



UNIVERSIDAD TECNICA ESTATAL DE QUEVEDO

FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS Y BIOLÓGICAS

CARRERA AGROPECUARIA

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

Título de la Unidad de Integración Curricular:

**“ACTIVIDAD ENZIMATICA DIGESTIVA E HISTOLOGIA INTESTINAL EN
JUVENILES DE TILAPIA ROJA (*Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis niloticus*)
ALIMENTADOS CON ÁCIDO ASCÓRBICO EN DIETA”**

Autor:

Joselyne Rocío Jijón Montes

Director del proyecto de investigación:

Dr. Yuniel Méndez Martínez PhD.

Mocache – Los Ríos – Ecuador

2022

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS.

Yo, **Jijón Montes Joselyne Rocío**, 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.

Jijón Montes Joselyne Rocío
C.I. 0941304511



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

1 /fcp_91@yahoo.es

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

Quevedo – Los Ríos – Ecuador

La Primera Universidad Agropecuaria del País. Acreditada



CASILLAS

Guayaquil

:10672

Quevedo: 73

CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.

El suscrito, **Dr. Méndez Martínez Yuniel PhD.** Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que el estudiante, **Jijón Montes Joselyne Rocío**, realizó el Proyecto de Investigación de grado titulado **“ACTIVIDAD ENZIMATICA DIGESTIVA E HISTOLOGIA INTESTINAL EN JUVENILES DE TILAPIA ROJA (*Oreochromismossambicus* x *Oreochromis niloticus*) ALIMENTADOS CON ACIDO ASCORBICOEN DIETA”**, previo a la obtención del título de Ingeniera Agropecuaria, bajo mi dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

Atentamente,

Dr. Méndez Martínez Yuniel, PhD.

DIRECTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

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

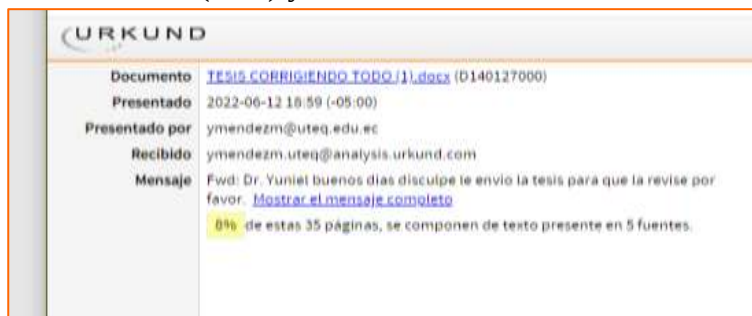
Mocache, 12 de junio del 2022
Ingeniero Dr. Méndez Martínez Yuniel
COORDINADOR DE CARRERA ALIMENTOS

De mi consideración:

Dado que el suscrito es conocedor que el proyecto de investigación titulado:

“ACTIVIDAD ENZIMATICA DIGESTIVA E HISTOLOGIA INTESTINAL EN JUVENILES DE TILAPIA ROJA (*Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis niloticus*) ALIMENTADOS CON ACIDO ASCORBICO EN DIETA”. De autoría dela señorita **Jijón Montes Joselyne Rocío**, 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 listasde fuentes de comparación entre las cuales se encuentran las páginas preliminares de carátula, declaración de auditoría, certificación, agradecimientos, dedicatoria, índices, entre otras fuentes que no son utilizadas en el texto de la tesis.

Por lo expresado, CERTIFICO que el porcentaje validado por el URKUND es de 8% de similitud (Figura 1), el mismo que es permitido por el mencionado Software, por lo cual solicito la continuación con los trámites pertinentes para solicitar fecha de sustentación del proyecto de investigación de la señorita Jijón Montes Joselyne Rocío. **Figura 1.** Certificación del porcentaje de confiabilidad (98%) y similitud 8% de URKUND.



Dr. Méndez Martínez Yuniel, Ph

iv

DIRECTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.



**UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA AGROPECUARIA**

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título de la Unidad de Integración Curricular:

Título:

“ACTIVIDAD ENZIMATICA DIGESTIVA E HISTOLOGIA INTESTINAL EN JUVENILES DE
TILAPIA ROJA (*Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis niloticus*) ALIMENTADOS CON
ACIDO ASCORBICO EN DIETA”

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

Aprobado por:

Dr. Jorge Magno Rodríguez
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Dra. Ana Ruth Álvarez
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dr. Orly Fernando Cevallos
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Quevedo - Los Ríos- Ecuador

2022-2023

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por haberme dado la oportunidad de alcanzar el sueño más anhelado, me permite sonreír ante mis logros que son el resultado de tu ayuda qué es poder culminar mis estudios.

Debo agradecer de manera especial y sincera al director de mi proyecto al Dr. Yumiel Méndez Martínez PhD. , por el tiempo, la paciencia y el aporte de la información académica de la autora. Su apoyo y confianza en mi trabajo y su capacidad para guiarme ha sido un aporte invaluable, no solo en la investigación de la tesis si no también en mi formación como investigador. Excelente persona tanto profesional y amigo muchas gracias.

A mi familia en especial Padre Edúar Jijón Quinto, Madre Marjorie Montes Macías por los valores inculcados y por los grandes sacrificios que como padres realizaron para darme la mejor herencia que es el estudio, hermanos Cristhian Jijón Montes, Alex Jijón Montes, Esposo John Guamán y mi fuerza mi hijo por su apoyo incondicional para lograr este maravilloso sueño.

DEDICATORIA.

*Se la dedico al forjador
de mi camino, a mi padre
celestial Dios, por darme salud, vida y las
fuerzas para lograr la tan anhelada meta, a
mis padres pues gracias a sus esfuerzos y
sacrificios he logrado mi formación
profesional.*

Tabla de contenido

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS.....	ii
CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	iii
CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO.	iv
AGRADECIMIENTOS.....	vi
DEDICATORIA.....	vii
INDICE DE FIGURA	xiii
INDICE DE TABLA	¡Error! Marcador no definido.
RESUMEN.	xvi
CÓDIGO DUBLIN	¡Error! Marcador no definido.
INTRODUCCIÓN.....	xviii
CAPÍTULO I.....	24
CONTEXUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....	24
1.1.Problema De La Investigación.	25
1.1.1.Planteamiento	del Problema.
.....	25
Diagnostico.....	25
Pronostico	25
	viii

1.1.2. Formulación	del	problema.	
.....			26
1.1.3.	Sistematización del problema.		26
1.2.	Objetivos.		27
1.2.1	Objetivo general.		27
1.2.2.	Objetivos específicos.		27
1.3.	Justificación.		28
CAPÍTULO II.			29
2.1.	Marco Conceptual.		30
2.1.1.	Ácido ascórbico.		30
2.1.2.	Actividad enzimática.		30
2.1.3.	Histología del intestino.		30
2.1.4.	Intestino.		31
2.1.5.	Micronutrientes.		31
2.1.6.	Tilapia.		31
2.2.	Marco Referencial.		32
2.2.1.	Ácido ascórbico.		32
	Figura 1. Estructura química del ácido ascórbico.		32
2.2.1.1.	Consumo de ácido ascórbico.		33
2.2.1.2.	Obtención de ácido ascórbico.		33

2.2.1.3.	Ácido ascórbico en peces.....	33
2.2.1.4.	La dieta como fuente de ácido ascórbico.	34
2.3.	Acuicultura en Ecuador.....	34
2.3.1.	Producción de tilapia en el Ecuador.....	34
2.3.2.	Tilapia.	35
2.3.2.1.	Taxonomía de la tilapia roja.....	36
2.3.2.2.	Morfología externa.....	36
	Figura 2. Morfología Externa de la Tilapia Roja. (26).....	37
	Figura 3. Morfología interna de la tilapia.....	38
2.3.2.4.1.	Esófago.	39
2.3.2.4.2.	Estómago.	39
2.3.2.4.3.	Intestino.	40
2.3.2.4.4.	Hígado.....	40
2.3.2.4.5.	Páncreas.	41
2.4.	Enzimas digestivas.....	41
2.5.	Investigaciones relacionadas.....	43
	CAPÍTULO III	48
	METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	48
3.1.	Localización.....	49
3.1.1.	Condiciones climáticas.....	49

3.2.	Tipo de investigación.....	50
3.3.	Método de investigación.....	50
3.3.2.	Método analítico.....	50
3.1.1.	Método estadístico.....	50
3.4.	Fuente de recopilación de información.....	51
3.5.	Diseño de investigación.....	51
3.5.1.	Análisis de la varianza.....	52
3.6.	Instrumentos de la investigación.....	52
3.6.2.	Condiciones de cultivo de los peces.....	54
3.6.3.	Obtención de muestras intestinales.....	55
3.6.4.	Análisis y evaluaciones.....	55
3.6.4.2.	Procedimiento y análisis de actividad enzimática digestiva.....	55
3.6.4.3.	Procedimiento y análisis de muestras histológicas.....	58
3.6.4.4.	Tinción Hematoxilina y Eosina (H&E).....	58
3.6.4.5.	Fijación.....	58
3.6.4.6.	Deshidratación y aclaración.....	59
3.6.4.7.3.	Observación y foto digitalización.....	61
3.6.	Tratamiento de los datos.....	62
3.7.	Recursos humanos y materiales.....	63
3.7.5.	Materiales e insumos.....	63

3.7.6.	Material y equipos de oficina.....	64
3.7.7.	Materia y equipo de laboratorio.	64
CAPÍTULO IV		66
RESULTADOS Y DISCUSIÓN		66
4.	Resultados.	67
4.1.	Índice Intestinosomático en juveniles de tilapia roja.....	67
4.2.	Enzimas digestivas en juveniles de tilapia roja.	68
4.3.	Histología Intestinal en juveniles de tilapia roja.	71
CAPÍTULO		75
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		75
5.	Conclusiones.	76
6.	Recomendaciones.....	77

INDICE DE FIGURA

Figura 1. Estructura química del ácido ascórbico	11
Figura 2. Morfología Externa de la Tilapia Roja. (20)	15
Figura 3. Morfología interna de la tilapia	16
Figura 4. Variables histológicas evaluadas: longitud del pliegue mucoso (A), conteo de pliegues mucosos por sección intestinal (B), mucosa subepitelial (C) y altura de enterocitos (D).....	36
Figura 5. Índice intestino somático (%) en juveniles de tilapia roja, alimentados vitamina C	42
Figura 6. Mucosa subepitelial del intestino en juveniles tilapia roja	45
Figura 7. Altura del enterocito en intestino de juveniles tilapia roja	46
Figura 8. Número de pliegues de la mucosa del intestino en juveniles tilapia roja	47
Figura 9. Longitud del pliegue mucoso (μm)	48

INDICE DE TABLA

Tabla 1. Clasificación taxonómica de la tilapia roja.....	14
Tabla 2. Condiciones Meteorológicas Campus la María	26
Tabla 3. Análisis de varianza.....	28
Tabla 4. Composición química de las dietas experimentales	29
Tabla 5. Descripción de los tratamientos.....	38
Tabla 6. Actividad enzimática digestiva de amilasas, lipasas y proteasas en tilapia roja con la inclusión de ácido ascórbico en dieta.....	43

ÍNDICE DE ANEXOS.

Anexo 1. Elaboración de la dieta.	78
Anexo 2. Pesaje de los ingredientes seco para la dieta.	78
Anexo 3. Molienda del balanceado.	¡Error!
Marcador no definido.	
Anexo 4. Capturas de ejemplares testigo.	¡Error!
Marcador no definido.	
Anexo 5 Ejemplares testigo.	78
Anexo 6. Limpieza del tratamiento.	78
Anexo 7. Captura de ejemplares.	78
Anexo 8. Pesaje del intestino.	78
Anexo 9. Captura de ejemplares del T2.	78
Anexo 10-. Extracción del intestino.	78
Anexo 11. Extracción de intestino del T3.	78
Anexo 12. Extracción del intestino.	78

RESUMEN.

Esta investigación tuvo como objetivo evaluar la actividad enzimática digestiva e histología intestinal en juveniles de tilapia roja (*Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis niloticus*) alimentados con ácido ascórbico en dieta. El trabajo de investigación se llevó a cabo en el Campus “La María”, perteneciente a la Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Se emplearon dietas paletizadas experimentales con inclusión ácido ascórbico en dosis de 0, 100, 200, 400, 800 y 1600 mg kg⁻¹; cada tratamiento estuvo conformado por tres repeticiones (acuarios de plásticos), con 15 unidades experimentales (juveniles de tilapia roja) / acuario, dando un total de 270 juveniles en un diseño completamente al azar. El período de cultivo tuvo una duración de 56 días, luego se disectaron los intestinos, se pesaron y tomaron las muestras para análisis bioquímicos e histología. En cuanto la variable del índice intesto somático el mejor resultado se obtuvo en el T6 8,6±2,23% no reporto significancia estadística en los tratamientos, por consecuente para la actividad enzimática digestiva la amilasa en respuesta el T6 fue de 55,74±1,23, en las lipasas se refleja en el T6 con el valor de 41,05±5,04, en cuanto a las proteasas se evidencian en el T6 con 78,95±6,66 por lo tanto se encontró diferencias estadísticas para estas variables.

Palabras claves: Acuicultura, sistema digestivo, Vitamina c, balancea

ABSTRACT.

The objective of this research was to evaluate the digestive enzyme activity and intestinal histology in juvenile red tilapia (*Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis niloticus*) fed ascorbic acid in the diet. The research work was carried out at the "La María" Campus, belonging to the State Technical University of Quevedo. Experimental pelleted diets including ascorbic acid in doses of 0, 100, 200, 400, 800 y 1600 mg kg⁻¹ were used; each treatment consisted of three replications (plastic aquariums), with 15 experimental units (juvenile red tilapia) /aquarium, giving a total of 270 juveniles in a completely randomized design. The culture period lasted 56 days, then the intestines were dissected, weighed and samples were taken for biochemical and histological analysis. As for the variable of the intesto-somatic index, the best result was obtained at T6 $8.6 \pm 2.23\%$ did not report statistical significance in the treatments, therefore for the digestive enzyme activity, the amylase in response at T6 was 55.74 ± 1.23 , in lipases it is reflected in T6 with the value of 41.05 ± 5.04 , in terms of proteases they are evident in T6 with 78.95 ± 6.66 , therefore statistical differences were found for these variables.

