



UNIVERSIDAD TECNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

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

Título de la Unidad de Integración Curricular:

**“EFECTO DEL QUITOSANO EN DIETAS SOBRE LA RESPUESTA
PRODUCTIVA Y HEMATOLÓGICA DE ALEVINES DE TILAPIA ROJA
(*Oreochromis sp.*)”**

Autora:

Pacheco Morales Ginger Karina.

Director de Unidad de Integración Curricular:

Ing. Méndez Martínez Yuniel, PhD.

Mocache - Los Ríos - Ecuador

2020

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **Ginger Karina Pacheco Morales**, 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.



Ginger Karina Pacheco Morales
C.I. 1205364134
AUTORA



Acreditada

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

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

E.mail.info@uteq.edu.ec /fcp_91@yahoo.es

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



CASILLAS

Guayaquil

:10672

Quevedo : 73

Quevedo – Los Ríos – Ecuador

La Primera Universidad Agropecuaria del País. Acreditada

CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

El suscrito, **Ing. Méndez Martínez Yuniel PhD**, Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que la estudiante **Ginger Karina Pacheco Morales**, realizó el Proyecto de la Unidad de Integración Curricular titulado “**EFECTO DEL QUITOSANO EN DIETAS SOBRE LA RESPUESTA PRODUCTIVA Y HEMATOLÓGICA DE ALEVINES DE TILAPIA ROJA (*Oreochromis sp.*)**”, previo a la obtención del título de Ingeniera Agropecuaria, bajo mi dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

Atentamente,

Ing. Méndez Martínez Yuniel, PhD

DIRECTOR DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR.

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

Quevedo, 05 de febrero del 2020

Ingeniero
Rommel Ramos Remache
COORDINADOR DE CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

De mi consideración:

Dado que el suscrito es conocedor que el proyecto de la Unidad de Integración Curricular titulado “EFECTO DEL QUITOSANO EN DIETAS SOBRE LA RESPUESTA PRODUCTIVA Y HEMATOLÓGICA DE ALEVINES DE TILAPIA ROJA (*Oreochromis sp.*)”, de autoría de la señorita **Ginger Karina Pacheco Morales**, estudiante de la carrera de INGENIERÍA AGROPECUARIA, del cual fui designado Profesor Tutor de Trabajo de investigación. Proyecto que ha sido analizado a través de la herramienta URKUND, no incluyendo las listas de fuentes de comparación entre las cuales se encuentran las páginas preliminares de caratula, declaración de auditoria, certificación, agradecimientos, dedicatoria, índices, entre otras fuentes que no son utilizadas en el texto de la tesis.

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

Figura 1. Certificación del porcentaje de confiabilidad (94%) y similitud (8%) de URKUND.

URKUND	
Documento	Ginger Pacheco.docx (D62739467)
Presentado	2020-01-20 23:50 (-05:00)
Presentado por	EMMA TORRES (etorres@uteq.edu.ec)
Recibido	etorres.uteq@analysis.orkund.com
Mensaje	Ginger Pacheco Mostrar el mensaje completo
	8% de estas 37 páginas, se componen de texto presente en 3 fuentes.



Ing. Yuniel Méndez Martínez, PhD
DOCENTE DIRECTOR



UNIVERSIDAD TECNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

PROYECTO DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Título:

**“EFECTO DEL QUITOSANO EN DIETAS SOBRE LA RESPUESTA
PRODUCTIVA Y HEMATOLÓGICA DE ALEVINES DE TILAPIA ROJA
(*Oreochromis sp.*)”**

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

Aprobado por:

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL
DRA. YENNY TORRES NAVARRETE

MIEMBRO DEL TRIBUNAL
ING. EMMA TORRES NAVARRETE

MIEMBRO DEL TRIBUNAL
ING. GEOVANNY MUÑOZ RODRÍGUEZ

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por permitirme llegar hasta este momento, estoy muy segura que sin él nada hubiera sido igual, agradezco por ayudarme a no desmayar, a nunca dejarme sola y a continuar firme después de cada adversidad, con pruebas muy duras pero que, sin lugar a duda, cada vez me convencía que todas y cada una de las adversidades traían consigo mejores cosas.

Agradezco a mis Padres, Oscar Pacheco y Karina Morales por su apoyo incondicional a lo largo de mi carrera profesional, así como en el diario vivir, por sus enseñanzas, por su paciencia y por su infinito amor, ellos son tan fundamentales como Dios en mi vida, que sería de mi sin mi mami, acompañándome en mis momentos de felicidad y sobre todo en mis momentos de angustia, aconsejándome, siendo mi hombro, insistiéndome en continuar y a verle el lado bueno a todo, Ella mi apoyo y mi todo por siempre. A mi hermano Oscar Pacheco por su paciencia y disponibilidad por ayudarme cuando lo necesite y sobre todo por haber cuidado de “sus peces” y Omara Pacheco por ser la luz de nuestro hogar.

Agradezco a mi mejor amiga y hermana Yuliana Zambrano, por ayudarme a lo largo de la carrera, por inculcarme a ser mejor, no solo como estudiante, sino como persona, agradezco cada detalle que ha tenido conmigo y mi familia, aunque ella diga que no son grandes cosas, son esas pequeñas que perduraran.

