



Universidad Técnica Estatal De Quevedo
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
CARRERA DE AGROPECUARIA

Unidad de Integración curricular previo a la
obtención del título de Ingeniero
Agropecuario

Título de la Unidad de Integración Curricular:

**MODULACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE EN JUVENILES DE TILAPIA ROJA
(*Oreochromis mossambicus* x *O. niloticus*) CON INCLUSIÓN DE β -glucano EN DIETA.**

Autor:

Andrade Aldean Brandon Gustavo

Director de la Unidad de Integración Curricular:

Dr. Méndez Martínez Yuniel, Ph.D.

Quevedo – Los Ríos- Ecuador

2021



DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **Brandon Gustavo Andrade Aldean**, declaro que presente investigación es meramente de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se contienen en este documento.

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

.....

Brandon Gustavo Andrade Aldean

Autor



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

Dando cumplimiento al reglamento de la Unidad de Titulación Especial de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo y a las normativas y directrices establecidas por el SENESCYT, el suscrito Dr. Yuniel Méndez Martínez, PhD. en calidad de director del Proyecto de la Unidad de Integración Curricular Titulado **Modulación de la respuesta inmune en juveniles de tilapia roja (*Oreochromis mossambicus* x *O. niloticus*) con inclusión de β -glucano en dieta.**, de autoría del estudiante de la carrera de Ingeniería Agropecuaria, **Brandon Gustavo Andrade Aldean**, certifica que el porcentaje de 7% similitud reportado por el Sistema URKUND el mismo que es permitido por el mencionado Software y los requerimientos académicos establecidos.

URKUND	
Documento	Tesis Final Andrade-21.10.21.pdf (D116113185)
Presentado	2021-10-22 19:07 (-05:00)
Presentado por	ymendezm@uteq.edu.ec
Recibido	ymendezm.uteq@analysis.arkund.com
	7% de estas 36 páginas, se componen de texto presente en 14 fuentes.

Atentamente,

Dr. Yuniel Méndez Martínez, PhD.

**DIRECTOR DEL PROYECTO DE LA UNIDAD DE INTEGRACION
CURRICULAR.**



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 **Brandon Gustavo Andrade Aldean**, realizó el Proyecto de la Unidad de Integración Curricular titulado **Modulación de la respuesta inmune en juveniles de tilapia roja (*Oreochromis mossambicus* x *o. niloticus*) con inclusión de β -glucano en dieta.**, previo a la obtención del título de Ingeniero Agropecuario, bajo mi dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

Atentamente,

Dr. Méndez Martínez Yuniel, PhD

DIRECTOR DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR.



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO

FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS

CARRERA AGROPECUARIA

UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Título:

“Modulación de la respuesta inmune en juveniles de tilapia roja (*Oreochromis mossambicus* x *o. niloticus*) con inclusión de β -glucano en dieta.”

Presentado al Consejo Directivo como requisito previo a la obtención del título de **Ingeniero Agropecuario**.

Aprobado por:

Dr. Jorge Rodríguez Tobar
PRESIDENTE TRIBUNAL

Dr. Bolivar Montenegro
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dr. Orly Cevallos Falquez
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Quevedo - Los Ríos- Ecuador 2021

AGRADECIMIENTOS

Hoy, realizando este trabajo que marcará la culminación de una etapa importante de mi vida, no puedo evitar pensar en el primer día en que puse un pie en la UTEQ. Era mucho más joven y veía con altas expectativas mi futuro -que sabía- estaba en aquellas aulas y en aquellos campos en donde permanecí poco más de cuatro años.

Quiero empezar este agradecimiento (sin más rodeos) dando unas palabras en honor a mis padres, quienes con su apoyo, paciencias y aliento me motivaron a continuar y no me permitieron desfallecer cuando me sentí cansado. Mamá, papá, muchas gracias por todos estos años de cariño y sacrificio.

Pero... ¿Qué sería de mí sin mis amigos? Forjé la parte más significativa de mi adolescencia en Santo Domingo, allí hice amigos que -gracias a la vida- pude conservar incluso a pesar de la distancia y quienes me mostraron su humildad, mientras me apoyaban a continuar con mis estudios universitarios e invitándome los fines de semana que regresaba a la ciudad a compartir con ellos.

Al Director del Proyecto, Dr. Yuniel Méndez Martínez, por el tiempo, la paciencia y el aporte en la formación académica del autor, calidad de persona y de profesional gracias por los consejos y los regaños.

También quiero aprovechar esta ocasión para extender un saludo a todas las profesoras y todos los profesores, que, durante este trayecto académico, mostraron humanidad, fomentaron el buen trabajo y garantizaron nuestro aprendizaje en un entorno de confianza, compañerismo e integración. Sin lugar a dudas, la UTEQ no sería lo mismo sin cada uno de ustedes.

Por último -y no menos importante- quiero agradecer a aquellos compañeros, casi futuros colegas, que se mostraron apacibles durante la carrera, en diferentes circunstancias demostraron su generosidad, humildad y me brindaron una amistad que hizo mucho más fácil el estar lejos de casa y de la vida a la que tantos años había estado acostumbrado.

DEDICATORIA

No basta un agradecimiento para mis padres, a quienes también dedico este proyecto de grado.

Además, deseo dedicar este trabajo que representa el esfuerzo y entrega de quienes me rodean.

Nuevamente, para todos ustedes que han puesto algo de apoyo en mis capacidades, yo

Brandon Andrade dedico esta -humilde- tesis.

RESUMEN

Los β -glucanos son los inmunoestimulantes más utilizados en peces que se basa generalmente en estructuras de microorganismos que estimulan el sistema inmune innato ayudando al estado sanitario de los animales e incremento a la resistencia de patógenos, supervivencia y preparar a los peces para situaciones críticas. En esta investigación, se evaluó la respuesta inmune en juveniles de tilapia roja (*Oreochromis mossambicus* x *O. niloticus*) con inclusión de β -glucano en dieta, la investigación se llevó a cabo en el Vergel en el Cantón Valencia. Las variables a evaluar la concentración de la hemoglobina (g/dL) , Cuantificar el contenido de leucocitos totales (U/L) , neutrófilos, linfocitos, eosinófilos, monocitos, y basófilos , estimar la actividad Fagocítica (%) y actividad antioxidante, (SOD) U.mL^{-1} , para este diseño al azar (DCA), bajo condiciones controladas de laboratorio a lo largo de 55 días, para un total de 6 tratamientos (0, 1, 2, 3, 4 y 5% de β -glucano en dieta) con 3 repeticiones (tanques de plástico), las dosis fueron determinadas de resultados en otros trabajos realizados . Se empleó una densidad de 15 peces/tanque, los cuales se colocaron en 18 tanques operados con 90 L agua, para un total de 270 peces. Los resultados fueron los siguientes en los leucocitos el T6 1.58×10^3 U/L, hemoglobina en el T2 y T3 siendo la media 11,00 (g/dL), en los neutrófilos mayor nivel en el T2 55,00%, para los linfocitos en el T6 51,67%, eosinófilos en el T2, T4, T6 con la media de 1,67%, monocitos T3 con 3,33%, y basófilos T3 y T4 siendo la media de 1,33%.

A partir de los resultados obtenidos se encontró que el β -glucano en dieta mejora la respuesta de hemoglobina, perfil leucocitario, actividad fagocítica y la actividad antioxidante en juveniles de tilapia roja.

Palabras claves: Hemoglobina, leucocitos totales, neutrófilos, linfocitos, actividad fagocítica, actividad antioxidante

ABSTRACT

β -glucans are the most widely used immunostimulants in fish, which are generally based on structures of microorganisms that stimulate the innate immune system, helping the health of the animals and increasing the resistance of pathogens, survival and preparing the fish for critical situations. In this research, the immune response was evaluated in juvenile red tilapia (*Oreochromis mossambicus* x *O. niloticus*) with inclusion of β -glucan in the diet, the research was carried out in El Vergel in the Canton of Valencia. The variables to evaluate the hemoglobin concentration (g/dL), Quantify the content of total leukocytes (U/L), neutrophils, lymphocytes, eosinophils, monocytes, and basophils, estimate the phagocytic activity (%) and antioxidant activity, (SOD) U.mL⁻¹, for this randomized design (DCA), under controlled laboratory conditions over 55 days, for a total of 6 treatments (0, 1, 2, 3, 4 and 5% of β -glucan in diet) with 3 repetitions (plastic tanks), the doses were determined from results in other works carried out. A density of 15 fish / tank was used, which were placed in 18 tanks operated with 90 L water, for a total of 270 fish. The results were the following in the leukocytes the T6 1.58×10^3 U/L, hemoglobin in the T2 and T3 being the mean 11.00 (g/dL), in the neutrophils the highest level in the T2 55.00%, for the lymphocytes in T6 51.67%, eosinophils in T2, T4, T6 with the mean of 1.67%, monocytes T3 with 3.33%, and basophils T3 and T4 with the mean of 1.33%.

From the results obtained, it was found that β -glucan in the diet improves the hemoglobin response, leukocyte profile, phagocytic activity and antioxidant activity in juvenile red tilapia.

Key words: Hemoglobin, total leukocytes, neutrophils, lymphocytes, phagocytic activity, antioxidant activity

ÍNDICE DE CONTENIDO

Capítulo	Página
DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS	ii
CERTIFICADO DEL REPORTE DE HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO	iii
CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR	iv
AGRADECIMIENTOS	vi
DEDICATORIA	vii
CODIGO DE DUBLIN	xv
INTRODUCCIÓN	1
 CAPÍTULO I CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	
1.1. Problema de investigación.	4
1.1.1. Planteamiento del problema.	4
1.1.2. Formulación del problema.	4
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 FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN	
2.1. Marco conceptual.	9
2.1.1. β -glucanos	9
2.1.2. Hemoglobina	9
	x

2.1.3.	Leucocitos	9
2.1.4.	Neutrófilo	9
2.1.5.	Basófilos	9
2.2.	Marco referencial.	10
2.2.1.	La acuicultura en el mundo.	10
2.2.3.	La acuicultura en el Ecuador.	10
2.2.3.1.	Producción de Tilapia en Ecuador.	11
2.2.4.	Tilapia.	12
2.2.5.	Taxonomía.	13
2.2.6.	Morfología Externa.	13
2.2.6.	Morfología interna.	14
2.2.8.	Alimentación de tilapia.	15
2.2.8.1.	Tipos de alimentación.	16
2.2.9.	Patologías.	16
2.2.10.	Sistema inmune.	18
2.2.10.1.	Sistema inmune innato.	18
2.2.10.2.	Sistema inmune adaptativo.	19
2.2.11.	Factores causantes de afecciones, en el cultivo de tilapia.	20
2.2.12.	Inmunoestimulantes en la acuicultura.	22
2.2.13.	β -glucano.	23
2.2.13.1.	Estructura.	23
2.2.13.2.	Mecanismo de acción.	25
2.2.13.3.	β -glucano en la acuicultura.	25

CAPÍTULO III METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1.	Localización.	33
3.1.1.	Condiciones Agroclimáticas.	33
3.2.	Tipo de investigación.	33
3.3.	Métodos de investigación.	33
3.3.1.	Método inductivo.	33
3.3.2.	Método analítico.	34
3.4.	Fuente de recopilación de Información.	34
3.5.	Diseño de la investigación.	34
3.5.1.	Esquema de análisis de varianza.	34
3.6.	Instrumento de investigación.	35
3.6.1.	Formulación y elaboración de dietas experimentales	35
3.6.3.	Cultivo de peces	36
3.6.1.	Condiciones de cultivo de los peces.	36
3.6.2.	Obtención de las muestras de sangre.	37
3.6.3.	Variables a evaluar.	37
3.6.3.1.	Concentración de hemoglobina.	37
3.6.3.2.	Leucocitos.	38
3.6.3.3.	Recuento diferencial de leucositos.	38
3.6.3.4.	Antioxidantes enzimáticos.	38
3.6.3.5.	Actividad fagocítica.	39
3.7.	Tratamiento de los datos.	39
3.8.1.	Recursos humanos.	40
3.8.2.	Materiales e insumos.	40

CAPÍTULO IV RESULTADOS

4.1.	Hemoglobina (g/dL).	43
4.2.	Leucocitos.	44
4.3.	Neutrófilos.	45
4.4.	Linfocitos.	46
4.5.	Eosinófilos	46
4.6.	Monocitos.	47
4.7.	Basófilo.	47
4.8.	Actividad antioxidante.	49
4.9.	Actividad Fagocítica.	49

CAPÍTULO V CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1.	Conclusiones	52
5.2.	Recomendaciones	53

CAPÍTULO VI BIBLIOGRAFÍA

6.1.	Referencias bibliográficas.	55
------	-----------------------------	----

CAPÍTULO VII ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1:	Requerimientos Nutricionales De La Tilapia	16
Tabla 2:	Condiciones físico-químicas que afectan al cultivo de tilapia	17
Tabla 3:	Organismos responsables de patologías detectadas en cultivos de tilapia	21
Tabla 4:	Condiciones agroclimáticas	33
Tabla 5:	Esquema del análisis de Varianza (ANOVA)	34
Tabla 6:	Formulación y composición química de dietas experimentales con suplementación de β -glucanos.	35
Tabla 7:	Esquema de Tratamientos Experimentales.	40
Tabla 8	Resultados Citometria hematológica de serie blanca de los Leucocitos, Neutrofilos, Linfocitos, Eosinofilos, Monocitos, Bacilos en juveniles de tilapia roja (<i>Oreochromismossambicus</i> x <i>Oreochromis niloticus</i>) con la inclusión de β -glucano en dieta.	48

ÍNDICE DE FIGURA

Figura 1:	Morfología externa de la tilapia	14
Figura 2:	Morfología interna de la tilapia	15
Figura 3:	Estructura química del (1,3)- β -glucano con ramificaciones.	24

ÍNDICE DE GRAFICAS

Gráfica 1:	Resultados de la hemoglobina (g /dL) en respuesta inmune en juveniles de tilapia roja (<i>Oreochromis mossambicus</i> x <i>O. niloticus</i>) con inclusión de β -glucano en dieta.	43
Gráfica 2	Resultados de (SOD) U.mL-1 en respuesta de juveniles de tilapia roja (<i>Oreochromis mossambicus</i> x <i>O. niloticus</i>) con inclusión de β -glucano en dieta	49
Figura 3:	Resultados de fagocitosis (%) en juveniles de tilapia roja (<i>Oreochromis mossambicus</i> x <i>O. niloticus</i>) con inclusión de β -glucano en dieta.	50

CODIGO DE DUBLIN

Título:	MODULACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE EN JUVENILES DE TILAPIA ROJA (<i>Oreochromis mossambicus</i> x <i>O. niloticus</i>) CON INCLUSIÓN DE β -glucano EN DIETA
Autor:	Brandon Gustavo Andrade Aldean
Palabras clave:	Hemoglobina, leucocitos totales, neutrófilos, linfocitos, actividad fagocítica, actividad antioxidante
Fecha de Publicación:	
Editorial:	Quevedo: UTEQ, 2021
Resumen	Resumen: Los β-glucanos son los inmunoestimulantes más utilizados en peces que se basa generalmente es estructuras de microorganismos que estimulan el sistema inmune innato ayudando al estado sanitario de los animales e incremento a la resistencia de patógenos, supervivencia y preparar a los peces para situaciones críticas. En esta investigación, se evaluó la respuesta inmune en juveniles de tilapia roja (<i>Oreochromis mossambicus</i> x <i>O. niloticus</i>) con inclusión de β-glucano en dieta, la investigación se llevó a cabo en el Vergel en el Cantón Valencia. Las variables a evaluar la concentración de la hemoglobina (g/dL) , Cuantificar el contenido de leucocitos totales (U/L) , neutrófilos, linfocitos, eosinófilos, monocitos, y basófilos , estimar la actividad Fagocítica (%) y actividad antioxidante, (SOD) U.mL-1, para este diseño al azar (DCA), bajo condiciones controladas de laboratorio a lo largo de 55 días, para un total de 6 tratamientos (0, 1, 2, 3, 4 y 5% de β-glucano en dieta) con 3 repeticiones (tanques de plástico), las dosis fueron determinadas de resultados en otros trabajos realizados . Se empleó una densidad de 15 peces/tanque, los cuales se colocaron en 18 tanques operados con 90 L agua, para un total de 270 peces. Los resultados fueron los siguientes en los leucocitos el T6 1.58×10^3 U/L, hemoglobina en el T2 y T3 siendo la media 11,00 (g/dL), en los neutrófilos mayor nivel en el T2 55,00%, para los linfocitos en el T6 51,67%, eosinófilos en el T2, T4, T6 con la media de 1,67%, monocitos T3 con 3,33%, y basófilos T3 y T4 siendo la media de 1,33%. A partir de los resultados obtenidos se encontró que el β-glucano en dieta mejora la respuesta de hemoglobina, perfil leucocitario, actividad fagocítica y la actividad antioxidante en

juveniles de tilapia roja.

