



# **UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO**

## **FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS**

### **CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

Unidad de Integración Curricular previo  
a la obtención del título de Ingeniero  
Agropecuario.

#### **Título de la Unidad de Integración Curricular:**

**“HISTOLOGÍA HEPATOSOMÁTICA EN JUVENILES DE  
TILAPIA ROJA (*Oreochromis mossambicus x Oreochromis niloticus*)  
CON INCLUSIÓN DE QUITOSANO EN DIETA.”**

#### **Autor:**

**Pedro Daniel Mendoza Carranza**

#### **Director de la Unidad de Integración Curricular:**

**Dr. Yuniel Méndez Martínez**

**Mocache – Los Ríos – Ecuador**

**2021**



# **UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO**

## **FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS**

### **CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

Unidad de Integración Curricular previo  
a la obtención del título de Ingeniero  
Agropecuario.

#### **Título de la Unidad de Integración Curricular:**

**“HISTOLOGÍA HEPATOSOMÁTICA EN JUVENILES DE TILAPIA ROJA  
(*Oreochromis mossambicus x Oreochromis niloticus*) CON INCLUSIÓN DE  
QUITOSANO EN DIETA.”**

#### **Autor:**

**Pedro Daniel Mendoza Carranza**

#### **Director Académico:**

**Dr. Yuniel Méndez Martínez**

#### **Tutor Académico:**

**Dr. Edilmar Cortes Jacinto**

**Mocache – Los Ríos – Ecuador**

**2021**

## **DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS**

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

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

---

**Mendoza Carranza Pedro Daniel**  
**C.I. 1206745307**  
**AUTOR**



**Acreditada**

Teléfonos : FCP (Fax) 783 487 UTEQ (593-05) 750 320 / 751 430 / 753 302

Fax UTEQ : (593 -05) 753 300 / 753 303 / 752 177

[E.mail.info@uteq.edu.ec](mailto:info@uteq.edu.ec) /fcp\_91@yahoo.es

FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS  
UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO  
CAMPUS UNIVERSITARIO LA MARÍA  
Km. 7 ½ Vía Quevedo-El Empalme, Entrada a Mocache



CASILLAS  
Guayaquil

:10672

Quevedo : 73

Quevedo – Los Ríos – Ecuador

*La Primera Universidad Agropecuaria del País. Acreditada*

## **CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

El suscrito, **Ing. Méndez Martínez Yuniel PhD**, Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que el estudiante, **Mendoza Carranza Pedro Daniel**, realizó el Proyecto de Investigación de grado titulado “**HISTOLOGÍA HEPATOSOMÁTICA EN JUVENILES DE TILAPIA ROJA (*Oreochromis mossambicus x Oreochromis niloticus*) CON INCLUSIÓN DE QUITOSANO 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,

---

**Ing. Méndez Martínez Yuniel, PhD**

**DIRECTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

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

Mocache, 16 de Marzo de 2021

Ingeniera  
Diana Veliz Zamora  
COORDINADORA DE CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

De mi consideración:

Dado que el suscrito es conocedor que el proyecto de investigación titulado “**HISTOLOGÍA HEPATOSOMÁTICA EN JUVENILES DE TILAPIA ROJA (*Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis niloticus*) CON INCLUSIÓN DE QUITOSANO EN DIETA**”, de autoría del señor **Mendoza Carranza Pedro Daniel**, estudiante de la carrera de INGENIERÍA AGROPECUARIA, del cual fui designado Profesor Tutor de Trabajo de Investigación. Proyecto que ha sido analizado a través de la herramienta URKUND, no incluyendo las listas de fuentes de comparación entre las cuales se encuentran las paginas preliminares de caratula, declaración de auditoria, certificación, agradecimientos, dedicatoria, índices, entre otras fuentes que no son utilizadas en el texto de la tesis.

Por lo expresado, CERTIFICO que el porcentaje validado por el URKUND es de **3% de similitud** (Figura 1), el mismo que es permitido por el mencionado Software, por lo cual solicito la continuación con los trámites pertinentes para solicitar fecha de sustentación del proyecto de investigación del señor **Mendoza Carranza Pedro Daniel**.

**Figura 1.** Certificación del porcentaje de confiabilidad (97%) y similitud (3%) de URKUND.

URKUND	
Documento	<a href="#">HISTOLOGÍA HEPATOSOMÁTICA EN JUVENILES DE TILAPIA ROJA.docx</a> (D98551670)
Presentado	2021-03-16 11:50 (-05:00)
Presentado por	Cristian Gabriel Zambrano Vega (czambrano@uteq.edu.ec)
Recibido	cristianzambrano.uteq@analysis.arkund.com
Mensaje	<a href="#">Mostrar el mensaje completo</a>
	3% de estas 13 páginas, se componen de texto presente en 1 fuentes.



Ing. Méndez Martínez Yuniel, PhD  
DIRECTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN



# UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO

FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

**Título de la Unidad de Integración Curricular:**

**“HISTOLOGÍA HEPATOSOMÁTICA EN JUVENILES DE TILAPIA ROJA (*Oreochromis mossambicus x Oreochromis niloticus*) CON INCLUSIÓN DE QUITOSANO EN DIETA.”**

**Título:**

Presentado a la Comisión Académica como requisito previo a la obtención del título de Ingeniero Agropecuario.

Aprobado por:

---

**Ing. Emma Torres Navarrete**  
**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL**

---

**Dr. Martín González Vélez**  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

---

**Dra. Ana Álvarez Sánchez**  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

## **AGRADECIMIENTO**

Quiero aprovechar estas líneas para agradecer a Dios, por haberme dado mucha fortaleza, conocimiento y ánimo en esta etapa universitaria, por ser siempre mi guía, y recibir sus Bendiciones día a día.

También agradecer el apoyo recibido por parte de toda mi familia, mis padres, que siempre han estado apoyándome, inculcándome buenos valores; responsabilidad, confianza, respeto, humildad etc., mis hermanos que supieron darme apoyo, a mi amada esposa la cual ha sido pilar fundamental y apoyo incondicional y acompañarme con dedicación, paciencia, y mucho amor para lograr esta tan anhelada meta y compartir esta felicidad, a mis suegros que de una u otra manera me supieron dar ese empujoncito para poder continuar, a mi prima Viviana Figueroa por brindarme su ayuda siempre que la necesite.

No puedo dejar de mencionar a mi director del proyecto de investigación, el Dr. Yuniel Méndez Martínez, que me permitió trabajar en esta investigación; gracias por el tiempo, la paciencia y el aporte de sus conocimientos.

También agradecer a todos los profesores que he conocido durante mi vida universitaria impartiendo sus enseñanzas. Mis compañeros de la UTEQ, me omito a dar nombres ya que fueron muchos aquellos que compartimos tantas experiencias dentro y fuera de aula pero agradezco ese apoyo mutuo muchísimas gracias, Dios los bendiga.

## **DEDICATORIA**

Dedico este logro a mis padres Roberto Mendoza y Rosa Carranza, a mi amada esposa Angélica Riquelme y a ese pequeño ser que fue mi motivación para no desmayar en tiempos difíciles mi hijo Dylan Mendoza; a mi mejor amigo y hermano José Antonio Triviño Gutiérrez quien se alegró cuando decidí continuar con mis estudio y hoy mirando hacia el cielo te dedico también este logro.

Ahora me toca ser recíproco y regresar un poquito de todo lo inmenso que me han otorgado a lo largo de mi formación Profesional. Con todo mi cariño esta tesis se las dedico a ustedes.

*Atte. Pedro Daniel Mendoza Carranza*

## RESUMEN

La tilapia necesita una demanda considerable de alimentos concentrados que garanticen un adecuado suministro y balance de nutrientes capaces de satisfacer los requerimientos nutricionales, donde la calidad de éste, va a repercutir directamente en el crecimiento y en la salud de los organismos. El objetivo del estudio fue analizar por medio de histología la respuesta hepatosomática en juveniles de tilapia roja (*Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis niloticus*) alimentados con concentraciones: 0, 1, 3 y 5% de inclusión quitosano en dieta. Para lo cual se empleó un diseño completamente al azar (DCA) con cuatro tratamientos y tres repeticiones (tanques experimentales) con una densidad de 15 juveniles de tilapia/tanque. El periodo de cultivo tuvo una duración de 55 días, luego se disectaron los hígados y procesaron por histología. En el índice hepatosomático no se registró diferencias estadísticas ( $p \leq 0.05$ ) el mayor promedio se registró en el T2 (1% de quitosano en la dieta) con 2,25%. En las variables área, diámetro y volumen de hepatocitos los valores más altos los obtuvo T4 (5% de quitosano en la dieta) difiriendo ( $p \leq 0.05$ ) del tratamiento de control. Con respecto a los diámetros del citoplasma y la relación área citoplasma/ área nuclear ( $\mu\text{m}^2$ ) de los hepatocitos, los valores más altos los obtuvo el T4 difiriendo ( $p \leq 0.05$ ) para el T1 y T2; en las variables relacionadas al tamaño del núcleo de los hepatocitos el T4 presento los mayores promedios difiriendo ( $P \leq 0.05$ ) del T2. Con respecto al tamaño de los sinusoides el mayor promedio lo registro el T4 con un diámetro  $6,78\mu\text{m}$  y una área de  $38,23 \mu\text{m}^2$ , se concluye que la adicción de quitosano en ninguno de los niveles de inclusión a la dieta, no causo ninguna alteración y mejoró a la morfohistología hepática.

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

## ABSTRACT

Tilapia needs a considerable demand for concentrated foods that guarantee an adequate supply and balance of nutrients capable of satisfying nutritional requirements, where the quality of this will have a direct impact on the growth and health of the organisms. The objective of the study was to analyze by means of histology the hepatosomatic response in juvenile red tilapia (*Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis niloticus*) fed with concentrations: 0, 1, 3 and 5% of chitosan inclusion in diet. For which a completely randomized design (DCA) with four treatments and three repetitions (experimental tanks) with a density of 15 juvenile tilapia / tank was used. The culture period lasted 55 days, then the livers were dissected and processed by histology. In the hepatosomatic index, no statistical differences were recorded ( $p \leq 0.05$ ), the highest average was recorded in T2 (1% chitosan in the diet) with 2.25%. In the variables area, diameter and volume of hepatocytes, the highest values were obtained by T4 (5% chitosan in the diet) differing ( $p \leq 0.05$ ) from the control treatment. Regarding the cytoplasm diameters and the cytoplasm area / nuclear area ratio ( $\mu\text{m}^2$ ) of the hepatocytes, the highest values were obtained by T4 differing ( $p \leq 0.05$ ) for T1 and T2; In the variables related to the size of the nucleus of the hepatocytes, T4 presented the highest averages, differing ( $P \leq 0.05$ ) from T2. Regarding the size of the sinusoids, the highest average was recorded by T4 with a diameter of 6.78  $\mu\text{m}$  and an area of 38.23  $\mu\text{m}^2$ , it is concluded that the addition of chitosan in any of the inclusion levels to the diet did not cause any alteration and improvement of liver morphohistology.

**Keywords:** biopolymer, hepatocytes, hepatosomatic index, nutrition, sinusoids

## TABLA DE CONTENIDO

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS .....	iii
CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	iv
CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO.....	v
AGRADECIMIENTO .....	vii
DEDICATORIA.....	viii
ABSTRACT .....	ix
CÓDIGO DUBLIN.....	ix
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I.....	3
CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN .....	3
1.1. Problema de investigación. ....	4
1.1.1. Planteamiento del problema. ....	4
1.1.2. Formulación del problema.....	5
1.1.3. Sistematización del problema.....	5
1.2. Objetivos.....	6
1.2.1. Objetivo general. ....	6
1.2.2. Objetivos específicos.....	6
1.3. Justificación. ....	6
CAPÍTULO II.....	8
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN .....	8
2.1. Marco conceptual.....	9
2.2. Marco referencial.....	10
2.2.1. Antecedentes de la tilapia.....	10
2.2.2. Origen de la tilapia roja. ....	10
2.2.3. Taxonomía de la tilapia roja.....	11
2.2.4. Tilapia roja en Ecuador.....	12
2.2.5. Zonas de cultivo de tilapia roja en el Ecuador.....	12
2.2.6. Empresas ecuatorianas que exportan tilapia roja.....	13
2.2.7. Morfología del género <i>Oreochromis</i> . ....	13
2.2.8. Hígado en tilapias. ....	14

2.2.9.	Histología de órganos dianas.....	15
2.2.10.	Histología hepática.....	15
2.2.11.	Índice hepatosomático.....	15
2.2.12.	Reproducción.....	16
2.2.13.	Sistemas de producción.....	16
2.2.14.	Requerimientos para el cultivo de tilapia roja.....	18
2.2.15.	Hábitos alimenticios de la tilapia roja.....	19
2.2.16.	Alimentación en alevines y juveniles de tilapia roja.....	20
2.2.17.	Determinación de la ración alimenticia en la tilapia roja.....	20
2.2.18.	Quitosano.....	20
2.2.19.	Historia del quitosano.....	21
2.2.20.	Métodos de obtención del quitosano.....	22
2.2.21.	Aplicaciones del quitosano.....	22
2.2.22.	Propiedades fisicoquímicas.....	23
2.2.23.	Quitosano en la alimentación de tilapias.....	24
2.2.24.	Investigaciones relacionadas.....	24
CAPÍTULO III .....		26
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....		26
3.1.	Localización y metodología.....	27
3.1.1.	Condiciones climáticas.....	27
3.2.	Tipo de investigación.....	27
3.3.	Método de investigación.....	28
3.3.1.	Método comparativo.....	28
3.3.2.	Método de observación.....	28
3.3.3.	Método experimental.....	28
3.4.	Fuentes de recopilación de información.....	28
3.5.	Diseño de la investigación.....	29
3.6.	Instrumentos de investigación.....	30
3.6.1.	Formulación, preparación y bromatología de dietas experimentales.....	30
3.6.2.	Condiciones de cultivo de los peces.....	31
3.6.3.	Obtención de muestras hepáticas.....	32
3.6.4.	Histológica por tinción Hematoxilina y Eosina (H&E).....	32
3.6.4.1.	Fijación.....	32

3.6.4.2. Deshidratación y aclaración .....	33
Aclaración:.....	33
3.6.4.3. Inclusión .....	33
3.6.4.4. Corte .....	33
3.6.4.5. Coloración con Hematoxilina - Eosina .....	34
3.6.4.6. Observación y fotodigitalización. ....	35
3.8. Recursos humanos y materiales. ....	37
3.8.1. Materiales y equipos. ....	38
3.8.1.3. Ingredientes y alimentos.....	39
CAPÍTULO IV .....	40
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	40
4.1. Índice hepatosomático. ....	41
4.2. Hepatocitos. ....	42
4.3. Sinusoides. ....	46
CAPÍTULO V.....	48
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	48
5.1. Conclusiones. ....	49
5.2. Recomendaciones. ....	50
CAPÍTULO VI .....	51
BIBLIOGRAFÍA .....	51
6.1. Bibliografía. ....	52
CAPÍTULO VI .....	59
ANEXOS .....	59

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Clasificación taxonómica de la tilapia roja.....	11
<b>Tabla 2.</b> Aplicaciones del quitosano.....	22
<b>Tabla 3.</b> Condiciones meteorológicas del Campus “La María” .....	27
<b>Tabla 4.</b> Esquema del ANOVA. ....	29
<b>Tabla 5.</b> Formulación y composición química de dietas experimentales con diferentes niveles de inclusión de quitosano. ....	31
<b>Tabla 6.</b> Descripción de los tratamientos.....	37
<b>Tabla 7.</b> Parametros de los hepatocitos de tilapia juvenil con inclusión de distintos porcentaje de quitosano en la dieta. ....	45