Agradezco a mi amigo John Caicedo y Jennifer Sellan que a pesar de la distancia siempre estuvieron presentes motivándome con su apoyo moral.

Mis sinceros agradecimientos al Dr. Yuniel Méndez, por haber depositado su confianza en mí, para llevar a cabo dicha investigación, por su disponibilidad para ayudarme a despejar dudas, le agradezco por ser ese ejemplo a seguir de vida profesional y exitosa. Agradezco también a mis compañeros de tesis Alan Vera y Karla del Barco, por enseñarme a tener paciencia y sobre todo enseñarme que Dios siempre va primero y como no agradecer a Ronald Zamora, hombre responsable y colaborador.

Agradezco al Ing. Gerardo Segovia, Dra. Yenny Torres, Ing. Emma Torres y al Ing. Geovanny Muñoz por su entera disponibilidad y amabilidad para ayudar de manera desinteresada a sus estudiantes. Así también a la Ing. Diana Veliz, la Ing. Tanya y al Ing. David Zapatier por haber colaborado con gran parte de esta investigación.

Y por último agradezco a toda mi Familia, en especial a la Familia Cedeño Morales.

DEDICATORIA.

Dedico este proyecto de investigación a mis padres Oscar Pacheco y Karina Morales como fruto de su apoyo incondicional a lo largo de mi carrera profesional.

Ginger Karina Pacheco Morales.

RESUMEN

La investigación se llevó a cabo en el Campus “La María”, perteneciente a la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, localizada en el kilómetro 7½ de la vía Quevedo – El Empalme. La investigación tuvo una duración de 55 días. Se empleó tres dietas experimentales con inclusión de quitosano al 0%, 2% y 4% en alevines de tilapia roja. El objetivo del trabajo fue: Evaluar el efecto del quitosano en dietas sobre la respuesta productiva y hematológica de alevines de tilapia roja (*Oreochromis* sp.). Se aplicó un diseño completamente al azar (DCA), para tres tratamientos con tres repeticiones (tanques experimentales) con una densidad de 15 alevines/tanque. Previo a los análisis, se llevaron a cabo pruebas de normalidad y homocedasticidad a los datos obtenidos en las variables. Los resultados de los parámetros zootécnicos mostraron diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre el T3 (4% de inclusión de quitosano) con respecto al T1 (0% de inclusión de quitosano) en las variables de peso final, talla final, incremento de peso, ganancia de peso. El T3 obtuvo el 100% de índice de supervivencia. En cuanto a los parámetros nutricionales como la tasa de conversión alimenticia y la eficiencia alimenticia estadísticamente hubo diferencias altamente significativas entre el T3 y T1, obteniendo los mejores valores nutricionales el T3 para ambas variables. Por otro lado, las variables hematológicas evaluadas como glucosa y colesterol se vieron afectadas por la inclusión de quitosano en la dieta, el T3 obtuvo los valores más bajos en comparación con el T1, en cuanto a la variable de triglicéridos no hubo diferencias estadísticas entre el T3 y T1. En este estudio se evidenció que la inclusión de quitosano incidió de manera positiva en los parámetros estudiados, siendo un producto idóneo que podría aplicarse en distintas producciones animal.

Palabras claves: hematológicos, inclusión, nutrición, quitosano, zootécnico.

ABSTRACT

The research was carried out at the “La María” Campus, belonging to the State Technical University of Quevedo, located at kilometer 7½ of the Quevedo - El Empalme road. The investigation lasted 55 days. Three experimental diets were used, including 0%, 2% and 4% chitosan in red tilapia fry. The objective of the work was: To evaluate the effect of chitosan in diets on the productive and hematological response of red tilapia fry (*Oreochromis* sp.). A completely randomized design (DCA) was applied, for three treatments with three repetitions (experimental tanks) with a density of 15 fry / tank. Prior to the analyzes, let's verify the tests of normality and homocedasticity to the data selected in the variables. The results of the variable zootechnical parameters significant difference ($P \leq 0.05$) between T3 (4% chitosan inclusion) with respect to T1 (0% chitosan inclusion) in the variables of final weight, final height, weight gain, weight gain. The T3 obtained a 100% survival rate. Regarding nutritional parameters such as the rate of food conversion and food efficiency statistically, there were highly variable differences between T3 and T1, with the best nutritional values being T3 for both variables. On the other hand, the hematological variables evaluated as glucose and cholesterol were analyzed by the inclusion of chitosan in the diet, T3 obtained the lowest values compared to T1, as for the triglyceride variable there were no statistical differences between T3 and T1. This study shows that the inclusion of chitosan had a positive effect on the parameters studied, being an ideal product that could be determined in different animal productions.

Keywords: hematological, inclusion, nutrition, chitosan, zootechnical.