Abstract: β -glucans are the most widely used immunostimulants in fish, which are generally based on structures of microorganisms that stimulate the innate immune system, helping the health of the animals and increasing the resistance of pathogens, survival and preparing the fish for critical situations. In this research, the immune response was evaluated in juvenile red tilapia (*Oreochromis mossambicus* x *O. niloticus*) with inclusion of β -glucan in the diet, the research was carried out in El Vergel in the Canton of Valencia. The variables to evaluate the hemoglobin concentration (g /dL), Quantify the content of total leukocytes (U / L), neutrophils, lymphocytes, eosinophils, monocytes, and basophils, estimate the phagocytic activity (%) and antioxidant activity, (SOD) U.mL-1, for this randomized design (DCA), under controlled laboratory conditions over 55 days, for a total of 6 treatments (0, 1, 2, 3, 4 and 5% of β -glucan in diet) with 3 repetitions (plastic tanks), the doses were determined from results in other works carried out. A density of 15 fish / tank was used, which were placed in 18 tanks operated with 90 L water, for a total of 270 fish. The results were the following in the leukocytes the T6 1.58×10^3 U / L, hemoglobin in the T2 and T3 being the mean 11.00 (g/dL), in the neutrophils the highest level in the T2 55.00%, for the lymphocytes in T6 51.67%, eosinophils in T2, T4, T6 with the mean of 1.67%, monocytes T3 with 3.33%, and basophils T3 and T4 with the mean of 1.33%.
From the results obtained, it was found that β -glucan in the diet improves the hemoglobin response, leukocyte profile, phagocytic activity and antioxidant activity in juvenile red tilapia.

INTRODUCCIÓN

La acuicultura como actividad multidisciplinaria, constituye una empresa productiva que utiliza los conocimientos sobre biología, ingeniería y ecología, para ayudar a resolver el problema nutricional, y según la clase de organismos que se cultivan, (Saavedra, 2006) se ha dividido en varios tipos, siendo uno de los más desarrollados la piscicultura o cultivo de peces y dentro de éste, el pez más utilizado a nivel mundial es la tilapia.

En la actualidad, el concepto de alimento va ligado a su capacidad de mejorar el bienestar, no solo del pez, sino del medio que lo rodea (alimento funcional); en este caso el uso de probióticos como microorganismos vivos, dentro de la matriz alimentaria en acuicultura, se considera una alternativa importante debido a los resultados mostrados, (Chaves-Barrantes y Gutiérrez-Soto, 2016) cuando se administran en cantidades adecuadas podrían incrementar la viabilidad de los cultivos de peces y mejorar así su inmunidad, la resistencia a enfermedades y, de manera indirecta, su desempeño en las tasas de crecimiento.

La tilapia roja es un híbrido proveniente de líneas mejoradas partiendo de las cuatro especies más importantes del género *Oreochromis* (Morales-chaine, 2013); en la actualidad, la tilapia roja (*Oreochromis sp.*) es uno de los peces que más se cultiva en el mundo, (Chaves-Barrantes y Gutiérrez-Soto, 2016) además presenta condiciones favorables para experimentación por su docilidad y facilidad de manejo.

La alimentación es fundamental para la optimización del cultivo de tilapia roja, especialmente en la etapa de juveniles, por esta razón los productores hacen énfasis en la mejora de las dietas, estando en una búsqueda constante de nuevos aditivos alimenticios, (Del barco, 2020) productos y subproductos que incrementen el desarrollo de los peces y aumento de la tasa de supervivencia.

Muchos inmunoestimulantes son nutrientes habituales de la dieta como polisacáridos, lípidos o proteínas que suministrados en concentraciones superiores a las normales producirán efecto estimulante; (Ramos, 2014) las vitaminas y minerales pertenecen al grupo de inmunomoduladores; los de mayor uso son los de origen bacteriano, lipopolisacárido, oligodeoxinucleótidos, así como los β -glucanos de hongos y levaduras.

El consumo de β -glucanos se ha asociado con efectos beneficiosos para la salud en los seres humanos, se han descrito propiedades tales como efectos antitumorales, prevención del síndrome metabólico, efecto reductor del colesterol, efecto antiaterogénico y un efecto promotor de la salud de la piel; además, (Caruffo, *et al.*,2013) estudios tanto in vitro como in vivo en animales y humanos, muestran que los β -glucanos derivados de hongos y levaduras poseen propiedades inmunomoduladores; esta inmunoestimulación se puede lograr cuando los β -glucanos son administrados por una vía parenteral u oral (dieta)

CAPÍTULO I
CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Problema de investigación.

1.1.1. Planteamiento del problema.

Las patologías bacterianas, parásitas y virales son uno de los más importantes inconvenientes en la acuicultura que impiden aumentar la productividad y sustentabilidad de este sector. Tratando resolver esta problemática, han surgido diferentes tácticas como la suplementación de probióticos, prebióticos e inmunopotenciadores en la dieta para contribuir a aumentar la respuesta provechosa y minimizar la tasa de mortalidad de las especies en cultivo.

El β -glucanos es un inmunoestimulante, que puede potenciar los mecanismos de custodia celular, fomentar la resistencia contra patologías infecciosas, debido al crecimiento de la inmunidad humoral, además de excitar y mejorar la respuesta provechosa.

Diagnóstico.

La deficiencia de aplicaciones de inmunoestimulantes como el β -glucanos en dietas para peces, pudiera ser por la poca información disponible sobre su impacto sobre el sistema inmune de los peces y su aplicación como suplemento dietético, razón que motiva la averiguación.

Pronóstico.

La unión del β -glucanos en dietas peletizadas, pretende excitar la respuesta en el incremento, supervivencia e inmunología de juveniles de tilapia roja, siendo éste un plan para potenciar la respuesta hematológica.

1.1.2. Formulación del problema.

¿Cuál es el impacto de la inclusión del β -glucano en dietas peletizadas sobre la respuesta inmune en juveniles de tilapia roja (*Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis niloticus*)?

1.1.3. Sistematización del problema.

¿Cuál será la concentración de hemoglobina en juveniles de tilapia roja alimentados con β -glucanos en dieta?

¿Cuánto será el contenido de leucocitos totales, neutrófilos, linfocitos, eosinófilos, monocitos, y basófilos en juveniles de tilapia roja alimentados con β -glucanos en dieta?

¿Qué respuesta tendrá en la actividad fagocítica y actividad antioxidante en juveniles de tilapia roja alimentados con β -glucanos en dieta?

¿Cuál será el estado de estrés por hipoxia en juveniles de tilapia roja alimentados con β -glucanos en dieta?

1.2. Objetivos.

1.2.1. Objetivo general.

- Evaluar el efecto de β -glucanos en la alimentación de juveniles de tilapia roja (*Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis niloticus*) sobre la modulación de la respuesta inmune.

1.2.2. Objetivos específicos.

- Determinar la concentración de hemoglobina en juveniles de tilapia roja (*Oreochromis mossambicus* x *O. niloticus*) alimentados con β -glucanos en dieta.
- Cuantificar el contenido de leucocitos totales, neutrófilos, linfocitos, eosinófilos, monocitos, y basófilos en juveniles de tilapia roja (*Oreochromis mossambicus* x *O. niloticus*) alimentados con β -glucanos en dieta.
- Estimar la actividad fagocítica y actividad antioxidante (superóxido dismutasa y peroxidasa) en juveniles de tilapia roja (*Oreochromis mossambicus* x *O. niloticus*) alimentados con β -glucanos en dieta.

1.3. Justificación.

En todo el mundo, la producción acuícola pertenece a los sectores con más grande potencial para proveer de alimentos a la población, por esto, el interés de los piscicultores por optimizar la producción sin perjudicar a su economía, por tal fundamento, se necesita hacer hincapié en que la inversión es baja, además el cultivo de peces como la tilapia son de simple desempeño, desarrollo y en particular necesita de poco espacio físico.

La aplicación de β -glucano en la producción de peces no es una práctica común, gracias a la escasa información que existe, siendo un componente limitante. Esta clase de inmunoestimulantes fortalecen los mecanismos de custodia de los peces, al ser un elemento fundamental para la producción de anticuerpos naturales, promoviendo de esta forma una más grande resistencia a patologías, además de mejorar la estabilidad de la flora intestinal; favoreciendo la digestión y/o absorción de nutrientes. Por consiguiente, la suma de dichos componentes beneficia el desarrollo e incremento de la tilapia roja, al ser una especie con potencial de cultivo.

Existe escasa información respecto a la fisiología y comportamiento de esta especie ante inmunoestimulantes como el β -glucano; no obstante, este análisis constituye un punto de inicio para futuras investigaciones. La finalidad de la presente indagación, es difundir los efectos del β -glucano en las respuestas productivas y hematológicas de juveniles de tilapia roja, al ser alimentados con balanceado estimulante.

CAPÍTULO II

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. Marco conceptual.

2.1.1. β -glucanos

Los β -glucanos son polímeros de glucosa (polisacáridos) de elevado peso molecular presentes de manera natural en el muro celular de diversos organismos vivos. Organismos como bacterias, levaduras, hongos y plantas (principalmente cereales como cebada y avena) (Pizarro, *et al.*, 2014).

2.1.2. Hemoglobina

La hemoglobina (HB) es una proteína globular, que está presente en altas concentraciones en los glóbulos rojos y se encarga del transporte de O_2 del aparato respiratorio hacia los tejidos periféricos; y del transporte de CO_2 y protones (H^+) de los tejidos periféricos hasta los pulmones para ser excretados (Winslow, 2006).

2.1.3. Leucocitos

Los leucocitos son producidos por la médula ósea y están presentes en la sangre, la linfa, los órganos linfoides. Su nombre proviene de la centrifugación de muestras de sangre, lo que corresponde a los eritrocitos rojos, la capa de plasma transparente y la capa intermedia blanca con leucocitos (Pérez, 2019).

2.1.4. Neutrófilo

El neutrófilo es una célula implicada en el mantenimiento de la homeostasis del organismo, con un especial protagonismo en el control y eliminación de determinados microorganismos patógenos (Diz Dios, *et al.*, 2002).

2.1.5. Basófilos

Los basófilos constituyen una fracción minoritaria de leucocitos en sangre periférica (Sanz Larruga, *et al.*, 2003). El papel del basófilo como célula efectora en varios trastornos alérgicos no se conoce lo suficiente, aunque se sabe que aumenta en número y hace parte del infiltrado inflamatorio del tejido afectado (Sabogal-Cuadro y Zakzuk, 2018).

2.2. Marco referencial.

2.2.1. La acuicultura en el mundo.

A partir de los años 70 la producción acuícola ha crecido gradualmente contribuyendo a la estabilidad alimentaria mundial, y de la cual la tilapia es el segundo conjunto más relevante de peces en el campo mundial luego de las carpas chinas (Roja, *et al.*, 2011).

Estimaciones actuales de la FAO apuntan a que la producción mundial de comida tendrá que crecer un 70% de aquí a 2050 para afrontar al crecimiento poblacional, a los cambios en la dieta involucrados con los incrementos en la renta de las naciones y a la creciente urbanización y expansión de grandes metrópolis en las naciones en vías de desarrollo. En un mundo globalizado e interconectado, dichos cambios afectarán a todas las naciones de todo el mundo sin exclusión, aunque su población especial ni incrementa en tamaño, ni mejora sustancialmente su riqueza. Esta coyuntura se agravará con el calentamiento global, que supondrá alteraciones en los modelos productivos clásicos (Apromar, 2011).

Profesionales señalan que este fundamental incremento de la acuicultura en el planeta se debería -prácticamente- a la inquietud de la sociedad por la ingesta de alimentos, debido a que los productos acuícolas son ricos en proteína y aminoácidos a más de ser bajos en calorías (FAO, 2002).

En este rango sobresale el cultivo de tilapia, más que nada en las naciones en vías de desarrollo, este producto es una elección real a la optimización de la ingesta de alimentos y una opción rentable como de negocio por los bajos precios de producción y tiempo del periodo de cultivo (Pallares Rivera y Borbor Castillo, 2012)

2.2.3. La acuicultura en el Ecuador.

La acuicultura en el Ecuador se ha diversificado, el camarón es el producto primordial de esta actividad. Sin embargo, no es exclusivo. Una de las ocupaciones acuícolas que ha presentado un monumental incremento en los últimos años es el cultivo de la tilapia, incentivado en especial por la basta cantidad de hectáreas de estanques camaroneros que han sido dejados luego del brote del Síndrome de Taura, enfermedad que afectó cerca de 14 000 ha de cultivos en el sector de Taura en la Provincia del Guayas. Esta infraestructura

disponible facilitó la introducción del cultivo de la tilapia Roja como una elección en estas superficies, complementándose después con el policultivo Tilapia-Camarón desde 1995. En la actualidad hay alrededor de 2000 ha dedicadas al cultivo de tilapia (FAO, 2010).

Casi la integridad de la producción acuícola en el Ecuador es exportada, no hay un mercado que sea abastecido por esta actividad. Los diferentes destinos de exportación son La Unión Europea con el 38% del volumen total, seguido estadounidense con 34% y Asia con un 24 %. Los más grandes consumidores en el continente europeo son España, Francia e Italia en lo que en los países Asiáticos está Vietnam, China y Corea del Sur (Suplicy, 2003).

Todo el perfil costanero de esta provincia goza de una exuberante riqueza ictiológica y condiciones ideales para el cultivo de especies bioacuáticas, en especial la producción idónea y sostenible de larvas y post-larvas de especies acuícolas. En la provincia de Los Ríos, la pesca de especies acuícolas en las ciudades de Babahoyo, Quevedo y Vinces fue una actividad ancestral y actualmente cuenta con un estimado de más de 500 pescadores (ESPAE, 2018).

En medio de las variedades de la tilapia, Ecuador exporta la tilapia roja, un tetrahíbrido resultante del cruce entre 4 especies del género *Oreochromis*. *O. mossambicus* (Mozambica), *O. niloticus* (Nilótico), *O. hornorum* y *O. aureus* (Aurea) (Calvopiña Andrea, 2012).

2.2.3.1. Producción de Tilapia en Ecuador.

En la actualidad el Ecuador ha mejorado su infraestructura piscícola al contar con una tecnología acuícola altamente eficaz, lo cual le permitió en los últimos años realizarse de forma exitosa (El Universo, 2020).

La tilapia es cultivada sobre todo en estanques terrestres de forma semi intensiva El Ministerio de Acuacultura y Pesca sugiere que se cultiva en su mayoría en las provincias de la Costa (Guayas, Los Ríos, Santo Domingo de los Tsáchilas) y Amazonía (Sucumbíos, Pastaza, Napo y Zamora Chinchipe). Además, también se lo observa en la Sierra (Cotopaxi, Bolívar, Loja y Azuay), en sectores donde el clima lo posibilita (El Universo, 2020).

La exportación de tilapia congelada cayó en 24,50%, en el 2011 con respecto al 2010 al bajar de \$ 7,51 millones a \$ 5,67 millones, según los datos del Servicio Nacional de Aduana del

Ecuador. José Campusano, mandatario de la Cámara Nacional de Acuicultura, explicó que uno de los componentes que incidieron en la reducción de exportación del producto es la más grande colocación de tilapia asiática en el mercado universal y que tiene un costo más bajo, lo cual supone que en la actualidad nuestro estado ocupa el segundo puesto como proveedor de los EE UU (EL Universo, 2012).

2.2.4. Tilapia.

La clase de tilapia roja (*Oreochromis sp.*) es producto de la hibridación inespecífica, adquirió un costo decente en la producción acuícola por sus propiedades más resaltantes como: veloz desarrollo, resistencia a las patologías, aguante a densidades altas de siembra, carne con buena acogida en el mercado, más grande probabilidad de desarrollar híbridos para mejorar la especie con las propiedades más deseadas para los productores (Pérez, *et al.*, 2004).

Tilapia es el nombre común con el cual se conocen a distintas especies de los géneros *Oreochromis* y *Tilapia*. Por sus propiedades y adaptabilidad, a inicios del siglo XIX empezaron las indagaciones para usarlas en la piscicultura rural, en especial en el Congo Belga (actualmente Zaire). Desde el año 1924, se intensificó su cultivo en Kenia, no obstante, ha sido en el Extremo Oriente, en Malasia en donde se obtuvieron los mejores resultados, por lo cual se comenzó un cultivo progresivo en diferentes partes del mundo (Baltazar, 2007).

Son peces de aguas cálidas, que viven tanto en agua dulce como salada e incluso pueden acostumbrarse a aguas poco oxigenadas. Se encuentra distribuida como especie exótica por América Central, sur del Caribe, sur de Norteamérica y el sureste asiático. Considerado hace tiempo como un pez de bajo valor comercial, hoy su consumo, precio y perspectivas futuras han aumentado significativamente (Baltazar, 2007).

La tilapia es uno de los géneros más apropiados para la acuicultura por su enorme resistencia física, veloz incremento, resistencia a patologías, alta productividad, tolerancia a condiciones de alta densidad, capacidad para sobrevivir a bajas concentraciones de oxígeno, extenso rango de salinidad y su capacidad de nutrirse desde una gigantesca gama de alimentos naturales y artificiales (Yuniel Méndez, *et al.*, 2018). Factores que la han llevado a ser considerada como “la gallina del agua”. La tilapia roja es de color naranja tiene una aleta dorsal con 16 espinas duras y 12 a 13 suaves, una aleta anal con 3 espinas duras y 10

suaves más de 29 a 31 escamas durante la línea lateral; 5 escamas arriba y 12 abajo de la línea lateral (Verdezoto, 2017).

2.2.5. Taxonomía.

De acuerdo con Berg y modificado por Trewavas, la tilapia se clasifica de la siguiente manera (Rodríguez, Alemán, 2002).