Keywords: Aquaculture, digestive system, vitamin c, balanced.

CODIGO DUBLIN

Título:	Actividad enzimática digestiva e histología intestinal en juveniles de tilapia roja (<i>Oreochromis mossambicus</i> x <i>Oreochromis niloticus</i>) alimentados con ácido ascórbico en dieta			
Autor:	Jijón Montes Joselyne Rocío			
Palabras clave:				
Editorial:	Quevedo: UTEQ, 2022.			
Resumen:	Resumen. -Esta investigación tuvo como objetivo evaluar la actividad enzimática digestiva e histología intestinal en juveniles de tilapia roja (<i>Oreochromis mossambicus</i> x <i>Oreochromis niloticus</i>) alimentados con ácido ascórbico en dieta. El trabajo de investigación se llevó a cabo en el Campus “La María”, perteneciente a la Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Se emplearon dietas peletizadas experimentales con inclusión ácido ascórbico en dosis de 0, 100, 200, 400, 800 y 1600 mg kg⁻¹; cada tratamiento estuvo conformado por tres repeticiones (acuarios de plásticos), con 15 unidades experimentales (juveniles de tilapia roja) / acuario, dando un total de 270 juveniles en un diseño completamente al azar. El período de cultivo tuvo una duración de 56 días, luego se disectaron los intestinos, se pesaron y tomaron las muestras para análisis bioquímicos e histología. En cuanto la variable del índice intesto somático el mejor resultado se obtuvo en el T6 8,6±2,23% no reporto significancia estadística en los tratamientos, por consecuente para la actividad enzimática digestiva la amilasa en respuesta el T6 fue de 55,74±1,23, en las lipasas se refleja en el T6 con el valor de 41,05±5,04, en cuanto a las proteasas se evidencian en el T6 con 78,95±6,66 por lo tanto se encontró diferencias estadísticas para estas variables. Abstract. -The objective of this research was to evaluate the digestive enzyme activity and intestinal histology in juvenile red tilapia (<i>Oreochromis mossambicus</i> x <i>Oreochromis niloticus</i>) fed ascorbic acid in the diet. The research work was carried out at the "La María" Campus, belonging to the State Technical University of Quevedo. Experimental pelleted diets including ascorbic acid in doses of 0, 100, 200, 400, 800 y 1600 mg kg⁻¹ were used; each treatment consisted of three replications (plastic aquariums), with 15 experimental units (juvenile red tilapia) /aquarium, giving a total of 270 juveniles in a completely randomized design. The culture period lasted 56 days, then the intestines were dissected, weighed and samples were taken for biochemical and histological analysis. As for the variable of the			

	intesto-somatic index, the best result was obtained at T6 $8.6 \pm 2.23\%$ did not report statistical significance in the treatments, therefore for the digestive enzyme activity, the amylase in response at T6 was 55.74 ± 1.23 , in lipases it is reflected in T6 with the value of 41.05 ± 5.04 , in terms of proteases they are evident in T6 with 78.95 ± 6.66 , therefore statistical differences were found for these variables
Descripción:	74 hojas
URL.:	

INTRODUCCIÓN

La acuicultura en el mundo muestra cada vez mayor relevancia económica debido al gran incremento de su demanda y a la creciente calidad del producto comercial. Intentar observar consecutivamente las necesidades de la población cultivada es muy importante, ya que usualmente suele presentarse situaciones que llegan a afectar a dicha población y en ocasiones es muy difícil salvarla. La tilapia Roja es un pez de origen tropical, cuya industrialización es una alternativa nueva en el país, pero que ha permitido obtener una excelente rentabilidad económica. Antes a este cultivo no se le tenía mucho interés, pues nadie pensó que tendría buenas expectativas la producción de dicho cultivo en el Ecuador, ni que, hubiesen alcanzado la importancia industrial y tecnológica que tienen actualmente (1).

La tilapia es un pez dulceacuícola originario del África que posee muchas características que la convierten en un excelente pez para acuicultura, pero también es considerada como una de las especies exóticas invasoras más peligrosas del mundo debido a su adaptabilidad y potencial reproductivo. (2). El Ministerio de Acuicultura y Pesca indica que se cultiva mayormente en las provincias de la Costa (Guayas, Los Ríos, Santo Domingo de los Tsáchilas) y Amazonía (Sucumbíos, Pastaza, Napo y Zamora Chinchipe), aunque también se lo observa en la Sierra (Cotopaxi, Bolívar, Loja y Azuay), en zonas donde el clima lo permite. (3).

Esta especie tiene una característica que la hace especial la cual es su fácil adaptación en condiciones que otras especies no podrían sobrevivir por lo que es preferida por las personas que realizan esta producción. El desarrollo de dicha producción ha generado grandes ganancias de aproximadamente 60 mil dólares/ha. /año en un proyecto que, si se arranca desde cero, puede oscilar en el país entre 300 y 350 mil dólares en un área de extensión de 15 ha. Para poner a producir 16 piscinas de 1.2 ha. Cada una (1).

Existen estudios morfológicos que se han concentrado en la descripción de órganos como el bazo, el tejido sanguíneo y la organización general de sistema circulatorio. El sistema digestivo ha sido evaluado sin que se realice la descripción en todos los estadios del desarrollo de la especie, destacándose principalmente en estadios juveniles, el sistema digestivo de los peces está compuesto por boca y tubo digestivo, este último consiste en un tubo elongado con una pared muscular. Está dividido en cavidad oral, faringe, esófago, estómago e intestino; lo anterior puede variar según la especie y los hábitos alimenticios. Hacen parte del sistema digestivo órganos extramurales o glándulas anexas: hígado y páncreas, las cuales participan en la síntesis de enzimas necesaria para la digestión del material alimenticio. Histológicamente el tubo digestivo de los teleósteos es simple, comparado con otros organismos superiores evolutivamente y desde víscera anterior hasta víscera posterior; está compuesto por cuatro capas organizadas de manera concéntrica, así (del lumen hacia afuera) (4).

Es fundamental en la piscicultura la adecuada adaptación del animal, es decir entre mejor sea su adaptación mejor será su mantenimiento en cautiverio, cabe mencionar que la alimentación en los peces es de suma importancia ya que los kilos de peces producidos por kilos de alimento consumido, depende de la cantidad y calidad del alimento. Las especies acuáticas también necesitan proteínas minerales, factores de crecimiento y fuentes energéticas para su crecimiento, reproducción y otras funciones fisiológicas (5).

La energía que proporcionan las funciones metabólicas en los peces es mediante las fuentes de lípidos adicionales los ácidos grasos que junto con la proteína son consideradas los nutrientes esenciales para su nutrición. La forma más común de expresar valores energéticos en la acuicultura es a través de la energía digestiva (ED), que es la cantidad de energía digerida y absorbida. Cabe destacar que, si existe un desbalance en proteína energía digestible por deficiencia de ED, provoca procesos catabólicos de desaminación en la cual se utilizaría aminoácidos como fuente de energía para lograr cubrir sus exigencias (6).

Existen componentes que son necesarios para el correcto desarrollo del crecimiento en peces, tal es el caso del ácido ascórbico pues contribuye en la formación de colágeno cartílago, huesos y cicatrización de heridas también se ha comprobado que beneficia en la inmunización del organismo de los peces (7).

El ácido ascórbico es considerado un micronutriente hidrosoluble producido mediante el metabolismo de la glucosa pues ayuda a reducir las funciones biológicas y enzimáticas, cabe destacar que el ácido ascórbico es fácil de degradar ya sea por factores como el pH, temperatura concentración de oxígeno concentración de sal o azúcar enzimas catalizadores metálicos (8). La vitamina C también permite obtener reacciones que benefician a la respuesta de estrés, por lo que contribuye a la mejoría de enfermedades en los peces, siendo considerado como componente de suma importancia para el correcto desarrollo de los peces (9).

Cabe destacar que en la presente investigación se analizara la actividad enzimática digestiva e histología intestinal en juveniles de tilapia roja (*oreochromis mossambicus x oreochromis niloticus*) alimentados con ácido ascórbico en dieta con el objetivo de determinar el efecto en los tejidos del intestino y su relación con la actividad enzimática digestiva de los peces de tilapia roja muscular. Está dividido en cavidad oral, faringe, esófago, estómago e intestino; lo

anterior puede variar según la especie y los hábitos alimenticios. Hacen parte del sistema digestivo órganos extramurales o glándulas anexas: hígado y páncreas, las cuales participan en la síntesis de enzimas necesaria para la digestión del material alimenticio. Histológicamente el tubo digestivo de los teleósteos es simple, comparado con otros organismos superiores evolutivamente y desde víscera anterior hasta víscera posterior; está compuesto por cuatro capas organizadas de manera concéntrica, así (del lumen hacia afuera) (4).

Es fundamental en la piscicultura la adecuada adaptación del animal, es decir entre mejor sea su adaptación mejor será su mantenimiento en cautiverio, cabe mencionar que la alimentación en los peces es de suma importancia ya que los kilos de peces producidos por kilos de alimento consumido, depende de la cantidad y calidad del alimento. Las especies acuáticas también necesitan proteínas minerales, factores de crecimiento y fuentes energéticas para su crecimiento, reproducción y otras funciones fisiológicas (5).

La energía que proporcionan las funciones metabólicas en los peces es mediante las fuentes de lípidos adicionales los ácidos grasos que junto con la proteína son consideradas los nutrientes esenciales para su nutrición. La forma más común de expresar valores energéticos en la acuicultura es a través de la energía digestiva (ED), que es la cantidad de energía digerida y absorbida. Cabe destacar que, si existe un desbalance en proteína energía digestible por deficiencia de ED, provoca procesos catabólicos de desaminación en la cual se utilizaría aminoácidos como fuente de energía para lograr cubrir sus exigencias (6).

Existen componentes que son necesarios para el correcto desarrollo del crecimiento en peces, tal es el caso del ácido ascórbico pues contribuye en la formación de colágeno cartílago, huesos y cicatrización de heridas también se ha comprobado que beneficia en la inmunización del organismo de los peces (7).

El ácido ascórbico es considerado un micronutriente hidrosoluble producido mediante el metabolismo de la glucosa pues ayuda a reducir las funciones biológicas y enzimáticas, cabe destacar que el ácido ascórbico es fácil de degradar ya sea por factores como el pH, temperatura concentración de oxígeno concentración de sal o azúcar enzimas catalizadores metálicos (8).

La vitamina C también permite obtener reacciones que benefician a la respuesta de estrés, por lo que contribuye a la mejoría de enfermedades en los peces, siendo considerado como componente de suma importancia para el correcto desarrollo de los peces (9).

Cabe destacar que en la presente investigación se analizara la actividad enzimática digestiva e histología intestinal en juveniles de tilapia roja (*oreochromis mossambicus* x *oreochromis niloticus*) alimentados con ácido ascórbico en dieta con el objetivo de determinar el efecto en los tejidos del intestino y su relación con la actividad enzimática digestiva de los peces de tilapia roja.

CAPÍTULO I
CONTEXUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.

1.1. Problema De La Investigación.

1.1.1. Planteamiento del Problema.

La problemática a causa de la sobrepoblación que existe en el mundo ha permitido que la humanidad con ayuda de nuevos avances tecnológicos integre nuevas producciones de especie animal, con la finalidad de abastecer las necesidades alimenticias. Considerando a la acuicultura como una de las producciones actualmente rentable en el país entre las cuales está la crianza de tilapia, para ello también existen ciertas inquietudes, preguntas sobre esta explotación por lo que se determina que existe un gran desconocimiento del mismo lo que hace que en situaciones llegue existir dificultades en su crianza, uno de estos factores esta la alimentación la falta de sustancias que permitan potenciar la absorción de alimentos que puedan beneficiar la actividad enzimática digestiva en la digestibilidad y absorción de alimentos, ha provocado que la crianza de tilapia respecto a su desarrollo y reproducción se vea afectada provocando la baja rentabilidad para los que realizan esta labor productiva.

Diagnostico.

La baja administración de sustancias que permitan potenciar la absorción de los alimentos como el ácido ascórbico en las dietas establecidas para mejorar y satisfacer el funcionamiento metabólico del cultivo de tilapia, esto podría darse a la falta de conocimientos o investigación de los resultados de cómo podría actuar sobre el estado fisiológico digestivo. Por lo que es razón suficiente para implementar esta nueva estrategia.

Pronostico

Se intenta mejorar la actividad enzimática e histológica de juveniles de Tilapia roja con la administración de ácido ascórbico contribuyendo de manera científica al ámbito investigativo obteniendo resultados de manera que se garantice el buen funcionamiento metabólico en los organismos.

1.1.2. Formulación del problema.

¿Cuál será la respuesta de la actividad enzimática digestiva e histología intestinal de los juveniles de tilapia roja mediante la inclusión de ácido ascórbico en dietas paletizadas realizada en la Universidad técnica estatal de Quevedo Facultad de Ciencias Agropecuaria La María?

1.1.3. Sistematización del problema.

¿Será que la aplicación de ácido ascórbico en dieta influirá el índice somático intestinal de los juveniles de tilapia roja?

¿Cómo se comportará la actividad enzimática digestiva al incrementar la dosis de ácido ascórbico en dieta para juveniles de tilapia roja?

¿Qué acción tendrá la aplicación de niveles de ácido ascórbico en la dieta peletizada sobre la histología intestinal de la tilapia roja?