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Espécimen de tilapia roja (33).....	12
<b>Figura 2.</b> Corte transversal de hígado en juveniles de tilapia roja expuestos a diferentes niveles de quitosano en dieta.....	42

## ÍNDICE DE ECUACIONES

<b>Ecuación 1</b> .....	29
<b>Ecuación 2</b> .....	35
<b>Ecuación 3</b> .....	35
<b>Ecuación 4</b> .....	35
<b>Ecuación 5</b> .....	36
<b>Ecuación 6</b> .....	36
<b>Ecuación 7</b> .....	36
<b>Ecuación 8</b> .....	36
<b>Ecuación 9</b> .....	36
<b>Ecuación 10</b> .....	36
<b>Ecuación 11</b> .....	36
<b>Ecuación 12</b> .....	37
<b>Ecuación 13</b> .....	37

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> Análisis de varianza de la variable índice hepatosomático. ....	60
<b>Anexo 2.</b> Análisis de varianza del área de los hepatocitos $\mu\text{m}^2$ .; <b>Error! Marcador no definido.</b>	
<b>Anexo 3.</b> Análisis de varianza del diámetro de los hepatocitos $\mu\text{m}$ .; <b>Error! Marcador no definido.</b>	
<b>Anexo 4.</b> Análisis de varianza del volumen de los hepatocitos $\mu\text{m}^3$ .; <b>Error! Marcador no definido.</b>	
<b>Anexo 5.</b> Análisis de varianza área del citoplasm $\mu\text{m}^2$ . ....; <b>Error! Marcador no definido.</b>	
<b>Anexo 6.</b> Análisis de varianza del volumen del citoplasma $\mu\text{m}^3$ .; <b>Error! Marcador no definido.</b>	
<b>Anexo 7.</b> Relación de hepatocitos área citoplasma/ área nuclear ( $\mu\text{m}^2$ ).; <b>Error! Marcador no definido.</b>	
<b>Anexo 8.</b> Análisis de varianza del área del núcleo de los hepatocitos ( $\mu\text{m}^2$ ).; <b>Error! Marcador no definido.</b>	
<b>Anexo 9.</b> Análisis de varianza diámetro del núcleo $\mu\text{m}$ .; <b>Error! Marcador no definido.</b>	
<b>Anexo 10.</b> Análisis de varianza del volumen del núcleo $\mu\text{m}^3$ .; <b>Error! Marcador no definido.</b>	
<b>Anexo 11.</b> Análisis de varianza área del sinusoides $\mu\text{m}^2$ ....; <b>Error! Marcador no definido.</b>	
<b>Anexo 12.</b> Diámetro de sinusoides $\mu\text{m}$ . ....	61
<b>Anexo 13.</b> Índice hepatosomático. ....	62
<b>Anexo 14.</b> Sinusoides a nivel hepático. ....	62
<b>Anexo 15.</b> Actividades realizadas durante la investigación. ....	62

## CÓDIGO DUBLIN

<b>Título:</b>	“HISTOLOGÍA HEPATOSOMÁTICA EN JUVENILES DE TILAPIA ROJA ( <i>Oreochromis mossambicus</i> x <i>Oreochromis niloticus</i> ) CON INCLUSIÓN DE QUITOSANO EN DIETA”				
<b>Autor:</b>	Pedro Daniel Mendoza Carranza				
<b>Palabras clave:</b>	Biopolímero	Hepatocitos	Índice hepatosomático	nutrición	Sinusoides
<b>Fecha de publicación:</b>					
<b>Editorial:</b>	UTEQ				
<b>Resumen:</b>	<p>La tilapia necesita una demanda considerable de alimentos concentrados que garanticen un adecuado suministro y balance de nutrientes capaces de satisfacer los requerimientos nutricionales, donde la calidad de éste, va a repercutir directamente en el crecimiento y en la salud de los organismos. El objetivo del estudio fue analizar por medio de histología la respuesta hepatosomática en juveniles de tilapia roja (<i>Oreochromis mossambicus</i> x <i>Oreochromis niloticus</i>) alimentados con concentraciones: 0, 1, 3 y 5% de inclusión quitosano en dieta. Para lo cual se empleó un diseño completamente al azar (DCA) con cuatro tratamientos y tres repeticiones (tanques experimentales) con una densidad de 15 juveniles de tilapia/tanque. El periodo de cultivo tuvo una duración de 55 días, luego se disectaron los hígados y procesaron por histología. En el índice hepatosomático no se registró diferencias estadísticas (<math>p \leq 0.05</math>) el mayor promedio se registró en el T2 (1% de quitosano en la dieta) con 2,25%. En las variables área, diámetro y volumen de hepatocitos los valores más</p>				

	<p>altos los obtuvo T4 (5% de quitosano en la dieta) difiriendo (<math>p \leq 0.05</math>) del tratamiento de control. Con respecto a los diámetros del citoplasma y la relación área citoplasma/ área nuclear (<math>\mu\text{m}^2</math>) de los hepatocitos, los valores más altos los obtuvo el T4 difiriendo (<math>p \leq 0.05</math>) para el T1 y T2; en las variables relacionadas al tamaño del núcleo de los hepatocitos el T4 presento los mayores promedios difiriendo (<math>P \leq 0.05</math>) del T2. Con respecto al tamaño de los sinusoides el mayor promedio lo registro el T4 con un diámetro <math>6,78\mu\text{m}</math> y una área de <math>38,23 \mu\text{m}^2</math>, se concluye que la adicción de quitosano en ninguno de los niveles de inclusión a la dieta, no causo ninguna alteración y mejoró a la morfohistología hepática.</p>
<p><b>Abstract:</b></p>	<p>Tilapia needs a considerable demand for concentrated foods that guarantee an adequate supply and balance of nutrients capable of satisfying nutritional requirements, where the quality of this will have a direct impact on the growth and health of the organisms. The objective of the study was to analyze by means of histology the hepatosomatic response in juvenile red tilapia (<i>Oreochromis mossambicus</i> x <i>Oreochromis niloticus</i>) fed with concentrations: 0, 1, 3 and 5% of chitosan inclusion in diet. For which a completely randomized design (DCA) with four treatments and three repetitions (experimental tanks) with a density of 15 juvenile tilapia / tank was used. The culture period lasted 55 days, then the livers were dissected and processed by histology. In the hepatosomatic index, no statistical differences were recorded (<math>p \leq 0.05</math>), the highest average was recorded in T2 (1% chitosan in the diet) with 2.25%. In the variables area, diameter and volume of hepatocytes, the highest values were obtained by T4 (5% chitosan in the diet) differing (<math>p \leq 0.05</math>) from the control treatment. Regarding the cytoplasm diameters and the cytoplasm area / nuclear area ratio (<math>\mu\text{m}^2</math>) of the hepatocytes, the highest values were obtained by T4 differing (<math>p \leq 0.05</math>) for T1 and T2; In the variables related to the size of the nucleus of the hepatocytes, T4 presented the highest averages, differing (<math>P \leq 0.05</math>) from T2. Regarding the size of the sinusoids, the highest average was recorded by T4 with a diameter of <math>6.78 \mu\text{m}</math> and an area of <math>38.23 \mu\text{m}^2</math>, it is concluded that the</p>

	addition of chitosan in any of the inclusion levels to the diet did not cause any alteration and improvement of liver morphohistology.
<b>Descripción:</b>	85 hojas
<b>Uri:</b>	

# INTRODUCCIÓN

La tilapia se ubica entre las diez especies con mayor producción en la acuicultura mundial, con una contribución a la producción de aproximadamente el 20% del volumen total de peces, la cual se incrementa cada año. Entre esta producción se destaca el continente Asiático con un 72%, el 19% en África y el 9% en América (1; 2). Actualmente, el cultivo de esta especie comprende más de 100 subespecies agrupadas en seis géneros, dentro de la cual se destaca la producción de la tilapia roja, también conocida como “mojarra roja” producto de la hibridación entre especies. A nivel mundial, la tilapia roja sobrepasa el millón de toneladas de producción, después de la “carpa”, el pez más cultivado (3).

Su cultivo se puede desarrollar en estanques y jaulas, lo cual permite tres cosechas al año y se puede llevar a cabo no solo en agua dulce, sino también en aguas salobres. Las características antes mencionadas permiten categorizarla como una alternativa de fuente de proteína para los países en vías de desarrollo como el Ecuador (4). No obstante, el éxito en su producción, va a depender radicalmente de la eficiencia con que se manejen cada uno de los renglones que la integra. Entre ellos, la alimentación quizás sea el más importante, por el hecho de que este llega a representar desde un 40 hasta un 60 % de los costos totales de producción, debido a la utilización de alimentos de calidad y de alto contenido proteico (5).

Tomando en cuenta que la falta de recursos económicos y la escasez ocasional de alimento balanceado es una realidad a la que muchos productores rurales se enfrentan, es necesario analizar alternativas que permitan abaratar costos y producir de manera sostenible (6). Para lo cual será necesario evaluar nuevos ingredientes que permitan cumplir con los requisitos estándar de calidad nutricional, de rentabilidad y sobre todo de seguridad e inocuidad alimentaria y que a su vez permitan producir de manera idónea (7).

Por ello, con la creciente demanda de productos aptos para la elaboración de piensos más asequibles y cada vez más orgánicos, surge el uso del quitosano, el cual ha ganado más espacio durante la última década. Si bien su uso dentro de las actividades agropecuarias es mucho más reciente, hoy en día puede considerarse abundante y en aumento (8). Este componente es un derivado de la quitina, siendo un continuo de diferentes copolímeros de unidades de glucosamina N-acetil-D-glucosamina (9), sus partículas son de gran interés

debido a sus características fisicoquímicas como: biocompatibilidad, biodegradabilidad, no toxicidad, bioactividad y naturaleza policationica, las cuales han permitido desarrollar una amplia gama de nanocompuestos que tiene mayores actividades antibacterianas y propiedades inmunoestimulantes en la producción acuícola (10). Inclusive, se ha documentado recientemente que el quitosano estimula el sistema inmune en los peces, protegiéndolos contra enfermedades bacterianas y potenciando su metabolismo y aprovechamiento del alimento (11).

Una de las maneras de demostrar su viabilidad en la alimentación puede ser por medio del análisis histológico a través de su efecto sobre órganos diana (aquel que reacciona a un estímulo específico bien sea externo o interno) como el hígado, dada a la importancia que tiene este órgano en los procesos de desintoxicación, porque además de su función fisiológica de excreción, también actúa como órgano hematopoyético (12; 13; 14). En consideración a todo lo antes planteado la presente propuesta busca realizar un análisis histológico en hígados de juveniles de tilapia roja, al ser alimentados con distintos porcentajes de inclusión de quitosano, lo cual permitirá comprender el daño o beneficio producido en función a los niveles de inclusión en la dieta.

**CAPÍTULO I**  
**CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN**

## **1.1. Problema de investigación.**

### **1.1.1. Planteamiento del problema.**

Los países subdesarrollados ameritan soluciones rápidas a la crisis de desnutrición, originado por el aumento de la tasa demográfica, disminución del ingreso *per cápita* y deterioro de las economías nacionales, convirtiéndose en un asunto vigente y prioritario que requiere de la búsqueda de alternativas que contribuyan a mitigar sus estragos. Dicho problema se asocia tanto a la disponibilidad como a la falta de calidad de alimentos. La carencia de proteína animal y sus precios relativamente altos para la mayoría de los mercados, lo cual hace que se requiera de una producción más alta, una disminución de costos de producción y el foco en fuentes de proteína animal alternas. La piscicultura, ofrece una buena alternativa para este problema; sin embargo, a pesar de la larga tradición de las prácticas acuícolas en algunos países, realizadas durante muchos siglos, en el contexto mundial la acuicultura es un sector de producción de alimentos relativamente joven (15; 4). Tal es el caso de Ecuador, país que en los últimos años ha ganado mayor terreno en la producción de especies acuícolas en cautiverio, como la tilapia roja, y que posee una serie de condiciones favorables para impulsar el desarrollo de esta actividad (16), pero que en asuntos de investigación e innovación de prácticas aplicadas a su explotación ha demostrado tener un camino bastante largo que recorrer, especialmente en materia de problemas relacionados a la alimentación (17), así como su efecto en la morfofisiología y desarrollo de órganos con alta actividad metabólica como lo es el hígado, sumado a ello no existen reportes del uso biopolímeros como el quitosano en la histología hepática.

#### **Diagnóstico.**

Si bien la industria acuícola ha experimentado un rápido crecimiento con rendimientos de hasta 90,4 millones de toneladas en la cadena de suministro de alimentos del mundo (18; 19), en países como el Ecuador todavía existen vacíos en parámetros investigativos concernientes a la alimentación y su efecto en la morfología de órganos con alta actividad metabólica en tilapia roja como lo es el hígado, sumando el hecho de que no existen reportes del efecto de biopolímeros como el quitosano en la morfohistología hepática y siendo

necesario lograr una mejor comprensión de la incidencia de la inclusión de quitosano en dieta.

### **Pronóstico.**

A partir de la presente investigación se evaluará la inclusión de quitosano en alimentos balanceados, para juveniles de tilapia roja y para así comprender si sus propiedades podrían influir positivamente sobre la morfohistología hepática, lo cual a su vez puede repercutir positivamente en el metabolismo, desarrollo y crecimiento de los organismos.

#### **1.1.2. Formulación del problema.**

¿Podrán las distintas bondades del quitosano actuar de manera favorable sobre la morfohistología hepática de juveniles de tilapia roja?

#### **1.1.3. Sistematización del problema.**

¿Cuál nivel de inclusión de quitosano en la dieta de juveniles de tilapia roja permitirá un mejor índice hepatosomático?

¿La suplementación con quitosano en dieta generará modificaciones sobre los diámetros de los hepatocitos en juveniles de tilapia roja?

¿La inclusión de quitosano causara alteraciones en los sinusoides en juveniles de tilapia roja?

## **1.2. Objetivos.**

### **1.2.1. Objetivo general.**

Analizar por medio de histología la respuesta hepatosomática en juveniles de tilapia roja (*Oreochromis mossambicus x Oreochromis niloticus*) alimentados con concentraciones de 0, 1, 3 y 5% de quitosano en dieta.

### **1.2.2. Objetivos específicos.**

- Determinar el índice hepatosomático en juveniles de tilapia roja alimentados con inclusión de quitosano en dieta.
- Evaluar el efecto del quitosano en dieta sobre hepatocitos en hígado de juveniles de tilapia roja.
- Analizar el efecto del quitosano en dieta sobre las sinusoides hepático en juveniles de tilapia roja.

## **1.3. Justificación.**

La tilapia roja es un híbrido distribuido en todo el mundo; atractivo por su color y sus características zootécnicas (20). En la actualidad se encuentra catalogada dentro del grupo de peces con mayor futuro en cultivos comerciales ya que su periodo de crecimiento es relativamente más corto al de otras especies y presenta alta adaptabilidad a diferentes ambientes de producción (21).

Sin embargo, este crecimiento acelerado en su producción tanto en el Ecuador como demás países productores, implica una demanda considerable de alimentos concentrados que garanticen un adecuado suministro y balance de nutrientes capaces de satisfacer los requerimientos nutricionales, donde la calidad de éste, va a repercutir directamente en el crecimiento y en la salud de los organismos (22). Por ello, el desarrollo de dietas e inclusión de nuevos ingredientes de alta calidad nutricional, bajo impacto ambiental y económicamente rentables para el piscicultor, son una necesidad apremiante de la industria

de alimentos balanceados para peces, especialmente para uso en sistemas de producción intensivos (23; 24).