Phylum:	Vertebrata.
Sub Phylum:	Craneata.
Superclase:	Gnostomata.
Serie:	Pises.
Clase:	Actinopterygii.
Orden:	Perciformes.
Suborden:	Pericoidae.
Familia:	Cichlidae.
Género:	Tilapía
	<i>Oreochromis.</i>
	<i>Oreochromis nilotica.</i>
Especie:	<i>Oreochromis mossambica.</i>
	<i>Oreochromis melanopleura</i>

2.2.6. Morfología Externa.

Las tilapias, muestran cuerpo humano robusto, comprimido lateralmente; en varias especies los machos muestran la cabeza más grande que la hembra, boca protráctil ancha con los labios carnosos y gruesos, dientes tipo cónico y a veces incisivos, escamas de tipo ctenoideo: La parte anterior de las aletas dorsal y anal es corta, muestran espinas y radios. Poseen una línea lateral interrumpida en 2 piezas; la parte anterior superior, se alarga a partir del opérculo hasta los últimos radios de la aleta dorsal, la subsiguiente está por debajo de donde acaba la

línea lateral superior hasta el desenlace de la aleta caudal, tiene un solo orificio nasal a cada lado de la cabeza, como se aprecia Figura #1 (FAO, 2009):

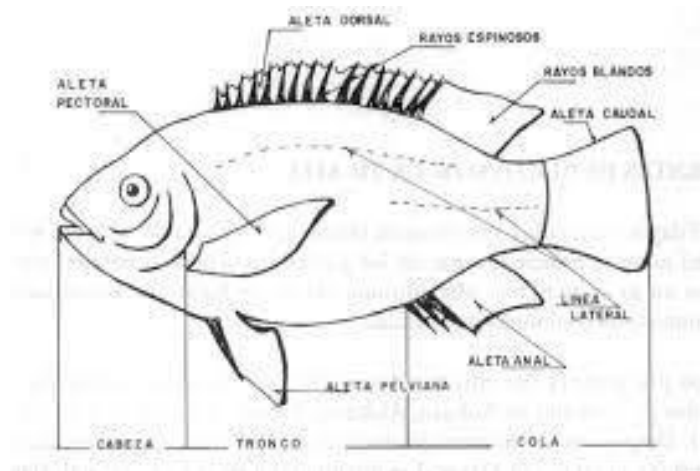


Figura 1. Morfología externa de la tilapia

Fuente: Verdezoto 2017

2.2.6. Morfología interna.

El sistema digestivo en la Tilapia, se inicia en la boca, que muestra en su interior, dientes mandibulares que tienen la posibilidad de ser uni cúspides, bicúspides y tricúspides según las diferentes especies, continúa en el esófago hasta el estómago, el intestino es de manera de tubo hueco y redondo que se adelgaza luego del píloro. El intestino mide 7 veces más que la longitud total corporal. Asociado con un tracto gastrointestinal, muestra 2 glándulas bastante relevantes, siendo una de ellas el hígado, que es un órgano grande en tamaño y de manera alargada. En su parte superior y sujeta a éste, se enseña una composición pequeña y redonda de coloración verdosa llamada vesícula biliar, la cual se comunica con el intestino por un diminuto y pequeño tubo, el cual obtiene el nombre de conducto biliar (Patiño, 2013).

El sistema reproductor se diferencia por la parte externa, el cual se fundamenta en que el macho enseña 2 agujeros bajo el abdomen: el ano y el orificio urogenital, mientras tanto que la hembra tiene 3: el ano, el poro genital y el orificio urinario. El ano está constantemente visible; es un agujero redondo. El orificio urogenital del macho es un diminuto punto. El orificio urinario de la hembra es microscópico, apenas visible a primera vista, en lo que el poro genital está en una hendidura perpendicular al eje del cuerpo (Pérez M, *et al.*, 2015).

El esqueleto de la Tilapia, se enseña del todo clasificado, con una columna vertebral bien definida, a lo extenso con espinas en las 3 cuartas, hasta su terminación en unos huesecillos denominados hipurales, en donde se forma la aleta cauda como, se puede apreciar en la Figura #2 (Morales Díaz, 2003).

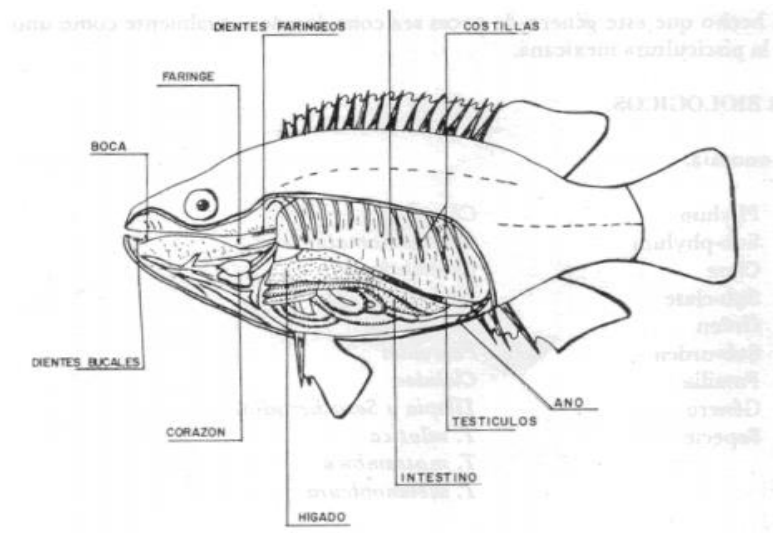


Figura 2. Morfología interna de la tilapia.

Fuente: Verdezoto 2017

2.2.8. Alimentación de tilapia.

La alimentación de la cosecha de peces es de vital importancia para su adecuado desarrollo y crecimiento, en el cual es necesario alimentos que estén compuestos por minerales, vitaminas, energía, carbohidratos, proteína; el alimento puede ser natural o artificial en cuanto sea adecuada en cantidad y calidad (Mendiola, *et al.* 2018).

La tilapia es una especie herbívora prefieren las plantas y pueden consumir todas las que no sean beneficiosas en los estanques. Se debe tener mayor cuidado con la alimentación conviene evitar el exceso del alimento para no contaminar el agua (Mendiola, *et al.* 2018).

Larvas y alevinos: 15% o 20% del peso vivo, durante 4 a seis veces al día; Levante: 3% o 5% del peso vivo dos o tres veces al día; Engorde: 1% del peso vivo una o dos veces al día como se indica en la Tabla #1 (Mendiola, *et al.* 2018).

Tabla 1.Requerimientos Nutricionales De La Tilapia

Estado	Proteína (%)	Lípidos (%)	Carbohidratos (%)
Alevinos	35-50	10	<25
Levante	25-35	6-8	25-30
Engorde	30-32	6-8	25-30

Fuente: Mendiola, *et al.* 2018.

2.2.8.1. Tipos de alimentación.

El alimento que se otorga a los peces en medios acuáticos controlados está estrechamente relacionado con sus necesidades fisiológicas, por lo tanto, se han ajustado a los mecanismos digestivos de las especies (Sol 90, 2014).

Entre los Tipos de alimentos usados en la acuicultura según su origen poseemos

- **Alimento natural:** Sustancias generadas en el medio en donde viven los peces, en donde la colaboración de las personas es poco o nula (Sol 90, 2014).
- **Alimento elaborado:** Los principios de los nutrientes es externo con interacción al medio e interviene activamente el ser humano para su fabricación (Sol 90, 2014).

Los organismos vivos son el alimento natural de los peces, ejemplo de eso son el fitoplancton o plantas microscópicas, zooplancton o animales microscópicos e insectos dichos en su hábitat natural, para la cría de peces la ingesta de alimentos cambia debido a que tienen la posibilidad de usar alimentos suplementarios, ciertos ejemplos son raciones comerciales o concentrados para pollos y cerdos, salvado de arroz, desperdicios de cocina (no procesados) y desperdicios agrícolas. No obstante, el alimento suplementario no es nutricionalmente completo y no dejará un óptimo aumento a la tilapia si el alimento natural está plenamente ausente (Carpio y Fernández, 2019).

2.2.9. Patologías.

Para el éxito en las explotaciones de tilapia, como en cualquier otra producción zootécnica, resulta de importante trascendencia, tener conocimiento de las patologías que pueden perjudicar a lo largo del lapso importante de los organismos, o condiciones fisicoquímicas

que fomentan su aparición y de los procedimientos aplicables para prevenir su aparición y/o mitigar sus efectos, como se menciona en la tabla # 2 (Gonzabay, 2007).

Tabla 2. Condiciones físico-químicas que afectan al cultivo de tilapia

Tipo de factor	Factor	Consecuencias
Factores Físicos	Temperatura	Altas variaciones incrementan la susceptibilidad a las patologías
	Luminosidad	La luz desmesurada puede provocar quemaduras en el dorso
Factores Químicos	Gases disueltos	El exceso de nitrógeno puede ocasionar “burbujas de gas”
	Contaminantes	Pesticidas, metales pesados y residuos tienen la posibilidad de alterar el metabolismo.
	Amonio y nitritos	Poseen efectos altamente tóxicos
	Sólidos en suspensión	Causan perjuicios en las branquias y tienen la posibilidad de llegar a conformar una cinta que tapiza los muros de los huevos e impide el trueque gaseoso. Tienen la posibilidad de ejercer como sustrato para hongos
	Nutrición	Condiciona el aumento y usual desarrollo del ejemplar
Factores Biológicos	Microorganismos	Tienen la posibilidad de crear distintas enfermedades
	Algas Animales acuáticos	Trabajan como fuente de toxinas Ciertos moluscos tienen la posibilidad de ejercer de huéspedes intermediarios de parásitos y transformarse en focos de infección

Fuente: Gonzabay 2007

Uno de los inconvenientes que presenta el cultivo de tilapia es la aparición de enfermedades en edades tempranas (larvas y juveniles) causadas por hongos, parásitos, crustáceos, y un gran número de bacterias, por lo cual se ve afectado el desarrollo y aumento del pez (Conroy, 2004).

La erradicación de un patógeno primordialmente implica el despoblamiento, la esterilización y la repoblación del área; no obstante, aun llevando a cabo el segundo paso, el de la esterilización, nunca se conocerá si se eliminaron por completo los patógenos (Conroy, 2004).

2.2.10. Sistema inmune.

La funcionalidad fundamental del sistema inmune en todos los vertebrados es la defensa contra las infecciones, este sistema permite la sobrevivencia del individuo y mantener sus funciones corporales en un medio que por naturaleza le es hostil (Olabuenaga, 2000). El crecimiento acelerado de la producción y el aumento consecuente de las enfermedades infecciosas, muchas de ellas causadas por bacterias rigurosa de soluciones viables encaminadas a minimizar los efectos causadas por las patologías, a ofrecer al consumidor un producto limpio, a minimizar las formas de resistencia bacteriana y a mitigar el efecto de la producción sobre los sistemas ecológicos (FAO, 2006).

La respuesta inmune de los peces principalmente está bien desarrollada e integrada, y en los Teleósteos es donde se encuentran muchas similitudes funcionales con la respuesta vista en los vertebrados superiores; habitualmente funciona con eficiencia, aunque como cualquier otro sistema fisiológico, el sistema inmune de un individuo se ve afectado cuando el estado de salud es deficiente. En términos de una población, cuando las condiciones del medio son adversas, aumentan los riesgos de una infección y se pone en peligro la salud de todo el conjunto de ejemplares. Hay una serie de elementos que influyen en el desarrollo de una buena respuesta, y en algunas ocasiones la deprimen de manera significativa (Ferguson, 2006).

2.2.10.1. Sistema inmune innato.

La inmunidad innata es la primera línea de defensa contra las infecciones en todos los vertebrados. En los peces el epitelio intacto y el mucus conforman la primera línea de defensa

contra patógenos como parásitos, bacterias, hongos y virus. El mucus tiene carbohidratos, péptidos antimicrobianos (defensinas) y proteínas, principalmente mucina, precipitinas, aglutininas, proteína C reactiva y lisozima, las cuales componen una barrera de defensa química primaria (Fernández, *et al.*, 2016).

Los eosinófilos y basófilos participan de forma importante en la protección antiparasitaria y en la inflamación que se amplifica cuando vierten el contenido de sus gránulos citoplasmáticos al medio extracelular. En los peces las citocinas participan además en los procesos inflamatorios, entre las citocinas proinflamatorias que se liberan como consecuencia del mal en las barreras membranales en peces se han descrito IL-1, IL-6, elemento de necrosis tumoral α (TNF α), además se han identificado citocinas antiinflamatorias como la IL-10, y una parecida IL-4, su funcionalidad caracteriza la respuesta de linfocitos cooperadores de tipo 2 (Th2) en mamíferos (Vega, *et al.*, 2010).

La existencia de la actividad de la lisozima fue bien documentada en algunas especies de peces, está presente en plasma, moco de la piel, órganos y hueso de peces. En la trucha arcoíris y el lenguado *Paralichthys olivaceus*, el gen de la lisozima es transcrito en diferentes órganos y fue reconocido en el riñón e hígado (Guzmán, 2014).

Un elemento humoral importante de la inmunidad connatural de los peces, es el sistema del complemento, el cual puede activarse por 3 vías. Además, tienen células similares a las células citotóxicas naturales (NK) y otras citotóxicas en mamíferos (Soregui, 2019).

2.2.10.2. Sistema inmune adaptativo.

La segunda línea de custodia es la inmunidad adaptativa; aun cuando los peces no poseen médula ósea o nodos linfoides, el timo, el riñón y el bazo asumen este papel. La inmunidad adaptativa podría ser dividida en celular y humoral, y es dependiente en monumental medida de linfocitos T y B respectivamente (Ruiz, *et al.*, 2003).

Semejante a como pasa en los mamíferos, la inmunidad humoral adaptativa en peces implica el reconocimiento y alianza de antígenos solubles circulantes a células B diferenciadas en células de memoria y células plasmáticas que responden para crear y segregar anticuerpos antígeno-específicos. De esta forma además, la inmunidad adaptativa mediada por células implica el reconocimiento de antígenos por las células T expuestos en el área de las células

presentadoras de antígenos en sociedad con moléculas del complejo más grande de histocompatibilidad (MHC), que inducen la activación de linfocitos T citotóxicos (LTC, CD8+), células T cooperadoras (LTA, CD4+) secretoras de citocinas y células supresoras (Ruiz, *et al.*, 2003).

Los peces son capaces de crear diferentes inmunoglobulinas (Ig), como por ejemplo la IgM, que puede aparecer como tetrámeros en teleósteos o como pentámeros o monómeros en peces cartilaginosos; permanecen compuestas por cadenas polipeptídicas pesadas y ligeras de enorme heterogeneidad (Ruiz *et al.*, 2003). Además, se ha reconocido la IgD (Wilson *et al.*, 2001), IgT en trucha (Hansen, Landis, y Phillips, 2005), IgZ en pez cebra y la IgH en pez globo (Danilova, *et al.*, 2005).

2.2.11. Factores causantes de afecciones, en el cultivo de tilapia.

El estado nutricional perjudica el sistema inmunológico de los peces; las deficiencias de las vitaminas C y E Alteran el manejo de los macrófagos y el complemento; los desbalances de ácidos grasos tienen la posibilidad de alterar la fagocitosis básicamente por modificaciones de las características de la membrana celular de leucocitos y reducir marcadamente el microbiota del intestino y paralelamente la resistencia a la integración y translocación bacteriana (Ringø *et al.*, 2001).

En las enfermedades los peces pueden presentar disminución en el consumo de alimento aumento en la mortandad entre otros. En caso de una mortandad masiva podría sospechar problemas con la calidad del agua o agentes infecciosos altamente virulentos, mientras las muertes en número reducido e intermitente complican más establecer sus causas, pudiendo tratarse de agentes infecciosos menos virulentos Los cuidados higiénicos que se realicen en el manejo de los estanques y durante la manipulación de los animales son primordiales para considerar un probable origen de los problemas de salud del pez (Ringø *et al.*, 2001).

En los patógenos de la tilapia ver tabla # 3, cobran particular trascendencia las bacterias oportunistas, que proliferan una vez que los peces no permanecen en buenas condiciones, la calidad del agua, no es la idónea o la dieta es deficiente. De esta forma, las bacterias oportunistas por excelencia de la tilapia, pertenecen al género *Streptococcus* y son capaces de ocasionar mortandades del 10 – 15

Tabla 3. Organismos responsables de patologías detectadas en cultivos de tilapia

Grupo	Especie	Efectos
Protozoos	<i>Ichthyophthirius</i>	Causa Mancha Blanca se lleva a cabo entre 4 °C a 20 °C. Están afectando a la piel y branquias.no frecuente conducir al deceso. Habituales en tilapia silvestres.
	<i>Multifilis</i>	
	<i>Trichodina</i>	
Helmintos	<i>Cichlidogyrus sp.</i>	No perjudica al aumento,habituales tras lesiones por manipulación,eneran úlceras y
	<i>Dactylogyrus sp.</i>	lesiones en branquias, se enquistas en músculos y pericardio
Crustáceos (copépodos)	<i>Argulus sp.</i>	Se introducen en las capas más profundas de la piel y musculatura ocasionando úlceras que impiden la venta del pez.
	<i>Ergasilus sp.</i>	
Hongos	<i>Saprolegnia</i>	Generan patologías de la piel, branquias, hígado, corazón y otros órganos que se infectan por medio de la corriente de sangre. Tienen la posibilidad de provocar el deceso por anoxia
	<i>Branchiomyces</i>	
Bacterias.	<i>Aeromonas sp.</i>	Generan patologías como septicemias hemorrágicas bacterianas, patología bacteriana del riñón, vibriosis, patología del pedúnculo caudal, patología bacteriana de las branquias.
	<i>Pseudomonas sp.</i>	
	<i>Corynebacterium sp.</i>	

Fuente: Alamilla 2003

2.2.12. Inmunoestimulantes en la acuicultura.

Éstos fueron descritos como sustancias de variados inicios que poseen la función de regular o cambiar la contestación inmune. Además, son identificados como Inmunomoduladores o Inmunopotenciadores (García, *et al.*, 2009) Suelen describirse como elementos naturales que modulan el sistema inmune, reflejándose en un aumento de la resistencia del sujeto contra ciertas patologías.

