12):611.
 70. Fadl SE, El-Gammal GA, Abdo WS, Barakat M, Sakr OA, Nassef E, et al. Evaluation of dietary chitosan effects on growth performance, immunity, body composition and histopathology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) as well as the resistance to *Streptococcus agalactiae* infection. *Aquac Res*. 2015;51(3):1120–32.
 71. Liu W, Wen H, Luo Z. Effect of dietary protein levels and feeding rates on the growth and health status of juvenile genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquac Int*. 2015;26(1):153–67.
 72. Wu Y, Rashidpour A, Almajano MP, Metón I. Chitosan-Based drug delivery system: Applications in fish biotechnology. *Polymers (Basel)*. 2020;12(5).
 73. Marcon L, Bazzoli N, Honor Mounteer A, Anjos Benjamin L Dos. Histological and Histometric Evaluation of the Liver in *Astyanax bimaculatus* (Teleostei: Characidae), Exposed to Different Concentrations of an Organochlorine Insecticide. *Anat Rec*. 2015;298(10):1754–64.
 74. Abdel-Gawad FK, Khalil WKB, El-Kady AA, Waly AI, Abdel-Wahhab MA. Carboxymethyl chitosan modulates the genotoxic risk and oxidative stress of perfluorooctanoic acid in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *J Saudi Soc Agric Sci [Internet]*. 2015;15(1):57–66. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jssas.2014.04.005>
 75. Chen QL, Luo Z, Zheng JL, Li XD, Liu CX, Zhao YH, et al. Protective effects of calcium on copper toxicity in *Pelteobagrus fulvidraco*: Copper accumulation, enzymatic activities, histology. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2015;76(1):126–34.
 76. Thilagar G, Samuthirapandian R. Chitosan from crustacean shell waste and its protective role against lead toxicity in *Oreochromis mossambicus*. *Toxicol*

Reports. 2020;7(July 2018):296–303.

77. Zhou Q lan, Xie J, Ge X ping, Habte-Tsion HM, Liu B, Ren M. Growth performance and immune responses of gibel carp, *Carassius auratus gibelio*, fed with graded level of rare earth-chitosan chelate. *Aquac Int.* 2016;24(2):453–63.
78. Abd El-Naby FS, Naiel MAE, Al-Sagheer AA, Negm SS. Dietary chitosan nanoparticles enhance the growth, production performance, and immunity in *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* [Internet]. 2018;501:82–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.11.014>
79. Scientia - Project - UdG - Salud y Pescado [Internet]. [cited 2021 Jan 24]. Available from: <http://salutipeix.udg.edu/es/project.html>

CAPÍTULO VI
ANEXOS

Anexo 1. *Análisis de varianza del área del hepatocito μm^2 .*

F.V.	SC	Gl	CM	F. cal.	p-valor
Tratamiento	7,59	2	3,79	1,99	<0.0022
Error	1,13	6	1,89		**
Total	8,73	8			

Anexo 2. *Análisis de varianza del diámetro del hepatocito (μm).*

F.V.	SC	Gl	CM	F. cal.	p-valor
Tratamiento	8,33	2	4,16	2,21	<0.0017
Error	1,13	6	1,88		**
Total	9,46	8			

Anexo 3. *Análisis de varianza del volumen de hepatocitos (μm^3).*

F.V.	SC	Gl	CM	F. cal.	p-valor
Tratamiento	3,30	2	1,65	1,77	<0.0030
Error	0,56	6	0,09		**
Total	3,86	8			

Anexo 4. *Análisis de varianza del Área del citoplasma (μm^2).*

F.V.	SC	Gl	CM	F. cal.	p-valor
Tratamiento	7,22	2	3,61	2,04	<0.0021
Error	1,06	6	1,77		**
Total	8,29	8			

Anexo 5. *Análisis de varianza del volumen de citoplasma (μm^3).*

F.V.	SC	Gl	CM	F. cal.	p-valor
Tratamiento	8,17	2	4,08	2,22	<0.0017
Error	1,10	6	1,83		**
Total	9,27	8			

Anexo 6. *Análisis de varianza de la relación de hepatocitos área citoplasma/ área nuclear (μm^2).*

F.V.	SC	Gl	CM	F. cal.	p-valor
Tratamiento	7,98	2	3,99	24,67	<0.0013
Error	0,97	6	0,16		**
Total	8,95	8			

Anexo 7. *Análisis de varianza del área del núcleo (μm^2).*

F.V.	SC	Gl	CM	F. cal.	p-valor
Tratamiento	3,62	2	1,81	11,69	<0.0085
Error	0,93	6	0,15		*
Total	4,55	8			

Anexo 8. *Análisis de varianza del diámetro núcleo (μm).*

F.V.	SC	Gl	CM	F. cal.	p-valor
Tratamiento	0,13	2	0,06	12,39	<0.0074
Error	0,03	6	0,01		*
Total	0,16	8			

Anexo 9. *Análisis de varianza del volumen del núcleo (μm^3).*

F.V.	SC	Gl	CM	F. cal.	p-valor
Tratamiento	41,86	2	20,93	11,54	<0.0088
Error	10,89	6	1,81		**
Total	52,75	8			

Anexo 10. *Análisis de varianza del diámetro (μm) del sinusoide.*

F.V.	SC	Gl	CM	F. cal.	p-valor
Tratamiento	6,20	2	3,1	17,85	<0.0030
Error	1,04	6	0,17		*
Total	7,24	8			

Anexo 11. *Análisis de varianza del área sinusoide (μm^2).*

F.V.	SC	Gl	CM	F. cal.	p-valor
Tratamiento	7,77	2	3,88	1,57	<0.0041
Error	1,48	6	2,47		**
Total	9,25	8			

Anexo 12. *Análisis de varianza del índice hepatosomático.*

F.V.	SC	Gl	CM	F. cal.	p-valor
Tratamiento	0,19	2	0,09	1,08	<0.3970
Error	0,52	6	0,09		**
Total	0,71	8			

Anexo 13. Sinusoides a nivel hepático

Sinusoides	Testigo 0% de quitosano en la dieta	2% de quitosano en la dieta	4% de quitosano en la dieta	CV	F	P > 0.05
	T1	T2	T3			
Diametro sinusoide (µm)	5,67±0,19b	7,00±0,59	7,67±0,38a	6,14	17,85	0,0030
Área sinusoide (µm ²)	25,63±1,52b	40,67±6,53a	47,94±5,41a	13,06	15,7	0,0041

Anexo 14. Índice hepatosomático

N° de tratamiento	Descripción del tratamiento	Índice hepatosomático
1	Testigo 0% de quitosano en la dieta	2,03±0,45a
2	2% de quitosano en la dieta	2,38±0,07a
3	4% de quitosano en la dieta	2,25±0,024a
C.V%		13,24
F		1,08
P > 0.05		0,3970



Anexo 15. Captura de peces.



Anexo 16. Extracción del hígado.



Anexo 17. *Diseción del hígado de tilapia.*



Anexo 18. *Pesaje del hígado.*



Anexo 19. *Fijacion en solución de Davidson y etiquetado por tratamiento.*



Anexo 20. *Chitosano.*



Anexo 21. *Mezcla de macroingredientes.*



Anexo 22. *Dietas pasado por molino de carne 2mm.*



Anexo 23. *Pesaje de las dietas.*



Anexo 24. *Pellets en fundas herméticas*



Anexo 25. *Refrigeración a 4°C.*



Anexo 26. *Premezcla vitamínica*



Anexo 27. *Desmembración de los juveniles de tilapia roja*



Anexo 28. *Balanceado palletizado y seco.*