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo	Página
DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS	ii
CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR	iii
CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO	iv
AGRADECIMIENTOS	vi
DEDICATORIA	vii
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
CÓDIGO DUBLIN	xvii
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I	3
CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	3
1.1. Problema de la investigación.	4
1.1.1. Planteamiento del problema.	4
1.1.2. Formulación del problema.	5
1.1.3. Sistematización del problema.....	5
1.2. Objetivo general.....	5
1.2.1. Objetivos específicos.	5
1.3. Justificación.	6
CAPÍTULO II	7
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN.	7
2.1. Marco conceptual.....	8
2.2. Marco referencial.	9
2.2.1. Tilapia roja	9
2.2.2. Descripción taxonómica.....	9
2.2.3. Morfología externa.....	10
2.2.4. Morfología interna.	11
2.2.5. Requerimientos físico químicos del agua para el cultivo de alevines de tilapia.	13
2.2.6. Alimentación de tilapia.	13
2.2.7. Enfermedades de la tilapia.	15
2.2.8. Sistema inmune.....	17

2.2.9.	Sistema inmune no específico.....	17
2.2.10.	Inmunoestimulantes en la acuicultura.....	18
2.2.11.	Quitosano.....	20
2.2.12.	Propiedades del quitosano.....	21
2.2.13.	Aplicaciones del quitosano.....	23
2.2.14.	Quitosano en la acuicultura.....	26
CAPITULO III.....		29
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....		29
3.2	. Tipo de investigación.....	30
3.3.	Métodos de investigación.....	31
3.3.1.	Método inductivo.....	31
3.3.2.	Método analítico.....	31
3.4.	Fuentes de recopilación de información.....	31
3.5.	Diseño de la investigación.....	31
3.6.	Instrumentos de investigación.....	32
3.6.1.	Formulación, preparación y bromatología de dietas experimentales.....	32
3.6.2.	Condiciones experimentales.....	34
3.6.3.	Variables evaluadas.....	35
3.6.3.1.	Variables zootécnicas:.....	35
3.6.3.2.	Variables nutricionales:.....	37
3.6.3.3.	Variables hematológicas.....	37
3.7.	Tratamiento de los datos.....	38
3.8.	Recursos humanos y materiales.....	39
3.8.1.	Talento humano.....	39
3.8.2.	Insumos.....	39
3.8.3.	Reactivo.....	39
3.8.4.	Materiales de campo.....	39
3.8.5.	Materiales de oficina.....	40
CAPÍTULO IV.....		41
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....		41
4.1.	Parámetros zootécnicos.....	42
4.2.	Parámetros nutricionales.....	48
4.3.	Indicadores hematológicos.....	49
CAPÍTULO V.....		51
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....		51
5.1.	Conclusiones.....	52
5.2.	Recomendaciones.....	53
CAPÍTULO VI.....		54
BIBLIOGRAFÍA.....		54

6.1. Referencias bibliográficas.	55
CAPÍTULO VII	62
ANEXOS	62
Anexo 1. Proceso de elaboración de dietas experimentales.	63
Anexo 2. Captura de los alevines, biometrías y parámetros físicos-químicos del agua.	66
Anexo 3. Toma de muestras de sangre para análisis hematológicos.....	68
Anexo 4. Equipos utilizados para la investigación.	70
Anexo 5. Análisis de varianza de las variables en estudio.....	71
5.1. Peso día 0.....	71
5.2. Talla día 0.	71
5.3. Peso día 55.....	71
5.4. Talla día 55.	71
5.5. Ganancia de peso.	72
5.6. Ganancia de talla.....	72
5.7. Incremento de peso.	72
5.8. Incremento de talla.....	72
5.9. Factor de condición.....	73
5.10. Supervivencia.....	73
5.11. Tasa de crecimiento específico.	73
5.12. Tasa de crecimiento absoluto.	73
5.13. Conversión alimenticia.	73
5.14. Eficiencia alimentaria.	74
5.15. Glucosa.	74
5.16. Colesterol.....	74
5.17. Triglicéridos.....	74

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla		Página.
1	Requerimientos físico químicos del agua.....	13
2	Enfermedades más comunes de la tilapia.	15
3	Características agrometeorológicas del Campus "La María"	30
4	Esquema de Análisis de Varianza.....	32
5	Ingredientes para la elaboración de las dietas.	34
6	Tratamiento en estudio.	38
7	Parámetros zootécnicos y supervivencia de alevines de tilapia roja.....	44
8	Parámetros nutricionales de alevines de tilapia roja.....	48

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración	Página
1 Morfología externa de la tilapia.....	10
2 Morfología interna de la tilapia.	12

ÍNDICE DE ECUACIONES.

Ecuación		Página
1	Incremento de peso	35
2	Incremento de talla	35
3	Ganancia de peso.....	35
4	Ganancia de talla	36
5	Tasa de crecimiento específico	36
6	Tasa de conversión alimenticia	36
7	Eficiencia alimenticia	36
8	Tasa de supervivencia	36
9	Factor de condición.....	37
10	Tasa de crecimiento absoluto.....	37
11	Cálculo de la concentración de glucosa.....	37
12	Cálculo de la concentración de colesterol.....	38
13	Cálculo de la concentración de triglicéridos	38

ÍNDICE DE GRÁFICOS.