No obstante, compuestos sintético fueron categorizados por otros autores como “IE”. Se define a los “IE” como extractos biológicos y químicos sintéticos los cuales producen una contestación inmune, por medio del mejoramiento de la actividad fagocítica, aumento de la actividad bactericida y producción de anticuerpos. Paralelamente, plantea que porciones supraóptimas de IE podrían crear una eliminación del sistema inmune (Sánchez, *et al.*, 2007).

En este sentido, los polifenoles presentes en frutas, verduras, legumbres, cereales y bebidas, como el té verde y el vino tinto, presentan características inmunoestimulantes y antioxidantes (Bulfon, Volpatti, y Galeotti, 2015) estas últimas en relación de manera directa con características antiestrés (Chakraborty y Hancz, 2011) La implementación de vegetales, como fuentes de polifenoles en la dieta, puede minimizar el estrés y mejorar el sistema inmune connatural tanto de peces omnívoros, herbívoros (Harikrishnan, *et al.*, 2012)

La utilización de inmunoestimulantes en peces es una elección eficaz para la estimulación del sistema inmune connatural para la custodia contra patologías infecciosas ya sean víricas, parasitarias o bacterianas. Un inmunoestimulante es definido como una sustancia química o biológica que ayuda al reclutamiento no específico de elementos del sistema inmune (Tafalla, *et al.*, 2013).

Los vegetales tienen dentro diferentes tipos de polifenoles con actividad inmunoestimuladora, por lo cual se estudia la utilización de diferentes fuentes para el control de patologías y robustecer el sistema inmune innato (Nootash *et al.*, 2013). Aun cuando los alimentos para acuicultura dan los nutrientes necesarios para el desarrollo de los organismos, la integración de los polifenoles como compuestos bioactivos, le confieren una función dirigida a la salud animal, con un tejido de mejor calidad nutricional y un más grande contenido endógeno de antioxidantes, combatiendo el estrés oxidativo y mejorando el sistema inmune connatural (Shin, *et al.*, 2010) Polifenoles como la epigallocatequina y la

quercetina, poseen la capacidad tanto de combatir el estrés oxidativo como de modular la contestación inmune innato (Thawonsuwan, *et al.*, 2010).

2.2.13. β -glucano.

Los betaglucanatos son moléculas especialmente polisacáridos que se hallan en una diversidad de sustancias, en particular las setas, las levaduras del pan, la avena y la cebada (J. Robert, *et al.*, 2003), una porción significativa de averiguación sobre inmunomoduladores se ha centrado en beta-glucanos, una clase de polisacárido compuesta de cadenas de moléculas de glucosa conectadas a enlaces glicosídicos. Los Beta-glucanos se hallan en toda la naturaleza en distintas maneras, que difieren en el tipo de vínculos que tienen dentro y su composición química (Ding *et al.*, 2019).

En la actualidad, los β -glucanos se hallan más habitualmente en la levadura, los cereales ejemplificando. Las más inmunológicamente activas composiciones de β -glucano tienen dentro beta-(1,3)-D-glucano columna vertebral, que es identificado por el sistema inmune de los organismos mejores, debido a que se asocia típicamente con el área microorganismos de patógeno (Ding *et al.*, 2019).

El valor de los β -glucanos, más precisamente de los extraídos de la cebada, viene dado por sus efectos beneficiosos para la salud, como corroboran la FDA, la EFSA y varios estudios científicos. Además, uno de sus puntos de vista fuertes, es que tienen la posibilidad de ser usados para reemplazar al gluten en la preparación de productos de panadería aptos para celíacos (Rivero Hernández, 2011), promoviendo el incremento de animales acuáticos y confiriendo custodia contra organismos patógenos (Ding *et al.*, 2019).

2.2.13.1. Estructura.

Los β -glucanos son polisacáridos no celulósicos constituidos por unidades de glucosa, presentes en cereales como la cebada y la avena, levaduras, hongos, varias bacterias y algas marinas (Elizaquível *et al.*, 2011) Al no ser degradables por enzimas humanas conforman un tipo de fibra dietética (Zeković, *et al.*, 2005) .El β -glucano fúngico más reconocido es el lentinan, un anticancerígeno y antibiótico aislado de *Lentinula edodes* (Shiitake); a medida que en el género *Pleurotus* predomina el pleurán (β -1,3 glucano), pese a que el primero en

reportarse fuese el HA por Yoshioka, Tabeta, Saitô, Uehara y Fukuoka (1985) (Bohn y BeMiller, 1995).

Aseguran (Zeković *et al.*, 2005) que los β -glucanos fúngicos se componen de una cadena primordial de residuos de glucosa ligados por enlaces glucosídicos β -(1,3) con aspectos de ramificación β -(1 $\rightarrow$ 6), tal y como se explica en la figura 3 (Bohn y BeMiller, 1995). Se encontraron que en *P. tuberregium* los β -glucanos se hallan formados por enlaces glucosídicos β -(1,4) en la columna vertebral y β -(1,6) en las cadenas laterales, sin embargo tienen la posibilidad de contener enlaces β -(1,3) tanto en las cadenas primarias como en las secundarias

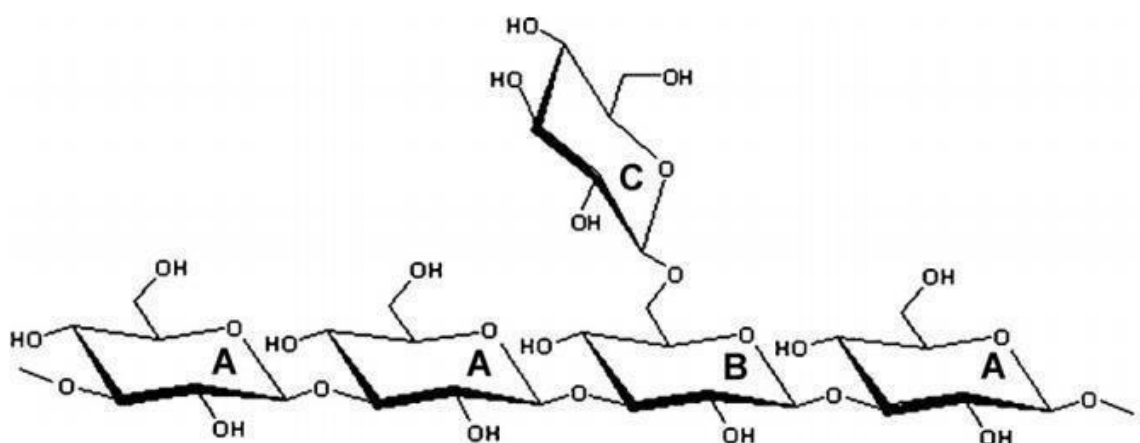


Figura 3. Estructura química del (1,3)- β -glucano con ramificaciones

Junto con la quitina, los β -glucanos conforman los primordiales elementos del muro celular de las células fúngicas (aproximadamente el 50% corresponde a β glucanos) actuando como polisacáridos estructurales, aún cuando tienen la posibilidad de ser excretados al medio.

Permanecen juntos entre sí por enlaces de Nitrógeno en la capa intermedia del muro celular y en ocasiones forman complicados con la quitina en la capa interna. Tienen un elevado grado de eficiencia biológica, o sea, que poseen la destreza de inducir la activación de los leucocitos para impulsar la contestación del sistema inmunitario, y aumentar el número de linfocitos que protegen el organismo contra actitudes alérgicas. Además, participan en el metabolismo de grasas del cuerpo, conllevando a el decrecimiento del colesterol total; y muestran actividad inmunomoduladora, anticancerígena, antimicrobiana (antibiótica, antiviral), hipocolesterolémica, hipoglucémica, antiinflamatoria y analgésica (Rop, *et al.*, 2009)

2.2.13.2. Mecanismo de acción.

- Excitar a los macrófagos en su capacidad fagocítica y en la devastación de antígenos invasores.
- Aumentar la movilización de las células del sistema de custodia hacia las regiones dañadas.
- Excitar la liberación de citoquinas que controlan y potencian la contestación inmune, como son la (Chen, *et al.*, 2014):
 - a. IL-1 (Interleuquina-1): sintetizada por los macrófagos, se ocupa de la activación linfocitaria, y por consiguiente de potenciar la contestación inmune específica.
 - b. IL-2 (Interleuquina-2): sintetizada por los linfocitos T, induce la proliferación de las células T y co-estimula la proliferación y diferenciación de los linfocitos B.
 - c. IL-4 (Interleuquina-4): sintetizada por los linfocitos T, induce la proliferación de las células hematopoyéticas pluripotenciales y la activación de los linfocitos B.
 - d. IFN-gamma (Interferón gamma): sintetizado por los linfocitos, potencia la capacidad fagocítica de los macrófagos.

2.2.13.3. β -glucano en la acuicultura.

Los β -glucanos de levaduras fueron usados en la acuicultura para modular el sistema inmune congénito de los peces, con el propósito de mejorar su supervivencia en los primeros estadios de desarrollo, hasta que su contestación inmune adaptativa esté lo suficientemente elaborada como para montar una contestación eficiente contra patógenos. Si los β -glucanos son administrados como aditivos en la dieta, éstos son capaces de ejercer su contestación primaria a grado intestinal por medio de la expresión de citoquinas, que paralelamente modulan la contestación inmune-sistémica de los peces (Caruffo, *et al.*, 2013).

Diferentes fuentes de β -glucanos fueron evaluadas, aun cuando las más comunes son las conseguidas desde la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Diferentes estudios han validado

la utilización de β -glucanos, así sea in vitro como in vivo como moduladores de la contestación inmune en distintas especies de peces. Las respuestas fueron distintas y entienden la producción de anticuerpos, la expresión de genes del sistema inmune, supervivencia, mejor tolerancia al estrés y resistencia a las patologías infecciosas. Además, se ha visto que optimiza el incremento de los peces, incrementando los índices productivos (Pizarro *et al.*, 2014).

Peces inoculados intraperitonealmente con β -glucanos de *S. cerevisiae* y como resultado de la estimulación de su sistema inmune, reducen significativamente su mortalidad frente al reto con el patógeno *Aeromonas hydrophila*, demostrando inclusive una contestación dosis dependiente frente al uso de los β -glucanos (Vásquez, *et al.*, 2012).

La utilización de los β -glucanos, como inmunoestimulantes ha recibido más grande atención, ya que su composición molecular es reconocida y puede unirse a receptores tipo Toll like (TLRs), los cuales liberan moléculas que trabajan como señales de riesgo, activando diferentes respuestas inmunológicas relacionadas a la existencia de patógenos. No obstante, todavía hay muchas preguntas sobre los mecanismos por los cuales los β -glucanos tienen la posibilidad de prevenir o minimizar las infecciones (Dalmo y Børgwald, 2008).

Los PAMPs inician la contestación inflamatoria. Interesantemente la mayor parte de los PAMPs estudiados activan las células presentadoras de antígenos junto con las células T naïve en las células dendríticas y las células T cooperadoras (O'Hagan, *et al.*, 2001).

A lo largo del rompimiento y degradación microbiana, el número de PAMPs liberados tienen la posibilidad de empezar la contestación inflamatoria por la alianza de receptores y la activación intracelular de la transducción de señales y los componentes de transcripción. La precisa estructura de las señales de riesgo liberadas puede ser decisiva en la transcripción de los genes llevando a la síntesis y liberación de citocinas proinflamatorias (O'Hagan *et al.*, 2001). Los inmunoestimulantes fueron utilizados como aditivos en los alimentos por diversos años en acuicultura y el β -glucano de levaduras podría ser uno de los más extensamente reportados (Bricknell y Dalmo, 2005).

En peces, se demostró que el impacto de los β -glucanos cambia con la especie de análisis, y es dependiente de la porción integrada en la dieta, la duración en la ingesta de alimentos y temperatura ambiental. Los β -glucanos solubles tienen la posibilidad de ser absorbidos por

el intestino y por consiguiente ser nutritivos. Se demostró su impacto en: inmunoestimulación de peces sanos, inmunoestimulación en peces inmunocomprometidos, inmunoestimulación por inyección (así como su impacto adyuvante), estimulación de la inmunidad adaptativa y su impacto al lado de vacunas (Kunttu, *et al.*, 2009).

Los β -glucanos, poseen el potencial de aumentar las tasas de supervivencia de peces, por lo menos al ser utilizado como medida profiláctica. Dietas con suplementos de β -glucanos son una alternativa interesante para mejorar la actividad defensiva y por consiguiente la resistencia a patologías, y su uso como adyuvante. Uno de los puntos prometedores es su potencial para activar las células Th17 de los peces, que da un crecimiento en la resistencia a patologías de la mucosa (Dalmo y Børgwald, 2008).

Efecto de la suplementación en dieta de la inulina, el β glucano y el quitosano sobre la capacidad digestiva y la inmunidad no específica de la totoaba *Totoaba macdonaldi*

En su trabajo de investigación evaluó el efecto de tres prebióticos: la inulina, el β -glucano y el quitosano sobre el crecimiento, la capacidad digestiva y la actividad inmune no específica de la totoaba, en la cual elaboro cuatro dietas isoproteicas e isolipídicas a tres y le adiciono un prebiótico (inulina 1%, β -glucano 0.1% y quitosano 0.5%) y una sin prebiótico. Cada tratamiento se evaluó por triplicado y para ello se colocaron 15 juveniles en cada tanque con un peso promedio de 58.8 ± 3.5 g. Estos organismos fueron alimentados dos veces al día, a saciedad aparente durante un periodo de 56 días. En la composición proximal del musculo se obtuvieron diferencias significativas en el porcentaje de cenizas, las cuales tuvieron un aumento en el tratamiento con β -glucano (Enciso Contreras, 2016).

Actividad de la superóxido dismutasa en tejidos de langostinos de río cauque (*Macrobrachium americanum* Bate, 1868) alimentados con diferentes niveles de proteínas y lípidos.

Su trabajo fue de reducir el uso de antibióticos, potenciar la respuesta bioquímica e inmune, lo cual contribuye a mejorar rendimientos productivos y disminuir las pérdidas económicas, al igual que también evaluó la respuesta bioquímica e inmune en juveniles de tilapia roja (*Oreochromis mossambicus* $\times$ *O. niloticus*), con diferentes niveles: 0 (control), 1, 2, 3, 4 y 5 % de quitosano en dieta. Se sembraron 270 animales (7.53 ± 0.50 g de peso inicial),

distribuidos en un diseño completamente al azar de 6 tratamientos con 3 réplicas y 45 tilapias. tratamiento-1, en 18 tanques con 90 L de agua en sistema cerrado. Los juveniles se alimentaron durante 55 días con las dietas experimentales y al final del bioensayo se tomaron las muestras de tejidos y plasma sanguíneo. Se encontraron diferencias ($p < 0,05$) en las variables respuestas evaluadas, donde el contenido de lípidos, triglicéridos, colesterol, hidratos de carbono y glucosa mostraron mayores niveles ($p < 0,05$). dado que en la Actividad de Superóxido dismutasa obtuvieron or los niveles de quitosano 3 y 4 % en la dieta alcanzando valores de 187,16 y 181,56 U.mL⁻¹ de sangre (Méndez Martínez *et al.*, 2017).

Efecto del β -glucano 1,3/1,6 sobre la respuesta inmune, la actividad enzimática digestiva y la expresión de genes de (*Lutjanus peru*) y (*Sparus aurata*).

Evaluó efecto del β -glucano 1,3/1,6, derivado de levaduras sobre el crecimiento, la expresión de genes, enzimas antioxidantes y digestivas del huachinango (*Lutjanus peru*) fue evaluado antes y después de la exposición a lipopolisacáridos (LPS). El β -glucano fue adicionado a una dieta basal a diferentes concentraciones (0.0 control, 0.1 y 0.2%). Los tratamientos fueron administrados durante 6 semanas, la toma de muestras se realizó en la semana 0, 2, 4 y 6. Al final de este periodo los peces restantes tanto del grupo control como los alimentados con β -glucanos fueron inyectados intraperitonealmente con LPS (3 mg kg⁻¹) o con solución salina fisiológica estéril (SS) como control. Se tomaron muestras a las 0,24 y 72h. Los resultados mostraron un incremento significativo ($P < 0.05$) en el crecimiento después de seis semanas de alimentación con β -glucanos. La actividad enzimática antioxidante Superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT) fueron medidas en hígado. Se observó un incremento significativo en la SOD, en la actividad enzimática digestiva esterasa, aminopeptidasa, tripsina y quimiotripsina en los organismos que recibieron dietas suplementadas con β -glucano al 0.1 y/o 0.2%. (Guzmán, 2014)

Mecanismos inmunológicos en peces: inmunidad inespecífica y adaptativa e inmunoprolifaxis. revisión bibliográfica.