1.2. Objetivos.

1.2.1 Objetivo general.

- Evaluar la actividad enzimática digestiva e histología intestinal en juveniles de tilapia roja (*Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis niloticus*) alimentados con ácido ascórbico en dieta.

1.2.2. Objetivos específicos.

- Determinar el índice somático intestinal en juveniles de tilapia roja alimentados con diferentes niveles de inclusión de ácido ascórbico en dieta.
- Analizar la actividad enzimática digestiva de amilasas, lipasas y proteasas en tilapia roja con la inclusión de ácido ascórbico en dieta.
- Evaluar el efecto de ácido ascórbico en dieta sobre las microvellosidades intestinales en juveniles de tilapia roja.

1.3. Justificación.

Dado que la población busca incrementar la producción de alimento de origen animal, considerando a la acuicultura no solo como fuente rentable si no como alimento que brinda beneficios muy nutritivos importantes y de fácil digestión para el ser humano, esto sin tomar en cuenta la dieta requerida para su correcta actividad digestiva y absorción de los alimentos. Teniendo como principal objetivo tener una buena producción, desarrollo y reproducción del cultivo, es importante establecer una dieta que cumpla con los requerimientos nutricionales del animal que permitan asegurar una buena producción y por ende una mayor rentabilidad. Los emprendedores que realizan el cultivo de tilapia suelen mercantilizar la tilapia sin tener ningún conocimiento de su contenido nutricional ni de la digestibilidad de estos nutrientes a nivel enzimático digestivo e histológico, por lo que se llevara a cabo la siguiente investigación con la finalidad de implementar ácido ascórbico en la dieta para determinar su efecto sobre la actividad enzimática digestiva e histológica en juveniles de tilapia roja.

CAPÍTULO II
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA
INVESTIGACIÓN.

2.1. Marco Conceptual.

2.1.1. Ácido ascórbico.

El ácido ascórbico es considerado un micronutriente hidrosoluble producido mediante el metabolismo de la glucosa pues ayuda a reducir las funciones biológicas y enzimáticas, cabe destacar que el ácido ascórbico es fácil de degradar ya sea por factores como el pH, temperatura concentración de oxígeno concentración de sal o azúcar enzimas catalizadores metálicos (8).

2.1.2. Actividad enzimática.

Entendemos por actividad enzimática la velocidad con que transcurre una reacción catalizada por una enzima. Nótese que excluamos cualquier otro significado que pueda atribuirse al término "actividad"; una enzima muy activa, en el presente estudio, significa que está catalizando muy rápidamente una reacción. La velocidad de una reacción enzimática es en todo momento directamente proporcional a la concentración de enzima; por tanto, la actividad es una medida de la concentración de enzima (10).

2.1.3. Histología del intestino.

En el intestino histológicamente podemos encontrar dos asas intestinales, las cuales son craneal y caudal. En el existe una porción medio posterior del tubo digestivo posee una elongación tres veces el largo total del cuerpo del pez. Pues se divide anatómicamente en tres regiones: anterior, media y posterior. Esta división es considerada topográfica, pues histológicamente no hay estudios que demuestren diferencias entre las porciones intestinales (11).

2.1.4. Intestino.

Las enzimas desdoblan las grasas, proteínas y azúcares que luego de atravesar la pared intestinal son llevados al hígado. El resto de alimentos como fibras, restos de caracoles, etc., se evacúan junto con las heces. El largo del intestino es variable, siendo corto en los depredadores y muy largo en los fitófagos (12).

2.1.5. Micronutrientes.

Son vitaminas y minerales requeridas en pequeñas cantidades y que son necesarias para el organismo. Con el objetivo de ayudar al desarrollo, crecimiento y funcionamiento del mismo (13).

2.1.6. Tilapia.

La tilapia es un pez de buen sabor y rápido crecimiento, se puede cultivar en estanques o en jaulas, soporta altas densidades, resiste condiciones ambientales adversas, tolera bajas concentraciones de oxígeno, es capaz de utilizar la potencialidad alimenticia de los estanques y puede ser manipulada genéticamente. (14).

2.2. Marco Referencial.

2.2.1. Ácido ascórbico

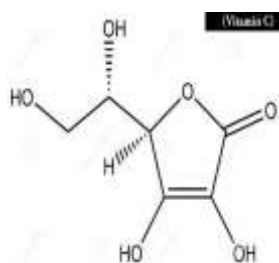


Figura 1. Estructura química del ácido ascórbico.

El ácido ascórbico, es considerado un micronutriente hidrosoluble. Este actúa como antioxidante. La vitamina C o ácido ascórbico (AA) es el principal antioxidante no enzimático hidrosoluble, es de suma importancia en los procesos de neutralización de radicales libres contribuye en la reducción de hierro, regeneración de la vitamina E y actúa como cofactor de enzimas α -cetoglutarato dioxigenasas.

Ciertos mamíferos llegan a sintetizar AA en el hígado mediante la glucosa; no obstante, los humanos, cuyes, primates y ciertos murciélagos no poseen esta capacidad, pues carecen de la enzima que cataliza su biosíntesis (L-gulono-lactona oxidasa) por lo que debe ser suministrado en las dietas (16).

El ácido ascórbico o vitamina C es una sustancia muy soluble, que se pierde fácilmente por lixiviación. Es un antioxidante involucrado en varias reacciones bioquímicas en las células tales como, síntesis de colágeno, degradación de tirosina, absorción de hierro y síntesis de adrenalina. (17).

2.2.1.1. Consumo de ácido ascórbico.

Podemos encontrar a la vitamina C en frutas y vegetales, siendo las frutas cítricas con mayor concentración de vitamina C, con 44% de su ingesta. no obstante, también el consumo de verduras, como el tomate y la coliflor (32,8%), y por el consumo de bebidas, salsas, lácteos y huevos (12,5%). La vitamina C, también tiene la capacidad de ser soluble en agua, es inestable a altas temperaturas, sus niveles son máximos en frutas y vegetales maduros.

La vitamina C llega a tener mayor concentración en los tejidos glandulares como las glándulas adrenales y cerebro, se encuentra en menores niveles en músculo y tejido adiposo (16).

2.2.1.2. Obtención de ácido ascórbico.

La Vitamina C o (AA), es una vitamina de suma importancia ya que actúa como y un agente antioxidante hidrosoluble, que se sintetiza mediante la glucosa, a partir de una serie de reacciones enzimáticas, teniendo en cuenta la L-gulono-g-lactona oxidasa (GLO) la última enzima involucrada. (18).

2.2.1.3. Ácido ascórbico en peces.

Varios estudios sugieren que, en el curso de la evolución, la capacidad de sintetizar ácido ascórbico desapareció en los reptiles, en algunas especies de aves y en muchos peces la mayoría de ellos son incapaces de producir este importante nutriente. La incapacidad de sintetizar ácido

ascórbico se debe a la falta de actividad de la L-gulonolactona oxidasa “GLO. (19).

2.2.1.4. La dieta como fuente de ácido ascórbico.

La obtención de ácido ascórbico se encuentra principalmente en alimentos frescos de origen vegetal. En las de origen vegetal tenemos frutas como los cítricos, naranja, limón, mandarina, toronja, hortalizas como el brócoli, lechuga, y de origen animal como el hígado, leche o productos lácteos (20).

2.3. Acuicultura en Ecuador.

La acuicultura en el Ecuador es de relativamente reciente desarrollo. En el último decenio, esta actividad ha recibido un impulso importante a partir de la explotación en salitrales y tierras altas del recurso camarón blanco. La explotación pesquera en aguas continentales, presenta una incógnita en su desarrollo y en su potencialidad de convertirse en una actividad productiva que origine alimentos ricos en proteínas y a bajo costo.

Algunos organismos de carácter público y privado han iniciado proyectos encaminados a fortalecer la actividad piscícola en varias regiones del país y para darnos una idea de cómo esta podría incidir en la producción nacional, se presentan en forma resumida los resultados de las consultas directas sobre abastecimientos y consumo de pescado realizados por la Misión FAO/BID en 1977 (21).

2.3.1. Producción de tilapia en el Ecuador.

Ecuador es un país sudamericano que tiene una superficie de 283.560 km², cuenta con una tecnología avanzada lo cual ha facilitado la introducción de cultivo de tilapias logrando así ser una gran alternativa de producción, Actualmente existen cerca de 2 000 ha dedicadas al cultivo de tilapia.

Esta alternativa de producción ha permitido que se genere fuentes de empleo y por ende una excelente rentabilidad económica, gracias a la rentabilidad que brinda el cultivo de tilapia ecuatoriana este ha logrado que no solo se dirija a países como Europa y América, sino que también se dirija al mercado estadounidense, la producción de tilapia mediante las nuevas tecnologías ha venido incrementando alcanzo un aproximado de 695.790 toneladas en el 2019 (22).

2.3.2. Tilapia.

La Tilapia es un pez de origen tropical, cuyo cultivo e industrialización es una actividad prácticamente nueva en el país, pero con un gran potencial económico. Hace poco menos de una década, nadie hubiera imaginado que el desarrollo de las granjas de tilapia en nuestro país, hubiesen alcanzado la importancia industrial y tecnológica que tienen actualmente. La gran adaptabilidad del pez en condiciones en la que otros no sobrevivirían hace de esta especie una de las preferidas de los inversionistas. Igualmente, si miramos la rentabilidad establecida de aproximadamente 60 mil dólares/ha. /año en un proyecto que, si se arranca desde cero, puede oscilar en el país entre 300 y 350 mil dólares en un área de extensión de 15 ha. Para poner a producir 16 piscinas de 1.2 h (23).

2.3.2.1. Taxonomía de la tilapia roja.

La clasificación taxonómica se presenta en la siguiente tabla:

Tabla 1. Clasificación taxonómica de la tilapia roja.

Clasificación	
Reino	Animalia
Phylum	Chordata
Subphylum	Craneata
Superclase	Gnostomata
Serie	Picis
Clase	Teleostomi
Subclase	Actinopterygii
Orden	Perciformes
Suborden	Percoidei
Familia	Cichlidae
Genero	Oreochromis
Especie	(<i>Oreochromis mossambicus</i> <i>x Oreochromis niloticus</i>)

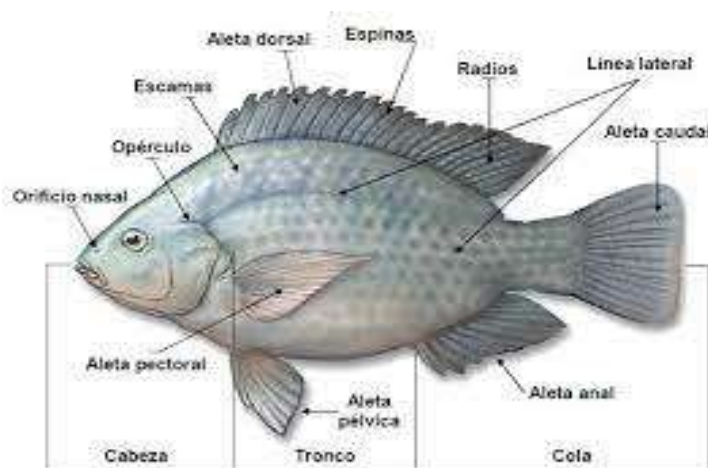
Fuente: (24).

2.3.2.2. Morfología externa.

Presenta un solo orificio nasal a cada lado de la cabeza, que sirve simultáneamente como entrada y salida de la cavidad nasal. El cuerpo es generalmente comprimido y discoidal, raramente alargado. La boca es protráctil, generalmente ancha, a menudo bordeada por labios gruesos; las mandíbulas presentan dientes cónicos y en algunas ocasiones incisivos. Para su locomoción poseen aletas pares e impares. Las aletas pares las constituyen las pectorales y las ventrales; las impares están constituidas por las aletas dorsales, la caudal y la anal. La parte

anterior de la aleta dorsal y anal es corta, consta de varias espinas y la parte terminal de radios suaves, disponiendo sus aletas dorsales en forma de cresta. La aleta caudal es redonda, trunca y raramente cortada, como en todos los peces, esta aleta le sirve para mantener el equilibrio del cuerpo durante la natación y al lanzarse en el agua. (25). **Ver figura 2.**

**Figura
Morfología**



2.

Externa de la Tilapia Roja. (26).

2.3.2.3. Morfología Interna.

El sistema digestivo en la tilapia, se indica en la boca, la cual en su interior presenta dientes mandibulares que pueden ser unas cúspides, bicúspides o tricúspides, continua en el esófago hasta el estómago, el intestino es de forma de tubo hueco y redondo que se adelgaza después del píloro esta diferenciado en dos partes una interior corta que corresponde al duodeno y una parte más posterior más grande de menor diámetro. El intestino es 7 veces más largo que la

longitud total del cuerpo. Otra glándula digestiva es el páncreas que presenta su forma en pequeños trocitos y fragmentos redondos, no se ve a simple vista. El sistema circulatorio, se representa con el corazón, es un órgano de forma generalmente redonda, bilobulado compuesto por tejidos musculares y que se encuentra en la base de la garganta. Su respiración se realiza mediante branquias, que se encuentra en la cavidad opérculo a cada lado de la cabeza, presenta forma de abanico y cuenta con otras pequeñas estructuras, las laminillas branquiales. Las tilapias poseen una vejiga natatoria, que se encuentra pegada a la base intermedia, por abajo inmediato de la columna vertebral, tiene forma alargada y globosa, este órgano le sirve para equilibrar la flotabilidad. El riñón es un órgano de forma ovoide que filtra la sangre y que se conecta con la vejiga. (27), **Ver figura 3.**

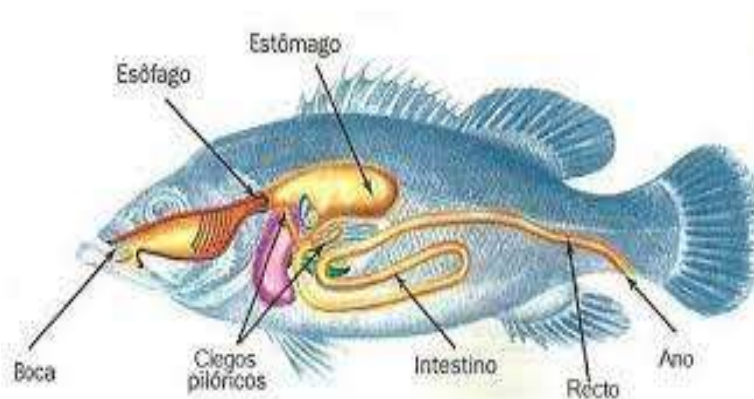


Figura 3.
Morfología

interna de la tilapia.