Gráfico	Página
1 Crecimiento (g) de los alevines durante el tiempo de experimento.....	45
2 Índice de supervivencia (%) de los alevines durante el tiempo de experimento.....	46
3 Comportamiento de la talla (cm) con respecto al peso (g) de los alevines de tilapia roja durante el tiempo de experimento.....	47
4 Contenido de glucosa, colesterol y triglicéridos en los alevines de tilapia roja con inclusión de quitosano en dieta.....	50

CÓDIGO DUBLIN

Título:	“Efecto del quitosano en dietas sobre la respuesta productiva y hematológica de alevines de tilapia roja (<i>Oreochromis</i> sp.)”				
Autor:	Ginger Karina Pacheco Morales.				
Palabras clave:	Hematológicos	Inclusión	Nutrición	Quitosano	Zootécnico
Fecha de publicación:					
Editorial:					
Resumen:	<p>La investigación se llevó a cabo en el Campus "La María", perteneciente a la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, localizada en el kilómetro 7½ de la vía Quevedo - El Empalme. La investigación tuvo una duración de 55 días. Se empleó tres dietas experimentales con inclusión de quitosano al 0%, 2% y 4% en alevines de tilapia roja. El objetivo del trabajo fue: Evaluar el efecto del quitosano en dietas sobre la respuesta productiva y hematológica de alevines de tilapia roja (<i>Oreochromis</i> sp.). Se aplicó un diseño completamente al azar (DCA), para tres tratamientos con tres repeticiones (tanques experimentales) con una densidad de 15 alevines / tanque. Previo a los análisis, verificamos las pruebas de normalidad y homocedasticidad a los datos seleccionados en las variables. Los resultados de los parámetros zootécnicos variables diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre el T3 (4% de inclusión de quitosano) con respecto al T1 (0% de inclusión de quitosano) en las variables de peso final, talla final, incremento de peso, ganancia de peso. El T3 obtuvo el 100% de índice de supervivencia. En cuanto a los parámetros nutricionales como la tasa de conversión alimenticia y la eficiencia alimenticia estadísticamente hubo diferencias altamente variables entre el T3 y T1, obteniendo los mejores valores nutricionales el T3 para ambas variables. Por otro lado, las variables hematológicas evaluadas como glucosa y colesterol se analizaron por la inclusión de quitosano en la dieta, el T3 obtuvo los valores más bajos en comparación con el T1, en cuanto a la variable de triglicéridos no hubo diferencias estadísticas entre el T3 y T1. En este estudio se evidencia que la inclusión de quitosano incidió de manera positiva en los parámetros estudiados, siendo un producto idóneo que podría determinar en distintas producciones animales.</p>				

Abstract:	<p>The research was carried out at the “La María” Campus, belonging to the State Technical University of Quevedo, located at kilometer 7½ of the Quevedo - El Empalme road. The investigation lasted 55 days. Three experimental diets were used, including 0%, 2% and 4% chitosan in red tilapia fry. The objective of the work was: To evaluate the effect of chitosan in diets on the productive and hematological response of red tilapia fry (<i>Oreochromis</i> sp.). A completely randomized design (DCA) was applied, for three treatments with three repetitions (experimental tanks) with a density of 15 fry / tank. Prior to the analyzes, let's verify the tests of normality and homocedasticity to the data selected in the variables. The results of the variable zootechnical parameters significant difference ($P \leq 0.05$) between T3 (4% chitosan inclusion) with respect to T1 (0% chitosan inclusion) in the variables of final weight, final height, weight gain, weight gain. The T3 obtained a 100% survival rate. Regarding nutritional parameters such as the rate of food conversion and food efficiency statistically, there were highly variable differences between T3 and T1, with the best nutritional values being T3 for both variables. On the other hand, the hematological variables evaluated as glucose and cholesterol were analyzed by the inclusion of chitosan in the diet, T3 obtained the lowest values compared to T1, as for the triglyceride variable there were no statistical differences between T3 and T1. This study shows that the inclusion of chitosan had a positive effect on the parameters studied, being an ideal product that could be determined in different animal productions.</p>
Descripción:	92 hojas: dimensiones, 29 x 21 cm + CD-ROM
Uri:	

INTRODUCCIÓN

La acuicultura ha crecido de manera exponencial en los últimos 50 años, partiendo de una producción de menos de 1 millón de toneladas en 1950 a 80 millones de toneladas en el 2016 (1). A pesar de que la producción pesquera de capturas, se mantiene estática y ha decrecido en los últimos años, la acuicultura continúa creciendo rápidamente en comparación con cualquier otro sector productor de alimentos de origen animal y las estadísticas apuntan a que seguirá desempeñando un gran y creciente papel a nivel mundial para satisfacer la creciente demanda de productos pesqueros (2).

Uno de los principales factores que incide en el éxito de esta industria es la selección de especies con alto potencial productivo, como la tilapia roja (*Oreochromis* sp.) este pez endémico de agua dulce es originario de África y el Cercano Oriente, a partir de la década de los 80 se convirtió en la punta de lanza para el desarrollo acelerado de la piscicultura comercial, destacándose entre los países suramericanos: Colombia (introducida en 1982), Venezuela (introducida en 1989) y Ecuador (introducida en 1993) en forma casi simultánea con países Centroamericanos, Caribeños y Norteamericanos (3).