Su objetivo fue hacer una revisión del sistema inmune en peces, abarcando la ontogenia, mecanismos de inmunidad inespecífica y adquirida; y el accionar de vacunas e inmunomoduladores. . Los factores humorales pueden ser receptores celulares o moléculas solubles en plasma y otros fluidos corporales. Los órganos linfoides que se encuentran en

los peces son el timo, riñón anterior y bazo. Las inmunoglobulinas son el principal componente humoral de la respuesta inmune adquirida frente a organismos patógenos. La primera aparición de IgM citoplasmática y de superficie varía considerablemente en diferentes especies de peces. En general, la primera aparición de los linfocitos B y de las inmunoglobulinas es más tardía en especies marinas en comparación a especies de agua dulce. Por otra parte, actualmente existen vacunas eficaces para enfermedades de los peces como la enfermedad entérica de la boca roja causada por *Yersinia ruckeri*, furunculosis causada por *Aeromona salmonicida* subsp. *salmonicida*, necrosis pancreática infecciosa (IPN) causada por el virus de la necrosis pancreática infecciosa (IPNV) y vibriosis causadas por (*Listonella anguillarum*) y otros tipos de vibrios; y se ha demostrado que la vacunación es una estrategia eficaz para el control de enfermedades en piscicultura; sin embargo, aún existen patologías para las que no se cuenta con una solución vaccinal adecuada como la piscirickettsiosis causada por (*Piscirickettsia salmonis*) o la anemia infecciosa del salmón (ISA) causada por el virus de la anemia infecciosa del salmon (ISA) (Uribe Gómez, 2009).

Inmunoestimulantes en teleosteos: Probióticos, β -glucanos y LPS

La revisión propuesta intenta indagar sobre los mecanismos de acción de algunos inmunoestimulantes de uso común, su uso en acuicultura y discutir trabajos recientes sobre el tema, que servirán de base para la formulación de investigaciones. relevante y factible para resolver algunos problemas en el área de la salud de los peces (Vásquez, *et al.*, 2012).

Parámetros hematológicos de *Tilapia nilótica* (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1757) con peso entre 250 g y 350 g, en el Centro Experimental Piscícola de la Universidad de Caldas

En su trabajo de investigación consistió en analizar valores hemáticos de esta especie, en las condiciones ecológicas y productivas de nuestro país, son limitados, de ahí que se buscará determinar los parámetros hematológicos a partir de la especie cultivada en la Estación Piscícola, de la Universidad de Caldas en Santágueda (Caldas, Colombia), para corroborar cuadros hemáticos, los recuentos diferenciales condujeron a identificar ocho tipos celulares: eritrocitos, policromatocitos, trombocitos, linfocitos, neutrófilos, monocitos/macrófagos, basófilos y eosinófilos. Así, los valores para las variables hematológicas fueron: concentración promedio de eritrocitos $1,78 \pm 0,056 \times 10^6 / \text{mm}^3$, promedio del VSE $2,10 \pm 0,14$

mm/h, Htc $33,63 \pm 0,58\%$, concentración de Hb $8,56 \pm 0,21$ g/dl, VCM y HCM promedio $200,47 \pm 7,90 \mu^3$ y $50,50 \pm 1,85 \mu g^3$, y concentración promedio de leucocitos $1,21 \pm 0,07 \times 10^5$ /mm. En la fórmula leucocitaria total los grupos celulares representaron: linfocitos $76,78 \pm 1,67\%$, neutrófilos $7,07 \pm 0,93\%$, monocitos/macrófagos $1,20 \pm 0,23\%$, basófilos $0,35 \pm 0,11\%$ y eosinófilos $0,07 \pm 0,05\%$, mientras que los trombocitos alcanzaron el $14,53 \pm 1,27\%$ (Hahn-von-Hessberg, *et al.*, 2011).

Índices hematológicos y celulares como bioindicadores de estrés en *Oreochromis aureus* Steindachner (tilapia) de cultivo.

Determino el efecto de estresores biológicos, ambientales y físicos sobre los parámetros hematológicos y las proteínas de estrés, con el fin de emplearlos como bioindicadores de estrés, también se compara el estado fisiológico de *O. aureus* al igual que en otras especies e híbridos del género. Para ello determinó los índices de referencia para la hemoglobina, hematocrito, eritrocitos y constantes corpusculares de *O. aureus* y se identificaron seis tipos de células en sangre periférica: eritrocitos, trombocitos, monocitos, neutrófilos, linfocitos maduros y jóvenes. Los estresores biológicos *Corynebacterium* sp. y *Aeromonas hydrophila* provocan disminución de la Hemoglobina, Hemoglobina Corpuscular Media (HCM), la Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media (CHCM), el Volumen Corpuscular Medio (VCM) y el conteo de eritrocitos y se observó además poiquilocitosis. Se determinó que para ambos patógenos los peces mostraron neutrofilia, aumento de los linfocitos jóvenes y disminución de linfocitos maduros; en ambos casos *O. aureus* presentó anemia microcítica hipocrómica (Coffigny, 2005).

Parámetros hematológicos y de bioquímica sanguínea en diez especies de peces marinos capturados por pesquería artesanal en la Bahía del Callao, Perú.

Se realizó una evaluación hematológica y de bioquímica sanguínea en 10 especies de peces marinos en la bahía del Callao, Perú, en las cuatro estaciones del año y en cuatro áreas de muestreo con diferentes grados de perturbación antrópica.

Los valores de hematocrito, hemoglobina y triglicéridos fueron significativamente mayores en *E. maculatus*, *S. minor* e *I. conceptionis*. En *S. deliciosa* solo fue más alta la hemoglobina y en *I. conceptionis* solo para el colesterol. Los parámetros hematológicos leucocitarios (linfocitos, monocitos, basófilos, eosinófilos y neutrófilos) y el HDL no mostraron

variaciones entre las especies, entre estaciones del año ni entre áreas de muestreo. La hemoglobina y colesterol fueron mayores para *S. deliciosa* y de hematocrito y colesterol para *M. cephalus* y *O. regia* en el área del muelle del Callao. Para *M. cephalus* se notó valores más altos de hematocrito, hemoglobina y colesterol en primavera, y los niveles de colesterol fueron más bajos en el verano para *M. cephalus* y para *O. regia* (Sáez *et al.*, 2018)

CAPÍTULO III
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Localización.

La investigación se desarrolló en la propiedad del señor Mauricio Intriago Loo en el sector María Fernanda, que está situado en el kilómetro 23 Vía el Vergel en el Cantón Valencia, Provincia de Los Ríos a 200 m de la carretera principal, Su ubicación geográfica es 0°49'45.6" de latitud Sur y 79°21'54.7" de longitud Oeste, a una altura de 120 m.s.n.m.

3.1.1. Condiciones Agroclimáticas.

Tabla 4. Condiciones agroclimáticas

Datos Meteorológicos	Promedios
Temperatura °C	25.3° C
Humedad relativa %	80%
Vientos	2 km/hora
Precipitación/anual mm	2500 mm
Heliofania media anual	552 horas luz/año

Fuente: Weather Spark, 2020

3.2. Tipo de investigación.

La investigación corresponde a la línea de averiguación Agricultura, Silvicultura y Producción animal; con la sublínea en Desarrollo de sistemas de producción que originen la utilización eficiente de los recursos de los genes. Se realizó una indagación de tipo empírico, ya que ayuda a la evaluación de los efectos del β -glucano en dietas sobre la contestación inmune en tilapia roja.

3.3. Métodos de investigación.

3.3.1. Método inductivo.

Este procedimiento dejó ir de conocimientos en general a conocimientos particulares, con el objetivo de decidir el impacto de la ingesta de alimentos de peces con balanceado usual con integración del β -glucano estudio sobre el sistema inmune.

3.3.2. Método analítico.

Este método dejó hacer los estudios del sistema inmune con relación a la contestación de la integración de β -glucano en la dieta de juveniles de tilapia roja.

3.4. Fuente de recopilación de Información.

Las fuentes primarias, es la información que se recolecta en la época de indagación. La fuente secundaria es la información que se recolecta de fuentes bibliográficas que permanecen disponibles para toda clase de individuos (tesis de pregrado, tesis de magíster, tesis doctoral, libros, revistas artículos científicos, etcétera.).

3.5. Diseño de la investigación.

Se aplicó un diseño al azar (DCA), bajo condiciones controladas de laboratorio a lo largo de 56 días, para un total de 6 tratamientos (0, 1, 2, 3, 4 y 5% de β -glucano en dieta) con 3 repeticiones (acuarios de plástico), las dosis han sido establecidas desde resultados en otros trabajos hechos (Suárez Arango y Nieto, 2013). Se empleó una densidad de 15 peces/tanque, los cuales se colocó en 18 tanques operados con 90 L agua, para un total de 270 peces.

3.5.1. Esquema de análisis de varianza.

En la tabla 5, se detalla el análisis de la varianza que se ha planteo en la presente investigación.

Tabla 5. Esquema del análisis de Varianza (ANOVA).

Fuente de Variación		Grados de Libertad
Tratamiento	t-1	5
Error Experimental	t (r-1)	12
Total	tr -1	17

Modelo matemático

$$Y_{ij} = u + t_i + E_{ij}$$

Dónde:

Y_{ij} = Una observación cualquiera en el (i) se refiere al efecto del tratamiento

T_i = Efecto del tratamiento

E_{ij} = Error experimental

U = Efecto de la media de la población (Ordaz, *et al.*, 2014).

3.6. Instrumento de investigación.

3.6.1. Formulación y elaboración de dietas experimentales

En el presente estudio, todas las dietas (Tabla 6) se formularon (LINDO Systems, Inc. IL, USA), y la suplementación de diferentes niveles de β -glucanos: 0 (control), 1, 2, 3, 4 y 5 %, para un total de 6 tratamientos. Todos los ingredientes se tamizaron con un tamiz de malla de 250 μ m y se pesaron con una balanza digital (0,01 g; PE 3600 Mettler-Toledo, OH, USA). Para cada dieta se mezclaron todos los macroingredientes en una mezcladora industrial (Hobart 20 Qt-A200, OH, USA) hasta obtener una mezcla uniforme. Los microingredientes se mezclaron en un recipiente plástico antes de agregarlos a la mezcla. La lecitina de soja y aceite de pescado se mezclaron hasta obtener una mezcla homogénea y luego se agregó agua con un equivalente al 30 % por peso de los ingredientes. El alimento fue peletizado con una picadora de carne (Tor-Rey MJ22 JR, N L, MX) para obtener gránulos de 2 mm, que luego se secaron durante 8 h a 45 °C en un horno de flujo de aire (Hafo Serie 1600, Sheldon Manufacturing Cornelius, OR), luego los pellets secos se envasaron en bolsas plásticas y se mantuvieron a -4 °C hasta su uso (Méndez Martínez, *et al.*, 2018).

Tabla 6. Formulación y composición química de dietas experimentales con suplementación de β -glucanos

Ingredientes	Niveles de β -glucanos en dietas (%)					
	0	1	2	3	4	5
Pasta de soya	28.00	28.00	28.00	28.00	28.00	28.00
Harina de pescado	46.50	46.50	46.50	46.50	46.50	47.00
Harina de trigo	13. 90	13. 90	13. 90	13.40	12. 90	11. 90
Harina de maíz	4.00	3.00	2.00	1.50	1.00	0.50
β -glucanos	0.00	1.00	2.00	3.00	4.00	5.00
Lecitina de Soya	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Aceite de pescado	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50	1.50

Ingredientes	Niveles de β-glucanos en dietas (%)					
	0	1	2	3	4	5
Grenetina	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Vitamina C	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Premezclas minerales	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Premezclas vitamínicas	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
	Composición proximal real (% Materia Seca)					
Materia seca	89.07	89.54	89.51	88.76	89.24	89.21
Ceniza	37.65	37.78	37.63	37.45	37.84	38.26
Grasa	3.15	3.24	3.43	3.29	2.28	3.73
Proteína	5.74	8.79	7.37	6.10	8.21	7.01
Fibra	4.60	5.62	4.93	4.87	4.54	5.08
E. L. N. N	48.87	44.57	46.64	48.29	47.13	45.92
Energía bruta (kJ.g ⁻¹)	4.43	4.31	4.26	4.28	4.28	4.42

3.6.3. Cultivo de peces

3.6.1. Condiciones de cultivo de los peces.

Los juveniles de tilapia roja fueron desparasitados. Todos los tanques experimentales fueron sifonados diariamente en las mañanas previas a alimentar para desechar las heces y alimentos sobrantes y el 20% de agua fue reemplazada. Los juveniles al principio fueron alimentados a una tasa del 5% de la biomasa día⁻¹ dividido en 2 raciones 50% a las 8:00 horas y 50% a las 17:00 horas, las raciones cotidianas se ajustaron a cada semana para reducir la proporción de comida sobrante.

Se realizó el control de los parámetros físico-químicos del agua, la temperatura se midió con un termómetro de mercurio (0 a 50°C), el oxígeno disuelto con un oxímetro digital (55-DO, YSI Incorporated, Yellow Springs, OH, USA), y el pH, NH₄, NO₂ y NO₃ con el kit colorimétrico (Saltwater Master Test, OH, USA), respectivamente. Se mantuvo temperaturas entre 20 y 22 °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 7.6, amonio desde 0.21 a 0.24 mg L⁻¹, nitritos de 0.21 – 0.23 mg L⁻¹, nitratos de 4 – 12 mg L⁻¹

y carbonato de 71.6 ppm/L mientras que el oxígeno disuelto evaluado con un medidor de oxígeno dio un rango entre de 4.06 a 5.0 mg L⁻¹.

3.6.2. Obtención de las muestras de sangre.

Después de 56 días de ingesta de alimentos de los juveniles, se dejaron en inanición 14 horas para después a los 57 días proceder a hacer sustracción de sangre. Para la obtención de las muestras de sangre se usó alcohol, guantes, tubos de ensayo, algodón, jeringas entre otros grupos. Para comenzar con la sustracción, se realizó el lavado y secado de manos, para después colocarse los guantes, posteriormente se procedió a anestesiarse a los peces por un periodo de cinco minutos -por procedimiento - para después desinfectar el área de punción.

Las muestras se extrajeron de la vena caudal, entre la línea lateral y el septo medio ventral con jeringas de 3mL. Una vez obtenida la sangre se depositó en tubos de ensayo con EDTA antes rotulados, para este proceso se dejó fluir la sangre por cada tubo y cada tubo se colocó en una gradilla en un bolso térmico con gel refrigerante a 4°C, hasta el traslado al laboratorio para los respectivos estudios.

3.6.3. Variables a evaluar.

3.6.3.1. Concentración de hemoglobina.

La técnica que fue usada para la decisión de hemoglobina fue la cianometahemoglobina, la cual es estable en soluciones diluidas. Se homogenizó la sangre por medio de agitación suave con un sistema automático, se pipetean 5mL del reactivo de Drabkin y se añadieron 0.02mL de sangre; se agitó el tubo por medio de inversión 5 veces para homogenizar la mezcla sangre-reactivo, y se esperó 10 min a que se haga la hemólisis total; la sangre se hemolisa por añadido de un agente densoactivo, con el ferrocianuro de potasio se oxidan el átomo de hierro de ferroso a férrico para generar metahemoglobina. El cianuro de potasio estabiliza la metahemoglobina pasando de cianometahemoglobina. La cloración producida es de manera directa proporcional a la concentración de hemoglobina presente y se lee a 540 nm en el espectrofotómetro contra un blanco de reactivo y es comparable con la curva calibrada de estándares.

3.6.3.2. Leucocitos.

El recuento total de leucocitos se realizó en cámara de Neubauer de 0,0025 mm² (Optic Labor, Alemania); se dejó reposar 3 min para que sedimenten los leucocitos y se realizó un conteo manual, para eso se tomó una muestra de sangre con una pipeta de Thoma para glóbulos blancos, se hizo una dilución 1:20 usando ácido acético que deshace a los eritrocitos. El azul de metileno posibilita reconocer de forma sencilla el líquido y mirar mejor los glóbulos blancos, a los que tiñe sutilmente.

Ecuación 2

$$N \times 20 \times 10 = N \times 50 / 4$$

Donde:

N= Número de leucocitos contados

20= Título de la dilución.

10= Corrección de la profundidad de la cámara

4= Total de cuadros contados.

3.6.3.3. Recuento diferencial de leucocitos.

Para hacer el recuento diferencial de leucocitos se hizo frotis sanguíneos teñidos con coloración tipo Romanowsky (Wright). Se tomó fotografías de cada tipo celular con ayuda de un microscopio óptico (Carl Zeiss, Axioestiar 4.3, Alemania) con cámara fotográfica digital integrada (Canon Power Shot G5, Japón) y las mediciones celulares se realizaron con un analizador de imágenes (Carl Zeiss, AxioVisión 4.3, Alemania) (Conroy DA, 1998).