2.3.2.4. Estructura histológica del intestino de tilapia.

El sistema digestivo en peces es altamente variable entre las diferentes especies, debido a la diversidad de tipos de dietas y ambientes explotados. Por lo anterior, es común que la morfología digestiva varíe directamente con el hábito alimenticio, sexo, edad, filogenia, masa

corporal y forma de los peces. A pesar de esto, algunas estructuras son comunes, presentando cuatro capas constitutivas: mucosa, submucosa, muscular y serosa. El sistema digestivo de la tilapia, se inicia en la boca, con dientes mandibulares continua en el esófago hasta el estómago.

2.3.2.4.1. Esófago.

El esófago es un pasaje muscular entre la boca y el estómago, normalmente permanece fuertemente ocluido para evitar la excesiva ingestión de agua. El epitelio del esófago es ciliado y rico en células mucosas que sirven como lubricante para el transporte del alimento ingerido algunos peces pueden regurgitar el alimento no deseado, dado a la presencia de musculatura estriada en el esófago (28).

2.3.2.4.2. Estómago.

El estómago en peces con hábitos alimenticios omnívoros tiene forma de saco, es donde se almacena y prepara el alimento, previo a la absorción en el intestino. Los peces omnívoros y herbívoros presentan una baja capacidad volumétrica por ello realizan varias ingestiones de pequeñas cantidades de alimento al día la porción posterior del estómago presenta un epitelio columnar con células secretoras de mucus, de ácido clorhídrico y de pepsina (pH entre 2 y 5). Un ejemplo similar es la cachama, pez de hábito omnívoro que presenta un estómago en forma de saco en U y se encuentra en la región anterior de la cavidad abdominal, posterior al esófago, relacionado antero-dorsalmente con el hígado, dorsalmente con el bazo y la vejiga natatoria y caudalmente con las asas intestinales. La región dorso-lateral está cubierto por los ciegos pilóricos. Internamente está organizado en tres regiones: cardial, fúndica y pilórica. Histológicamente tiene una estructura similar a la del estómago de los mamíferos con cuatro capas: mucosa, sub-mucosa, muscular y serosa alrededor del estómago hay una serie de estructuras que conforman los ciegos pilóricos, los que se hallan rodeados generalmente por

tejido adiposo blanco, salvo en situaciones de ayuno. La función que cumplen los ciegos pilóricos es absorbente y de neutralización de acidez, creando mayor espacio adicional para la digestión. (29).

2.3.2.4.3. Intestino.

El intestino es de forma de tubo hueco y redondo que se adelgaza después del píloro, diferenciándose en dos partes, una inferior corta que corresponde al duodeno y una posterior y unaposterior más grande de menor diámetro. El intestino es 7 veces más largo que la longitud total del cuerpo de pez, característica que predomina en las especies herbívoras (30).

El intestino es siete veces más largo que la longitud del cuerpo, característica que predomina en las especies herbívoras. Presenta dos glándulas muy importantes asociadas con el tracto digestivo, siendo una de ellas el hígado, la otra glándula digestiva importante es del páncreas (31).

2.3.2.4.4. Hígado.

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.

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. El parénquima está representado por dos componentes anatómicos: el hepático y el pancreático (32).

2.3.2.4.5. Páncreas.

El páncreas presenta nódulos de disposición variable. En ciertas especies se localiza de forma difusa alrededor del intestino, entremezclado con la grasa mesentérica. En salmónidos, estos nódulos se disponen diseminados entre la grasa del mesenterio que fija los ciegos pilóricos, mientras que en la carpa se dispersan en el hígado en torno a la vena porta, formando la hepatopáncreas, y en otras especies se sitúan en el tejido subcapsular del bazo. El páncreas consta de una porción exocrina y otra endocrina (escasa o sin ella). Existe un conducto pancreático que normalmente se une al biliar antes de desembocar en el intestino anterior. El tejido que conforma el páncreas en su gran mayoría es de tipo acinar, donde los acinos son de color basófilo y, la gran mayoría, con gránulos de secreción exocrina. (33).

2.4. Enzimas digestivas.

La habilidad de un organismo para digerir partículas de alimento depende de la presencia y de la cantidad apropiada de enzimas digestivas. La digestión comienza en el estómago, ya que los pecesteleósteos no poseen glándulas salivales como los mamíferos o las aves. Por lo tanto, la boca del pez tiene una mera función mecánica y de aprehensión en la digestión de alimentos.

Dentro de los peces, se diferencian los que realizan una digestión gástrica e intestinal, y los que no poseen un estómago propiamente dicho y son capaces de llevar a cabo una primera digestión en el esófago. La falta de estómago no es infrecuente entre los peces teleósteos, pero nuestra comprensión de esta especialización reductiva es aún escasa. La ausencia de un estómago no restringe la preferencia trófica, lo que resulta en peces con una morfología

alimentaria muy similar capaz de digerir dietas diferentes.

Diversos estudios han demostrado que la actividad enzimática digestiva en peces es afectada por varios factores tales como el alimento, la tilapia es un pez que tiene la eficacia de digerir eficientemente un gran tipo de nutrientes, lo cual se puede atribuir a su actividad enzimática digestiva.

Cabe destacar que los peces tienen la capacidad de utilizar variedad de nutrientes debido a síntesis de enzimas digestivas apropiadas, La síntesis de enzimas digestivas está adecuada debido a que existe la disponibilidad de nutrientes, y otros factores como el hábitad donde se cultivan los organismos acuáticos puede influir en la actividad de las proteasas. Por lo que es importante conocer el estudio de las enzimas digestivas con el fin de determinar qué tipo de nutriente está en los alimentos que llegan a ingerir en el medio natural, y por ende los requerimientos nutricionales de la especie (34).

2.4.1. Proteasas.

Las proteasas son enzimas encargadas de la correcta hidrolización de las proteínas y posteriormente a la descomposición en péptidos y aminoácidos libres, cabe destacar que se conoce más de catorce proteasas alcalinas presentes en el tracto digestivo de los animales acuáticos (35). Algunas proteasas están relacionadas con la activación de enzimas como las proenzimas, prohormonas (36).

2.4.2. Lipasas.

Las lipasas se encuentran en las células del páncreas y se clasifican en dos tipos, como las esterasas que son las encargadas de la hidrolización de los triglicéridos, actúan sobre ésteres simples de ácidos grasos. Posteriormente están las lipasas verdaderas que actúan sobre la

hidrolización de sustratos pocos solubles La catálisis ocurre cuando se da una interfase entre el agua y los lípidos (30).

2.4.3. Amilasas.

Las amilasas están encargadas de la hidrolisis de almidones y glucógeno. Las amilasas se dividen en dos grupos las cuales la Alfa-amilasa que es tiene la capacidad de cadena de polímetro hidrocarbonato, y lo podemos encontrar en el jugo pancreático, posteriormente esta la beta- amilasa que cumple la función de hidrolizar los carbohidratos (37).

2.5. Investigaciones relacionadas.

Evaluación de oligosacáridos de manano (MOS) en dietas balanceadas para juveniles de pejelagarto (*Atractosteus tropicus*).

Se evaluaron por triplicado seis dietas experimentales con inclusión de MOS (0.0, 0.2, 0.4, 0.6 y 0.8%) y una dieta control de trucha (DC) durante 62 días. Se distribuyeron 180 juveniles (5.11 ± 0.08 g) en un sistema de recirculación con 18 tanques de 70 L con flujo de 10 L min⁻¹. Resultados: La supervivencia en todos los tratamientos fue superior al 96%. La dieta 0.2% de MOS presentó los valores más altos en peso ganado (WG), tasa específica de crecimiento (SGR) y tasa de eficiencia proteínica (PER), y el menor valor en tasa de conversión alimenticia (FCR). En cuanto (4.64 ± 0.07 g) se obtuvieron del desove inducido de una hembra (3.5 kg) y tres machos (1.5 kg) por medio de una inyección intramuscular de hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRHa 35 µg kg de pez⁻¹) en la aleta pélvica. Después de la eclosión de los huevos (día 3 después de la fertilización), los eleuteroembriones se colocaron en tanques circulares de plástico de 70 L y se siguió un esquema de alimentación de acuerdo con informes anteriores (Frías-Quintana et al., 2010). Se realizó el cuidado de los organismos

hasta llegar a la talla necesaria para ser utilizados en el bioensayo (38).

Efectos de la suplementación con complejos multienzimáticos en la dieta sobre el rendimiento del crecimiento, la capacidad digestiva, la histomorfología, los metabolitos sanguíneos y el glucometabolismo hepático en cabeza de serpiente (*Channa argus*):

Se Evaluó el impacto de la suplementación dietética de complejos multienzimáticos (MEC) en el rendimiento del crecimiento, la actividad de las enzimas digestivas, la histomorfología, el metabolismo sérico y el glucometabolismo de la hepatopáncreas en cabezas de serpiente (*Channa argus*). Un total de 600 peces (peso inicial, $69,70 \pm 0,30$ g) se dividieron aleatoriamente en cuatro grupos. Se formularon cuatro dietas: (1) control (dieta básica); (2) E1 (400 U kg⁻¹ de amilasa, 150 U kg⁻¹ de proteasa ácida, 1900 U kg⁻¹ de proteasa neutra y dieta básica); (3) E2 (800 U kg⁻¹ amilasa, 300 U kg⁻¹ proteasa ácida, 3800 U kg⁻¹ proteasa neutra y dieta básica); y (4) E3 (1200 U kg⁻¹ de amilasa, 450 U kg⁻¹ de proteasa ácida, 5700 U kg⁻¹ de proteasa neutra y dieta básica) (39).

Efecto de la suplementación dietética de vitamina C y semillas de (*Achyranthes aspera*) sobre el crecimiento, las actividades enzimáticas digestivas, el sistema inmunológico y la peroxidación lipídica de la trucha de nieve *Schizothorax richardsonii*.

Se cultivaron larvas de trucha de nieve *Schizothorax richardsonii* bajo tres regímenes de alimentación: dieta de control (dieta D1) y dietas de prueba, suplementadas con vitamina C (800 mg/kg de dieta, dieta D2) y semillas de *Achyranthes aspera* (5 g/kg de dieta, dieta D3) . No hubo una diferencia significativa ($P > 0,05$) en la tasa de supervivencia de las larvas cultivadas bajo tres regímenes de alimentación diferentes(40).

Desempeño del crecimiento, parámetros bioquímicos y enzimas digestivas en carpa común (*Cyprinus carpio*) alimentadas con dietas experimentales suplementadas con vitamina C, aceite esencial de tomillo y quercetina.

En este estudio investiga los efectos de la suplementación con vitamina C (VC), aceite esencial de *Thymus vulgaris* L. (TE) y quercetina (QR) sobre el crecimiento, las enzimas digestivas, la composición corporal y los parámetros bioquímicos de la carpa común (*Cyprinus carpio*). Cuatrocientos veinte peces con un peso de $20,46 \pm 0,07$ g se dividieron aleatoriamente en siete tratamientos experimentales por triplicado. Las dietas experimentales contenían T1 (0, control), T2 (500 mg/kg VC), T3 (1000 mg/kg VC), T4 (1% TE), T5 (2% TE), T6 (200 mg/kg QR) y T7 (800 mg/kg QR). Los peces fueron alimentados con el 3% del peso corporal diariamente durante 60 días (41).

Los efectos de la suplementación con nanocompuestos de quitosano y vitamina C en el desempeño del crecimiento, el estado antioxidante, la respuesta inmune y la resistencia a enfermedades de los alevines de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*).

En esta investigación se estimó los efectos de los productos químicos usando el método de gelificación. El método utiliza la interacción electrostática entre el grupo amina de CS y un polianión cargado negativamente grupo como TPP. Brevemente, una solución acuosa de CS (0.2% p/v), respectivamente, utilizando un Zetasizer 3000HS (Malvern Instruments, Reino Unido). plementación con nanocompuestos de quitosano y vitamina C en el desempeño del crecimiento, el estado antioxidante, la respuesta inmune y la resistencia a enfermedades de los alevines de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*). La morfología y el tamaño del nanocompuesto fueron examinados por microscopía electrónica de transmisión (TEM, Tecnai G20, FEI, Holanda). Todos los procedimientos para la preparación. Se compraron alevines

sanos de tilapia del Nilo (*O. niloticus*) del criadero de peces de Abbassa, provincia de Sharkia, Egipto (N = 180, promedio peso inicial = $14,74 \pm 0,016$ g). Estos peces no tenían antecedentes de enfermedad. La morfología y el tamaño del nanocompuesto fueron examinados por microscopía electrónica de transmisión (TEM, Tecnai G20, FEI, Holanda). Todos los procedimientos para la preparación. Se compraron alevines sanos de tilapia del Nilo (*O. niloticus*) del criadero de peces de Abbassa, provincia de Sharkia, Egipto (N = 180, promedio peso inicial = $14,74 \pm 0,016$ g). Estos peces no tenían antecedentes de enfermedad (42).

Inducción de enteritis por harina de soya en dietas de *Totoaba macdonaldi*: Efectos sobre el rendimiento de crecimiento, capacidad digestiva, respuesta inmune y distal integridad del intestino.