Es por lo expuesto anteriormente, que mediante la presente investigación se plantea evaluar la inclusión de quitosano en alimentos balanceados, y así demostrar su viabilidad en la alimentación de juveniles de tilapia roja, para ello será necesario determinar su efecto sobre las funciones hepáticas de los especímenes en la investigación.

**CAPÍTULO II**  
**FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN**

## **2.1. Marco conceptual.**

### **Bioestimulante natural.**

Los bioestimulantes constituyen sustancias, que por su acción pueden estimular el crecimiento de la planta, mejorar la absorción de nutrientes e incrementar los rendimientos en condiciones de estrés ambiental, independientemente de que contengan elementos nutrientes en su composición (25).

### **Índice hepatosomático.**

Este índice determina la proporción del peso del hígado con respecto al peso corporal total, la cual se utiliza para medir las reservas de energía del organismo (26).

### **Juveniles.**

Los peces juveniles son sexualmente inmaduros e incapaces de reproducirse y son los peces adultos, los que ya han alcanzado el tamaño y la edad adecuada para reproducirse, los que desovan cada año, razón por la cual a esta parte de la población se la identifica como la población desovante que, como vemos, está integrada por una fracción del total de individuos que componen la población, donde están representados todos los peces que ya han alcanzado la edad adulta o la edad de la primera madurez (27).

### **Quitosano.**

El quitosano es un compuesto insoluble en agua, pero soluble en medio ácido. Se obtiene del biopolímero quitina, mediante procesos secuenciales de desmineralización, desproteinización y desacetilación (28).

## **Tilapia roja.**

Considerada una de las especies dulceacuícolas más exitosa; debido a que existe alta demanda en el mercado interno, así como los excelentes precios y demanda de filetes existente en el mercado internacional (29).

## **2.2. Marco referencial.**

### **2.2.1. Antecedentes de la tilapia.**

El consumo y comercialización de la tilapia inicia en África a principios del siglo XX, debido a la importancia nutricional para la época, en 1940 se da la primera introducción en Asia con la tilapia de Mozambique: *Oreochromis mossambicus*. Durante la segunda guerra mundial el ejército japonés distribuye la especie por todo el sudeste asiático. A partir de ello la FAO registra su cultivo comercial en el sudeste asiático, cercano Oriente, África, Europa, Estados Unidos y Latinoamérica (30). Actualmente la especie *Oreochromis mossambicus* ha sido reemplazada en gran parte por la tilapia del Nilo, *O. Niloticus*, por su mejor adaptabilidad a estanques. En la actualidad, la producción acuícola de tilapia se ha globalizado con una gran expansión a nivel mundial, La FAO ha registrado estadísticas de producción de tilapia para 135 países y territorios de todos los continentes (31).

### **2.2.2. Origen de la tilapia roja.**

La primera tilapia roja, se produjo en Taiwán a finales de los años 60's, fue una cruce entre una hembra mutante rojiza-anaranjada de tilapia mozambique y un macho normal de tilapia del Nilo. Esta se llamó tilapia roja Taiwanesa. Otra raza roja de tilapia fue desarrollada en Florida en los 70's por un cruzamiento de una tilapia Zanzíbar hembra de coloración normal con una tilapia mozambique rojo oro. Una tercera raza de tilapia roja fue desarrollada en Israel a partir de un mutante de tilapia del Nilo rosa cruzado con una tilapia azul silvestre. Las tres razas originales han sido cruzadas con otras tilapias rojas de origen no reportado u otras especies de *Oreochromis* silvestres (32).

En la actualidad, la tilapia roja se encuentra altamente distribuida, convirtiéndose en el pez más cultivado a nivel mundial, por sus condiciones de adaptabilidad, reproductivos, resistencia a enfermedades, además su potencial comercialización debido a sus características nutritivas para el consumo humano y su bajo costo de producción (31).

### **2.2.3. Taxonomía de la tilapia roja.**

La clasificación taxonómica se presenta en la siguiente tabla:

**Tabla 1.** *Clasificación taxonómica de la tilapia roja*

#### Taxonomía de la tilapia roja

<b>Reino</b>	Animal
<b>Phylum</b>	Cordata
<b>Grupo</b>	Craniana (Vertebrata)
<b>Superclase</b>	Piscis
<b>Clase</b>	Osteichtys
<b>Orden</b>	Perciformes
<b>Familia</b>	Cichlidae
<b>Género</b>	Oreochromis

**Fuente:** (33).



**Figura 1.** *Espécimen de tilapia roja* (34)

#### **2.2.4. Tilapia roja en Ecuador.**

Aunque no se conoce con exactitud la fecha de ingreso de la tilapia en Ecuador se calcula que probablemente fue introducida en el 1965, desde Colombia a Santo Domingo, fue introducida por agricultores privados de Brasil. Se sabe que la tilapia se estableció en el río Chone, que se encuentra en la provincia de Manabí (35). El cultivo del híbrido rojo de tilapia dorada o negra, representa un gran potencial para continuar diversificando la acuicultura en el Ecuador. La producción de la tilapia para venta en los grandes mercados de los Estados Unidos de Norteamérica se está promoviendo por determinadas empresas ecuatorianas y en el futuro este cultivo tenderá a convertirse en un gran potencial significativo para la economía de nuestro país. En los mercados foráneos la aceptación de la tilapia es una realidad, en tal virtud ha motivado estudios y análisis de cultivo y producción (36).

#### **2.2.5. Zonas de cultivo de tilapia roja en el Ecuador.**

En Ecuador la zona de cultivo y de mayor desarrollo de la tilapia se encuentra a lo largo de toda la costa ecuatoriana, especialmente en la provincia de Los Ríos, Guayas, El Oro, Manabí, Esmeraldas (37). Los principales centros y granjas de cultivo están ubicados predominantemente en la zona de Taura y la península de Santa Elena provincia de Guayas; Puerto López, Machalilla, Bahía y Chone, San Vicente, Jama y Pedernales en la provincia

de Manabí, Puerto Bolívar, Machala y en las Islas del Archipiélago de Jambelí en la provincia de El Oro. Así mismo, en la provincia de Esmeraldas se están explotando importantes zonas de cultivo de tilapia, como son las zonas de la Tola, Muisne, San Lorenzo, Atacamas, Camarones. En menor escala, se están implementando diversas granjas de cultivo de tilapia en los cantones de Babahoyo, Vinces y Pueblo viejo en la provincia de Los Ríos, zonas de cultivo que en un periodo cercano tendrán enorme importancia en la producción de tilapia en el Ecuador (36).

### **2.2.6. Empresas ecuatorianas que exportan tilapia roja.**

En el año 2000, Ecuador desplazó a Costa Rica y se convirtió en un importante abastecedor de filetes frescos a Estados Unidos. Las empresas ecuatorianas que se dedican a la comercialización del producto hacia Estados Unidos y la Unión Europea son:

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

### **2.2.7. La acuicultura.**

Gonzalez Martin (39), menciona que la acuicultura es el cultivo de organismos acuáticos tanto en zonas costeras como del interior que implica intervenciones en el proceso de cría para aumentar la producción. Actualmente, la acuicultura es el sector de más rápido crecimiento para producción de alimentos, representado casi el 50 por ciento de la producción de alimentos del mundo.

### **2.2.8. Morfología del género *Oreochromis*.**

A cada lado de la cabeza, la tilapia presenta un solo orificio nasal que sirve simultáneamente como entrada y salida de la cavidad nasal. El cuerpo es generalmente comprimido y discoidal, es decir, raramente alargado. La boca es frecuentemente ancha y bordeada por los

labios gruesos; las mandíbulas presentan dientes cónicos y, en algunas ocasiones dientes incisivos. Para su locomoción posee aletas pares e impares; las aletas pares son las pectorales y las ventrales mientras que las aletas impares la constituyen las dorsales, caudal y anal. La parte anterior de la aleta dorsal y anal es corta, consta de varias espinas; la aleta dorsal se dispone en forma de cresta. La aleta caudal es redonda y trunca (40).

### **2.2.9. Hígado en tilapias.**

En la tilapia el hígado se localiza en la región media y anterior de la cavidad abdominal, se divide en lóbulos que se relacionan con el intestino a lo largo de la cavidad. Esta glándula está constituida por un estroma y parénquima. El estroma corresponde al tejido de sostén, como la cápsula que recubre, protege e individualiza al órgano. Desde la cápsula parten tabiques hacia el interior, en el cual se encuentra un retículo de tejido conectivo laxo que sostiene al parénquima (41). El parénquima está representado por dos componentes anatómicos: el hepático y el pancreático. El componente hepático corresponde a una glándula mixta compuesta por los hepatocitos (función endocrina) y a un sistema de conductos que drena la bilis (función exocrina). Los hepatocitos son células poliédricas, grandes con un núcleo redondo con un nucléolo característico. Estas células forman cordones o acúmulos organizados al lado de la sinusoide constituido por endotelio y lámina basal. Asociados a la estructura de la sinusoide se encuentran macrófagos (células de Kupfer) pertenecientes al sistema retículo endotelial y constituyen la primera línea de defensa del hígado (13).

La membrana celular del hepatocito, en sus superficies laterales se evagina formando microvellosidades que se proyectan hacia un espacio ubicado entre el hepatocito y la sinusoide, denominado espacio perisinoidal (de Disse), en el cual son absorbidas, moléculas que difunden desde el plasma sanguíneo de la sinusoide, cuyo flujo proviene de la vena portal y de la arteria hepática. Así mismo las sustancias metabolizadas por el hepatocito difunden hacia el espacio de Disse y de éste hacia la sinusoide, drenado por la vena central, la cual se ubica en el centro de cada lobulillo; éstas se anastomosan formando la vena hepática que lleva la sangre a la circulación general (13).

### **2.2.10. Histología de órganos dianas.**

La histología constituye una herramienta sensible y específica mediante la cual se pueden apreciar alteraciones en los tejidos. Los órganos que reaccionan a ese tóxico son órganos diana. Algunos órganos, más que otros, también podrían ser muy susceptibles a cambios inducidos por factores abióticos como la temperatura. Entre los órganos a considerar para las evaluaciones histológicas, tanto en vertebrados como en invertebrados acuáticos, están las branquias, el hígado y el riñón: las branquias debido a que son los órganos directamente expuestos y los más susceptibles a las variaciones ambientales; el hígado, dada a la importancia que tiene en los procesos metabólicos, y los riñones, porque además de su función fisiológica de excreción, también actúa como órgano hematopoyético de los peces (12).

### **2.2.11. Histología hepática.**

La histopatología hepática como biomarcador tiene una amplia aplicación, la presencia de lesiones inflamatorias, toxicohepáticas, preneoplásicas, y neoplásicas, se han convertido en una valiosa herramienta integrativa en programas de monitoreo ambiental (13). Un hígado sano es, normalmente, de color rojo oscuro, aunque en los peces herbívoros puede aparecer de color marrón (42). El hígado en los peces realiza funciones que los mamíferos hacen por separado con el hígado y el páncreas. El hígado en los peces realiza funciones tanto hepáticas como pancreáticas; es el órgano metabolizador por excelencia de todas las sustancias que le llegan por vía sanguínea, por lo cual, este órgano sirve como referente histológico para el análisis del daño tisular causado por sustancias contaminantes del medio ambiente como pesticidas, metales pesados y otros.

### **2.2.12. Índice hepatosomático.**

El índice hepatosomático es la proporción del peso del hígado con respecto al peso corporal total, la cual se utiliza para medir las reservas de energía de un animal, especialmente de los peces (43).

Esta variable se usa con mayor frecuencia en la evaluación de peces bajo condiciones de cultivo, debido a que por causas de estrés la misma tiende a aumentar. El crecimiento del componente hepático (hígado) puede deberse a la hiperplasia o hipertrofia como respuesta adaptativa de desintoxicarse de compuestos extraños o por procesos patológicos. Por el contrario, algunas fuentes de contaminación, efectos de baja digestión y deficiencia alimentaria (nutrientes), pueden conllevar a la reducción del índice hepatosomático. Otro factor que puede influir sobre esta, son las altas infestaciones parasitarias, las cuales ocasionan que los peces disminuyan la ingesta de alimento, lo que conlleva a una reducción del índice hepatosomático, ya que el hígado funciona como fuente de almacenamiento y transferencia de proteínas y lípidos (44).

### **2.2.13. Reproducción.**

El proceso de reproducción de la especie *Oreochromis* sp comienza con la excavación de nidos, realizadas por los machos, a menos de 1 m de profundidad de los cuerpos de agua donde habitan. La hembra desova 2 huevos por gramo de peso corporal y luego de la fertilización de la puesta por el macho, los escoge e incuba en la boca hasta su nacimiento. Las larvas al nacer quedan en la cavidad bucal hasta la reabsorción de su vesícula vitelina y buscan, a menudo, refugio durante varios días hasta después de inflar su vejiga natatoria. La madurez sexual se alcanza a temprana edad, cuando su talla corporal es pequeña. Los estanques en el tópicico por sus condiciones permiten a los peces presentar la madurez sexual a los 5 meses con peso aproximado de 150 g aunque en condiciones de alimentación limitada, pueden reproducirse a pesos tan bajos como 20 a 30 g (38).

### **2.2.14. Sistemas de producción.**

Los sistemas de producción de tilapia varían desde sencillos a muy complejos; los sistemas de manejo sencillos se caracterizan por poco control sobre la calidad del agua, el valor nutricional del alimento y por producciones bajas. Los sistemas de cultivo tradicionales son: extensivo, semi-intensivo e intensivo (45).

#### **2.2.14.1. Cultivo Extensivo.**

Se caracteriza por un grado mínimo de modificación del medio ambiente, existiendo muy poco control sobre, calidad y cantidad del agua, de los insumos agregados para estimular, suplementar o reponer la cadena alimenticia. El estanque tiene un sistema de drenaje, no hay control completo sobre el abastecimiento del agua; la densidad de siembra varia, pero comúnmente emplea cantidades menores a 10 peces / m<sup>2</sup>; la productividad natural que es la base de la cadena alimenticia de la nutrición del pez, es estimulada sólo por los nutrientes contenidos en el agua que se usa para llenar el estanque o proveniente del suelo (45).

#### **2.2.14.2. Cultivo semi-intensivo.**

En este tipo de cultivo se encuentran en producción 5 ha (con un potencial de 5 000 ha) que producen anualmente 45,5 5 ton, con un rendimiento de 0.5 kg/m<sup>2</sup>/año. La densidad de siembra es de 4 peces/m<sup>2</sup>, realizándose el monocultivo de tilapia. No se emplea recambio de agua y se suministra alimento concentrado 2 veces al día, obteniéndose un factor de conversión de 1,78. El periodo de cultivo es de 180 días y la supervivencia del 97% (46).

#### **2.2.14.3. Cultivo intensivo.**

En estos sistemas se ha hecho una modificación sustantiva sobre el medio ambiente, con control completo sobre el agua, especies sembradas y cosechadas, mayor control sobre la calidad de agua (ya sea a través de aireación o con recambios diarios) y todo nutriente necesario para el crecimiento que proviene del suministro de un alimento completo. Las densidades de siembra de los peces se encuentran generalmente en un rango mayor a 25 peces/m<sup>2</sup> (47).