3.6.3.4. Antioxidantes enzimáticos.

Para determinar la enzima superóxido dismutasa se lavaron los eritrocitos 4 veces con 3,0 mL de solución de NaCl al 0,9 %, centrifugando durante 10 min a 3000 rpm después de cada lavado. Se empleó un Kit (Ransel, Randox, Crumlin, Antrim, UK), basado en metodología de McCord y Fridovich (1969), con principio en la oxidación de glutatión (GSH) por el hidropéroxido de cumeno catalizado por la GPx; en presencia de glutatión reductasa (GR) y NADPH; la lectura de absorbancia se realizó a 340nm. Se realizó el recuento total de

leucocitos en cámara de Neubauer de 0,0025 mm² (Optic Labor, DE) (Khachatryan *et al.*, 2010).

3.6.3.5. Actividad fagocítica.

Se superpusieron cuidadosamente muestras de sangre heparinizadas de 3 ml de volumen / réplica sobre un volumen igual de un Ficoll-Paque (anteriormente GE Healthcare Life Sciences) (1,077 g / ml, Sigma-Aldrich, MO, EE. UU.) En un tubo de poliestireno. La muestra se centrifugó a 1500 xg a lo largo de 20 minutos a 4 ° C para la separación de leucocitos viables de la sangre periférica. Los leucocitos en la interfase se recolectaron y lavaron dos veces con medio RPMI-1640 suplementado con 100 UI / ml de penicilina y 1 mg / ml de estreptomicina y se ajustarán a $4 \times 10^7 \text{ ml}^{-1}$ usando el medio de cultivo. La actividad fagocítica se adaptó del método descrito por Esteban con una ligera modificación. La solución de trabajo se preparó disolviendo 0.0125 g de zymosan en polvo en 25 mL de agua de mar estéril, se colocó 1 mL de la suspensión celular en un volumen de 1 mL de suspensión de zymozan y se incubó a 37 °C durante una hora. Se extendió diez μl de la mezcla sobre el portaobjetos limpio y se teñido con tinción de Giemsa. Bajo la lente de inmersión en aceite de un microscopio (Olympus BX50, New Hyde Park, NY, EE.UU.) (Esteban, *et al.*, 2001).

Ecuación 3

Índice fagocítico (PI, %) = no. de células de levadura ingeridas / no. de ingerir fagocitos x 100.

3.7. Tratamiento de los datos.

El análisis estadístico de los resultados se mostró como medias $\pm$ desviación estándar (SD). Las pruebas de Kolmogory – Smirnov ($P < 0.05$) y Bartlett ($P < 0.05$) van a ser aplicado anterior al estudio de varianza (ANOVA). Una vez que se observaron valores significativos para F, se usará la prueba de rangos múltiples de Duncan para equiparar las diferencias entre medias de los tratamientos, en $P < 0.05$. se va a aplico el programa Infostat. Todos los datos porcentuales se transformaron en Logn antecedente de los estadísticos. En la tabla 7 se muestran los tratamientos que se emplearán.

Tabla 7. Esquema de Tratamientos Experimentales

Tratamiento	Inclusión de β-glucano en Dieta Peletizada
T1	0% (Testigo)
T2	1%
T3	2%
T4	3%
T5	4%
T6	5%

3.8. Recursos humanos y materiales.

3.8.1. Recursos humanos.

Dr. Méndez Martínez Yuniel (Director del proyecto de Investigación).

Andrade Aldean Brandon Gustavo (Autor del anteproyecto de investigación).

3.8.2. Materiales e insumos.

A continuación, se mencionan materiales, equipos e insumos que se emplearán para la investigación.

- Tamiz malla de 250 μ m.
- Bomba para agua.
- Licuadora industrial.
- Molino de carne.
- Estufa.
- Bolsas plásticas.
- Balanza analítica.
- Recipientes de plástico.
- Pie de rey digital.
- Tanques de plásticos (100 L)
- Tubos PVC.
- Termómetro.

- Kit colorímetro.
- β -glucano.
- Medidor de oxígeno.
- Stress Zyme.
- Termostato.
- Pipeta.
- Alcohol.
- Guantes.
- Espectrofotómetro.
- Algodón.
- Juveniles de tilapia roja.
- Impresora.
- Guantes.
- Cámara fotográfica.
- Lápiz.
- Botiquín de primeros auxilios.
- Hojas A4
- Tijera quirúrgica.
- Tubos Eppendorf.
- Hielera.
- Micropipetas.
- Funda hidratada para preservar muestras biológicas.
- Mortero.
- Baño María.
- Centrífuga.
- Bata.
- Computadora.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

4.1. Hemoglobina (g/dL).

En efecto del β -glucano en dieta mostro los niveles de hemoglobina en los distintos tratamientos dando como resultado una mayor en los tratamientos 3 con un valor de 11,00 a 1,73 g/dL y seguido del T2 con 11,00 a 100 g/dL, los cuales incluyen del 1% y 2% de β -glucano en su dieta; mientras que los demás tratamientos obtuvieron resultados menores siendo el T4 con 10,33 a 1,53 mientras que el T6 fue de 10,33 a 0,58 g/dL siendo el T1 y T5 con el resultado de menos nivel, mostrado que existe diferencia estadística con el valor de $P=0,0260$.

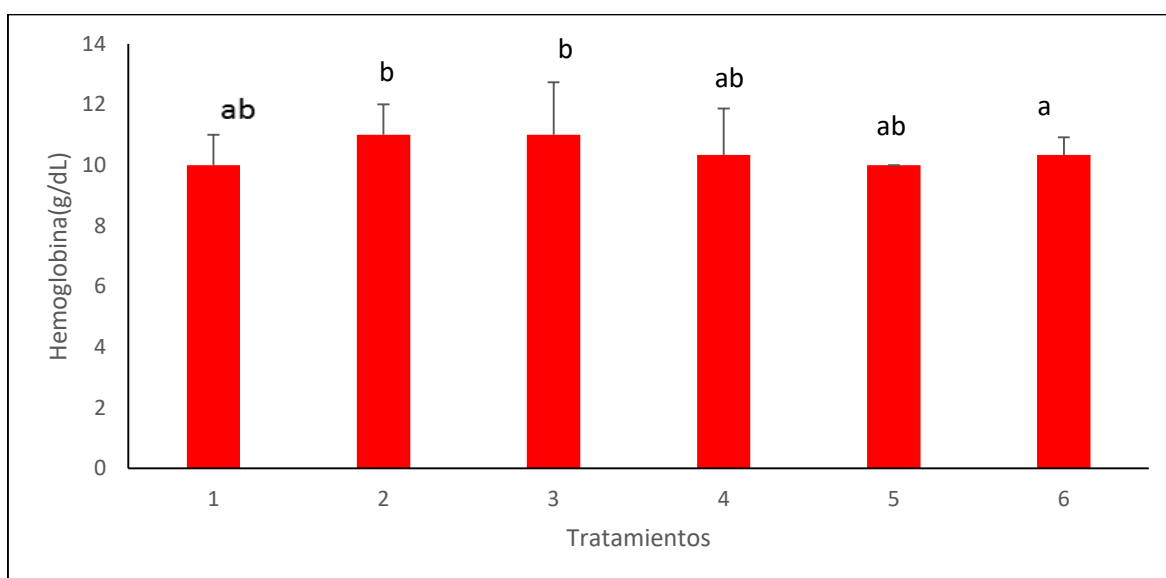


Gráfico 1. Resultados de la hemoglobina (g /dL) en respuesta inmune en juveniles de tilapia roja (*Oreochromis mossambicus* x *O. niloticus*) con inclusión de β -glucano en dieta.

Respecto al trabajo de Silveira, (2005), donde se propone valorar en (*Oreochromis aureus*) , el efecto de estresores biológicos, ambientales y físicos sobre los parámetros hematológicos y las proteínas de estrés, con el fin de emplearlos como bioindicadores de estrés, también se compara el estado fisiológico de (*O. aureus*) con otras especies e híbridos del género que fueron inoculadas (*Aeromonas hydrophila*), para lo cual indico que los resultados para el control fue de 5,4 para las 24 h fue de 5,04 para las 48h fue de 3,50 en las 72h fue de 3,32 y en las 96h fue de 3,24 y a los 20 días fue de 3,18 , en la cual se encontró disminución de la hemoglobina, a partir de las 48 h, se observó además una disminución con respecto al control($P\leq 0.05$).

Saez *et,al* (2018), evaluó la bioquímica sanguínea en 10 especies de peces marinos en la bahía del Callao, Perú, en las cuatro estaciones del año y en cuatro áreas de muestreo con diferentes grados de perturbación antrópica, los análisis en hemoglobina indicaron en la especie (*Sciaena deliciosa*) 17.4 mg·dL⁻¹ para la especie (*Mugil cephalus*) 15.6 mg·dL⁻¹ (*Odontesthes regia*) fue de 15,0 mg·dL⁻¹, en cambio para (*Stellifer minor*) fue de 17,6 mg·dL⁻¹, y en la especie (*Ethmidium maculatum*) fue de 19,4mg·dL⁻¹ *Cheilodactylus variegatus* 13.3 mg·dL⁻¹, (*Scartichthys gigas*) 9.3mg·dL⁻¹, (*Labrisomus philippii*) 12.5 mg·dL⁻¹, (*Stromateus stellatus*) 7.0 mg·dL⁻¹, (*Isacia conceptionis*) 18.8 mg·dL⁻¹ en lo cual indica que indican ausencia de variaciones y mayores valores de hemoglobina.

4.2. Leucocitos.

En el contenido de la Tabla 8 de datos nos muestra que los resultados bioquímica sanguíneas se obtuvieron en el T6 mayor concentración con un valor de 1,58 hasta 0,45 uL seguido del T3 con un valor de 1,38 hasta 0,23 uL por otra el T2 y el T4 dando como resultado el mismo valor de 1,31 hasta 0,21 uL mientras que el T5 obtuvo el valor de 1,21 hasta 0,26uL, teniendo una mínima diferencia con el T1 tiene el valor más bajo de los leucocitos de 1,22 hasta 0,23 uL mostrando estadísticamente significancia con el valor de (P=0,0138).

En el trabajo de investigación de Enciso (2016), se encontraron diferencias significativas, los organismos alimentados con dieta basal presentaron un menor número de leucocitos, mientras que los alimentados con inclusión de β-glucano presentaron los valores más altos. El contenido de lípidos, triglicéridos, colesterol, hidratos de carbono y glucosa mostraron mayores niveles (p<0,05) a concentraciones de quitosano más bajos, sin embargo, para contenidos de proteínas se encontró mejor respuesta (p<0,05) a mayores niveles de quitosano en dieta.

De acuerdo a los resultados de Mendez Martinez, *et al*, (2017) en tilapia roja (*Oreochromis mossambicus* × *O. niloticus*) se favoreció con suplementación de quitosano en dieta, así como el βglucano ayudan favorablemente en la producción de leucocitos en jóvenes de tilapia roja, en contraste con estos resultados obtenidos en la investigación de Guzman (2014) demuestra que la suplementación con dieta β-1,3/1,6 β-glucano al 0,05% mostró valores de leucocitos significativamente más altos que las dietas de control y otras, β-1,3/1,6

la suplementación con glucano dio lugar a una disminución significativa ($P < 0,05$), lo cual afirma que los organismos expuestos a la dieta con β -glucano aumentan los leucocitos.

4.3. Neutrófilos.

En relación con los resultados química sanguíneas en los juveniles de tilapia se encontró que el T2 con mayor aceptación de 55,00 hasta 8,7% mientras que el tratamiento T4 siendo el segundo valor alto con el 52,00 hasta 4,4% seguido del T1 que obtuvo el valor de 52,00 hasta 2 T3 y el T5 mostraron el mismo valor de 50,00 hasta 0% y para el T6 con el 48,33 hasta 2,9% mostrando estadísticamente significancia con el valor de ($P=0,0082$).

En la investigación de Uribe (2009) menciona que híbridos de lubina estriada (*Morone saxatilis*) alimentados con dietas suplementadas con nucleótidos tuvieron mayor producción de radical oxidativo en los neutrófilos de la sangre, que los peces alimentados con una dieta normal, lo cual concuerda con lo expuesto que obtuvo un mayor índice de concentración de neutrófilos de 55,00 hasta 8,7 a diferencia de lo expuesto por Penagos (2007) que los nucleótidos también influyen la actividad de linfocitos y la producción de inmunoglobulinas, el recuento diferencial de neutrófilos realizado para *O. niloticus* de la estación piscícola arrojó un promedio de 7%, que se considera dentro de los parámetros normales.

En la investigación de Caruff (2013) muestra que el uso de β -glucanos, ya sea in vitro como in vivo como moduladores de la respuesta inmune en diversas especies de peces, las respuestas han sido diversas y comprenden la producción de anticuerpos, la expresión de genes del sistema inmune, supervivencia, mejor tolerancia al estrés y resistencia a las enfermedades infecciosas. Además, se ha observado que mejora el crecimiento de los peces, aumentando los índices productivos, Salazar, et al., (2012) señala que los granulocitos (neutrófilos) fueron las células más abundantes seguido de los linfocitos; tal y como se observó en este estudio, tanto los granulocitos como los linfocitos mostraron variaciones debido al estrés por captura y por cambios ambientales esto probablemente explique las diferencias en los valores.

4.4. Linfocitos.

Observamos que en los linfocitos el T6 con el valor de 51,67 hasta 2,89% seguido del T3 con un 50,00 hasta 0 mientras que el T5 con un resultado de 48,33 hasta 2,89% continuamente T4 reporta el valor de 48,00 hasta 4,36% siendo el T2 el nivel de concentración más bajo de linfocitos de 47,33 hasta 2,52% los valores del T1 es el resultado con menos valor de 48,00 hasta 2,00% mostrando estadísticamente significancia con el valor de ($P=0,0359$).

Mientras que los resultados obtenidos por Días (2004) menciona que los linfocitos en las células cumplen un rol importante en el sistema inmune de los peces, actuando ante la presencia de virus, bacterias y otros agentes patogénicos que podrían comprometer la sobrevivencia del pez.

La investigación de Gonzales (2019) indica que los linfocitos y monocitos son las células de mayor proporción en comparación con los neutrófilos, eosinófilos y basófilos, la proteína total sérica fue de 3.7 ± 0.4 g/dl y la glucosa de 60.2 ± 39.1 mg/dl, mientras que Vásquez, *et al.*, (2012) menciona que en la diete β -glucanos obtuvo incremento de leucocitos mejorando el efecto quitosan y rafinosa, lo cual nos da como resultado que los linfocitos son las células más abundantes.

4.5. Eosinófilos

Los resultados obtenidos nos indica que el T5 con un 2,00 hasta 2,65% es el que mostro una mayor aceptación seguido del T6 y el T4 teniendo el mismo valor de 1,67 hasta 0,58 % por otro lado, podemos observar que el T2 con 1,67 hasta 1,53% teniendo un mínimo de diferencia, el T1 fue de 1,33 hasta 0,58% a diferencia del T3 con 0,67 hasta 1,15% teniendo el nivel más bajo de aceptación de eosinófilos.

En el trabajo de Chahn, *et al.*, (2011) sostienen que la presencia de eosinófilos en los frotis de Tilapia es muy escasa, estas son células esféricas de tamaño variable, el porcentaje de eosinófilos son de $0,07 \pm 0,05$ y trombocitos que representaron el $14,53 \pm 1,27\%$ de la fórmula total.

4.6. Monocitos.

En base de los análisis obtenidos podemos decir que el T3 fue de 3,33 hasta 2,31% refleja que es el valor más alto de aceptación seguido del T2 con un 3,00 hasta 1,00% a diferencia del T6 con un 2,33 hasta 0,58%, por otro lado, tenemos el T1 fue de 2,00 hasta 1,00% mientras que el T4 y el T5 con el mismo valor de 2,00 hasta 0% siendo los niveles más bajos del tratamiento monocitos.

A diferencia en la investigación realizada por CHahn, *et al.*, (2011) afirma que los macrófagos y los monocitos son el mismo grupo celular y se diferencian por el estado de madurez en el que se encuentren. Para la evaluación de los extendidos de sangre de los machos de *O. niloticus* entre 250g y 350g, no se efectuó diferenciación morfológicamente solo se encontraron diferencias de tamaño.

4.7. Basófilo.

La reacción del basófilo en las juveniles tilapias obtuvo el T3 y el T4 los valores mayores de 1,33 hasta 0,58% seguido del T2, T5 y el T6 con un 1,00 hasta 0% no se encontraron diferencias significativas en los valores en el tratamiento prebiótico cuyo principio activo es el β -glucano, el T1 con el valor mínimo de 0,67 hasta 0,58%.