Cuatro isoproteicas (485 g de proteína bruta (PC) kg^{-1} dieta) e isolipídicas (dieta de 86 g de lípidos crudos (CL) kg^{-1}) se formularon dietas para reemplazar FM (69% contenido de proteína, Maz Industrial SA de CV, Mazatlán Sinaloa, México) proteína al 0, 25, 50 y 75%, con una mezcla de SPC y harina de soya (SBM) en proporción 1:4, Alimentos COLPAC, Sonora, México y NutriVance™, Midwest Ag Enterprises, Inc. MN, EE. UU. y remitió como SBM de ahora en adelante. La harina de soya contenía 48% PB. Soja el concentrado de proteína contenía 60% de proteína. Además, todas las dietas incluían 1 g kg^{-1} de aceite de krill (Biogrow, ProAqua, México) como atrayente y 10 g kg^{-1} de taurina (Insumos Nubiot, SA de CV, México). Las dietas fueron mixtas (Robot-Coupe, modelo R10, USA), peletizadas a 5 mm de una picadora de carne (Tor-Rey, Modelo M32-5, México) y secado a 60 °C en un horno de aire forzado durante 24 h. Una vez secas, las dietas se envasaron y almacenaron a -20 °C hasta que se utilice para la prueba de alimentación. Cuatro aminoácidos esenciales (lisina, metionina, treonina y arginina; EVONIK, Degussa, México) fueron complementados para alcanzar los mismos niveles encontrados en la dieta de control (0% SBM). Aunque los

tratamientos dietéticos fueron formulados para reemplazar FM proteína al 0, 25, 50 y 75% con una mezcla de harinas de soya, la cantidad real el contenido de mezcla de SBM para cada tratamiento fue 0, 22, 44 y 64% (43).

CAPÍTULO III
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.

3.1. Localización.

La presente investigación se llevó a cabo en la Universidad Técnica Estatal De Quevedo Facultad de Ciencias Pecuarias y Biológicas, “La María en el Km 7 ½ de la vía Quevedo- El Empalme, Provincia de Los Ríos, cuya situación geográfica es de 1°3’24’’ de latitud Sur y 79°25’24’’ de longitud Oeste a una altura de 73 m. s. n. m.

3.1.1. Condiciones climáticas.

Las condiciones climáticas donde se desarrolló la investigación se detallan en la siguiente

Tabla. Tabla 2. Condiciones Meteorológicas Campus la María.

Parámetro	Promedio
Temperatura °C	23,4
Humedad relativa %	87
Precipitación mm	140.8
Heliofanía horas/ luz/año	67.4
Textura del suelo	Franco- Arcilloso
Topografía	Plana
PH	5.7 (Ligeramente ácido)

Fuente: (44).

3.2. Tipo de investigación.

La investigación pertenece al área Pecuaria, innovando en el desarrollo de la acuicultura. La misma que tributa a la línea de investigación Agricultura, Silvicultura y Producción animal; con sublínea en desarrollo de sistemas de producción que promuevan el uso eficiente de los recursos genéticos. Se efectuó una investigación de tipo experimental contribuyendo en la evaluación de los efectos del ácido ascórbico en dietas sobre la actividad enzimática digestiva e histología intestinal en juveniles de tilapia roja.

Los tratamientos fueron manipulados y controlados de manera independiente, obteniendo la evidencia al final del bioensayo y el posterior sacrificio y evisceración de los peces de tilapia roja tomando el intestino para realizar los posteriores análisis bioquímicos e histológicos plantados en la metodología.

3.3. Método de investigación.

3.3.1. Método inductivo.

A través de este método se observó el efecto de la inclusión del ácido ascórbico en la alimentación de juveniles de tilapia roja. Analizando además la actividad enzimática digestiva e histología intestinal.

3.3.2. Método analítico.

Este método permitió realizar los análisis de la histología intestinal y la actividad enzimática digestiva de juveniles de tilapia roja con respecto a la respuesta de la administración de inclusión de ácido ascórbico en la dieta.

3.1.1. Método estadístico.

Con la ayuda de un software libre, y Excel se ordenó y tabuló los datos que se obtuvieron en la investigación.

3.4. Fuente de recopilación de información.

Las fuentes primarias, es la información que se recolecto en el tiempo de investigación sobre el efecto de silicio en dieta, sobre la respuesta histológica intestinal y actividad enzimática digestiva.

La fuente secundaria es la información que se recolecta de fuentes bibliográficas que están disponible es para todo tipo de personas (tesis de pregrado, tesis de magister, tesis doctoral, libros, revistas artículos científicos, etc.

3.5. Diseño de investigación.

Para esta investigación se empleó un diseño completamente al azar compuesto por seis tratamientos (0, 100, 200, 400, 800 y 1600 mg kg⁻¹) de ácido ascórbico en la dieta cada tratamiento estuvo conformado por 3 repeticiones (acuarios de plástico), con 15 unidades experimentales. Para ello mediante la prueba de tukey ($p \leq 0,005$) se realizó la comparación de medias la cual se presenta en el siguiente esquema de análisis de varianza.

3.5.1. Análisis de la varianza.

La comparación de medidas (Tabla 1) se verificó con el diseño Tukey ($p \leq 0,05$).

Tabla 3. Análisis de varianza.

Fuente de variación	Fórmula	Grados de libertad
Tratamiento	T-1	5
Error experimental	T(r-1)	12
Total	T*r-1	17

Para este experimento se empleará el Modelo matemático:

Ecuación 1.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Un tipo de observación en la que “i” representa un efecto del tratamiento
 μ = Valor de la media general

T_i = Efecto de los tratamientos en estudio
 E_{ij} = Error experimental o efecto aleatorio

3.6. Instrumentos de la investigación.

3.6.1. Formulación, preparación y bromatología de las dietas experimentales.

Las dietas se formularon utilizando el Software “LINDO Systems, Inc. IL, USA” de acceso libre. Para la siguiente preparación de las dietas se procedió a seguir procedimientos que se han

realizado en otras especies. Para ello cada uno de los ingredientes fueron pasados por un tamiz de 250 μm , luego se procedió a pesar en una balanza digital, cabe recalcar que mediante este proceso se obtuvieron macro y micro ingredientes por lo que para preparar cada dieta se utilizó una licuadora industrial para la mezcla de los macro ingredientes con el fin de poder homogenizar. Para la preparación de los micro ingredientes se los agregó cada uno en los aceites cabe destacar que se realizó esta mezcla antes de agregarlos a la mezcla de los macro ingredientes, una vez mezclados todos los ingredientes se añadió 30% de su peso en agua para obtener la mezcla deseada.

Tabla 4. Composición química de las dietas experimentales.

Tratamientos	Humedad (%)	Proteína (%)	Grasa (%)	Fibra (%)	Ceniza (%)	ELN (%)	Kcal kg⁻¹
T0	92.5	30.26	4.41	5.36	11.62	40.86	4.08
T1	92.75	31.79	4.18	7.41	11.3	38.08	3.83
T2	93.65	31.46	4.16	7.7	11.22	39.11	4.03
T3	92.95	30.87	4.43	7.15	11.85	38.65	4.32
T4	92.9	30.15	4.58	7.18	11.57	39.42	4.42
T5	92.9	31.19	4.98	7.21	11.81	37.71	4.80

Es importante mencionar que para la mezcla obtenida se pasó por un molino de carne con la finalidad de obtener los pellets de 2mm, realizado aquello se procedió a secar a 45°C durante 8 horas en una estufa. Luego de haber secado los gránulos de las dietas se envasaron en fundas plásticas herméticas y se mantuvo en la refrigeración a 4°C hasta su consumo.

A los ingredientes y dietas se le realizó un análisis bromatológico, en la cual se determinó el contenido de humedad mediante el uso de la estufa, logrando secar cada dieta a 105°C. Para la obtención de ceniza se procedió a incinerar cada muestra a 550°C colocada en Mufla. La grasa

obtenida 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.

Para determinar el contenido de proteína se utilizó el método de Kjeldahl que también evaluó el contenido de nitrógeno total en la muestra, después de ser asimilada con ácido sulfúrico en presencia de un catalizador de mercurio o selenio. Y por último se obtuvo la fibra mediante el método Weende, que se realizó mediante la intervención del ácido sulfúrico e hidróxido de sodio por lo que finalmente calcinado el residuo se logró diferenciar la cantidad de fibra bruta presente en la muestra. El extracto libre de nitrógeno al ser una categoría del sistema Weende se obtuvo por diferencia; $ELN = 100 - (\text{ceniza} + \text{extracto etéreo} + \text{proteína} + \text{fibra})$.

3.6.2. Condiciones de cultivo de los peces.

Se obtuvieron juveniles de tilapia roja mediante el Programa de Piscicultura de la Facultad de Ciencias Agropecuarias Campus "La María". Para ello los peces llevaron su control respectivo, en lo que fue la primera semana se los desparasitó cabe destacar que en el proyecto se utilizaron acuarios plásticos con una capacidad de 100 litros de agua por lo que cada acuario fue sifonado cada mañana antes de alimentar a los peces con el fin de poder retirar las heces y los alimentos sobrantes. Se llevó un control de sanidad diario, el 40% de agua fue reemplazada por agua limpia. En lo que respecta a la alimentación, fue establecida en dos horarios, es decir en la mañana a las 9:00 am que almacenó un 60% de la alimentación diaria y el resto de alimento fue en la tarde a las 17:00 horas completando así 40% restante de la dieta diaria.

Cabe tomar en cuenta los cambios físicos – químicos que influyeron en dicho trabajo, entre ellos la temperatura la cual fue tomada con un termómetro de mercurio, la cual estuvo a 24,5 a 25,9°C, el oxígeno se midió mediante un oxímetro digital, el cual se obtuvo entre los 4.00 a 5.02 mg L⁻¹ y por último se utilizó un kit colorimétrico (Salwater Master Test) con el propósito

de obtener los parámetros restantes como el pH que estuvo entre los 7.1 y 7.9 los niveles de nitrito, en $0.47 - 0.99 \text{ mg L}^{-1}$, el amonio con niveles de 0.04 a 0.09 mg L^{-1} y el nitrato con $25 - 45 \text{ mg L}^{-1}$.

3.6.3. Obtención de muestras intestinales.

Una vez culminado el tiempo establecido para el cultivo, se sacrificó a los juveniles de tilapia rojase procedió a realizar la disección del intestino el cual fue pesado en balanza analítica y las muestras para análisis enzimático fueron colocadas en bolsas de plástico por separado, las muestras de intestino para análisis histológico fueron puestas en frascos pequeños con solución Davidson.

3.6.4. Análisis y evaluaciones

3.6.4.1. Determinación del índice somático intestinal

(Ecuación 4)

$$\text{Índice Somático Intestinal (ISI, \%)} = 100 * (\text{peso del intestino} / \text{peso corporal}).$$

3.6.4.2. Procedimiento y análisis de actividad enzimática digestiva.

Los extractos enzimáticos fueron obtenidos por medio de la maceración de las muestras de intestinos en una solución de buffer tris-HCl 30 mM, 12.5 mM de CaCl_2 a un pH de 7.5. Los extractos se centrifugaron a 14,000 rpm durante 15 minutos a 4°C . El sobrenadante que se llegó a obtener fue almacenado en tubos Eppendorf a -20°C para su posterior análisis enzimático. Todos los análisis fueron realizados por triplicado. Para poder reportar las unidades de actividad enzimática por mg de proteína, primeramente, se determinó la concentración de proteína soluble de cada muestra, se utilizó la técnica de análisis Bradford. A

5 µl de extracto problema se le añadió 1 mL de reactivo de Bradford y se agitó en córtex. La densidad óptica (DO) se midió a ABS 595nm en un espectrofotómetro uv/visible entre los 15 y 60 minutos del comienzo de la reacción z la técnica de Anson, con las siguientes modificaciones: a 1 mL de hemoglobina (0.5%) en tampón 0.1 M glicina-HCl a pH 2.0 se le añadió 20 µl de extracto enzimático. El extracto se incubó durante 30 minutos a 37 °C y la reacción se detuvo por adición de 0.5 mL de ácido tricloroacético (TCA al 20%). Después de reposar la mezcla de reacción (15 a 30 minutos) a 4 °C, se centrifugó a 12000rpm durante 5 min. En el sobrenadante, se midió la cantidad de tirosina liberada (ABS280nm) mediante un espectrofotómetro uv/visible. Lo que nos permitió definir una unidad de actividad como la cantidad de enzima que cataliza la formación de 1 µg de tirosina por minuto. Para determinar el coeficiente de extinción molar de la tirosina, se realizó un recta patrón con diferentes concentraciones de tirosina (de 0 a 300 µg/mL).

La actividad específica de amilasa se determinó de acuerdo con el método de Bernfeld modificada, utilizando almidón como sustrato y maltosa como estándar. El extracto se valoró incubando a 37 °C de la siguiente forma: 10 µl de extracto con 0.25 mL de almidón soluble 1% (p/v) en 0.25 mL de tampón 0.1M citrato-fosfato pH 7.0. Después de 30 minutos tiempo de incubación, se midió los azúcares reductores con ABS600nm. Para determinar el coeficiente de extinción molar de la maltosa se construyó una curva patrón con distintas concentraciones de maltosa. Lo que nos permitió definir una unidad como la cantidad de enzima que libera 1 µg de maltosa por minuto.