En Ecuador, el cultivo comercial de tilapia nace a partir de la aparición del virus de la mancha blanca que afectó la producción camaronera, dejando infraestructura disponibles tales como piscinas, estanques y plantas de balanceados, para el cultivo de este pez (4).

En la actualidad, la tilapia se cultiva en sistemas intensivos y semi-intensivos donde los requerimientos nutricionales son satisfechos con dietas artificiales completas, pero debido a las condiciones de cultivo como; las altas densidades de siembra y limitada calidad de agua, la incidencia de patógenos, promueve a que los organismos se encuentran sujetos a un estrés constante que se traduce en bajas tasas de crecimiento, ineficiencia alimenticia y bajas supervivencias (5).

Uno de los factores limitantes de las producciones acuícolas son la carencia de herramientas inmunoterapéuticas profilácticas (vacunas o inmunopotenciadores) que reduzcan el efecto de enfermedades en los diferentes cultivos (6), que favorezcan no solo las funciones del sistema inmunológico, sino que, además, funjan como factores de crecimiento (7) y sean amigables con el medio ambiente. Por lo tanto, se han hecho intentos para desarrollar pellets de alimentación de peces que generen menos contaminación del agua y mejoren la Salud de los peces.

El uso de inmunopotenciadores como suplemento dietético se considera una estrategia prometedora para disminuir las pérdidas económicas por enfermedades y reducir el uso indiscriminado de antibióticos y productos quimioterapéuticos. Estos antibióticos provocan efectos colaterales indeseables como el desarrollo de resistencia a antibióticos en bacterias patógenas, la acumulación de residuos en los tejidos del pez, inmunosupresión y la reducción de la preferencia de los consumidores por los peces tratados con estos productos (8,9).

El quitosano se ha convertido en un candidato para promover el crecimiento de peces. Este polisacárido alcalino natural con cargas positivas, es uno de los polímeros naturales más abundantes, es obtenido a partir de la quitina desacetilada. En la naturaleza forma parte del exoesqueleto de los artrópodos (crustáceos, arácnidos e insectos), las paredes celulares de los hongos y algunos órganos como las quetas de anélidos (10). Como polímero de carbohidratos biodegradable no tóxico (11), contiene grupos amino e hidroxilo (12), que da al quitosano muchas actividades biológicas, como hemostática (13), antiinflamatorio, actividad antitumoral, actividad antimicrobiana, actividad hipoglucémica e hipo colesterol y un efecto inmunoestimulador (14). Sin embargo, el efecto del quitosano en la dieta sobre el crecimiento de los peces no ha recibido mucha atención.

La finalidad de este estudio fue recopilar información sobre los efectos del quitosano en la dieta sobre el crecimiento, eficiencia alimenticia, supervivencia y respuesta hematológica de alevines de tilapia roja.

CAPÍTULO I
CONTEXTUALIZACION DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Problema de la investigación.

1.1.1. Planteamiento del problema.

El hecho de que la acuicultura sea el sector de mayor tasa de crecimiento en la producción de alimentos, ha traído consigo el desarrollo acelerado y descontrolado de patógenos. Las enfermedades bacterianas, parásitas y virales son uno de los principales problemas en acuicultura que impiden incrementar la productividad y sustentabilidad de este sector. Esto ha llevado al uso indiscriminado de antibióticos para su prevención, lo que ha ocasionado la aparición de cepas resistentes.

El concepto de alimentación funcional es un paradigma emergente en la industria acuícola que pretende desarrollar dietas nutricionalmente balanceadas y suplementadas con aditivos que mejoren la salud y resistencia de los organismos cultivados. Intentando solucionar esta problemática, han surgido diferentes estrategias como la suplementación de probióticos, prebióticos e inmunopotenciadores en la dieta para ayudar a incrementar la respuesta productiva y reducir la tasa de mortalidad de las especies en cultivo. El quitosano es un inmunoestimulante, que puede potenciar los mecanismos de defensa celular, promover la resistencia contra enfermedades infecciosas, debido al aumento de la inmunidad humoral, además de estimular y mejorar la respuesta productiva.

Diagnóstico.

El déficit de aplicaciones de inmunoestimulantes como el quitosano en dietas para peces, pudiera deberse a la poca información disponible acerca de su efecto sobre el sistema inmune de los peces y su aplicación como suplemento dietético, razón que motiva la investigación.

Pronóstico.

La incorporación del quitosano en dietas peletizadas, pretende estimular la respuesta en el crecimiento, supervivencia e inmunología, de alevines de tilapia roja, siendo esta una estrategia para potenciar el crecimiento y la respuesta hematológica.

1.1.2. Formulación del problema.

¿Cuál es el efecto de la inclusión del quitosano en dietas peletizadas sobre la respuesta productiva y hematológica de alevines en tilapia roja (*Oreochromis sp.*)?

1.1.3. Sistematización del problema.

¿Cuál será el efecto del quitosano en los indicadores productivos de alevines de tilapia roja?

¿Cuál será el efecto del quitosano sobre los indicadores nutricionales en alevines de tilapia roja?

¿Qué respuestas tendrán los componentes hematológicos de los alevines de tilapia roja bajo el efecto del quitosano?