#### **2.2.14.4. Cultivo super-intensivo.**

El cultivo super intensivo se desarrolla en estanques de concreto o de geomembrana de 100 a 500 m<sup>3</sup>, densidades entre 15 a 20 ejemplares por m<sup>2</sup>, recambios de agua de 700%, la producción es de 500 TM/Ha/año, la conversión alimenticia es de 2,2 a 1 y con una aireación de 8 HP/1000 m<sup>2</sup> (48).

## **2.2.15. Requerimientos para el cultivo de tilapia roja.**

Entre los factores ambientales más importantes se destaca: la temperatura, oxígeno disuelto, pH y transparencia del agua de los estanques y amoníaco, las cuales influyen en los aspectos productivos y reproductivos de estos peces; es por esto que se debe mantener los rangos óptimos que se describirán a continuación para el desarrollo normal de la tilapia roja (29).

### **2.2.15.1. Temperatura.**

Para el cultivo de tilapia roja es necesaria una temperatura que fluctúe entre 28 a 32°C. Los cambios de temperatura afectan directamente la tasa metabólica, mientras mayor sea la temperatura, mayor será la tasa metabólica aumentando el consumo de oxígeno (49).

### **2.2.15.2. Oxígeno disuelto.**

El rango requerido de oxígeno disuelto está por encima de los 4,5 mg/L. Por este motivo si se presentaren rangos menores de oxígeno se verían las siguientes consecuencias:

- 0,0-0,3 (Los peces pequeños sobreviven en cortos períodos).
- 0,3-2,0 (Letal en exposiciones prolongadas).
- 3,0-4,0 (Los peces sobreviven, pero crecen lentamente).
- >4,5 (Rango deseable para el crecimiento del pez) (29).

### **2.2.15.3. pH.**

El cultivo requiere un pH dentro del estanque promedio de 7,5 para que favorezca el desarrollo de la productividad natural del estanque; mientras más estable permanezca el pH, mejores condiciones se propiciarán para la productividad natural misma que constituye una fuente importante de alimento en estanques (50).

#### **2.2.15.4. Transparencia del agua.**

Se recomienda hacer recambios de agua que puede ser continuo o bajando el nivel del agua entre 30 y 40 cm para reponerla con agua nueva, se debe obtener un color verde claro en el agua (29).

#### **2.2.15.5. Amoniaco.**

Se trata de un producto de desecho, que proviene de la excreción nitrogenada de los propios peces en cultivo o también de la descomposición de desechos orgánicos existentes dentro del sistema. El amoníaco y los nitritos son tóxicos para los peces, pudiendo producir la muerte directamente según las concentraciones registradas. En concentraciones no letales afecta la respuesta en crecimiento de los peces e influye sobre la incidencia de enfermedades. La concentración del amoníaco se eleva durante el cultivo a medida que este transcurre, por lo que el productor deberá estar atento a su evolución. Conviene realizar mediciones semanales cuando se trata de cultivos intensivos donde el nivel de ofrecimiento de alimento externo es alto y en los cultivos abiertos, con registros de tipo periódico. Los registros de pH y amoníaco en los estanques deben realizarse hacia fines de la tarde debido a que ambas variables aumentan a lo largo del día, cuando el cultivo se efectúa a cielo abierto (51).

#### **2.2.16. Hábitos alimenticios de la tilapia roja.**

La tilapia es un pez omnívoro, es decir, que se alimenta de todo lo que encuentra en el agua que le sirva de alimento como: algas microscópicas, insectos, frutas, y otra amplia gama de alimentos naturales, pero, además se adapta fácilmente al consumo de alimento concentrado, lo que facilita aún más su cultivo consiguiendo altas producciones en un corto plazo y excelentes rendimientos en carne de pescado (52).

### **2.2.17. Alimentación en alevines y juveniles de tilapia roja.**

Usualmente, la fase de alevinos en tilapia, comienza cuando estos alcanzan peso entre 0,2 – 1,0 g y termina con un peso promedio de 8,0 g. Cuando inicia la fase de alevinaje, la alimentación se complementa con producción de plancton en la columna de agua (fertilización orgánica) más concentrado que incluye harina de pescado (35% proteína cruda) con una frecuencia de alimentación de 7 a 8 veces al día. Las tasas de alimentación están en el rango de 30% de la biomasa al inicio hasta un 10% al final de la fase de alevinaje. Algunos productores tailandeses de tilapia en la primera fase de crecimiento (larval); alimentan con una fina harina de pescado (60% proteína cruda) para abastecer necesidades nutritivas e iniciar la alimentación. El inicio de la alimentación, antes de absorbido el saco vitelino, parece beneficioso para las tilapias en su fase inicial de producción (53).

### **2.2.18. Determinación de la ración alimenticia en la tilapia roja.**

La alimentación de las larvas de tilapia roja, en sus primeros días de vida, está garantizada por los nutrientes contenidos en el saco vitelino. Una vez la larva absorbe del 60 al 75% del saco vitelino, esta presenta mayor actividad y por lo tanto, se debe comenzar a suministrar el alimento.

En el primer mes, se administra alimento para tilapia que contiene un nivel de proteína del 45%. Luego, durante 15 días, se aplica el 40% de proteínas. Otros 30 días se aplica el 35% de proteínas; mientras otros 45 días se suministra el 32% de proteínas y el 28% en el engorde final. La cantidad de alimento a proporcionar, se calcula realizando muestreos de siembra cada 14 días. Para ello se pesa un 1% de la siembra total. Se verifica el crecimiento logrado por día y el factor de conversión alimenticia y así determinar el costo de producción (54).

### **2.2.19. Quitosano.**

El quitosano es la forma N-desacetilada de la quitina, es una modificación de la quitina y posee mejores propiedades de reactividad y solubilidad. Se obtiene al sustituir los grupos acetamido de esta por grupos amino, al tratar la quitina con álcalis fuertes. Se ha descrito

como un polímero catiónico lineal, biodegradable, de alto peso molecular, de fácil aplicación y ambientalmente amigable (55).

El quitosano es un poliaminosacarido producido por la N-desacetilación de la quitina, este material exhibe propiedades fisicoquímicas únicas; es biocompatible, no toxico, y además es biodegradable, lo que ha generado un interés potencial para su uso en recubrimientos comestibles. Además de estas propiedades los filmes de quitosano actúan como de barrera al oxígeno y poseen actividad bactericida y fungicida contra algunos patógenos de frutos. Sin embargo, por su carácter hidrofílico, el quitosano requiere la presencia de aditivos para generar o incrementar su hidrofobicidad, al tiempo en que se busca mejorar sus propiedades mecánicas(56).

### **2.2.20. Historia del quitosano.**

El quitosano fue descubierto en 1859 por C. Rouget al tratar la quitina con hidróxido potásico obtuvo un compuesto similar a la quitina pero soluble en ácidos orgánicos. Otra diferencia notable a simple vista fue que este nuevo compuesto se tornaba de color violeta en soluciones diluidas de yoduro y ácido, mientras la quitina era verde. C. Rouget llamó a este nuevo compuesto “quitina modificada”. No obstante, el nombre de este compuesto fue dado por Hoppe-Seiler en 1894 quien lo llamo por primera vez “Chitosan” (Quitosano en castellano). Una vez se confirmó que se había descubierto un nuevo compuesto, las primeras investigaciones acerca del quitosano fueron encaminadas en encontrar la manera de extraerlo, así como, sus potenciales aplicaciones. Fue en 1930 cuando se encontró su presencia en el exoesqueleto de crustáceos y no fue hasta 1950 cuando se descubrió que también estaba presente junto a la quitina en las paredes de ciertos hongos. Es por ello, que las aplicaciones del quitosano, así como su producción a nivel industrial es algo muy reciente y novedoso (57).

### 2.2.21. Métodos de obtención del quitosano.

Se han desarrollado varios procedimientos para la obtención de quitosano en los últimos años. El método más utilizado es la reacción de conversión de quitina en este polisacárido natural principalmente por N-desacetilación alcalina. Dicho proceso se realiza mediante el tratamiento directo de la quitina con una solución concentrada de hidróxido de sodio o potasio (40-50 %) a una temperatura de 100 °C o más, con hidrólisis de la mayoría o todos los grupos acetilos del polímero (58).

Otro de los procedimientos de obtención de este polímero, es también la desacetilación de la quitina, pero mediante el uso de reactivos ácidos; sin embargo, este método puede provocar la hidrólisis del polisacárido y traer como consecuencia, bajos rendimientos del producto final (quitosano). Por esta razón, los métodos alcalinos son los procesos comúnmente empleados para la desacetilación de la quitina (59).

### 2.2.22. Aplicaciones del quitosano.

Las aplicaciones del quitosano son muy amplias, existiendo sectores en los que su utilización es habitual y conocida, y otros en los que constituye actualmente una interesante vía de investigación. A continuación, se muestran algunas de las aplicaciones de este biopolímero (Tabla 2) (60).

**Tabla 2.** *Aplicaciones del quitosano.*

<b>Campo</b>	<b>Aplicación</b>
<b>Alimentos</b>	Antioxidante, suplemento dietético (fuente de fibra), reductor de colesterol, prebiótico, conservantes, estabilizante y espesante, recubrimiento de protección fungistático y antibacteriano, antitumoral, hemostático y anticoagulante, bacteriostático, sistema de liberación de drogas
<b>Agricultura</b>	Mecanismo defensivo en plantas, estimulante del crecimiento, recubrimiento de semillas, sistema de liberación de fertilizantes
<b>Cosméticos</b>	Humectante, tonificante, gelificante para cremas y lociones
<b>Tratamientos de agua</b>	Floculante, eliminación de iones metálicos, reductor de olores, remoción de tintes y colorantes

**Fuente:** (61).

## **2.2.23. Propiedades fisicoquímicas.**

### **2.2.23.1. Peso molecular y viscosidad.**

Exhibe una amplia gama de viscosidades en los medios ácidos diluidos que dependen principalmente de su peso molecular, el cual es más reducido en comparación a la quitina. Además, debido a su alta viscosidad, que se asemeja a la de las gomas naturales, el quitosano puede emplearse como espesante, estabilizante o agente de dispersión (62).

### **2.2.23.2. Grado de desacetilación.**

Permite diferenciar el quitosano de la quitina y determina las propiedades químicas, físicas y biológicas del quitosano, este parámetro refleja el balance entre las unidades repetitivas 2-Acetilamina-2desoxi-D-(+)-Glucopiranosas y el 2-amino-2desoxi-D-Glucopiranosas, normalmente el quitosano comercial tiene un grado de desacetilación del 70 al 90% y en algunas aplicaciones biomédicas se utiliza con un grado de desacetilación mayor al 95% (63).

### **2.2.23.3. Solubilidad.**

El quitosano es normalmente soluble a un pH menor de 6 y los factores que se deben tener en cuenta cuando se solubiliza son, el grado de desacetilación y la distribución de los grupos acetilos y aminos a lo largo de la cadena. El mejor solvente para solubilizar el quitosano es el ácido fórmico, el más utilizado es el ácido acético, también es soluble en ácido clorhídrico, ácido nítrico y ácido cítrico, es insoluble en ácido sulfúrico y fosfórico (63).

#### **2.2.23.4. Toxicidad.**

El quitosano es considerado no tóxico y como un polímero biológicamente compatible con los seres vivos. Se ha establecido que este polisacárido no puede ser digerido por los humanos, por lo que se considera como una fibra con cero calorías. El quitosano ha sido aprobado en aplicaciones dietarias en Japón, Italia y Finlandia, este tiene un efecto en los ácidos biliares usados por el cuerpo para emulsificar contenidos insolubles como lípidos y colesterol en el estómago, previniendo su flujo a través de la mucosa intestinal y precipitándolos en el intestino delgado (63).

#### **2.2.24. Quitosano en la alimentación de tilapias.**

Se ha documentado que el quitosano promueve el sistema inmune en los peces, protegiendo de esta forma a los peces en cultivo contra las enfermedades bacterianas. No obstante, algunos estudios también han documentado que el quitosano afecta negativamente el crecimiento de la tilapia, lo cual podría estar asociado con la absorción de nutrientes y el tamaño de las partículas de quitosano. Mediante el uso de la nanotecnología, las nanopartículas de quitosano se producen para su uso como transportes de medicamentos que los liberan de forma controlada. Las nanopartículas de quitosano exhiben actividades biológicas más intensas. Diversos investigadores han reportado que las nanopartículas de quitosano incrementan el rendimiento en crecimiento y la calidad de carne de la tilapia (64).

#### **2.2.25. Investigaciones relacionadas.**

- Abdel (10), realizó un experimento, el cual consistió en alimentar tilapias del Nilo con nanopartículas de quitosano a niveles de 0,0 y 1,0 g/kg en la dieta durante tres semanas y después fueron desafiados con diferentes bacterias patogénicas vía una inyección intraperitoneal. Los resultados mostraron que los peces alimentados con una dieta enriquecida con nanopartículas de quitosano mostraron menos mortalidad con todas las cepas bacterianas. El investigador concluyó que la dieta con nanopartículas de quitosano protege a la tilapia del Nilo eficientemente contra las infecciones por *A. hydrophila*, *A.*

*sobria*, y *Streptococcus agalactiae*, con un relativo alto nivel de protección de 93.3% (10).

- Palma et al (65), realizaron la descripción histológica de los principales órganos blanco de contaminantes ambientales en *Percichthys trucha*, y se describieron macroscópicamente las branquias, el hígado y el riñón, concluyendo que cada branquia se compone de cuatro arcos con dos filamentos. El hígado está encapsulado con tejido pancreático interpuesto. Los lóbulos hepáticos no están bien delimitados, pero se identifican las áreas portales. Las trabéculas están formadas por dos placas de hepatocitos con una cara sinusoidal para absorción y otra biliar para excreción. El riñón tiene nefronas bien desarrolladas. Estos resultados sirven de referencia para determinar biomarcadores histopatológicos de contaminación acuática, herramienta útil y económica para el monitoreo biológico (65).
- Gen et al. y Lin et al. (66) añadieron 6 y 2 g de quitosano por kg de dieta en cobia (*Rachycentron canadum*) y carpa (*Cyprinus carpio koi*) respectivamente y observaron un aumento en parámetros del sistema inmune innato; la actividad de la lisozima, la actividad fagocítica, y el estallido respiratorio. a las ocho semanas de haber iniciado su alimentación en ambas especies. Lin por su parte, adicionaron quitosano al 2% en la dieta de juveniles de carpa koi (*Cyprinus carpio koi*) y observaron después de 8 semanas un aumento significativo en el porcentaje de peso ganado ( $149.7 \pm 1.54\%$ ) comparado con el obtenido en la dieta control ( $129.4 \pm 1.58\%$ ) (66).

**CAPÍTULO III**  
**METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN**

### 3.1. Localización y metodología.

La primera fase consistió en la captura de los juveniles de tilapia roja, lo cual se realizó en el Laboratorio de Acuicultura, de la Facultad de Ciencias Pecuarias, del Campus “La María” de la UTEQ, localizada en el kilómetro 7 1/2 de la vía Quevedo - El Empalme, cantón Mocache, provincia de Los Ríos, cuya ubicación geográfica es de 1° 3' 18'' de latitud sur y 79° 25' 24'' de longitud oeste, a una altura de 77,60 metros sobre el nivel del mar. La segunda fase se realizó en el Centro Nacional de Investigaciones Marinas (CENAIM) anexo a la ESPOL, ubicado en Santa Elena, en la parroquia de San Pedro de Manglar alto.