La actividad específica de la lipasa se evaluó según el método de Versaw et al, en el cual a 100 µl de tauricolato de sodio (100 mM) y a 1.9 ml de Tris HCl 50mM (pH=7.2) se le agregará 20 µl de extracto enzimático, se incubó a temperatura ambiente por 5 min y se inició la reacción con 20 µl de B-naftil caprilato (200mM) por 30 min a 37°C. Se le agregó 20 µL de fast blue

(100 mM) y se incubó por 5 minutos a temperatura ambiente. Se detuvo la reacción con 200 μ l de TCA (0.72 N), y se clarificó la reacción con 2.71 ml de etanol acetato de etilo (1:1 v/v). y posteriormente se agitó en el vortex y se leyó la ABS540nm en cubetas de vidrio o cuarzo. De la misma manera, la unidad lipasa se definió como la cantidad de enzima requerida para incrementar 0.01 unidades de ABS540nm por minuto.

La actividad específica se representó como las unidades de enzima por miligramo de proteína (U/mg de proteína).

(Ecuación 2)

Cálculo de la actividad en unidades por ml.
$$\text{Unidad / mL} = (\Delta\text{abs} \times \text{volumen final reacción (mL)}) / (\text{CEM} \times \text{tiempo (min)} \times \text{volumen extracto (mL)})$$

(Ecuación 3)

Cálculo de la actividad en unidades por mg de proteína soluble en el extracto.
$$\text{Unidad / mg de proteína} = (\text{Unidad / mL}) / (\text{mg proteína soluble / mL}).$$

Dónde: Una unidad de actividad enzimática (U) se define como la cantidad de enzima necesaria para cambiar la absorbancia 0.001. Δabs el incremento de absorbancia a una determinada longitud de onda; volumen final de reacción, el volumen final de la reacción; CEM, el coeficiente de extinción molar del producto obtenido calculado de la recta de regresión ($\text{mL} \times \text{mg}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$).

3.6.4.3. Procedimiento y análisis de muestras histológicas

Las muestras de intestinos se procedieron a colocarlas en frasco esterilizado con solución Davidson con el fin del endurecimiento durante un lapso de 24 horas. Transcurrido ese tiempo, se cambió la solución por alcohol al 70%, de esta manera se trasladó al Centro Nacional de Investigaciones Marinas (CENAIM), para la continuación del procedimiento histológico.

3.6.4.4. 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 (45). Para esto, se procesarán las placas siguiendo la metodología:

3.6.4.5. 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 la obtención de los intestinos ya que cualquier demora seca el tejido y acelera la autólisis.

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

3.6.4.6. Deshidratación y aclaración.

t• Deshidratación

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

Alcohol 70% 1 hora

Alcohol 80% 1 hora

Alcohol 90% 1 hora

Alcohol 95% 1 hora

Alcohol 100% 1 hora

Alcohol 100% 1 hora

Aclaración

En Xilolpuro I 1 hora

En Xilolpuro II 1 hora

3.6.4.7. Inclusión.

Las muestras procedentes del xilol II se sumergieron en recipientes con parafina, este proceso desumergir 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 se llevó la muestra a la estufa a una temperatura de 60° C por espacio de 1 hora, por lo consiguiente se trasladó la parafina II, también a temperatura de 60° C por espacio de 1 hora para luego proceder al bloqueo de las muestras.

3.6.4.7.1. 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 usará pinzas.

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

El corte de las muestras permitió obtener "las cintas" de las mismas. Estas cintas mediante pinzasse 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 deMayer (que favorece la adhesión de los cortes).

3.6.4.7.2. 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 trasladó 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
4.	Agua corriente		1minuto

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 Canadá y laminillas cubreobjetos. Se dejó secar el bálsamo para luego hacer las evaluaciones correspondientes y etiquetar las láminas.

3.6.4.7.3. Observación y foto digitalización.

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 foto digitalizaron y se tomaron las medidas utilizando el *software Scion Image* de libre distribución, de las respectivas variables en figura 4.

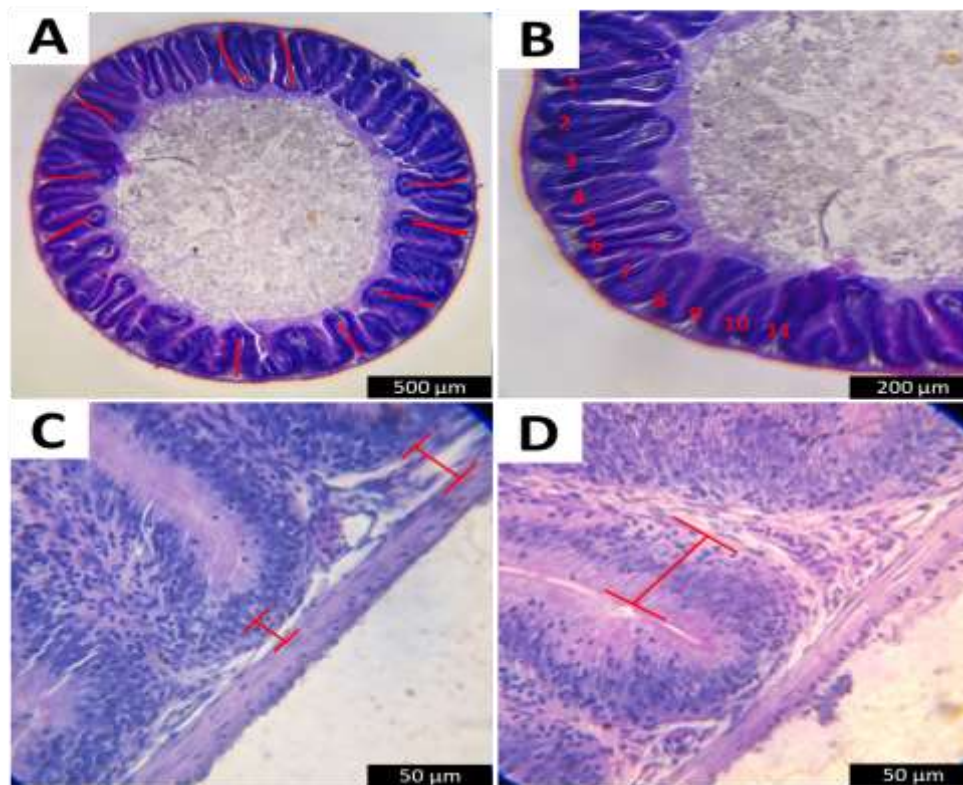


Figura 4. Variables histológicas evaluadas: longitud del pliegue mucoso (A), conteo de pliegues mucosos por sección intestinal (B), mucosa sub-epitelial (C) y medición de la altura de enterocitos (D).

3.6. Tratamiento de los datos.

El análisis estadístico de los resultados se presentó como medias y desviación estándar (SD). Las pruebas de Kolmogoron – Smirnov ($P < 0.05$) y Bartlett ($P < 0,05$) fueron aplicadas previo al análisis de varianza (ANOVA). Cuando se obtuvieron los valores significativos de F, se utilizó laprueba de rango múltiple de Tukey para comparar las diferencias entre las medias, en $P < 0,05$.

Se aplicó el software libre Infostat. Todos los datos porcentuales fueron transformados con raíz²arcoseno antes de los estadísticos. En la Tabla 2. Se muestra los tratamientos en estudio.

Tabla 5. Descripción de los tratamientos.

No	Tratamientos Vitamina C en dieta (mg Kg⁻¹)	Repeticiones (Acuarios Experimentales)	Juveniles de tilapia roja / Tanque	Total, de Juveniles de tilapia roja /Tratamiento
0	0 (Control)	3	15	45
1	100	3	15	45
2	200	3	15	45
3	400	3	15	45
4	800	3	15	45
5	1600	3	15	45
Total				270

Elaborado: Autora.

3.7. Recursos humanos y materiales.

3.7.4. Talento humano.

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

Jijón Montes Joselyne Rocío (Autor del proyecto de investigación).

3.7.5. Materiales e insumos.

- Juveniles de tilapia roja
- Termostatos
- Filtros
- Tanques de plástico (270 litros)
- Guantes

- Bandeja para desinfección de calzado
- Cloro
- Mandil
- Botas
- Desparasitante
- Termómetro
- Kit colorímetro

3.7.6. Material y equipos de oficina.

- Computadora
- Cámara
- Impresora
- Hojas A4
- Bolígrafo
- Cuaderno

3.7.7. Materia y equipo de laboratorio.

- Balanza digital
- Molino
- Estufa
- Mufla
- Licuadora industrial
- Fundas de plásticos heméticas
- Refrigerador
- Espectrofotómetro
- Éter de petróleo
- Centrífuga

- Pipetas de 1 ml
- Pipetas de Sal
- Boquillas
- Gasa
- Reactivo de Drabkin
- Bicarbonato de potasio

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Resultados.

4.1. Índice Intestinosomático en juveniles de tilapia roja.

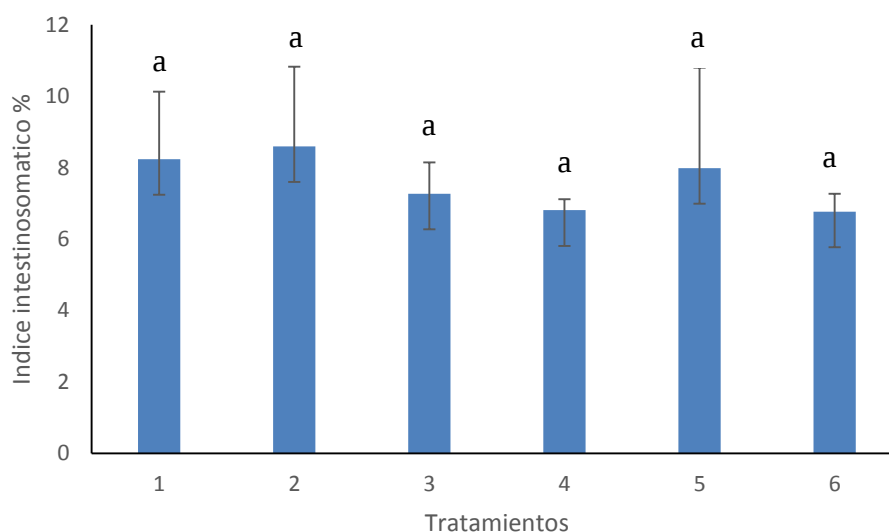


Figura 5. Índice intestino somático (%) en juveniles de tilapia roja, alimentados vitamina C.

Se muestra que el nivel de T2 obtuvo mejor respuesta siendo su valor $8,6 \pm 2,23\%$, mientras que el T1 mostro una respuesta de $8,24 \pm 1,89\%$, el T5 con el promedio de $7,99 \pm 2,81\%$, para lo cual el T3mostró un valor de $7,27 \pm 0,88\%$, seguido del T4 con $6,81 \pm 0,31\%$, sin embargo, el T6 fue el valor más bajo ante esta variable con $6,77 \pm 0,5\%$. En la cual no muestra significancia estadística, siendosu valor de $P=0.6920$.

Isabel Nájera (33), en su investigación evaluó por triplicado seis dietas experimentales con inclusión de MOS (0.0, 0.2, 0.4, 0.6 y 0.8%) y una dieta control de trucha (DC) durante 62 días. Se distribuyeron 180 juveniles (5.11 ± 0.08 g) en un sistema de recirculación con 18 tanques de 70 L con flujo de 10 L min⁻¹. La suplementación de 0.2% de MOS en dietas para juveniles de *A. tropicus* genera beneficios en el crecimiento y el rendimiento productivo. La inclusión de MOS en dietas para juveniles de *A. tropicus* modifica los índices somáticos y la actividad de enzimas digestivas en juveniles. Así mismo, se pesaron los micronutrientes (MOS, premezclas de vitaminas, minerales y vitamina C) y fueron agregados a la mezcla de los macronutrientes para revolverse por otros 15 minutos. Los resultados mostraron que al 0.4% hubo mejor rendimiento con 1.23 ± 0.25 en el índice somático intestinal, el cual no mostró diferencias entre los tratamientos ($p > 0.05$). Obteniendo en esta investigación mejores promedios.

4.2. Enzimas digestivas en juveniles de tilapia roja.

Tabla 6. Actividad enzimática digestiva de amilasas, lipasas y proteasas en tilapia roja con la inclusión de ácido ascórbico en dieta.

Tratamientos	Proteasas totales (U/mg)	Lipasas (U/mg)	Amilasas (U/mg)
1	37,92 $\pm$ 2,13 ^a	36,47 $\pm$ 3,22 ^{abc}	62,87 $\pm$ 5,76 ^a
2	41,76 $\pm$ 3,21 ^a	28,68 $\pm$ 2,44 ^a	69,9 $\pm$ 4,73 ^{ab}
3	38,69 $\pm$ 2,54 ^a	29,69 $\pm$ 3,68 ^{ab}	76,42 $\pm$ 1,04 ^b
4	50,8 $\pm$ 2,95 ^b	40,31 $\pm$ 6,25 ^{bc}	75,43 $\pm$ 3,15 ^b
5	51,69 $\pm$ 5,76 ^b	36,75 $\pm$ 1,78 ^{abc}	76,82 $\pm$ 3,82 ^b
6	55,74 $\pm$ 1,23 ^b	41,05 $\pm$ 5,04 ^c	78,95 $\pm$ 6,66 ^b
P=	0,0001	0.0102	0.0095
F=	15,97	5,04	5,13

De acuerdo a los datos obtenidos el T6 obtuvo el valor más alto con 55,74 a 1,23 U/mg, mientras que el T5 corresponde un rango de 51,69 a 5,76 U/mg, el resultado del T4 con 50,8 a 2,95 U/mg en cuanto el T3 fue de 38,69 a 2,54 U/mg seguido del T2 con un promedio de 41,76 a 3,21 U/mg finalizando con el T1 que se reportó con el valor de 37,92 a 2,13 U/mg más bajo en relación con los demás, siendo su valor de ($P=0,0001$), por consiguiente, encontrándose diferencias significativas para esta variable.