1.2. Objetivo general.

Evaluar el efecto del quitosano en concentraciones de 0%, 2% y 4 % en dietas sobre la respuesta productiva y hematológica de alevines de tilapia roja (*Oreochromis sp.*).

1.2.1. Objetivos específicos.

- Determinar el efecto del quitosano en dietas peletizadas sobre los indicadores zootécnicos: supervivencia, peso, talla, incremento de peso, incremento de talla, ganancia de peso, ganancia de talla, factor de condición, tasa de crecimiento específico, tasa de crecimiento absoluto de alevines de tilapia roja (*Oreochromis sp.*).
- Analizar el efecto del quitosano en dietas peletizadas sobre los parámetros nutricionales: conversión alimenticia y eficiencia alimentaria, de alevines de tilapia roja (*Oreochromis sp.*).
- Determinar la respuesta hematológica: triglicéridos, colesterol, glucosa de alevines de tilapia roja (*Oreochromis sp.*) por efecto del quitosano en dietas peletizadas.

1.3. Justificación.

A nivel mundial, la producción acuícola es uno de los sectores con mayor potencial para proveer de alimentos a la población, por ello, el interés de los piscicultores por optimizar la producción sin afectar a su economía, por tal motivo, es necesario hacer énfasis en que la inversión es baja, además el cultivo de peces como la tilapia son de fácil manejo, desarrollo y en especial requiere de poco espacio físico.

La aplicación de quitosano en la producción de peces es poco realizada, debido a la poca información existente, siendo un factor limitante. Este tipo de inmunoestimulantes fortalecen los mecanismos de defensa de los peces, al ser un componente importante para la producción de anticuerpos naturales, promoviendo así una mayor resistencia a enfermedades, además de mejorar el equilibrio de la flora intestinal; favoreciendo la digestión y/o absorción de nutrientes. Por lo tanto, la suma de estos factores beneficia el desarrollo y crecimiento de la tilapia roja, al ser una especie con potencial de cultivo.

Existe poca información en relación a la fisiología y comportamiento de esta especie frente a inmunoestimulantes como el quitosano; sin embargo, este estudio constituye un punto de partida para futuras indagaciones. El objetivo de la presente investigación, es dar a conocer los efectos del quitosano en las respuestas productivas y hematológicas de alevines de tilapia roja, al ser alimentados con dicho estimulante.

CAPÍTULO II
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN.

2.1. Marco conceptual.

Inmunoestimulantes.

Son compuestos químicos (sintéticos o naturales) que actúan sobre los mecanismos de la respuesta inmune innata o adaptativa del hospedero, activando las señales del sistema inmune del animal o por diferentes rutas de señalamiento celular para el control de patógenos (15).

Quitosano.

El quitosano es uno de los biopolímeros más abundante en la naturaleza, después de la celulosa. Además, es considerado uno de los polisacáridos más versátiles y ampliamente utilizado en la industria de cosméticos, farmacéutica, química, vinícola, cervecera y médica (16).

Dieta.

Formulación de alimentos para conseguir una composición cuantitativa y cualitativa que cumpla con los requerimientos nutricionales (17).

Alevines.

Pez con peso de 1 a 25 gramos o largo total mayor de 2.5 cm (18).

Tilapia roja.

Híbrido de coloración rojiza, producto del cruce entre *O. mossambicus* y *O. niloticus* (19).

Hematología.

El termino hematología deriva de los vocablos griegos haimato = sangre y logia = ciencia, conocimiento o tratado, es decir la ciencia o conocimiento de la sangre (20).

2.2. Marco referencial.

2.2.1. Tilapia roja.

Tilapia es el nombre común con el cual se conocen a diversas especies de los géneros *Oreochromis* y *Tilapia*. Por sus características y adaptabilidad, a comienzos del siglo XIX se inició las investigaciones para utilizarlas en la piscicultura rural, especialmente en el Congo Belga (actualmente Zaire). A partir del año 1924, se intensificó su cultivo en Kenia, sin embargo fue en el Extremo Oriente, en Malasia en donde se obtuvieron los mejores resultados, por lo que se inició un cultivo progresivo en diferentes partes del mundo (21).

La tilapia es uno de los géneros más apropiados para la acuicultura por su gran resistencia física, rápido crecimiento, resistencia a enfermedades, elevada productividad, debido a su tolerancia a desarrollarse en condiciones de alta densidad, habilidad para sobrevivir a bajas concentraciones de oxígeno y amplio rango de salinidad, con capacidad de nutrirse a partir de una gran gama de alimentos naturales y artificiales. En cuanto a aspectos sensoriales, se caracteriza por textura firme de su carne, color blanco y bajo número de espinas intermusculares, convirtiéndolo en un pescado altamente apetecible (22).

2.2.2. Descripción taxonómica.

De acuerdo con Berg y modificado por Trewavas, la tilapia se clasifica de la siguiente manera (23).

Phylum: Vertebrata.

Sub Phylum: Craneata.

Superclase: Gnostomata.

Serie: Pises.

Clase: Actinopterygii.

Orden: Perciformes.

Suborden: Pericoidae.