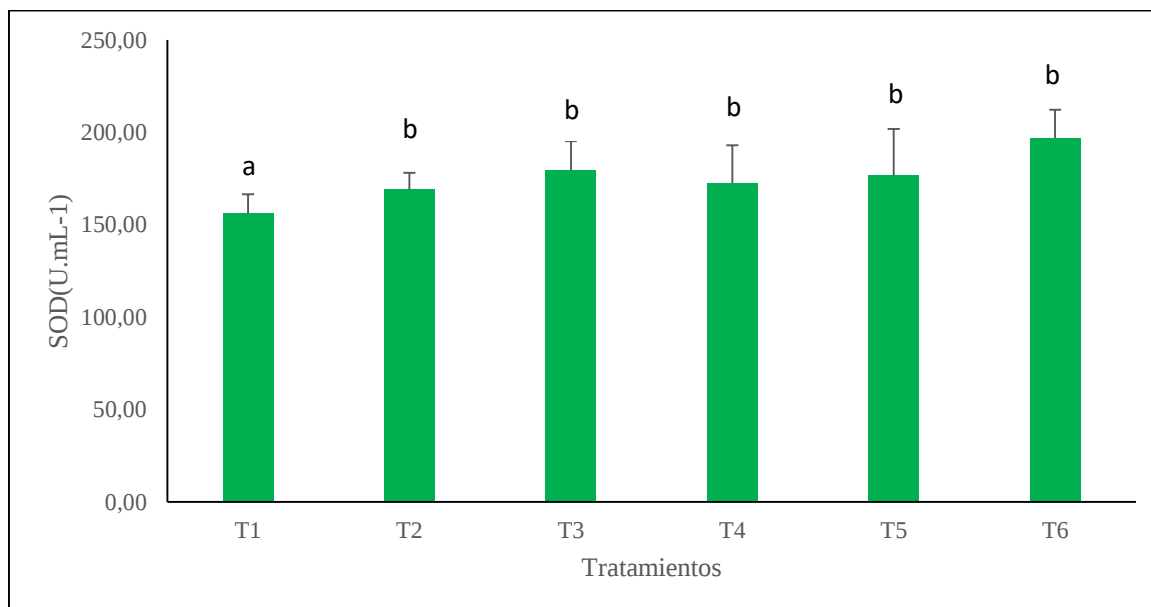
En la investigación de Salaza, *et al.*, (2012) indica que los granulocitos basófilos son células que se observan muy raramente en sangre periférica, han sido descritas en riñón e hígado de *C. macropomum* expuesta a paraquat, estas células tienen una activa participación en la respuesta inmunitaria, a través de la liberación de histamina y serotonina en bajas concentraciones, según Gonzales, *et al.*, (2019) los basófilos en comparación con los otros raramente se les encuentra en pece

Tabla 8. Resultados Citometria hematológica de serie blanca de los Leucocitos, Neutrofilos, Linfocitos, Eosinofilos, Monocitos, Bacilos en juveniles de tilapia roja (*Oreochromismossambicus x Oreochromis niloticus*) con la inclusión de β -glucano en dieta.

Tratamiento	Leucocitos ($\times 10^3 \mu\text{L}^{-1}$)	Neutrófilos%	Basófilos%	Eosinofilos%	Monocitos%	Linfocitos%
T1	1,22 $\pm$ 0,23 ^a	52,00 $\pm$ 2,00 ^b	0,67 $\pm$ 0,58 ^a	1,33 $\pm$ 0,58 ^a	2,00 $\pm$ 1,00 ^a	48,00 $\pm$ 2,00 ^{ab}
T2	1,32 $\pm$ 0,21 ^b	55,00 $\pm$ 8,7 ^b	1,00 $\pm$ 0 ^a	1,67 $\pm$ 1,53 ^a	3,00 $\pm$ 1,00 ^a	47,33 $\pm$ 2,52 ^{ab}
T3	1,38 $\pm$ 0,23 ^b	50,00 $\pm$ 0,00 ^b	1,33 $\pm$ 0,58 ^a	0,67 $\pm$ 1,15 ^a	3,33 $\pm$ 2,31 ^a	50,00 $\pm$ 0 ^b
T4	1,32 $\pm$ 0,21 ^b	52,00 $\pm$ 4,4 ^b	1,33 $\pm$ 0,58 ^a	1,67 $\pm$ 0,58 ^a	2,00 $\pm$ 0 ^a	48,00 $\pm$ 4,36 ^{ab}
T5	1,22 $\pm$ 0,26 ^{ab}	50,00 $\pm$ 0,00 ^b	1,00 $\pm$ 0 ^a	2,00 $\pm$ 2,65 ^a	2,00 $\pm$ 0 ^a	48,33 $\pm$ 2,89 ^{ab}
T6	1,58 $\pm$ 0,45 ^b	48,33 $\pm$ 2,9 ^a	1,00 $\pm$ 0 ^a	1,67 $\pm$ 0,58 ^a	2,33 $\pm$ 0,58 ^a	51,67 $\pm$ 2,89 ^a
Valor de P	0,0138	0,0082	0,3946	0,8879	0,5705	0,0359

4.8. Actividad antioxidante.

De acuerdo a los resultados en los niveles del 1 al 5% con inclusión del β -glucano, el T6 fue el mayor nivel con 197,04 a 15,23 mL^{-1} en cambio el T3 obtuvo 179,69 a 15,63 mL^{-1} el T5 con 176,65 a 25,27 mL^{-1} , el T4 fue de 172, 53 a 20,44 mL^{-1} seguido del T2 con el resultado de 168,94 a 9,21 mL^{-1} siendo el T1 que obtuvo menos valor con 156,06 a 10,50 mL^{-1} . Mostrado que existe diferencia estadística con el valor de $P = 0,0109$.

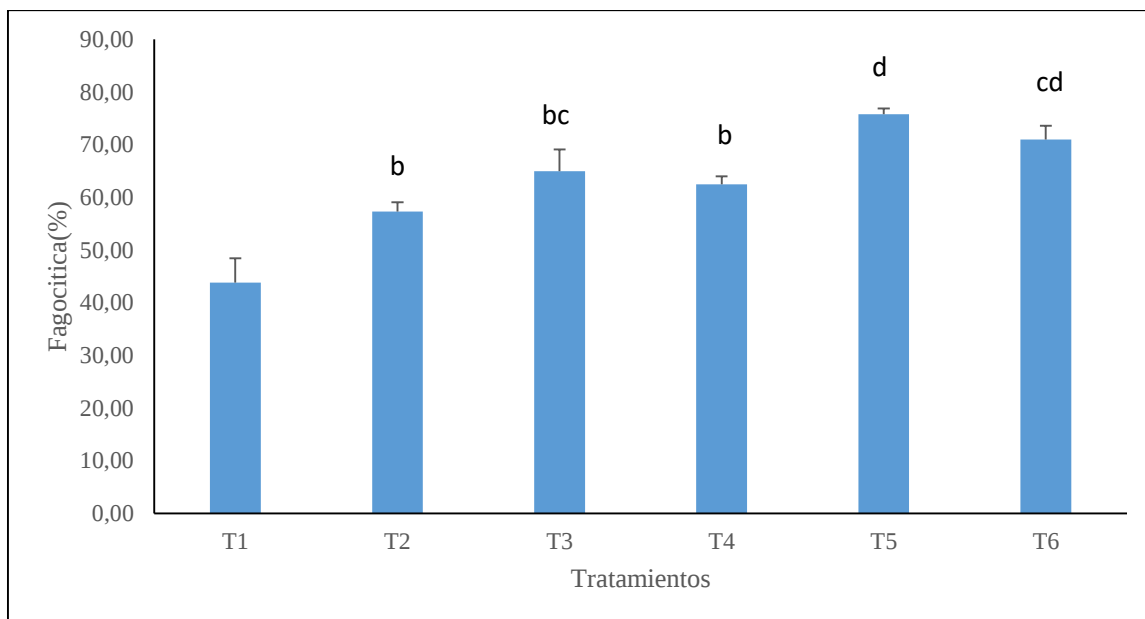


Gráfica 2. Resultados de (SOD) U.mL⁻¹ en respuesta de juveniles de tilapia roja (*Oreochromis mossambicus* x *O. niloticus*) con inclusión de β -glucano en dieta.

Méndez Martínez et, al, (2021), en su trabajo de investigación afirma que la actividad de la enzima Superóxido Dismutasa se vio influenciada ($p < 0,05$) por los niveles de quitosano 3 y 4 % en la dieta alcanzando valores de 187,16 y 181,56 U.mL⁻¹ de sangre, respectivamente. En la cual se demuestra que sus datos no son muy diferentes antes este trabajo investigativo.

4.9. Actividad Fagocítica.

Los índices de fagocitosis en juveniles de tilapia roja reflejaron que el T5 con 75,83 a 1,04% y el T6 71,00 a 2,65% tuvieron el porcentaje más alto ante la respuesta de la inclusión del β -glucano seguido de T3 con el valor de 65,00 a 4,09% y el T4 con 62,50 a 1,50%, mientras que el T2 y T1 fueron con el porcentaje más bajo como se muestra en el grafico 3. De acuerdo a este resultado se encontró significancia estadística siendo su valor de $P = < 0,0001$.



Gráfica 3. Resultados de fagocitosis (%) en juveniles de tilapia roja (*Oreochromis mossambicus* x *O. niloticus*) con inclusión de β -glucano en dieta.

En el trabajo de investigación de Breton, (2007), el índice de fagocitosis en peces expuestos a 7 μ g/L de endosulfán por 96 h mostró diferencia significativa ($p < 0.001$) con el índice de fagocitosis en tilapias control con el valor más bajo de 153 a diferente de expuesto que obtuvo mayor índice con 162, la cual muestra que esta investigación por dicho autor sobrepasa a los resultados ante lo expuesto.

De acuerdo a Molina, (2007), el índice de fagocitosis de células presentes en sangre de tilapia nilótica expuesta a concentraciones su β -letales dio como resultado de 7.83 ppm y 3.91 ppm de diazinón por 96 h, las concentraciones subletales de diazinón se encontró que disminuyó de manera significativa por lo tanto tanto el índice de fagocitosis, como el porcentaje de células fagocíticas activas con respecto al grupo control ($p < 0.001$) lo cual afirma que los organismos expuestos a diazinón serán más sensibles a retos que afecten su sistema inmune, tanto de origen biótico, como abiótico.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- Se determinó mediante los análisis en la concentración de hemoglobina presentando mayor concentración con la inclusión del β -glucano, las dietas T3 y T2 11,00 g/dL.
- Se cuantificó que en los leucocitos el mejor tratamiento se obtuvo en el T6 1,58 μ L, para el neutrófilo el que mayor destaque fue T2 55,00 %, en los basófilos el que dio mejores resultados el T3 y T4 1,33 %, en los monocitos mayores resultados en el T3 3,33 % y en los linfocitos se encontraron en el T6 51.67%.
- Se estimó de acuerdo al análisis estadístico en el Superoxido dismutasa y fagocitosis en el (SOD) siendo el de mejores resultados T6 197,04 mL^{-1} de mayor elevación en cuanto a la fagocitosis se encontró como mejor nivel en el T5 75,83%

5.2. Recomendaciones

- Se sugiere desarrollar investigaciones en los juveniles de tilapia roja en ambientes controlados, analizando los avances que estos presenten en el desarrollo de su sistema inmune, con la inclusión de β -glucano en su dieta.
- Recomendaría extender la investigación a otras especies de peces y animales, para así poder identificar las múltiples formas en las que se puede utilizar de forma beneficiosa el β -glucano en el desarrollo ideal de las especies.
- Se recomienda trabajar con la dieta del T3 al 2% de β -glucano, ya que expreso mejores resultados en cuanto a concentración de hemoglobina, y porcentajes en basófilos y monocitos.

CAPÍTULO VI

BIBLIOGRAFÍ

6.1. Referencias bibliográficas.

- Alamilla, H. (2003). *Manual de Crianza de Tilapia* (Alicorp S.). Lima, peru. Retrieved from <http://www.industriaacuicola.com/biblioteca/Tilapia/Manual de crianza de tilapia.pdf>
- Apromar. (2011). *Acuicultura Marina de Peces en España*, 39. Retrieved from file:///H:/Mis documentos/documentos/separatas/4374.pdf
- Baltazar, P. M. (2007). La Tilapia en el Perú: Acuicultura, mercado, y perspectivas. *Revista Peruana de Biología*. <https://doi.org/10.15381/rpb.v13i3.2355>
- Bohn, J. A., y BeMiller, J. N. (1995). (1→3)-β-d-Glucans as biological response modifiers: a review of structure-functional activity relationships. *Carbohydrate Polymers*, 28(1), 3–14. [https://doi.org/10.1016/0144-8617\(95\)00076-3](https://doi.org/10.1016/0144-8617(95)00076-3)
- Bricknell, I., y Dalmo, R. A. (2005). The use of immunostimulants in fish larval aquaculture. *Fish and Shellfish Immunology*, 19(5 SPEC. ISS.), 457–472. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2005.03.008>
- Bulfon, C., Volpatti, D., y Galeotti, M. (2015). Current research on the use of plant-derived products in farmed fish. *Aquaculture Research*, 46(3), 513–551. <https://doi.org/10.1111/are.12238>
- Calvopiña Andrea. (2012). Plan de factibilidad para la producción de filetes congelados de tilapia y su comercialización al mercado norteamericano, 7, 1–25. Retrieved from <http://repositorio.puce.edu.ec/handle/22000/15781>
- Carpio, M. M., y Fernández, O. R. (2019). *Análisis de la calidad del agua para el manejo de tilapia (Oreochromis sp.) y chame (Dormitator latifrons) en el km 27,5 vía a Daule*. UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL. Retrieved from <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/39894>
- Caruffo Mario, Paulina López, Natalie Navarrete, A. D. y P. N. (2013). Uso de Beta-Glucanos como inmunoestimulantes en la Acuicultura. *Indualimentos*, (January), 118–121.
- Chakraborty, S. B., y Hancz, C. (2011). Application of phytochemicals as immunostimulant, antipathogenic and antistress agents in finfish culture. *Reviews in Aquaculture*. <https://doi.org/10.1111/j.1753-5131.2011.01048.x>
- Chaves-Barrantes, N. F., y Gutiérrez-Soto, M. V. (2016). Respuestas al estrés por calor en los cultivos. II. Tolerancia y tratamiento agronómico. *Agronomía Mesoamericana*, 28(1), 255. <https://doi.org/10.15517/am.v28i1.21904>
- Chen, L., Xu, W., Lin, S., y Cheung, P. C. K. (2014). Cell wall structure of mushroom

- sclerotium (*Pleurotus tuber regium*): Part 1. Fractionation and characterization of soluble cell wall polysaccharides. *Food Hydrocolloids*, 36, 189–195. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.09.023>
- Coffigny, R. S. (2005). Índices hematológicos y celulares como bioindicadores de estrés en *Oreochromis aureus* Steindachner (tilapia) de cultivo, 132.
- Conroy DA. (1998). Manual de métodos y técnicas de laboratorio de uso común en la hematología pisciaria. In *Pharma-fish S.R.L* (Vol. 27, p. 25).
- Conroy, G. (2004). Importantes enfermedades detectadas en tilapias cultivadas en América Latina. Revista. *Panorama Acuicola Magazine*, 6, 20–25. Retrieved from https://panoramaacuicola.com/ediciones/pam-9-6/pam-9-6_20-25.pdf
- Dalmo, R. A., y Bøgwald, J. (2008). β -glucans as conductors of immune symphonies. *Fish and Shellfish Immunology*. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2008.04.008>
- Danilova, N., Bussmann, J., Jekosch, K., y Steiner, L. A. (2005). The immunoglobulin heavy-chain locus in zebrafish: Identification and expression of a previously unknown isotype, immunoglobulin Z. *Nature Immunology*, 6(3), 295–302. <https://doi.org/10.1038/ni1166>
- Del barco, K. (2020). INCLUSIÓN DEL QUITOSANO EN LA ALIMENTACIÓN DE ALEVINES DE TILAPIA ROJA (*Oreochromis* sp.). *Scielo.Sld.Cu*, (2), 88.
- Ding, B., Zheng, J., Wang, X., Zhang, L., Sun, D., Xing, Q., ... Fronte, B. (2019). Effects of dietary yeast beta-1,3-1,6-glucan on growth performance, intestinal morphology and chosen immunity parameters changes in Haidong chicks. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 32(10), 1558–1564. <https://doi.org/10.5713/ajas.18.0962>
- Diz Dios, P., Ocampo Hermida, A., y Fernández Feijoo, J. (2002). Alteraciones cuantitativas y funcionales de los neutrófilos. *Medicina Oral*.
- El Universo. (2020). El consumo de la tilapia, más económica que la carne, crece en Ecuador. Retrieved December 23, 2020, from <https://www.eluniverso.com/noticias/2018/09/05/nota/6938243/consumo-tilapia-mas-economica-que-carne-crece-ecuador>
- EL Universo. (2012). Bajan envíos de tilapia congelada. Retrieved December 23, 2020, from <https://www.eluniverso.com/2012/02/29/1/1356/bajan-envios-tilapia-congelada.html>
- Elizaquível, P., Sánchez, G., Salvador, A., Fiszman, S., Dueñas, M. T., López, P., ... Aznar, R. (2011). Evaluation of yogurt and various beverages as carriers of lactic acid bacteria producing 2-branched (1,3)- β -D-glucan. *Journal of Dairy Science*, 94(7), 3271–3278. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-4026>