Concorde a los datos obtenidos el T6 logro el valor más elevado de lipasas con 41,05 hacia 5,04 U/mg, mientras que el T5 obtuvo un valor de 36,75 hacia 1,78 U/mg, el T4 alcanzo un promedio 40,31 hacia 6,25 U/mg, el T3 obtuvo un valor de 29,69 hacia 3,68 U/mg a continuación de T2 con una estimación de 28,68 hacia 2,44 U/mg y por último el T1 reporto 62,87 hacia 5,76 U/mg valor menor con relación a los demás, obteniendo un valor de ($P=0.0102$) por consiguiente, hallando diferencias significativa para esta variable.

A continuación, con las amilasas se obtuvo mayor al igual que las anteriores variables respuestas en cuanto al T6 obtuvo un promedio de 78,95 a 6,66 U/mg a la inclusión de la vitamina C el T5 obtuvo un valor 76,82 a 3,82 U/mg mientras que el T3 registro un valor de $76,42 \pm 1,04$ U/mg por consiguiente el T2 reporto valores 69,9 a 4,73 U/mg y finalizando con el T1 con promedio menor de 62,87 a 5,76 U/mg valor menor con los demás reportes obtenidos, obteniendo un valor de ($P=0.0095$) obteniendo significancia estadísticas para esta variable.

Xiaoqing Ding et al (34), evaluaron el impacto de la suplementación dietética de complejos multienzimáticos en el rendimiento del crecimiento, la actividad de las enzimas digestivas, la histomorfología, el metabolismo sérico y el glucometabolismo de la hepatopáncreas en cabezas de serpiente (*Channa argus*), la suplementación dietética mejoró el rendimiento del crecimiento, la morfología del tracto digestivo, la expresión génica y la actividad de las

enzimas digestivas, mejoró en la cabezas serpiente, y la composición óptima de (MEC) fue el grupo E2.

Hamed-Ghafariarsani et al. (35), determinaron los efectos de la suplementación con vitamina C, aceite esencial de *Thymus vulgaris* y quercetina sobre el crecimiento, las enzimas digestivas, la composición corporal y los parámetros bioquímicos de la carpa común (*Cyprinus carpio*). Donde se observaron mejoras significativas en los casos de enzimas proteasa, amilasa y lipasa intestinales en todos los grupos suplementados en comparación con el control ($P < 0,05$).

Según Moses Rinchu et al (36), realizaron el cultivo de larvas de trucha de nieve (*Schizothorax richardsonii*) bajo tres regímenes de alimentación: dieta de control (dieta D1) y dietas de prueba, suplementadas con vitamina C (800 mg/kg de dieta, dieta D2) y semillas de (*Achyranthes aspera*), (5 g/kg de dieta, dieta D3) y encontraron que las actividades de amilasa, proteasa total y lipasa fueron significativamente ($P < 0,05$) más altas en las larvas alimentadas con la dieta D3 y la actividad de quimotripsina fue significativamente ($P < 0,05$) más alta en las larvas alimentadas con la dieta D2 en comparación con otras. También se encontró una respuesta favorable por efecto de la suplementación con ácido ascórbico en el sistema inmunológico en comparación con el control.

4.3. Histología Intestinal en juveniles de tilapia roja.

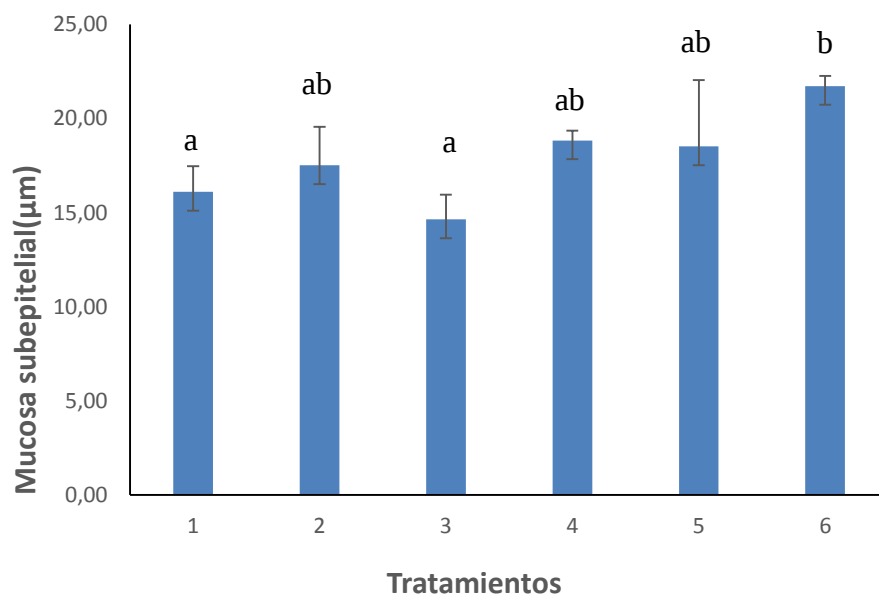


Figura 6. Mucosa subpitelal del intestino en juveniles tilapia roja.

Con respecto a la figura 6, se muestra que el T 6 obtuvo un mayor promedio de $21.73 \pm 0.54 \mu\text{m}$. A continuación del T4 y T5 con un valor de $18.84 \pm 0.52 \mu\text{m}$, $18.53 \pm 3.52 \mu\text{m}$ para lo cual se observó que el T2 obtuvo un valor $17.52 \pm 2.04 \mu\text{m}$ y para finalizar los tratamientos T1 Y T3 obtuvieron valores de $16.11 \pm 1.36 \mu\text{m}$ y $14.64 \pm 1.31 \mu\text{m}$ siendo el T3 que obtuvo el nivel más bajo con esta investigación. Obteniendo un valor de ($P= 0,0090$) Siendo significativa en esta variable

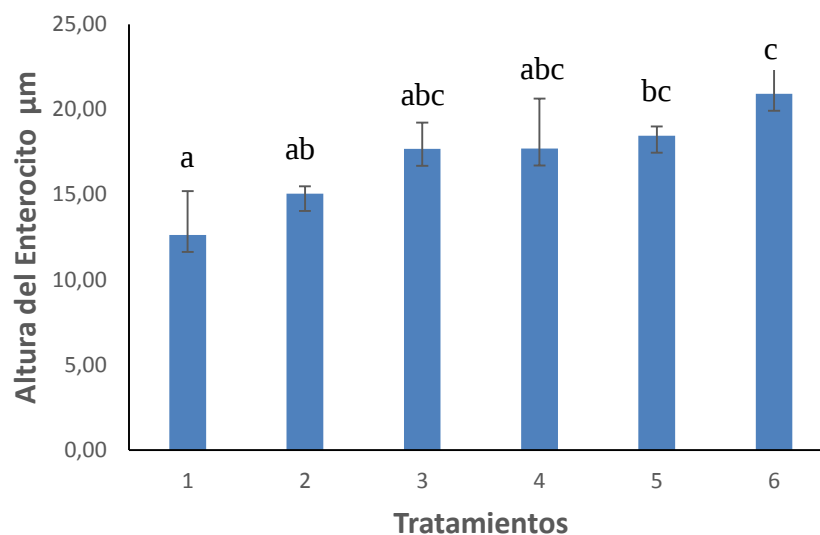


Figura 7. Altura del enterocito en intestino de

Por consiguiente, a la figura 7., en la altura del enterocito obtuvo una mejor respuesta con el T6. $20.92 \pm 1.78 \mu\text{m}$, seguidos del T5 y T4 con valores $18.47 \pm 0.54 \mu\text{m}$, $17.71 \pm 2.93 \mu\text{m}$ a continuación del T3 con $17.69 \pm 1.54 \mu\text{m}$ y por último el T2 Y T1 con valores de $15.05 \pm 0.44 \mu\text{m}$, $12.64 \pm 2.57 \mu\text{m}$, siendo su valor de $P=0,0028$ mostrando significancia estadística.

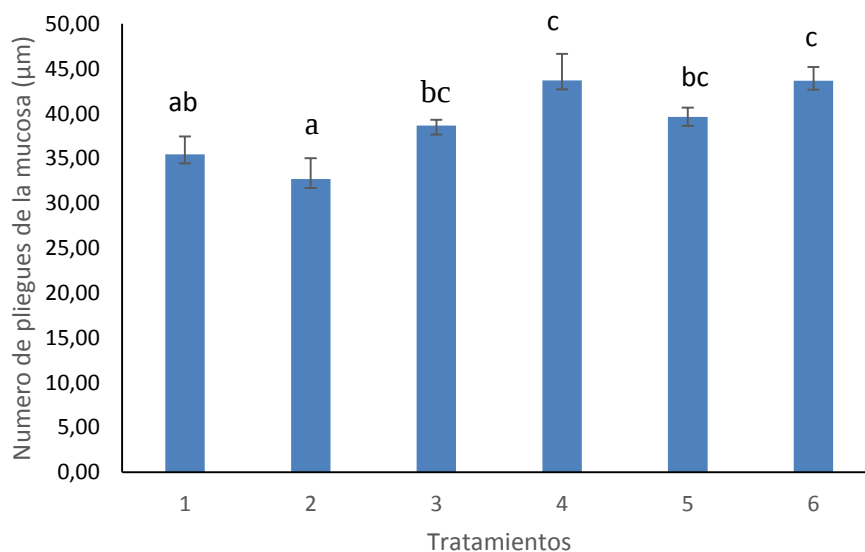


Figura 8. Número de pliegues de la mucosa del intestino en juveniles tilapia roja.

En determinación mucosa del intestino, se observó que el T4 resulto con un valor de $43.69 \pm 2.96 \mu\text{m}$ siendo la mejor respuesta, sin embargo, el T6 no fue muy diferente por consiguiente fue de $43.65 \pm 1.54 \mu\text{m}$, por otro lado, el T5 tuvo un nivel de $39.63 \pm 1.02 \mu\text{m}$, en cuanto al T3 su valor fue de $38.67 \pm 0.64 \mu\text{m}$, con respecto al T1 el resultado fue de 35.46 ± 2 , μm finalmente el T2 fue el promedio bajo ante este trabajo, en consiguiente su valor de ($P=0,0001$) mostrando significancia estadística.

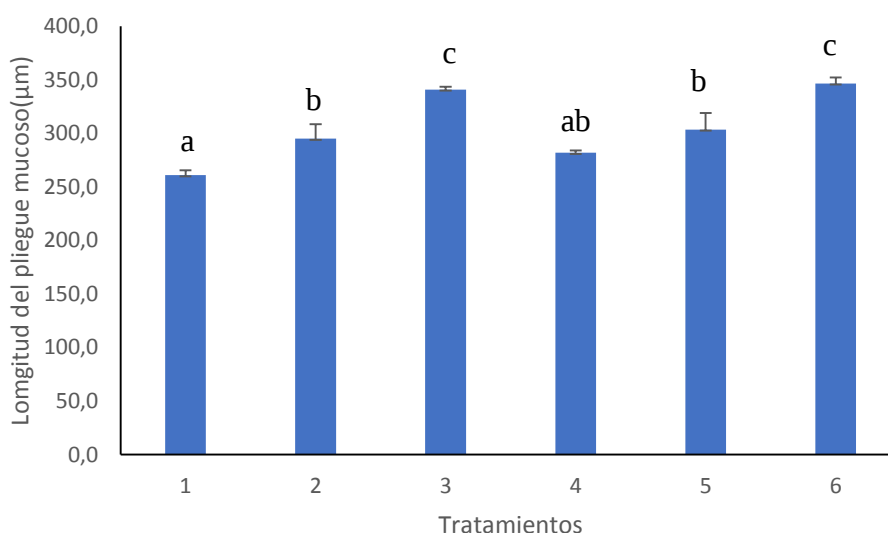


Figura 9. Longitud del pliegue mucoso (μm)

En efecto el análisis de la gráfica 9 indica que el T6 en su elevación muestra un resultado de $346.6 \pm 5.64 \mu\text{m}$, a diferencia del T3 que obtuvo un valor de $340.89 \pm 2.75 \mu\text{m}$, sin embargo, el T5 fue de $303.57 \pm 15.38 \mu\text{m}$ mientras que el T2 exterioriza que su promedio fue de $295.02 \pm 13.61 \mu\text{m}$, por lo consiguiente el T4 refleja un valor de $281.87 \pm 2.25 \mu\text{m}$, siendo así el T1 específica con un valor de $260.9 \pm 4.66 \mu\text{m}$. Con un valor de ($P= <0.0001$) dando significancia estadística para esta variable.

Ibrahim et al. (37), determinaron los efectos de la suplementación con nanocompuestos de quitosano y vitamina C en el rendimiento del crecimiento, estado antioxidante respuesta inmune e histología de alevines de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) en diferentes concentraciones y se encontró que se estimuló el crecimiento y desarrollo de las vellosidades, mejorando el rendimiento del crecimiento de los peces.

Fuentes Quesada et al. (38), evaluaron en *Totoaba macdonaldi* la capacidad digestiva y distal integridad del intestino. El rendimiento que reporta el efecto de la dieta en la integridad intestinal evaluada por la histología reveló una reducción de la altura de los enterocitos podría revelarse una atrofia severa del intestino. Ellos encontraron un estado perjudicial del aparato digestivo fisiología de la totoaba alimentada con dietas basadas en soya en niveles de inclusión superiores al 22%. Por lo tanto, debería ser usado con precaución en formulaciones de alimentos para totoaba del crecimiento e índices somáticos comportamiento de crecimiento y producción de juveniles de totoaba. Los cambios estructurales están relacionados con un proceso de atrofia de la mucosa como cambios anatómicos en la mucosa intestinal; con número reducido de células, área de superficie disminuida y vellosidades acortadas.

CAPÍTULO

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5. Conclusiones.