Familia: Cichlidae.

Género: Tilapía

Oreochromis.

Especie: *Oreochromis nilotica*.

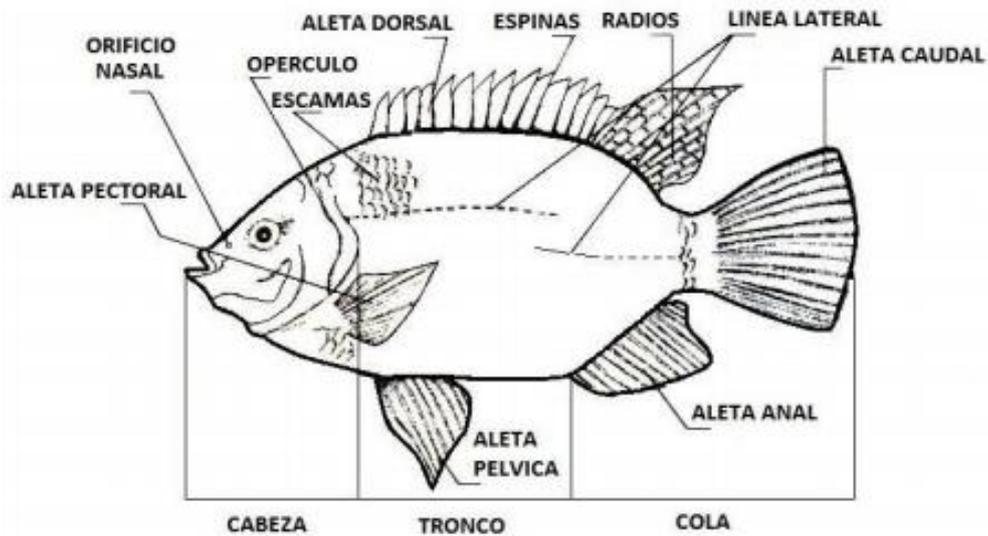
Oreochromis mossambica.

Oreochromis melanopleura.

2.2.3. Morfología externa.

Las tilapias, presentan cuerpo vigoroso, reducido lateralmente; en algunas especies los machos presentan la cabeza más grande que la hembra, boca protráctil anchurosa con los labios carnosos y gruesos, dientes tipo cónico y algunas veces incisivos, escamas de tipo ctenoideo: La parte anterior de las aletas dorsal y anal es corta, presentan espinas y radios. Tienen una línea lateral interrumpida en dos partes; la parte anterior superior, se extiende desde el opérculo hasta los últimos radios de la aleta dorsal, la posterior se encuentra por debajo de donde termina la línea lateral superior hasta el final de la aleta caudal, tiene un solo orificio nasal a cada lado de la cabeza, **ver ilustración 1.** (24).

Ilustración 1. *Morfología externa de la tilapia*



Fuente: SEPESCA (23).

2.2.4. Morfología interna.

El esqueleto de la tilapia, está completamente clasificado; presenta una columna vertebral bien definida, a lo largo, con espinas en las tres cuartas, hasta su terminación en unos huesecillos llamados hipurales, en donde se forma la aleta caudal. Se inicia en la boca, que presenta en su interior, dientes mandibulares que pueden ser unicúspides, bicúspides y tricúspides según las distintas especies, continúa en el esófago hasta el estómago, el intestino es de forma de tubo hueco y redondo que se adelgaza después del píloro. El intestino mide 7 veces que la longitud total del cuerpo, se estima el tiempo de pasaje del alimento por el tracto digestivo de la tilapia en ocho a más de 24 horas. Asociado con un tracto digestivo, presenta dos glándulas muy importantes, siendo una de ellas el hígado, que es un órgano grande en tamaño y de forma alargada. En su parte superior y sujeta a éste, se presenta una estructura pequeña y redonda de coloración verdosa llamada vesícula biliar, la cual se comunica con el intestino por un pequeño y diminuto tubo, el cual recibe el nombre de conducto biliar (25).

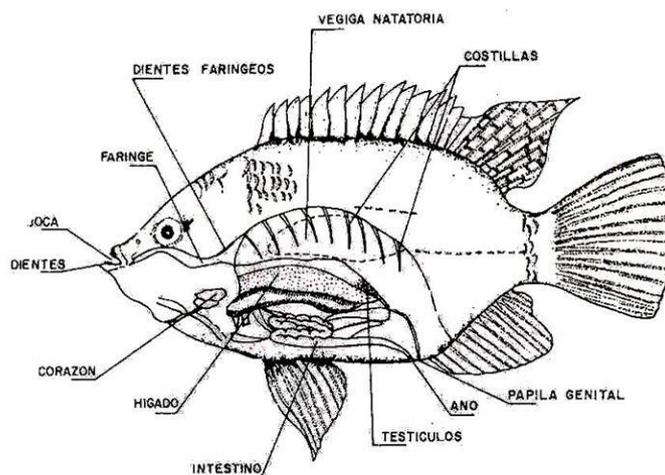
La otra glándula digestiva importante es el páncreas, representado por pequeños fragmentos redondos, no muy fáciles de observar a simple vista ya que está incluido en la grasa que rodea a los ciegos pilóricos. El estómago de la tilapia no es anatómicamente evidente. La primera porción del intestino presenta secreción de ácido y pH bajo para promover el desdoblamiento de las paredes celulares de bacterias y algas. Típicamente la tilapia consume alimento durante todas las horas del día. En los cultivos los peces aprenden a consumir alimento ofrecido en la noche (25).