#### 3.1.1. Condiciones climáticas.

En la tabla 3, se detallan las condiciones climáticas del Campus “La María” de la UTEQ, lugar donde se encuentra ubicado el Laboratorio de Acuicultura.

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

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

**Fuente:** (67).

### 3.2. Tipo de investigación.

Se basó en una investigación de laboratorio, se trabajó bajo condiciones controladas donde se determinó el efecto del quitosano en la alimentación sobre los componentes hepáticos en juveniles de tilapia roja. La investigación pertenece a la línea (a): Agricultura, silvicultura y producción animal, sublínea (3): Desarrollo de sistemas de producción que promuevan el uso eficiente de los recursos genéticos.

### **3.3. Método de investigación.**

Los métodos de investigación que se aplicaron son los siguientes:

#### **3.3.1. Método comparativo.**

El método comparativo permitió analizar el efecto de los distintos porcentajes de inclusión quitosano en la dieta de juveniles de tilapia roja sobre componentes hepáticos por medio de técnicas histológicas.

#### **3.3.2. Método de observación.**

El método de la observación permitió descifrar el comportamiento que existe con el efecto del quitosano en cada tratamiento sobre morfoestructuras hepáticas por medio de técnicas histológicas en especímenes de tilapia roja.

#### **3.3.3. Método experimental.**

El método experimental se utilizó bajo condiciones controladas para dar resultados confiables sobre las variables a estudiar, aplicando un análisis de varianza y la prueba de TUKEY ( $p \leq 0,05$ ).

### **3.4. Fuentes de recopilación de información.**

#### **Primarias:**

La información primaria se obtuvo mediante la realización del experimento, donde los resultados de los distintos análisis brindarán la información requerida, para así determinar el desempeño de los distintos tratamientos.

## Secundarias:

Las fuentes secundarias corresponden a la información que permitió la realización de la parte teórica de la investigación, los cuales fueron: artículos científicos, libros, tesis doctorales, de postgrado y de grado, boletines técnicos, sitios web, entre otros.

### 3.5. Diseño de la investigación.

Se aplicó un diseño completamente al Azar (DCA), conformado por 4 tratamientos (dosis de quitosano en dieta) y tres repeticiones (tanques de cultivo) con 15 juveniles/ tanque. El esquema del análisis de la varianza se presentará en la tabla 4:

**Tabla 4.** *Esquema del ANOVA.*

Fuente de variación		Grados de libertad
Tratamientos	(t - 1)	3
Error Experimental	t (r- 1)	8
Total	(t x r) - 1	11

Fuente: (68).

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

#### Ecuación 1

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ijk} \quad (68).$$

Dónde:

$Y_{ij}$ = Total de una observación.

$\mu$ = Media de la población.

$T_i$ = Efecto del tratamiento.

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

### **3.6. Instrumentos de investigación.**

#### **3.6.1. Formulación, preparación y bromatología de dietas experimentales.**

En la presente investigación las dietas se formularon utilizando software *LINDO Systems*, Inc. IL, USA. Las dietas se formularon en base a los requerimiento para la especie y prepararon siguiendo los procedimientos de otros estudios. Todos los ingredientes se tamizaron con una malla de 250  $\mu\text{m}$ , se pesaron con una balanza digital y cada dieta se preparó mezclando todos los macro ingredientes en una licuadora industrial hasta obtener una mezcla homogénea, los micro ingredientes y los aceites también se mezclaron individualmente antes de agregarlos a la mezcla de los macro ingredientes. Durante este paso se añadió el 30% de su peso en agua. Ver en tabla 5 los ingredientes de las dietas experimentales. La alimentación fue pasada por un molino de carne que produce gránulos de 2 mm para realizar los pellets. El producto obtenido se secó durante 8 horas a 45 °C en una estufa. Los gránulos secos se envasaron en bolsas de plástico herméticas y fueron almacenadas en refrigerador a -4 °C hasta cada uso (69).

A los ingredientes y dietas se realizó análisis bromatológico, se determinó el contenido de humedad a través de la utilización de estufa, secando a 105°C cada dieta. Para la obtención de ceniza cada muestra fue incinerada a 550°C colocada en Mufla. La grasa se evaluó mediante la técnica de extracción Soxhlet, las grasas de la muestra fueron extraídas con éter de petróleo y evaluadas como porcentaje del peso después de evaporar el solvente (69).

Para determinar el contenido de proteína fue por el método de Kjeldahl mismo que evaluó el contenido de nitrógeno total en la muestra, después de ser digerida con ácido sulfúrico en presencia de un catalizador de mercurio o selenio. La fibra se obtuvo por el método de Weende, después de ser digerida con soluciones de ácido sulfúrico e hidróxido de sodio y calcinado el residuo, la diferencia de pesos después de la calcinación nos indica la cantidad de fibra presente.

El extracto libre de nitrógeno al ser una categoría del sistema Weende se obtuvo por diferencia;  $\text{ELN} = 100 - (\text{ceniza} + \text{extracto etéreo} + \text{proteína} + \text{fibra})$  (62). La determinación

de energía se obtuvo al comprimir una muestra para formar una pastilla fue colocada en una cápsula pequeña de cuarzo, la cápsula con la muestra se coloca en la bomba calorimétrica automática donde se produce la combustión, en este proceso se produce un cambio de temperatura convirtiendo la señal en Kcal/Kg, el calorímetro mide las cantidades de calor liberadas por el alimento (70). Ver en tabla 5 la composición bromatológica de las dietas.

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

Ingredientes	Niveles de Quitosano en Dietas			
	0	1	3	5
Harina de pescado <sup>2</sup>	46.50	46.50	46.50	47.00
Pasta de soya <sup>4</sup>	28.00	28.00	28.00	28.00
Harina de trigo <sup>1</sup>	13.90	13.90	13.40	11.90
Harina de maíz <sup>1</sup>	4.00	3.00	1.50	0.50
Quitosano <sup>5</sup>	0.00	1.00	3.00	5.00
Aceite vegetal <sup>1</sup>	1.00	1.00	1.00	1.00
Aceite de pescado <sup>3</sup>	1.50	1.50	1.50	1.50
Alginato de sodio <sup>6</sup>	2.00	2.00	2.00	2.00
Premezclas minerales <sup>1</sup>	1.00	1.00	1.00	1.00
Premezclas vitamínicas <sup>1</sup>	2.00	2.00	2.00	2.00
Vitamina C <sup>1</sup>	0.10	0.10	0.10	0.10
<b>Composición proximal real (% Materia Seca)</b>				
Materia seca (%)	94.68	93.77	94.28	93.99
Ceniza (%)	8.20	9.30	10.22	9.80
Grasa (%)	7.15	7.24	7.84	8.02
Proteína (%)	32.07	32.22	32.30	32.17
Fibra (%)	5.63	5.86	6.18	6.81
E.L.N. (%) <sup>‡</sup>	46.95	45.38	43.46	43.20
Energía Bruta (kJ/g)*	18.38	18.18	18.11	18.10

<sup>1</sup> Supermaxi; <sup>2</sup> Quevedo; <sup>3</sup> Comercial "El Gordillo" - Santo Domingo de los Tsáchilas; <sup>4</sup> Santa Elena; <sup>5</sup> Valencia (Avícola); <sup>6</sup> China; <sup>7</sup> México.

<sup>‡</sup> E.L.N.: (Extracto libre de nitrógeno) = 100 - (% de proteína cruda + % grasa cruda + % ceniza + % fibra). \*Calculado usando factores 23.4 kJ/g, 39.2 kJ/g, 17.2 kJ/g de proteína, grasas y carbohidratos, respectivamente (70).

### 3.6.2. Condiciones de cultivo de los peces.

Todos los tanques eran sifonados todas las mañanas antes de alimentarlos para desechar las heces y alimentos sobrantes y el 20% de agua se reemplazaba. Los alevines inicialmente

fueron alimentados a una tasa del 5% de la biomasa día<sup>-1</sup> dividido en dos raciones a las 9:00 horas y a las 17:00 horas,

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

### **3.6.3. Obtención de muestras hepáticas.**

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

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

Los pasos en el protocolo de la técnica son: Fijación, deshidratación, aclaramiento e imbibición, inclusión de tejido en parafina, corte con micrótopo 5 µm y fijación de tejido en placa, para finalmente teñir con H&E (53). Para esto, se procesaron las placas siguiendo la metodología:

#### **3.6.4.1. Fijación**

El proceso de fijación preserva los tejidos deteniendo la autólisis y a la vez permite que los tejidos permanezcan sin cambios apreciables luego de subsecuentes tratamientos. La fijación se hizo inmediatamente después de obtenidos los hígados ya que cualquier demora seca el tejido y acelera la autólisis.

Las muestras se fijaron en solución Davidson al 10% por 24 horas, debidamente etiquetados o rotulados para ser colocados en el autotecnicón.

#### **3.6.4.2. Deshidratación y aclaración**

##### **• Deshidratación**

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

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

##### **Aclaración:**

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

#### **3.6.4.3. Inclusión**

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

#### **3.6.4.4. Corte**

Una vez extraídos los tejidos de la parafina, se procedió a la orientación e inclusión de tejidos en los moldes (placas de Leukart) con parafina diluida (caliente), para la orientación de la muestra se usaron pinzas.

Los bloques formados fueron llevados a refrigeración por espacio de 1 hora, para endurecer la parafina lo cual favorece con el corte de las muestras, se procede al corte mediante el micrótopo deslizante.

El corte de las muestras nos permitió obtener "las cintas" de las mismas. Estas cintas mediante pinzas se colocaron en un flotador de tejidos (que contiene agua caliente: Baño María 50°C). El Baño María extiende los cortes histológicos (evitar la presencia de arrugas y aire atrapado); una vez bien extendidos los cortes, estos se colocaron en las láminas portaobjetos recubiertas con albumina de Mayer (que favorece la adhesión de los cortes).

#### **3.6.4.5. Coloración con Hematoxilina - Eosina**

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

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

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

Luego se procedió a la coloración siguiendo los siguientes pasos:

1. Hematoxilina de Mayer, 5 minutos
2. Agua corriente, 10 minutos
3. Agua destilada, 1 minuto
4. Eosina, 20 segundos
5. Alcohol 70% 1 minuto

6. Alcohol 80%	1 minuto
7. Alcohol 90%	1 minuto
8. Alcohol 95%	1 minuto
9. Alcohol 100%	1 minuto
10. Alcohol 100%	1 minuto

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

#### 3.6.4.6. Observación y fotodigitalización.

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

#### 3.6.5. Variables Evaluadas

- Índice hepatosomático (IH).

**Ecuación 2**

- $IH (\%) = 100 * (\text{peso del hígado} / \text{peso corporal}) (71).$

- Área total del hepatocito.

**Ecuación 3**

$$\text{Área del hepatocito } (\mu m^2) = \pi \times r^2 (72).$$

- Diámetro hepatocito (HD).

**Ecuación 4.**

$$HD (\mu m) = \text{media} - HD \text{ más} + HD \text{ menos} (72).$$

- Volumen total del hepatocito (VH).

**Ecuación 5**

$$VH (\mu m^3) = 4 / 3 \pi R^3 (R = HA \times \pi^2) (72)$$

- Área del núcleo del hepatocito (NA).

**Ecuación 6.**

$$AN (\mu m^2) = \pi \times r^2 (72)$$

- Diámetro del núcleo del hepatocito (ND).

**Ecuación 7.**

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

- Volumen del Núcleo del hepatocito (NV).

**Ecuación 8.**

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

- Área citoplasma del hepatocito (CA).

**Ecuación 9.**

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

- Volumen del citoplasma del hepatocito (CV).

**Ecuación 10.**

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

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

**Ecuación 11.**

$$HR (\mu m^2) = media (CA / NA) (64)$$

Donde:

*CA= Área del citoplasma.*

*NA=Área nuclear.*

- Área de Sinusoide (AS).

## Ecuación 12.

$$AS (\mu m^2) = \pi \times r^2 \quad (72)$$

- Diámetro del senoide.

## Ecuación 13.

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

### 3.7. Tratamiento de los datos.

El análisis estadístico de los resultados se presentó como medias y desviación estándar (SD). Las pruebas de Kolmogorov – Smirnov ( $P < 0.05$ ) y Bartlett ( $P < 0,05$ ) fueron aplicadas previo al análisis de varianza (ANOVA). Cuando se observaron valores significativos de F, se utilizó la prueba de rango múltiple de Tukey para comparar las diferencias entre las medias, en  $P < 0,05$ . Se aplicó el software libre. Todos los datos porcentuales fueron transformados en arcoseno antes que los estadísticos. En la siguiente tabla se muestra la descripción de los tratamientos en estudio.

**Tabla 6.** Descripción de los tratamientos

Trat	Quitosano en dieta (%)	Repeticiones (Tanques Experimentales)	Juveniles de tilapia roja / Repetición UE	Total de juveniles de tilapia roja / Tratamiento
T1	0	3	15	45
T2	1	3	15	45
T3	3	3	15	45
T4	5	3	15	45
<b>Total</b>				<b>180</b>

UE: Unidades Experimentales

Elaborado: Autor.

### 3.8. Recursos humanos y materiales.

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

- Director del proyecto de investigación Dr. Yuniel Méndez Martínez.
- Estudiante y autor del proyecto de investigación Pedro Daniel Mendoza Carranza.
- Técnico del CENAIM Nancy Rodríguez.

### **3.8.1. Materiales y equipos.**

#### **3.8.1.1. Materiales y equipos de oficina.**

- Bolígrafo
- Cámara digital de alta resolución
- Ordenador
- Hojas A4
- Impresora
- Libreta de apuntes

#### **3.8.1.2. Materiales y equipos de laboratorio.**

- Juveniles de tilapia roja
- Balanza analítica
- Alcohol
- Hematoxilina y Eosina
- Solución de Davidson
- Botas
- Guantes
- Cofia
- Bandejas de acero inoxidable
- Red
- Jeringas
- Mascarilla
- Bisturí
- Pinzas
- Paletas

- Microscopio
- Frascos esterilizados
- Micrótopo
- Hematoxilina & Eosina
- Porta objeto
- Cubre Objeto
- Quitosano
- Alimento peletizado
- Baño María
- Parafina

### **3.8.1.3. Ingredientes y alimentos.**

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

**CAPÍTULO IV**  
**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### 4.1. Índice hepatosomático.

Según el análisis de varianza no existió diferencia estadística ( $P = 0,4514$ ) entre los tratamientos (Gráfico 1). El mayor índice hepatosomático (IHS) se presentó en el T2 (1% de quitosano en la dieta) con 2,25%. El menor valor en (IHS) se registró en el T3 (1% de quitosano en la dieta) con el 1,84% ver (gráfico 1.). Lo cual fue similar a los resultados de Abd El-Naby *et al.* (64) al trabajar con 0,1 ,3 y 5% de nanopartículas de quitosano en dieta, no presento diferencias estadísticas para la variable índice hepatosomático en la especie *Oreochromis niloticus*, ellos hacen mención a que la adicción de quitosano a la dieta ayudo aumentar los niveles de lípidos crudos en todo el cuerpo por lo tanto aumento el contenido de reservas energéticas. El presente estudio supero los resultados publicados por Rocha, Pascuas y Pianeta (73), al estudiar las respuestas hepáticas al estrés de tilapias juveniles en jaulas y libres en el embalse de Betania, obtuvo un mayor índice hepatosomático (IHS) en estado cautivo en un rango de 0,32 a 1,65 IHS.