- Enciso Contreras, S. I. (2016). Efecto de la suplementación en dieta de la inulina, el β -glucano y el quitosano sobre la capacidad digestiva y la inmunidad no específica de la totoaba (*Totoaba macdonaldi*), 71.
- ESPAE. (2018). Industria de Acuicultura. *Estudios Industriales: Orientación Estratégica Para La Toma De Decisiones*, 42. Retrieved from <http://www.espae.espol.edu.ec/publicaciones/>
- Esteban, M. A., Cuesta, A., Ortuño, J., y Meseguer, J. (2001). Immunomodulatory effects of dietary intake of chitin on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune system. *Fish and Shellfish Immunology*, 11(4), 303–315. <https://doi.org/10.1006/fsim.2000.0315>
- FAO. (2002). Desarrollo y ordenación de la acuicultura: situación actual, problemas y perspectivas. Retrieved December 23, 2020, from <http://www.fao.org/3/Y3277S/Y3277S.htm>
- FAO. (2006). State of World Aquaculture; trends and issues. *Fisheries (Bethesda)*, 113–134. Retrieved from <http://www.fao.org/3/a0874e/a0874e00.htm>
- FAO. (2009). *Oreochromis niloticus*, 2–5. Retrieved from http://www.fao.org/tempref/FI/DOCUMENT/aquaculture/CulturedSpecies/file/es/es_niletilapia.htm
- FAO. (2010). FAO Fisheries and Aquaculture - Vision general del sector acuicola nacional Chile. Retrieved from http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso_ecuador/es
- Ferguson, H. W. (2006). *Systemic Pathology of Fish: A Text and Atlas of Normal Tissues in Teleosts and Their Responses in Disease. Educational and Psychological Measurement* (Vol. 2). London: Iowa State University Press Ames, IA 50010 USA. <https://doi.org/10.1177/001316447503500129>
- Fernández, A. B., Ruíz, I., y Blas, I. (2016). El sistema inmune de los teleósteos (II): Respuesta inmune inespecífica. *Revista AquaTIC*, 0(17).
- García-Hernández, M., Guerrero-Ramírez, G., Castro-Corona, M. de los Á., y Medina-de-la-Garza, C. (2009). Inmunomoduladores como terapia adyuvante en la enfermedad infecciosa. *Medicina Universitaria*, 11(45), 247–259.
- Gonzabay, C. (2007). *Diseño de una unidad de producción piscícola de tilapia roja (Oreochromis sp.) en la granja experimental de la UPSE en la comuna Río Verde*. UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA. Retrieved from [https://repositorio.upse.edu.ec/bitstream/46000/824/1/GONZABAY RODRÍGUEZ CARLOS ALBERTO-2007.pdf](https://repositorio.upse.edu.ec/bitstream/46000/824/1/GONZABAY%20RODRÍGUEZ%20CARLOS%20ALBERTO-2007.pdf)

- Guzmán, L. (2014a). *EFEECTO DEL β -GLUCANO 1,3/1,6 SOBRE LA RESPUESTA INMUNE, LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DIGESTIVA Y LA EXPRESIÓN DE GENES DE *Lutjanus peru* y *Sparus aurata**. La Paz, Baja California Sur.
- Guzmán, L. (2014b). EFECTO DEL β -GLUCANO 1,3/1,6 SOBRE LA RESPUESTA INMUNE, LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DIGESTIVA Y LA EXPRESIÓN DE GENES DE *Lutjanus peru* y *Sparus aurata*, 13–15.
- Hahn-von-Hessberg, C. M., Grajales-Quintero, A., y Gutiérrez-Jaramillo, A. V. (2011). Parámetros hematológicos de *Tilapia nilótica* (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1757) con peso entre 250 g y 350 g, en el Centro Experimental Piscícola de la Universidad de Caldas. *Veterinaria y Zootecnia*, 5(1), 47–61.
- Hansen, J. D., Landis, E. D., y Phillips, R. B. (2005). Discovery of a unique Ig heavy-chain (IgT) in rainbow trout: Implications for a distinctive B cell developmental pathway in teleost fish. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(19), 6919–6924. <https://doi.org/10.1073/pnas.0500027102>
- Harikrishnan, R., Kim, J. S., Kim, M. C., Balasundaram, C., y Heo, M. S. (2012). Pomegranate enriched diet enhances the hematology, innate immune response, and disease resistance in olive flounder against *Philasterides dicentrarchi*. *Veterinary Parasitology*, 187(1–2), 147–156. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.12.006>
- J. Robert, A., O'Brien, M., y Subak-Sharpe, G. (2003). *NUTRICÉUTICOS. Suplementos nutricionales, vitaminas, minerales, oligoelementos, alimentos curativos* (EDICIONES). Barcelona, España: 1ª ed.
- Khachatryan, V., Sirunyan, A. M., Tumasyan, A., Adam, W., Bergauer, T., Dragicevic, M., ... Weinberg, M. (2010). Search for dijet resonances in 7 TeV pp collisions at CMS. *Physical Review Letters*, 105(21), 211801. <https://doi.org/10.1103/PHYSREVLETT.105.211801/FIGURES/4/MEDIUM>
- Kunttu, H. M. T., Valtonen, E. T., Suomalainen, L. R., Vielma, J., y Jokinen, I. E. (2009). The efficacy of two immunostimulants against *Flavobacterium columnare* infection in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish and Shellfish Immunology*, 26(6), 850–857. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2009.03.013>
- Méndez-Martínez, Y., Pérez-Tamames, Y., Torres-Navarrete, Y., y Reyes-Pérez, J. J. (2018). Vista de ESTADO DEL ARTE DEL CULTIVO DE TILAPIA ROJA EN LA MAYOR DE LAS ANTILLAS. *Revista de Ciencias Biológicas y de La Salud*, 15.
- Méndez, M. (2021). Actividad de la superóxido dismutasa en tejidos de langostinos de río caaque (*Macrobrachium americanum* Bate, 1868) alimentados con diferentes niveles

de proteínas y lípidos.

- Mendiola-campuzano, J., Vera-quñones, F., Alpuche-palma, A., y Ramos-ferrer, J. (2018). Análisis nutrimental , microbiológico y digestibilidad en un alimento para tilapia gris. Retrieved from www.reibci.org
- Morales-chaine, S. (2013). *MANUAL DE CRIANZA POSITIVA*. Nicovita. Retrieved from [http://www.industriaacuicola.com/biblioteca/Tilapia/Manual de crianza de tilapia.pdf](http://www.industriaacuicola.com/biblioteca/Tilapia/Manual%20de%20crianza%20de%20tilapia.pdf)
- Morales Díaz, A. (2003). *Biología, cultivo y comercialización de la tilapia* - (AGT Editor). Mexico.
- Nootash, S., Sheikhzadeh, N., Baradaran, B., Oushani, A. K., Maleki Moghadam, M. R., Nofouzi, K., ... Shabanzadeh, S. (2013). Green tea (*Camellia sinensis*) administration induces expression of immune relevant genes and biochemical parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish and Shellfish Immunology*, 35(6), 1916–1923. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.09.030>
- O'Hagan, D. T., MacKichan, M. L., y Singh, M. (2001). Recent developments in adjuvants for vaccines against infectious diseases. *Biomolecular Engineering*. Biomol Eng. [https://doi.org/10.1016/S1389-0344\(01\)00101-0](https://doi.org/10.1016/S1389-0344(01)00101-0)
- Olabuenaga, S. E. (2000). SISTEMA INMUNE EN PECES. *Gayana (Concepción)*, 64(2), 205–215. <https://doi.org/10.4067/s0717-65382000000200010>
- Ordaz, J., Melgar, M. del C., y Rubio, C. (2014). Métodos estadísticos y Económicos en la empresa y para finanzas. *Universidad Pablo de Olavide*, 1–237. Retrieved from https://www.upo.es/export/portal/com/bin/portal/upo/profesores/jaordsan/profesor/1311101268463_mxtodos_estadxsticos_y_economxtricos_en_la_empresa_y_para_finanzas.pdf
- Pallares Rivera, P., y Borbor Castillo, W. (2012). *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*. Escuela Politecnica Del Ejercito.
- Patiño, C. (2013). *Caracterización de las propiedades funcionales de la carne de caballa y tilapia en refrigeración y congelación*. UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN. Retrieved from <http://bibliotecas.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/2872/IPpafaca007.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Pérez, J. E., Muñoz, C., Huaquín, L., y Nirchio, M. (2004). Riesgos de la introducción de tilapias (*Oreochromis sp.*) (Perciformes: Cichlidae) en ecosistemas acuáticos de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural*, 77(1), 195–199. <https://doi.org/10.4067/s0716->

- Pérez M, M., Sáenz R., M., y Martínez G., E. (2015). Crecimiento de las tilapias *Oreochromis niloticus* en cultivo Monosexual y Ambos sexos, en sistemas de producción semi - intensivos. *Universitas (León). Revista Científica de La UNAN-León.*, 6(1), 72–79.
- PÉREZ, Y. M. (2019). RECuento DE LEUCOCITOS POR EL MÉTODo DE SEDIMENTACIÓN Y SU RELACIÓN CON EL MÉTODo DE CÁMARA DE NEUBAUER EN ORINA RECOLECTADAS EN EL LABORATORIO CLÍNICO DEL INSTITUTO MATERNO PERINATAL (INMP) DE LIMA EN EL AÑO 2017. *Tesis*, 63. Retrieved from http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/13540/COMUNICACION_FAMILIAR_FAMILIA_FLORES_BENAVENTE_TANIA_NOELIA.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Pizarro, S., Ronco, A. M., y Gotteland, M. (2014). Betaglucanos Que Tipos Existen Y Sus Beneficios. *Revista Chilena de Nutrición*, 41(3), 439–446.
- Ramos, J. (2014). *Evaluación de un inmunoestimulante (betaglucano) en la crianza de Broilers*. Retrieved from <http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/3317/2814/1/T-UCSG-PRE-TEC-AGRO-52.pdf>
- Ringø, E., Lødemel, J. B., Myklebust, R., Kaino, T., Mayhew, T. M., y Olsen, R. E. (2001). Epithelium-associated bacteria in the gastrointestinal tract of Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). An electron microscopical study. *Journal of Applied Microbiology*, 90(2), 294–300. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2001.01246.x>
- Rivero Hernández, M. (2011). Extracción Y Reología De B-Glucanos De Cebada Y Elaboración De Masas De Pan Sin Gluten Enriquecidas Con Los Extractos. *Universidad de Valladolid*, 37. Retrieved from <http://uvadoc.uva.es/handle/10324/1688>
- Rodriguez, Alemán, S. (2002). *Engorda De “Tilapia.”* UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO.” Retrieved from http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/5795/T13163RODR%CDGUEZ_ALEMAN_SERJIO_MONOG.pdf?sequence=1
- Roja, T., Fernando, L., y Campo, C. (2011). Tilapia roja 2011, 1–229.
- Rop, O., Mlcek, J., y Jurikova, T. (2009, November 1). Beta-glucans in higher fungi and their health effects. *Nutrition Reviews*. Oxford Academic. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2009.00230.x>
- Ruiz, I., Fernández, A., y Blas Giral, I. (2003). El sistema inmune de los teleósteos (III):

- Respuesta inmune específica. *AquaTIC: Revista Electrónica de Acuicultura*, (18), 33–38.
- Saavedra, M. (2006). Manejo del cultivo de tilapia.
- Sabogal-Cuadro, P., y Zakzuk, J. (2018). Basophil activation test: Technical aspects, methodology and clinical utility. *Revista Facultad de Medicina*. <https://doi.org/10.15446/revfacmed.v66n3.61820>
- Sáez, G., Chero, J., Cruces, C., Minaya, D., Rodríguez, C., Suyo, B., ... Iannacone, J. (2018). Parámetros hematológicos y de bioquímica sanguínea en diez especies de peces marinos capturados por pesquería artesanal en la Bahía del Callao, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 29(4), 1161–1177. <https://doi.org/10.15381/rivep.v29i4.15204>
- Sánchez Segura, M., González García, R. M., Cos Padrón, Y., y Macías Abraham, C. (2007). Estrés y sistema inmune. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 23(2), 1–2. Retrieved from http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892007000200001&lng=es&synrm=1&isoyt=es
- Sanz Larruga, M. L., García, M. C., Caballero, M. R., Diéguez, I., y Gamboa, P. M. (2003). Test de activación de basófilos en el diagnóstico de alergia a medicamentos. *Anales Del Sistema Sanitario de Navarra*, 26(SUPPL. 2), 39–47. <https://doi.org/10.4321/s1137-66272003000400006>
- Shin, H. S., Yoo, J. H., Min, T. S., Lee, K. Y., y Choi, C. Y. (2010). The effects of quercetin on physiological characteristics and oxidative stress resistance in olive flounder, *paralichthys olivaceus*. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 23(5), 588–597. <https://doi.org/10.5713/ajas.2010.90624>
- Sol 90. (2014). *Gran Atlas de la Ciencia. Insectos*. Barcelona: Encyclopedia Britannica, Inc.
- Soregui, M. A. C. (2019). *Identificación y caracterización ultraestructural de monogeneos presentes en las branquias de Tilapia del Nilo Oreochromis niloticus asociados a las lesiones histológicas procedentes de cultivos de la provincia de San Martín*. Universidad Peruana Cayetano Heredia.
- Suárez Arango, C., y Nieto, I. J. (2013, January 3). Cultivo biotecnológico de macrohongos comestibles: Una alternativa en la obtención de nutraceuticos. *Revista Iberoamericana de Micología*. Elsevier Doyma. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2012.03.011>
- Suplicy, F. (2003). Diagnóstico de la Cadena Productiva de la Maricultura en el Ecuador. Retrieved from <https://www.vicepresidencia.gob.ec/wp->

- Tafalla, C., Bøgwald, J., y Dalmo, R. A. (2013). Adjuvants and immunostimulants in fish vaccines: Current knowledge and future perspectives. *Fish and Shellfish Immunology*. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.02.029>
- Thawonsuwan, J., Kiron, V., Satoh, S., Panigrahi, A., y Verlhac, V. (2010). Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) affects the antioxidant and immune defense of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 36(3), 687–697. <https://doi.org/10.1007/s10695-009-9344-4>
- Uribe Gómez, C. A. (2009). Mecanismos Inmunológicos En Peces: Inmunidad Inespecífica Y Adaptativa E Inmunoprofilaxis. Revisión Bibliográfica., 26(4), 551–556.
- Vásquez-Piñeros, M. A., Rondón-Barragan, I. S., Eslava-Mocha, P. R., y Marina, B. (2012). Inmunoestimulantes en teleosteos: Probióticos, β -glucanos y LPS Immunostimulants in teleost fish: probiotics, β -glucans and lipopolysaccharides Inmunoestimulantes em teleósteos: Probióticos, Beta-glucanas e LPS. *Orinoquia*, 16(1), 46–62. Retrieved from <http://www.scielo.org.co/pdf/rori/v16n1/v16n1a06.pdf>
- Vásquez - Piñeros, M. A., Rondón - Barragan, I. S., y Eslava- Mocha, P. R. (2012). Inmunoestimulantes en teleosteos: Probióticos, β -glucanos y LPS. *Orinoquia*, 16(1), 46. <https://doi.org/10.22579/20112629.264>
- Vega-Ramírez, M. T., Moreno-Lafont, M., García-Flores, V., y López-Santiago, R. (2010). Respuesta inmune en peces BT - Inmunología veterinaria. *Inmunología Veterinaria*, (24), 303–308. Retrieved from <papers3://publication/uuid/38A9E9FC-B7AF-4887-AE6C-0697EA8AA53D>
- Verdezoto, W. L. (2017). *Análisis de la vida útil de la tilapia “Oreochromis” con empaque al vacío, centro de acopio guaslán ministerio de agricultura, ganadería, acuacultura y pesca*. ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO. Retrieved from <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/11492/1/84T00552.pdf>
- Weather Spark. (2021). El clima en vergel, el tiempo por mes, temperatura promedio - Weather Spark. Retrieved November 13, 2021, from <https://es.weatherspark.com/y/22257/Clima-promedio-en-Huancayo-Perú-durante-todo-el-año%0Ahttps://es.weatherspark.com/y/18277/Clima-promedio-en-Zorritos-Perú-durante-todo-el-año>
- Wilson, M. R., Ravenstein, E. van, Miller, N. W., Clem, L. W., Middleton, D. L., y Warr, G. W. (2001). cDNA sequences and organization of IgM heavy chain genes in two holostean fish. *Developmental and Comparative Immunology*, 19(2), 153–164.

[https://doi.org/10.1016/0145-305X\(94\)00063-L](https://doi.org/10.1016/0145-305X(94)00063-L)

Winslow, R. (2006). Hemoglobin. *Encyclopedia of Respiratory Medicine, Four-Volume Set*, 263–267. <https://doi.org/10.1016/B0-12-370879-6/00174-5>

Yuniel Méndez, M., Yuniel Pérez, T., Yeny Torres, N., y Reyes-Pérez, J. J. (2018). Estado Del Arte Del Cultivo De Tilapia Roja En La Mayor De Las Antillas. *Biotecnia*, 20(2), 15–24. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v20i2.593>

Zeković, D. B., Kwiatkowski, S., Vrvic, M. M., Jakovljević, D., y Moran, C. A. (2005, January 10). Natural and modified (1→3)-β-D-glucans in health promotion and disease alleviation. *Critical Reviews in Biotechnology*. Informa Healthcare. <https://doi.org/10.1080/07388550500376166>

CAPÍTULO VII

ANEXOS

Fotografía 1. Balanceado incluido β -glucano para alimentación de alevines de tilapia roja.



Fotografía 2. Establecimiento de experimento listo para la llegada de los alevines de tilapia roja.



Fotografía 3. Etiquetado de las gavetas del área experimental.



Fotografía 4. Semana de adaptación de los alevines de tilapia roja.



Fotografía 5. Toma de talla (cm) usando calibrador a alevines de tilapia roja del día 0 del experimento.



Fotografía 6. Toma de peso (g) usando gramera a alevines de tilapia roja del día 0 del experimento.



Fotografía 7. Obtención de la sangre de los alevines de tilapia roja mediante punción en la vena caudal.



Fotografía 8. Muestras de sangres de alevines tilapia roja rotuladas colocadas en bolso térmico con gel refrigerante.