- Se determinó que el índice intestino-somático (%) como indicador de asimilación en cuanto a la vitamina C, no mostró diferencias significativas entre los tratamientos.
- Se analizó que la actividad enzimática digestiva de amilasas, lipasas y proteasas se encontró que el T6 tuvo la mejor respuesta significativamente, para cada una de estas variables, con valores de 55.74, 41.05 y 78.95 U/mg, respectivamente.
- Se evaluó las variables: mucosa subepitelial, altura del enterocito, número de pliegues de la mucosa, y longitud del pliegue mucoso se encontró mejor respuesta en el T6, con valores de 21.73, 20.92, 43.65, 346.6 μm , respectivamente.

6. Recomendaciones.

- Se recomienda continuar realizando proyectos de investigación al progreso de la inclusión del ácido ascórbico en la alimentación para el máximo desarrollo de la tilapia (*Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis niloticus*) identificando en cada etapa del cultivo (Alevines, juveniles, adulto) en diversas zonas de la región de la provincia de Los Ríos.
- Realizar un estudio en donde se evalué la respuesta histológica de los demás órganos como hígado y/o páncreas en función al nivel de porcentaje del ácido ascórbico incluidos en la dieta.
- Realizar estudios con suplementaciones de ácido ascórbico mayores a esta investigación y complementado con otros grupos de variables.

Referencias

1. Rosario D, et at. Introduccion al cultivo de tilapia. Repositorio institucional de la Universidad de Guayaquil. 2019;; p. 5 - 65.
2. Janeth J, et at. Tilapia en Ecuador: paradoja entre la producción acuícola y la protección de la biodiversidad ecuatoriana. Scielo. 2019; 26.
3. Alcivar Re. Incidencia del uso de buclizina en la crianza de la tilapia roja (*Oreochromis spp.*) en estanques artesanales. revistas.ulead.edu.ec/index.php/ulead_bahia_magazine. 2020; 01(15).
4. Mendoza M, et a. Estudio histológico del sistema digestivo en diferentes estadios de desarrollo de la cachama blanca (*Piaractus brachipomus*). Scielo. 2013;(25).
5. Agropedia. [Online]; 2022. Disponible en: <https://agrotendencia.tv/agropedia/alimentos-para-acuicultura/?amp=1>.
6. Gutierrez JVL. Necesidades nutricionales de peces de la familia Pimelodidae en Sudamerica teleostei: Siluriformes. Redalyc. 2019;; p. 20 - 23.
7. Blanco O. El ácido ascórbico (vitamina c) un factor importante en el diseño de dietas para truchas: salmo gairdneri. Revista Tecnología En Marcha. 2019; 8(1).
8. Salcedo M, et a. Cinética de la degradación térmica del ácido ascórbico en el jugo de Lulo (*Solanum quitoense* Lam.). Ciencia y tecnología. 2019; 35(1).
9. Parra A, et a. Respuestas fisiológicas de (*piaractus brachipomus*) suplementado con ácido ascórbico y sometido a estrés por hipóxia. Revista Medica Veterinaria. 2019; 1(38).

10. Battaner,E. Introducción a la bioquímica 2 parte de enzimología. 2013;; p. 270.
11. Hurtado M, et al. Estudio histológico del sistema digestivo en diferentes estadios de desarrollo de la cachama blanca (*Piaractus brachipomus*). Scielo. 2013; 25(1).
12. Mancini M. Introducción a la biología de peces. Producción animal. 2002;; p. 19
13. Reynaud AC. Requerimiento de micronutrientes y oligoelementos. Revista Peruana De Ginecología Y Obstetricia. 2014; 60(2).
14. Basantes,César. Evaluación del uso de balanceado orgánico vs industrial sobre la conversión alimenticia *Oreochromis* sp (tilapia) criada en cultivo intensivo. Guayaquil -Ecuador.
15. National Institutes of Health. [Online]; 2019. Acceso lunes de abril de 2022. Disponible en: [hrome-extension://efaidnbmnnnibpajpcglclefindmkaj/viewer.html?pdfurl=https%3A%2F%2Fods.od.nih.gov%2Fpdf%2Ffactsheets%2FVitaminC-DatosEnEspanol.pdf&clen=573389&chunk=true](https://efaidnbmnnnibpajpcglclefindmkaj/viewer.html?pdfurl=https%3A%2F%2Fods.od.nih.gov%2Fpdf%2Ffactsheets%2FVitaminC-DatosEnEspanol.pdf&clen=573389&chunk=true).
16. Villagrán M, et al. Una mirada actual de la vitamina C en salud y enfermedad. Scielo. 2019; 46(6).
17. Fenucci,J;et,al. Acción de las vitaminas en la dietas camarones penaeoideos. Departamento de ciencias marinas. 2004;; p. 19.
18. Serra H, et al. Ácido ascórbico: desde la química hasta su crucial función protectora

- en ojo. Acta bioquím. clín. latinoam. v.41 n.4 La Plata. 2007;; p. 6.
20. Fang Z. Métodos analíticos para la determinación de vitamina C en alimentos. En Métodos analíticos para la determinación de vitamina C en alimentos. Madrid: Universidad Complutense; 2017. p. 5-6.
 21. Galvez M. Informe sobre el desarrollo de la acuicultura en el Ecuador. [Online], Guayaquil : Escuela Superior Politécnica del Litoral; 2020. Acceso 7 de JULIO de 2021. Disponible en: <http://www.fao.org/3/ad020s/AD020s06.htm>.
 22. Organizaciones de las acciones unidas para la alimentación la agricultura. [Online]; 2020. Acceso 7 de juliode 2021. Disponible en: http://www.fao.org/fishery/countrysector/naso_ecuador/es#tcN70085.
 23. Aguirre C, et a. El silicio en los organismos vivos. Sitio argentido produccion animal. 2007; 32(8).
 24. Moposita D. “Inclusión de harina de banano (*Musa paradisiaca*) en la dieta sobre los parámetros productivos y la calidad de la carne (*Oreochromis Spp*)”. Tesis. Quevedo: Universidad Técnica Estatal de Quevedo.
 25. Saavedra,María. Manejo del cultivo de tilapia. Cidea. 2006;; p. 24.
 26. Turpo Y. Determinación de parametros tecnologicos para la obtención de cuero a partir de la piel del tiburón (*Prionace glauca*),pota (*Dosidicus gigas*) y tilapia (*Oreochromis niloticus*) Arequipa - Perú: Propiedad Intelectual de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa; 2014.
 27. Rodríguez,Sergio. Engorda de tilapia Mexico: Universidad autonoma agraria

"Antonio Narro"; 2002.

28. Rengifo B. Valoración de buclizina como aditivo alimenticio en dietas balanceadas para tilapia (*Oreochromis* sp). En crecimiento y bajo diferentes temperaturas en Nanegal, provincia del Pichincha. Tesis. Sangolqui: Universidad de las fuerzas armadas (ESPE).
29. Castillo Y, et a. Fluctuación de los niveles de glucosa en sangre, hígado y músculo de tilapia *Oreochromis niloticus*, tras la ingesta de alimentos. Tesis. Nicaragua: Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua.
30. Martinez A, et a. Aplicaciones de la mejora de la utilización nutritiva del alimento en ciclidos cultivados en México. Tesis , editor. México: Universidad Autónoma de Nuevo León; 2011.
31. Martillo A. Determinación del potencial del mercado Interno del consumo de tilapia en la provincia de los Rios Tesis , editor. Guayaquil: ESPOL; 2006.
32. Torres R, et a. Descripción anatómica histológica ultraestructural de la branquia e hígado de tilapia. Scielo. 2010; 3(28).
33. Franco L, et a. Descripción Anatómica e histológica del aparato digestivo de la Sabaleta (*Brycon henni*), Antioquia, Colombia. Inv Vet Perú. 2017;; p. 15.
34. Gutiérrez C, et a. Perfil enzimático digestivo de adultos de *Leiarius marmoratus* (Siluriformes: Pimelodidae) extraídos del medio natural. Politécnica. 2019; 15(28).
35. Chowdhury K. International Aquafeed. [Online]; 2018. Acceso jueves de mayo de 2022. Disponible en: <https://aquafeed.co/entrada/proteasa-diet-tica-y-su-aplicaci-n->

en-alimentos-para-

peces19925/#:~:text=%C2%BFQu%C3%A9%20son%20las%20proteasas%3F,m%C3%A1s%20peque%C3%B1os%20y%20amino%C3%A1cidos%20libres.

36. Martínez A. Estudio de la función digestiva y evaluación de ingredientes proteícos en tres cíclidos *Petenia splendida*, *Mayaheros urophthalmus*, *Oreochromis niloticus*) cultivados en México. En Estudios de la función digestiva y evaluación de ingredientes proteícos en tres cíclidos (*Petenia splendida*, *Mayaheros urophthalmus*, *Oreochromis niloticus*) cultivados en México. Mexico: Universidad de las Palmas de gran Canaria.; 2020. p. 18- 19.
37. Veliz A. Actividad enzimática digestiva y composición química de juveniles de tilapia roja (*Oreochromis* sp.) Alimentados con quitosano en dieta. Tesis , editor. Mocache: UTEQ; 2020.
38. Isabel C, et al. Evaluación de oligosacáridos de manano (MOS) en dietas balanceadas para juveniles de pejelagarto (*Atractosteus tropicus*). Open acces research. 2018; 3(28); p. 8.
39. Xiaoqing D, et al. Efectos de la suplementación con complejos multienzimáticos en la dieta sobre el rendimiento del crecimiento, la capacidad digestiva, la histomorfología, los metabolitos sanguíneos y el glucometabolismo hepático en cabeza de serpiente (*Channa argus*). *Animals*. 2022; 12(380).
40. Moses Rinchui N, et al. Effect of Dietary Supplementation of Vitamin C and Seeds of *Achyranthes aspera* on Growth, Digestive Enzyme Activities, Immune System and Lipid Peroxidation of Snow Trout *Schizothorax richardsonii*. 2017.

41. Hame G, et al. Desempeño del crecimiento, parámetros bioquímicos y enzimas digestivas en carpa común (*Cyprinus carpio*) alimentadas con dietas experimentales suplementadas con vitamina C, aceite esencial de tomillo y quercetina. Researchgate. 2022; 21(1).
42. Rowida E, et al. Los efectos de la suplementación con nanocompuestos de quitosano y vitamina C en el desempeño del crecimiento, el estado antioxidante, la respuesta inmune y la resistencia a enfermedades de los alevines de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*). ResearGate. 2021.
43. Fuentes J, et al. Inducción de enteritis por harina de soya en dietas de *Totoaba macdonaldi*: Efectos sobre el rendimiento de crecimiento, capacidad digestiva, respuesta inmune y distal integridad del intestino. Aquaculture. 2018.
44. Ing. Jaime Vera Chang et al. Comportamiento agronómico, calidad física y sensorial de 21 líneas híbridas (*Theobroma cacao* L.). La Técnica. 2015;(37).
45. Cañon LB. Efectos de las dietas experimentales en las respuestas inmunes de los peces. Universidad Autónoma De Barcelona. 2020;; p. 10 - 50.
46. Alvarez AG. Efectos neuro hepatoprotector del silicio y su aplicación como ingrediente funcional [Tesis] , editor. [Madrid]: Universidad Complutense Madrid; 2016.
48. Plameca. Plameca. [Online]; 2018. Acceso 7 de julio de 2021. Disponible en: <https://www.plameca.com/enzimas-digestivas-que-son-para-que-sirven-como-ingerirlas/>.

49. Veterinaria Digital. Enzimas digestivas en peces. [Online]; 2019. Acceso 7 de julio de 2021. Disponible en: <https://www.veterinariadigital.com/articulos/enzimas-digestivas-en-peces/>.
50. Labo Santé Silice. Labo Santé Silice. [Online]; 2011. Acceso 17 de 7 de 2021. Disponible en: <https://www.labosantesilice.com/es/que-es-el-silicio-organico.html>.
51. Borboa E. Efecto De La Inclusión De Harina De Langostilla En El Alimento Sobre La Expresión Y Actividad Enzimática Digestiva En El Intestino Del Camarón Blanco. Tesis, editor. California: Centro De Investigaciones Biológicas Del Noroeste S.C; 2014.
52. Diana M. Torres - Novoa^{1*} VLH. Requerimientos nutricionales para Tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*). Scielo. 2012; 16(1).
53. Kuehne V. Contribución del biofloc inoculado con diferentes probióticos sobre el crecimiento y niveles de actividad enzimática digestiva en juveniles de tilapia (*Oreochromis niloticus* Var SPRING) Tesis, editor. Mexico: CiCESE; 2018.
54. Ngasainao, M, et al. Efecto de la suplementación dietética de vitamina C y semillas de (*Achyranthes aspera*) sobre el crecimiento, las actividades enzimáticas digestivas, el sistema inmunológico y la peroxidación lipídica de la trucha de nieve *Schizothorax richardsonii*. 2017; 1((1)).



Anexo 1. *Elaboración de la dieta.*



Anexo 2. *Pesaje de los ingredientes seco para la dieta.*



Anexo 3 Ejemplares testigo.



Anexo 4. Limpieza del tratamiento.



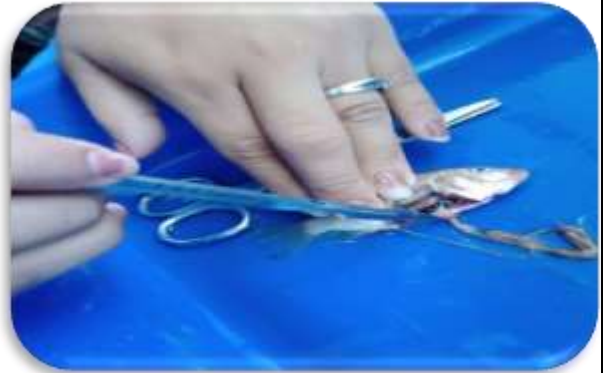
Anexo 5. Captura de ejemplares.



Anexo 6. Pesaje del intestino.



Anexo 7. Captura de ejemplares



Anexo 8-. Extracción del



Anexo 9. Extracción de intestino del
T3.



Anexo 10. Extracción