Naiel *et al.*,(74) al estudiar las propiedades de la nanopartículas de quitosano y vitamina C contra la toxicidad de imidacloprid (IMID) en tilapias, encontraron el mayor índice hepatosomático lo registraron en el tratamiento de control con un (IHS) de 3,41%, seguido del tratamiento con inclusión de quitosano ( $5\text{g}/\text{kg}^{-1}$ ) y vitamina C ( $500\text{mg}/\text{Kg}^{-1}$ ) con valores de 2,95%, encontrando que la inclusión de quitosano y vitamina C ayuda a reducir los efectos de toxicidad y mejora el crecimiento y rendimiento.

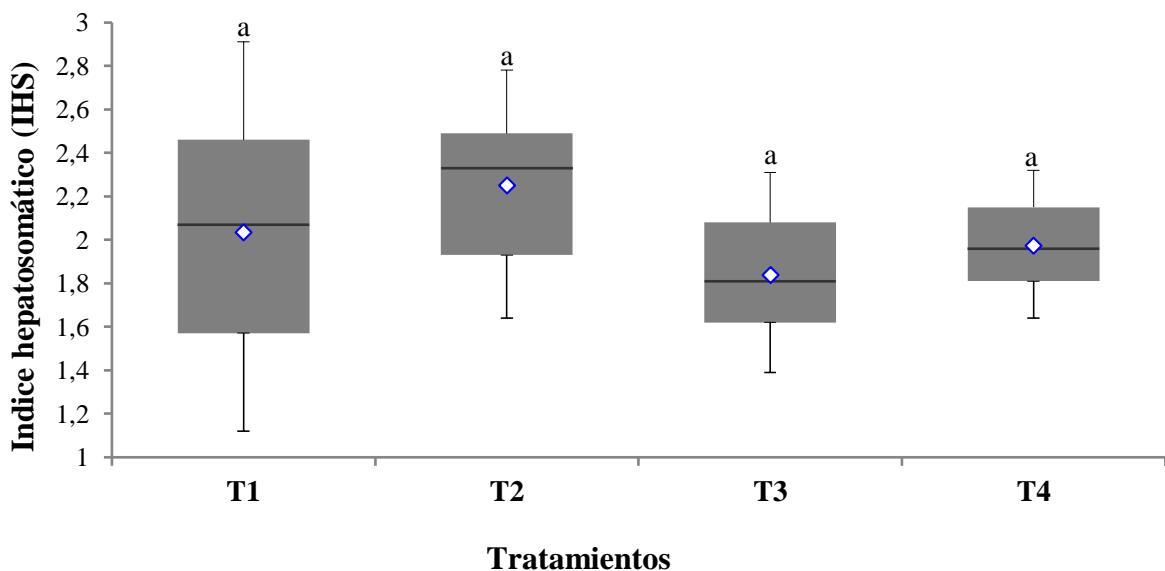
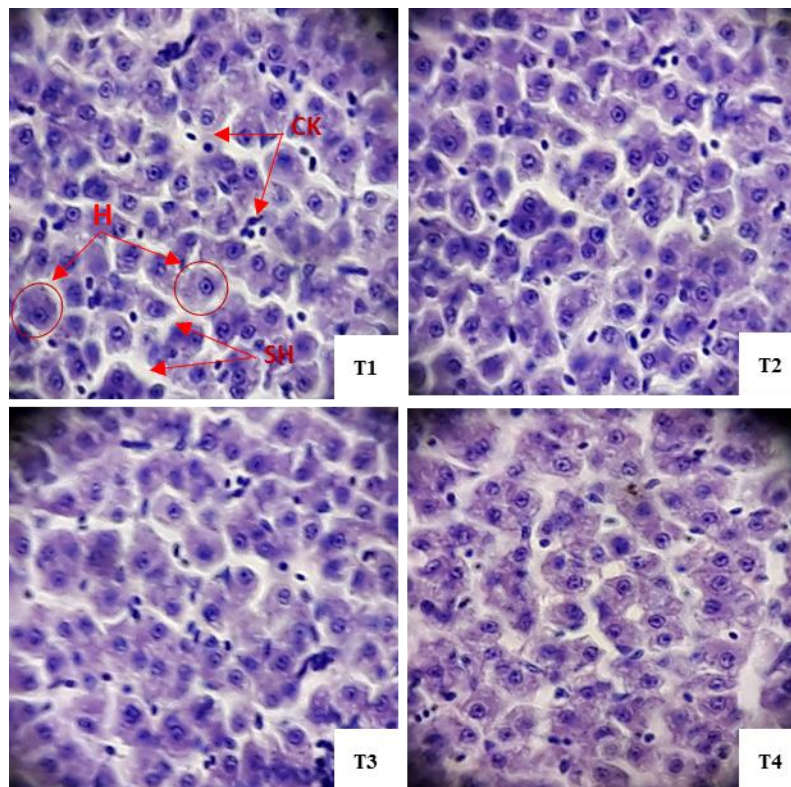


Gráfico 1. Índice hepatosomático en tilapias juveniles con adicción de quitosano a la dieta.

## 4.2. Hepatocitos.

Según el análisis de varianza en las variables áreas de hepatocitos, diámetro de hepatocitos y volumen de hepatocitos; se encontraron diferencias estadísticas ( $P=0,05$ ) los mayores promedios los registro el T4 (5% de quitosano en la dieta) difiriendo en área ( $P=0,0162$ ), diámetro ( $P=0,0169$ ) y volumen de hepatocitos ( $P=0,0138$ ), del T1 (control 0% de quitosano en la dieta) y T2 (1% de quitosano en la dieta) el T3 (3% de quitosano en la dieta) no registro diferencias estadística entre los tratamientos.



**Figura 2.** Corte transversal de hígado en juveniles de tilapia roja expuestos a diferentes niveles de quitosano en dieta. Se observan hepatocitos (H) con núcleos bien definidos conteniendo nucléolos. Células de Kupffer (CK). Sinusoides hepáticos (SH).

En nuestro trabajo no se encontró daño hepático (Figura 2.) por causa de la inclusión de quitosano en dieta. Ferguson *et al.* (75), al evaluar la hepatitis sincicial de tilapia cultivada *Oreochromis niloticus*, basándose en la observación de una micrografía electrónica de un hepatocito en mal estado señalan que no presenta un diámetro del todo redondo y se observan alteraciones en incluso necrosis en los hepatocitos, mencionando que esto se debe

a una consecuencia de no haber sido sometido a alimentación con etilo testosterona en la vida temprana.

Park *et al.* (76), al estudiar el quitosano galactosilado (GC), como matriz extracelular sintética para la unión de hepatocitos, obtuvo un mayor anclaje de los hepatocitos, siendo una respuesta favorable en cuanto a la supervivencia de los hepatocitos; lo cual permite optimizar las funciones celulares, incluida la secreción de albumina y eliminación de amoníaco, los autores indican que con adicción de (CG) se visualizó mayores tamaños en los hepatocitos, además añaden que el quitosano tiene un alto potencial sintético para la ingeniería de los tejidos hepáticos.

Con respecto a las variables área del citoplasma, volumen del citoplasma, relación de hepatocitos área citoplasma/ área nuclear, mostró diferencia estadística, donde los valores más alto se presentaron en el T4 (5% de quitosano en la dieta) difiriendo en área ( $P=0,0150$ ), volumen( $P=0,0134$ ) y en la relación hepatocitos área citoplasma/ área nuclear con ( $P=0,0242$ ), para los tratamientos T1 y T2 el T3 no presentó diferencia ( $P=0,05$ ) entre los tratamientos; en las variables relacionadas al tamaño del núcleo de los hepatocitos, como área del núcleo, diámetro del núcleo, y volumen del núcleo; el T4 presento los mayores promedios difiriendo en área ( $P=0,0364$ ), diámetro ( $P=0,0355$ ) y volumen del núcleo ( $P=0,0395$ ) del T2 (1% de quitosano en la dieta ).

Zandinelo *et al.* (77), al trabajar con un filtro a base de espuma de quitosano con el fin de mantener la calidad del agua para el cultivo de tilapia del Nilo, concluyo que el quitosano no afecto el rendimiento zootécnico, ni la histología hepática y branquial.

En cambio Sharifinasab *et al.* (78), en su estudio sobre la vitamina C y el quitosano como mitigadores del efecto toxico del Parraquat en algunos parámetros bioquímicos en hepatocitos de carpa común; después de la exposición a Parraquat se les suplemento quitosano y vitamina C, lo que ayudo a la reducción de malondialdehído y aumento la capacidad antioxidante total, dando como resultado que la vitamina C y el quitosano tiene un efecto sinérgico y se pueden usar como hepaprotectores.

En otros estudios como el de Marcon *et al.* (79), al estudiar la histología e histométrica de *Astyanax Bimaculatus* sometidos a diferentes dosis de insecticida organofosforados, encontraron que los peces expuestos a plaguicida presentaron en el órgano diana (hígado) menor tamaño del citoplasma, también se observaron alteraciones, tales como hiperotrofia citoplasmática y nuclear.

Mientras Guzmán *et al.* (80), en su investigación efectos de la depuración histológica y sus cambios en tilapia (*Oreochromis niloticus*) después de la exposición a Cilindrospermopsina; encontraron que la toxicidad que esta tiene esta cianobacteria, pudo aumentar hasta en un 30% el diámetro normal del núcleo de los hepatocitos, causando pérdida de la estructura normal.

No obstante Marchand *et al.* (81), al evaluar los cambios hepatológicos de órganos diana en ecosistemas hipereutroficados en dos especies de agua dulce *Clarias gariepinus* y *Oreochromis mossambicus*; se pudieron estimar alteraciones hepatológicas en todos los órganos diana de las dos especies; se observó pérdida de la estructura hepática, hipertrofia de hepatocitos y núcleos, inflamación, necrosis hepatocelular, los autores aportan que se han reportado resultados similares en estudio preliminar al trabajar con microcistina que es una hepatotoxina. Así mismo Saravpreet, Kuldeep y Jasjit (82), al investigar alteraciones histológicas hepáticas inducidas por metales pesados en *Labeo rohita*, se sufrieron graves daños como degeneración citoplasmática, degeneración de núcleos también infiltración de leucocitos en sinusoides, alteración de hepatocitos, vacuolización de los hepatocitos, estos efectos dañinos, no precisamente son causados directamente por los metales pesados, sino que es una respuesta de las sustancias tóxicas en el cuerpo del pez.

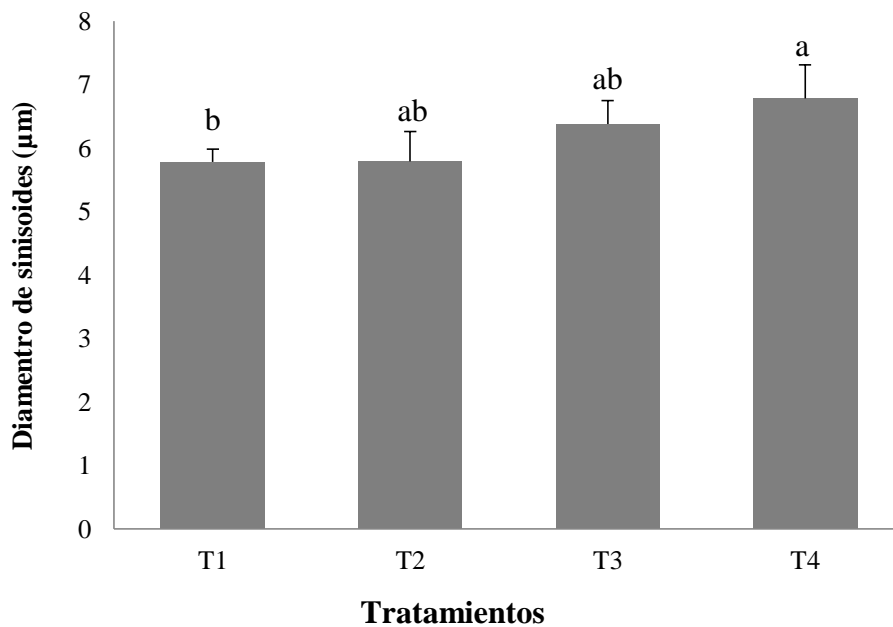
**Tabla 7.** *Parámetros de los hepatocitos de tilapia juvenil con inclusión de distintos porcentaje de quitosano en la dieta.*

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

Hepatocitos	Quitosano en Dieta				CV	F	P > 0.05
	Testigo 0%	1%	3%	5%			
	(T1)	(T2)	(T3)	(T4)			
área de hepatocitos ( $\mu\text{m}^2$ )	66,17±1,77b	62,68±6,38b	70,75±2,48ab	83,55±10,33a	8,84	6,38	0,0162
diámetro del hepatocito ( $\mu\text{m}$ )	8,97±0,18b	8,79±0,45b	9,29±0,18ab	10,12±0,63a	4,38	6,29	0,0169
volumen de hepatocitos ( $\mu\text{m}^3$ )	414,56±16,92b	391,35±59,02b	475,51±22,88ab	608,16±111,66a	13,7	6,77	0,0138
Área del citoplasma ( $\mu\text{m}^2$ )	57,07±1,84b	54,59±5,96b	62,20±2,32ab	74,24±9,75a	9,52	6,56	0,0150
volumen de citoplasma ( $\mu\text{m}^3$ )	393,67±17,02b	373,83±57,68b	456,40±22,36ab	586,46±109,65a	14,03	6,84	0,0134
Relación de hepatocitos área citoplasma/ área nuclear ( $\mu\text{m}^2$ )	6,56±0,39b	6,49±0,38b	6,93±0,15ab	7,64±0,39a	5,62	5,49	0,0242
área del núcleo ( $\mu\text{m}^2$ )	9,09±0,50ab	8,09±0,41b	8,55±0,17ab	9,31±0,50a	5,06	4,65	0,0364
diámetro núcleo ( $\mu\text{m}$ )	3,39±0,09ab	3,19±0,08b	3,28±0,03ab	3,43±0,11a	2,54	4,70	0,0355
volumen del núcleo ( $\mu\text{m}^3$ )	20,91±1,78ab	17,52±1,34b	19,12±0,53ab	21,70±2,02a	7,7	4,5	0,0395

### 4.3. Sinusoides.

En el análisis de varianza para la variable diámetro de sinusoides y área del sinusoides mostró diferencia estadística ( $P=0.05$ ), el mayor promedio lo presentó el T4 (5% de quitosano en la dieta) con  $6,78 \mu\text{m}$  y  $38,23 \mu\text{m}^2$  respectivamente difiriendo en área ( $P=0.0264$ ) y en diámetro con ( $P=0,0264$ ) del T1 (control 0% de quitosano en la dieta) ver (Gráfico 2 y 3).



**Gráfico 2.** Diámetro de sinusoides de tilapia juvenil con inclusión de distintos porcentaje de quitosano en la dieta

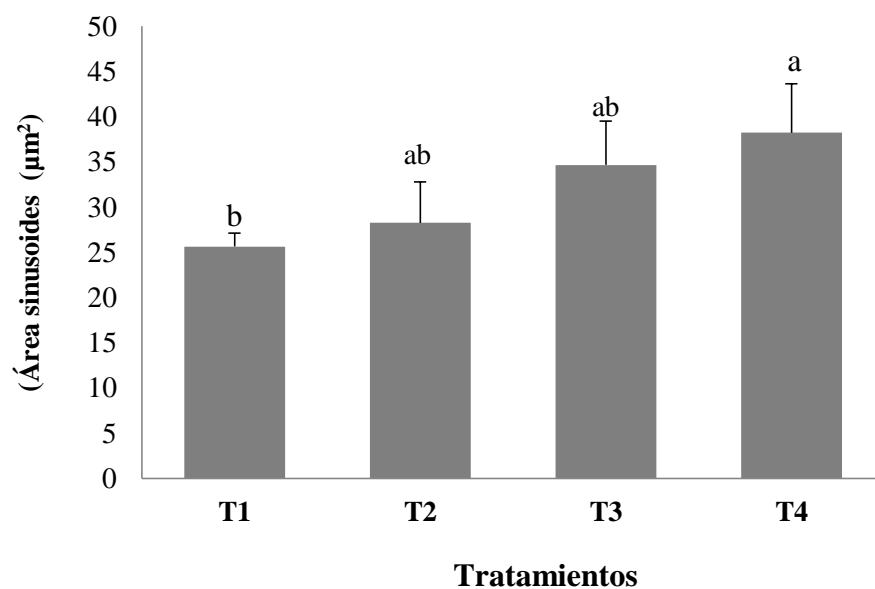
Cárdenas *et al.* (83), en su estudio sobre los cambios histológicos en el hígado y bazo de la carpa común frente a *Pseudomonas aeruginosa*, alimentado con quitosano dietético y antibiótico ciprofloxacina, encontraron que el hígado en el grupo tratado con antibiótico sufrió estrechamiento de los sinusoides, hinchazón de los hepatocitos; en el grupo de control de quitosano 90 días después presentó un hígado normal, no obstante después de haberlo sometido a la bacteria presentó vacuolación, células inflamatorias y hemorragia, sin embargo al comparar el quitosano y el antibiótico, se concluyó que tanto el hígado como el bazo tratado con quitosano revelaron menos alteraciones en comparación al tratamiento con antibiótico y el control.

Omogbai y Ikenebomeh (84), al estudiar la toxicidad subcrónica de un quitosano obtenido de la quitina del cangrejo (*Callinectes sapidus*). La toxicidad se evaluó mediante parámetros

químicos sanguíneos y hepatológicos en ratas albinas. Al realizar la histopatología hepática en ratas albinas no revelo ningún daño que pudiera atribuirse a la alimentación con quitosano. En todos los niveles de quitosano utilizados los sinusoides no sufrieron ninguna alteración y se reportaron células hepáticas normales con núcleos y, citoplasma normal.

Mmaditshaba y Ngonidzashe (85), señala que lo sinusoides de tilapia en forma normal, no son dilatados, no hay pleomorfismos de los núcleos, ni desorden del cordón hepático ni hinchazón celular.

Castro *et al.* (86), en su estudio histoquímico de dietas suplementadas con zinc es pez dorado obtuvo, como resultado que los hepatocitos ubicados entre los sinusoides contenían eritrocitos en la superficie luminal del endotelio sinusoide y cambios en la estructura normal del hígado, el cordón hepático estuvo de forma poligonal, los hepatocitos tuvieron necrosis focal que produjo rompimiento de la membrana de los hepatocitos, desintegración completa de los componentes celulares, también se mostró ausencia de núcleos por acumulación de lípidos, concluyéndose que el zinc altera la morfología del hígado cuando se incluye con ingredientes vegetales en pez dorado.



**Gráfico 3.** Área de sinusoides de tilapia juvenil con inclusión de distintos porcentaje de quitosano en la dieta.

**CAPÍTULO V**  
**CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

## 5.1. Conclusiones.

- En el índice hepatosomático no existió diferencia estadística, determinándose que el quitosano mantiene un buen contenido de reservas energéticas, es decir no afecta el rendimiento de los juveniles de tilapia roja, el mayor valor los presento el T2 (1% de quitosano en la dieta) con 2,25.
- En los hepatocitos del hígado se encontró diferencia significativa en los parámetro estudiados, donde el T4 (5% de quitosano en la dieta) destaco estadísticamente de los demás tratamientos, sin embargo no se registró ninguna alteración en la histología hepatosomática, debido a que el quitosano no provocó una reacción por toxicidad en ninguno de los niveles evaluados.
- Tanto para el diámetro y área del sinusoides se encontraron diferencia significativa, donde el T4 (5% de quitosano en la dieta) mostro mejor respuesta con 6,78 $\mu\text{m}$  y 38,23  $\mu\text{m}^2$  respectivamente, estos valores homogéneos indica una estructura normal de los sinusoides.

## **5.2. Recomendaciones.**

- Se recomienda estudiar el efecto del quitosano sobre otros tejidos u órganos en tilapia.
- Hacer otros estudios con biopolímeros como los betaglucanos
- Evaluar el quitosano en condiciones adversas, como metales pesado, parraquat en los juveniles de tilapia

**CAPÍTULO VI**  
**BIBLIOGRAFÍA**

## 6.1. Bibliografía.

1. Alcántar J, Santos C, Moreno R, Antonio C. Manual para la producción de supermachos de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*). Oaxaca, México: UNPA-PIFI; 2014. 81 p.
2. Patti J, Montserrat E, Gaviria J. Consumo de oxígeno del híbrido de tilapia roja florida *Oreochromis sp.* en agua de mar, bajo condiciones de laboratorio. SABER Rev Multidiscip del Cons Investig la Univ Oriente. 2011;23(2):99–106.
3. Méndez Y, Pérez Y, Torres Y, Réyes J. Estado del arte del cultivo de tilapia roja en la mayor de las Antillas. Biotecnia. 2018;20(2):15–24.
4. Moreno M, Hernández J, Rovero R, Tablante A, Rangel L. Alimentación de tilapia con raciones parciales de cáscaras de naranja. Cienc y Tecnol Aliment. 2000;3(1):29–33.
5. Peters R, Rodríguez S, Hernández J, Mejías D, León A. Determinación del nivel óptimo de sustitución de la harina de pescado por harina de hidrolizado de plumas en el alimento para tilapia roja, *Oreochromis sp.* Ciencia. 2004;12(1):13–24.
6. Poot G, Gasca E, Olvera M. Producción de tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus* L.) utilizando hojas de chaya (*Cnidioscolus chayamansa* McVaugh) como sustituto parcial del alimento balanceado. Lat Am J Aquat Res. 2012;40(4):835–46.
7. González R, Romero O, Valdivié M, Ponce J. Los productos y subproductos vegetales, animales y agroindustriales: Una alternativa para la alimentación de la tilapia. Rev Bio Ciencias. 2014;2(4):240–51.
8. Lárez C. Algunas potencialidades de la quitina y el quitosano para usos relacionados con la agricultura en Latinoamérica. Rev Cient UDO Agric. 2008;8(1):1–22.
9. Molina JA, Colina M, Rincón D, Vargas J. Efecto del uso de quitosano en el mejoramiento del cultivo del arroz (*Oryza sativa* L. variedad sd20a). Rev Investig Agrar y Ambient. 2017;8(2):151–65.
10. Abdel N. Antimicrobial activities of chitosan nanoparticles against pathogenic microorganisms in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Aquac Int. 2019;27(5):1315–30.
11. Mendoza R. Aspectos bioecológicos de *Aequidens rivulatus* (Pisces: Cichlidae) del humedal de Villa María, Chimbote (Perú) para su futuro cultivo. Comun técnica CIVA. 2004;101–7.
12. Rojas L, Mata C, Oliveros A, Salazar R. Histología de branquias, hígado y riñón de juveniles del pez neotropical *Colossoma macropomum* (Characiformes, Characidae) expuesto a tres temperaturas. Rev Biol Trop. 2013;61(2):797–806.
13. Torres G, González S, Peña E. Descripción anatómica, histológica y ultraestructural de la branquia e hígado de tilapia (*Oreochromis niloticus*). Int J Morphol. 2010;28(3):703–12.
14. Instituto del Mar del Perú. Parasitología, Histología, Histopatología en animales acuáticos. Callao. Perú: Ciencia y Tecnología; 2017. p. 140.
15. Reyes L. Densidades idóneas para sistemas de policultivo de especies comerciales

- Tilapia Roja (*Oreochromis spp.*) y Carpa Roja (*Ciprynus carpio*) en sistemas de confinamiento artesanal en lagos artificiales en Santiago de Cali (Valle del Cauca, Colombia). *Idesia*. 2018;36(1):73–82.
16. Sánchez C. Efecto de tres niveles de proteínas en el desarrollo del periodo de alevinaje de tilapia chitralada (*Oreochromis niloticus*) en tanques de eternit en la U.N.J.B.G Tacna. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann - TACNA; 2013.
  17. Rosenthal S, Sandoval N, Gavidia C, Tabacchi L. Frecuencia de lipidosis hepática en trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) de fase juvenil en una piscigranja de la sierra central del Perú. *Rev Investig Vet del Peru*. 2013;24(1):118–24.
  18. Méndez Y, García M, Arcos F, Martínez L, Yamasaki S, Pérez J, et al. Effect of different ratios of dietary protein-energy on growth, body proximal composition, digestive enzyme activity, and hepatopancreas histology in *Macrobrachium americanum* (Bate, 1868) prawn juveniles. *Aquaculture*. 2018;485:1–11.
  19. Yildirim M, Beck B. Antimicrobial activity of chitosan and a chitosan oligomer against bacterial pathogens of warmwater fish. *J Appl Microbiol*. 2017;122(6):1570–8.
  20. Arboleda D. Reversion sexual de las Tilapias Roja (*Oreochromis Sp*), una guía básica para el acuicultor. *REDVET Rev Electrónica Vet*. 2005;6(12):1–5.
  21. Castro R, de la Paz J, Aguilar G. Evaluación del crecimiento de alevines de tres especies de Tilapia (*Oreochromis sp.*) en aguas duras, en la región de la Cañada, Oaxaca (México). *Rev Aquat*. 2004;(20):38–43.
  22. Peters D, R R, Morales A, D E, Morales S, M N, et al. Evaluación de la calidad alimentaria de la harina de Lemna obscura como ingrediente en la elaboración de alimento para tilapia roja (*Oreochromis spp.*). *Rev Cient la Fac Ciencias Vet la Univ del Zulia*. 2009;19(3):303–10.
  23. Vásquez W, Yossa M, Hernández G, Gutiérrez M. Digestibilidad aparente de ingredientes de uso común en la fabricación de raciones balanceadas para tilapia roja híbrida (*Oreochromis sp.*). *Rev Colomb Ciencias Pecu*. 2010;23(2):207–16.
  24. Rincón D, Velásquez H, Dávila M, Semprun A, Morales E, Hernández J. Substitution levels of fish meal by *Arthrospira* (=Spirulina) maxima meal in experimental diets for red tilapia fingerlings (*Oreochromis sp.*). *Rev Colomb Ciencias Pecu*. 2012;25(3):430–7.
  25. Veobides H, Guridi F, Vázquez V. Las sustancias húmicas como bioestimulantes de plantas bajo condiciones de estrés ambiental. *Cultiv Trop*. 2018;39(4):102–9.
  26. López J, Salas J, A G, Sanguíno W. Estudio gonadal de la sabaleta de la cuenca del patía (*Brycon sp.*) como indicador del potencial acuícola. *Rev Electrónica Ing en Prod Acuicola*. 2012;6(6):1–20.
  27. FAO. Población desovante y reclutamiento. FAO. 2020. p. 1.
  28. Navarro A, Manrique Á, Iparraguirre E, Díaz C, Jacinto C, Guizano N, et al. Síntesis y caracterización de quitosano cuaternario nativo y reticulado en polvo para su aplicación en la absorción de aniones metálicos. *Rev Soc Química del Perú*. 2010;76(4):313–21.

29. Pallares P, Borbor W, Saltos N, Naranjo S, Uday V. Alimentación de tilapia roja con ácido Omega 3 y la combinación Omega 3-6, en la fase de engorde. Repos ESPE. 2014;1-9.
30. FAO - *Oreochromis niloticus* [Internet]. [cited 2021 Mar 27]. Available from: [http://www.fao.org/tempref/FI/DOCUMENT/aquaculture/CulturedSpecies/file/es/es\\_niletalapia.htm](http://www.fao.org/tempref/FI/DOCUMENT/aquaculture/CulturedSpecies/file/es/es_niletalapia.htm)
31. Guamán Y. Estimación de la demanda de importación de tilapia para U.S y la importación económica para Ecuador. Universidad San Francisco de Quito; 2017.
32. Hernández F. Cultivo intensivo de “tilapia” en jaulas flotantes. Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”; 2004.
33. Pinza J. Manejo de reproductores y de la calidad del agua para mejora de la producción de alevines de tilapia roja (*Oreochromis* sp) en la estación piscícola fish-flow, Huila, Colombia. Universidad de Nariño; 2014.
34. Aldebarán. Tilapia roja. Aldebarán. 2020. p. 1.
35. Jacome J, Quesada C, Sanchez O, Pérez J, Nirchio M. Tilapia en Ecuador : paradoja entre la producción acuícola y la protección de la biodiversidad ecuatoriana and the protection of Ecuadorian biodiversity Introducción. Rev Peru Biol [Internet]. 2019;26(4):543-50. Available from: [https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/6341/1/Cultivo de Tilapia en el Ecuador.pdf](https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/6341/1/Cultivo%20de%20Tilapia%20en%20el%20Ecuador.pdf)
36. Ibarra J. Producción, comercialización y rentabilidad del cultivo de tilapia roja en el Recinto Santa Rita del cantón Mocache. Universidad Técnica Estatal de Quevedo; 2019.
37. Calvopiña Veloz AE. PLAN DE FACTIBILIDAD PARA LA PRODUCCIÓN DE FILETES CONGELADOS DE TILAPIA Y SU COMERCIALIZACIÓN AL MERCADO NORTEAMERICANO [Internet]. PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR FACULTAD; 2012. Available from: <http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/7732/2.22.001324.pdf?sequence=4&isAllowed=y>
38. Barba C. Aireación de las piscinas de cultivo de tilapia roja (*Oreochromis* sp.) y su influencia en la productividad. Escuela Politécnica Nacional; 2015.
39. González M. Características morfológicas, métricas, de la canal y de la carne de especies de pez nativas de agua dulce de Ecuador. 2017;233.
40. Alvarenga M, Escobar A, Flores F. Evaluación de tres niveles de sustitución con harina de lombriz roja californiana (*Eisenia foetida*) como fuente proteica, en la alimentación de alevines de tilapia nilotica (*Oreochromis niloticus*). Universidad de El Salvador; 2017.
41. Mendoza R. MÁ, Comas Corredor J, Romero Hurtado CS. Estudio histológico del sistema digestivo en diferentes estadios de desarrollo de la cachama blanca (*Piaractus brachipomus*). Rev Med Vet (Bogota). 2013;(25):21.
42. Sierra E, Espinosa A, Real F, Herráez P, Castro P, Fernández A. Histología y patología de los peces. Parte 1: Biología y necropsia de los peces. Rev Canar las Ciencias Vet. 2011;(1):44-51.

43. USDA-IICA. Índice hepatosomático. United States Department of Agriculture. 2020.
44. Meza L. Carga parasitaria e índices biológicos y hematológicos en híbridos de tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis mossambicus*) cultivada en agua de mar. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California; 2015.
45. Saavedra M. Manejo del cultivo de tilapia. Managua, Nicaragua: USAID; 2006. p. 1–24.
46. Toledo S, García M. Nutrición y alimentación de tilapia cultivada en América Latina y el Caribe. Rev UANL. 1998;83–137.
47. Calderón M. Análisis del proceso productivo de tilapia (*Oreochromis* SP.) en la estación experimental Monterrico del Centro de Estudios del Mar y Acuicultura CEMA, USAC. Universidad de San Carlos de Guatemala; 2018.
48. Baltazar P. Situación actual de la tilapia en el Perú. Segunda Jorn Actual en tilapia. 2009;11–5.
49. Pallares P, Borbor W. Efectos del ácido omega 3 y la combinación omega 3 - omega 6 en la alimentación de tilapia roja (*Oreochromis* spp.) en la finca “El Porvenir”, pre parroquia San Gabriel del Baba, km 9 vía a Julio Moreno, en la zona de Santo Domingo. Escuela Politécnica del Ejército; 2012.
50. Guzman J. Estudio de factibilidad para la instalación de una piscifactoría de tilapia roja (*Oreochromis* sp.) para el mercado de Pasaje-El Oro. Universidad Técnica de Machala; 2015.
51. Luchini L. Tilapia: su cultivo y sistemas de producción. Dirección de Acuicultura. Dirección de acuicultura; 2006. p. 14.
52. Ríos R. Cartilla práctica para el cultivo de la tilapia (*Oreochromis* sp.). Chiriquí, Panamá: Autoridad de los Recursos Acuáticos de Panamá (ARAP); 2012. p. 31.
53. Cornejo G. Respuesta morfométrica intestinal en tilapia roja (*Oreochromis* sp.) alimentada con pellets enriquecidos con probióticos y prebióticos. Universidad Nacional de Colombia; 2017.
54. Hsien-Tsang S, Quintanilla M. Manual sobre reproducción y cultivo de tilapia. CENDEPESCA. El Salvador, Centroamerica: CENDEPESCA; 2008. 68 p.
55. Macea RB, De Hoyos CF, Montes YG, Fuentes EM, Ruiz JIR. Síntesis y propiedades de filmes basados en quitosano/lactosuero Síntesis y propiedades de filmes basados en quitosano/lactosuero. Polimeros. 2015;25(1):58–69.
56. Anastasiou E, Lorentz KO, Stein GJ, Mitchell PD. Prehistoric schistosomiasis parasite found in the Middle East. Lancet Infect Dis [Internet]. 2014;14(7):553–4. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)70794-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70794-7)
57. Hernández I. La quitosana: Un producto bioactivo de diversas aplicaciones. Cultiv Trop. 2004;25(3):97–110.
58. Rodríguez A, Ramírez M, Rivero D, Bosquez E, Barrera L, Bautista S. Propiedades químico-estructurales y actividad biológica de la quitosana en microorganismos fitopatógenos. Rev Chapingo Ser Hortíc. 2009;15(3):307–17.

59. Cocolletzi HH, Almanza EÁ, Agustín OF, Nava ELV, Cassellis ER. Obtención y caracterización de quitosano a partir de exoesqueletos de camarón. *Superf y vacío*. 2009;22(3):57–60.
60. Mármol Z, Páez G, Rincón M, Araujo K, Aiello C. Quitina y Quitosano polímeros amigables. Una revisión de sus aplicaciones. *Rev Tecnocientífica URU*. 2011;(1):53–8.
61. González C, Valbuena A, Celis B, Perentena L, Colina M. Degradación oxidativa de quitosano con peróxido de hidrógeno. *Rev Iberoam Polímeros*. 2015;16(1):43–68.
62. Nieto C, Orellana V. Aplicación del quitosano como promotor de floculación para disminuir la carga contaminante. Universidad Politécnica Salesiana; 2011.
63. Giraldo J. Propiedades, obtención, caracterización y aplicaciones del quitosano. *Univ Concepc*. 2015;22.
64. Abd El-Naby F, Naiel M, Al-Sagheer AA, Negm S. Dietary chitosan nanoparticles enhance the growth, production performance, and immunity in *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*. 2018;32.
65. Palma M, Caliri M, Cáceres A. Caracterización histológica e histoquímica de branquia, hígado y riñón de perca criolla (*Percichthys trucha*, Valenciennes, 1833) para su uso en biomonitoreo ambiental. *Acta Microsc*. 2017;26(1):32–45.
66. Enciso S. Efecto de la suplementación en dieta de la inulina, el  $\beta$ glucano y el quitosano sobre la capacidad digestiva y la inmunidad no específica de la totoaba (*Totoaba macdonaldi*). Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California; 2016.
67. Gárces F, Gallo K, Sánchez F. Respuesta de genotipos de maní a tres densidades de siembra y presencia de enfermedades en Quevedo, Ecuador. *Cultiv Trop*. 2015;36(3):106–10.
68. Vera J, Vera J. Resumen de principios de diseños experimentales. primera. Guayaquil, Ecuador: Compas; 2018. 102 p.
69. Pacheco Morales GK. Universidad Técnica Estatal "»Quevedo«». Universidad Técnica Estatal de Quevedo; 2020.
70. Goddard S. Feed Management in Intensive Aquaculture. e-conversion - Proposal for a Cluster of Excellence. 1996.
71. Marco Medina M, Yoli Espinoza G, Walter Reyes A. Gonadosomatic and hepatosomatic indices in relation to the maturation and moult of the shrimp *Cryphiops caementarius* of the Pativilca River (Peru). *Rev Investig Vet del Peru*. 2019;30(3):1018–29.
72. De Souza Filho J, Pires FS, Grisolia CK, De Sabóia-Morais SMT. Toxicological effects of a glyphosate-based formulation on the liver of *Poecilia reticulata*. *Curr Top Toxicol*. 2014;9(January):81–91.
73. Mario C, Baquero R, Julián A, Caviedes P, Pérez AP. Respuestas hematológicas, hepáticas y esplénicas al estrés de tilapias en jaulas y libres en el embalse de Betania, Colombia. *Rev Aquat*. 2017;0(49):8–20.
74. Naiel MAE, Ismael NEM, Abd El-hameed SAA, Amer MS. The antioxidative and

- immunity roles of chitosan nanoparticle and vitamin C-supplemented diets against imidacloprid toxicity on *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* [Internet]. 2020;523(March):735219. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735219>
75. Ferguson HW, Kabuusu R, Beltran S, Reyes E, Lince JA, Pozo J. Short Communication Syncytial hepatitis of farmed tilapia , *Oreochromis niloticus* ( L .): a case report. 2014;583–9.
  76. Park IK, Yang J, Jeong HJ, Bom HS, Harada I, Akaike T, et al. Galactosylated chitosan as a synthetic extracellular matrix for hepatocytes attachment. *Biomaterials*. 2003;24(13):2331–7.
  77. Zadinelo IV, dos Santos LD, Alves HJ, de Marco Viott A, de Souza Neves Ellendersen L, de Muniz GIB, et al. Chitosan Foam–Based Filter: Maintenance of Water Quality for Nile Tilapia Cultivation. *Water Air Soil Pollut*. 2020;231(10).
  78. Sharifinasab Z, Banaee M, Mohiseni M, Noori A. Vitamin C and Chitosan Alleviate Toxic Effects of Paraquat on Some Biochemical Parameters in Hepatocytes of Common Carp. *Iran J Toxicol* [Internet]. 2016;10(1):31–40. Available from: <http://ijt.arakmu.ac.ir/article-1-430-en.html>
  79. Marcon L, Bazzoli N, Honor Mounteer A, Anjos Benjamin L Dos. Histological and Histometric Evaluation of the Liver in *Astyanax Bimaculatus* (Teleostei: Characidae), Exposed to Different Concentrations of an Organochlorine Insecticide. *Anat Rec*. 2015;298(10):1754–64.
  80. Guzmán-Guillén R, Prieto Ortega AI, Moreno IM, Ríos V, Moyano R, Blanco A, et al. Effects of depuration on histopathological changes in tilapia ( *Oreochromis niloticus* ) after exposure to cylindrospermopsin. *Environ Toxicol* [Internet]. 2017 Apr;32(4):1318–32. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/tox.22326>
  81. Marchand MJ, van Dyk JC, Barnhoorn IEJ, Wagenaar GM. Histopathological changes in two potential indicator fish species from a hyper-eutrophic freshwater ecosystem in South Africa: A baseline study. *African J Aquat Sci*. 2012;37(1):39–48.
  82. Kaur S, Khera KS, Kondal JK. Heavy metal induced histopathological alterations in liver , muscle and kidney of freshwater cyprinid , *Labeo rohita* ( Hamilton ). 2018;6(2):2137–44.
  83. Cárdenas-Triviño G, Elgueta C, Vergara L, Ojeda J, Valenzuela A, Cruzat C. Chitosan doped with nanoparticles of copper, nickel and cobalt. *Int J Biol Macromol* [Internet]. 2017;104:498–507. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.06.040>
  84. Omogbai BA, Ikenebomeh MJ. Subchronic Toxicity Study of a Characterized Food Grade Chitosan from Crab ( *Callinectes sapidus* ). *Niseb* [Internet]. 2016;16(1):34–44. Available from: <http://www.nisebjournal.org>
  85. Rapatsa MM, Moyo NAG. Evaluation of Imbrasia belina meal as a fishmeal substitute in *Oreochromis mossambicus* diets : Growth performance , histological analysis and enzyme activity. *Aquac Reports* [Internet]. 2017;5:18–26. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aqrep.2016.11.004>
  86. Castro PL, Ginés R, Dominguez D, Rey E, Robaina L, Karalazos V, et al.

Histochemical study of the intestinal absorption , liver and lens effect with zinc- -  
supplemented diets for gilthead seabream. 2019;(March 2018):66–77.

**CAPÍTULO VI**  
**ANEXOS**

**Anexo 1.** *Análisis de varianza de la variable índice hepatosomático.*

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>GI</b>	<b>CM</b>	<b>F. cal.</b>	<b>p-valor</b>
Tratamiento	0,27	3	0,97	0,97	<0.4514
Error	0,73	8			*
Total	1	11			

**Anexo 2.** *Análisis de varianza del área de los hepatocitos  $\mu\text{m}^2$ .*

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>GI</b>	<b>CM</b>	<b>F. cal.</b>	<b>p-valor</b>
Tratamiento	74,99	3	24,93	6,38	<0.0162
Error	31,34	8	3,91		**
Total	10,63	11			

**Anexo 3.** *Análisis de varianza del diámetro de los hepatocitos  $\mu\text{m}$ .*

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>GI</b>	<b>CM</b>	<b>F. cal.</b>	<b>p-valor</b>
Tratamiento	3,12	3	1,04	6,29	<0.0169
Error	1,32	8	0,17		**
Total	4,44	11			

**Anexo 4.** *Análisis de varianza del volumen de los hepatocitos  $\mu\text{m}^3$ .*

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>GI</b>	<b>CM</b>	<b>F. cal.</b>	<b>p-valor</b>
Tratamiento	85,06	3	28,35	6,77	<0.0138
Error	33,52	8	41,90		**
Total	11,85	11			

**Anexo 5.** *Análisis de varianza área del citoplasm  $\mu\text{m}^2$ .*

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>GI</b>	<b>CM</b>	<b>F. cal.</b>	<b>p-valor</b>
Tratamiento	68,67	3	22,89	6,56	<0.0150
Error	27,89	8	3,48		**
Total	96,56	11			

**Anexo 6.** *Análisis de varianza del volumen del citoplasma  $\mu\text{m}^3$ .*

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>GI</b>	<b>CM</b>	<b>F. cal.</b>	<b>p-valor</b>
Tratamiento	82,83	3	27,61	6,84	<0.0134
Error	32,27	8	40,34		**
Total	11,51	11			

**Anexo 7.** Relación de hepatocitos área citoplasma/ área nuclear ( $\mu\text{m}^2$ ).

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>GI</b>	<b>CM</b>	<b>F. cal.</b>	<b>p-valor</b>
Tratamiento	2,48	3	0,83	5,49	<0.0242
Error	1,21	8	0,15		**
Total	3,69	11			

**Anexo 8.** Análisis de varianza del área del núcleo de los hepatocitos ( $\mu\text{m}^2$ ).

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>GI</b>	<b>CM</b>	<b>F. cal.</b>	<b>p-valor</b>
Tratamiento	2,75	3	0,92	4,65	<0.0364
Error	1,57	8	0,20		**
Total	4,32	11			

**Anexo 9.** Análisis de varianza diámetro del núcleo  $\mu\text{m}$ .

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>GI</b>	<b>CM</b>	<b>F. cal.</b>	<b>p-valor</b>
Tratamiento	0,10	3	0,03	4,7	<0.0355
Error	0,06	8	0,01		**
Total	0,16	11			

**Anexo 10.** Análisis de varianza del volumen del núcleo  $\mu\text{m}^3$

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>GI</b>	<b>CM</b>	<b>F. cal.</b>	<b>p-valor</b>
Tratamiento	31,46	3	10,49	4,5	<0.0395
Error	18,64	8	2,33		**
Total	50,10	11			

**Anexo 11.** Análisis de varianza área del sinusoides  $\mu\text{m}^2$

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>GI</b>	<b>CM</b>	<b>F. cal.</b>	<b>p-valor</b>
Tratamiento	30,02	3	10,00	5,30	<0.0264
Error	15,09	8	1,88		**
Total	45,11	11			

**Anexo 12.** Diámetro de sinusoides  $\mu\text{m}$ .

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>GI</b>	<b>CM</b>	<b>F. cal.</b>	<b>p-valor</b>
Tratamiento	2,15	3	0,72	4,22	<0.0459
Error	1,36	8	0,17		**
Total	3,51	11			

**Anexo 13.** Índice hepatosomático.

Tratamientos	(IHS)	SD
T1	2,03	0,45
T2	2,25	0,29
T3	1,84	0,23
T4	1,97	0,17

**Anexo 14.** Sinusoides a nivel hepático.

Testigo 0% de quitosano en la dieta	1% de quitosano en la dieta	3% de quitosano en la dieta	5% de quitosano en la dieta	CV	F	P > 0.05
T1	T2	T3	T4			
5,78±0,20b	5,79±0,47ab	6,38±0,37ab	6,78±0,53a	6,670	4,22	0,046
25,63±1,52b	28,26±4,55ab	34,66±4,82ab	38,23±5,40 a	13,700	5,30	0,026

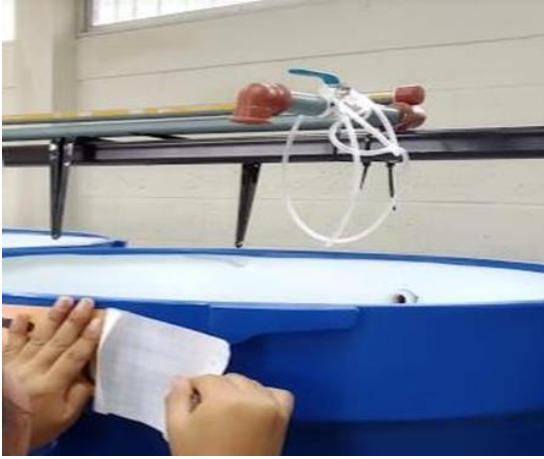
**Anexo 15.** Actividades realizadas durante la investigación.



**a.** Recolección de alevines.



**b.** Alevines



**c.** *Rotulación de los tanques.*



**d.** *Instalación de bombas de oxígeno.*



**d.** *Preparación de alimentos.*



**e.** *Mescla de los ingredientes.*



**e.** *Almacenamiento de las dietas*



**f.** *Clasificación de las dietas.*



**g.** *Captura de peces.*



**h.** *Captura de los peces para posterior sacrificio.*



**i.** *Pesaje de los peces.*



**j.** *Aplicación de Solución Davidson*



**k.** *Extracción de los hígados.*



**l.** *Pesaje del hígado.*