El pez tiene unas espinas a lo largo de los arcos de cartílago que sostienen físicamente a las branquias. Con estas espinas el pez puede filtrar material del agua que pasa por su boca. El material acumulado en estas branqui-espinas se mezcla con una capa de moco producida en la cavidad bucal del pez. Eventualmente la capa de moco es conducida a la faringe y esófago para entrar en el sistema digestivo del pez. La tilapia cuenta con pequeños dientes en sus pre-maxilas maxilas para raspar el perifiton de las superficies de objetos sumergidos en el agua. Todo material introducido a la garganta es triturado por acción de dientes faríngeos ubicados en placas superior e inferior (25).

El sistema circulatorio está constituido por el corazón, órgano redondo, generalmente bilobular, compuesto por tejido muscular y localizado en la base de la garganta. El riñón, es un filtro de forma ovoide que presenta un solo glomérulo, la sangre fluye a través de éste mediante unos tubos hacia los uréteres, que secretan en la vejiga y posteriormente secretan al exterior. Posee una vejiga natatoria adherida a las bases intermedia por debajo de la columna vertebral, es una bolsa alargada, es un órgano hidrostático que le sirve para flotar a diferentes profundidades. El sistema excretor está constituido por un riñón que es un filtro ovoide compuesto por un solo glomérulo, por el que fluye la sangre mediante unos tubos hacia los uréteres, que secretan en la vejiga natatoria y desde ella hacia el exterior (25).

El sistema reproductor está constituido por un par de gónadas. En las hembras los ovarios son de forma alargada y tubular de diámetro variable. En los machos los testículos también son pares y están situados en la parte superior por encima del hígado y por debajo de la vejiga natatoria, en forma de pequeños sacos alargados. El control de la reproducción que realiza esta glándula es a través de dos hormonas gonadotrofinas: la hormona folículo estimulante (FSH o GtH I), que regula la vitelogénesis en hembras y la espermatogénesis en los machos, y la hormona luteinizante (LH o GtH II), encargada de controlar la maduración final del ovocito en las hembras, **ver ilustración 2.** (25).

Ilustración 2 *Morfología interna de la tilapia.*



Fuente: SEPESCA (23).

2.2.5. Requerimientos físico químicos del agua para el cultivo de alevines de tilapia.

Según Poot *et al* (26), revela que para cultivar tilapia es sustancial tomar en cuenta las propiedades fisicoquímicas del agua como; temperatura, oxígeno disuelto, pH y transparencia. Estas deben mantenerse dentro de los parámetros óptimos para garantizar el desarrollo de los peces, puesto que, influyen directamente en sus aspectos productivos y reproductivos, **ver en Tabla 1.**

Tabla 1. *Requerimientos físico químicos del agua.*

Parámetros	Rango
Oxígeno disuelto	> 4 ppm
Temperatura	20 – 32°C
pH	6.5 – 11.0
Salinidad	<35%
Alcalinidad	75 – 200 ppm
Dureza	20 - 350 ppm

Fuentes: María Saavedra y Rosko Emili (27,28).

Elaborado: Autor.

2.2.6. Alimentación de tilapia.

Por su alimentación, el género *Oreochromis* se clasifica como Omnívoro, pudiendo consumir diversidad de alimentos, que incluyen vegetación macroscópica hasta algas unicelulares y bacterias, tendiendo hacia el consumo de zooplancton. Para el cultivo se han empleado diversos alimentos, tales como plantas, desperdicios de frutas, verduras y vegetales, semillas oleaginosas y cereales, todos ellos empleados en forma suplementaria. La base de la alimentación de tilapia la constituyen los alimentos naturales que se desarrollan en el agua y cuyo contenido proteico es de un 55% (peso seco) aproximadamente (26).

Según Olvera (29), una característica de la tilapia es su elevada eficiencia en la utilización del alimento, la cual se relaciona con su gran capacidad para digerir las microalgas y materia vegetal en general, favorecida por el bajo pH del estómago de los peces herbívoros que les permite obtener los nutrientes del intestino de la célula vegetal e inclusive sin necesidad de romper la pared celulósica. En los estómagos de la tilapia se han registrado los niveles más bajos de pH entre los peces, niveles cercanos a 1.

2.2.6.1. Tipos de alimento.

Según Zendejas (30) la alimentación de la tilapia puede ser de dos tipos como se detalla a continuación:

Alimentos naturales: los peces bajo cultivo requieren, para su crecimiento normal del aporte de proteína, lípidos, energía, vitaminas y minerales; nutrientes que en su mayoría son suministrados a través de la dieta. Requerimientos que varían de una especie a otra, y dentro de una misma especie a lo largo de su ciclo de vida, sexo, estado reproductivo y condiciones medio ambientales. En las explotaciones extensivas, los dependen para cubrir sus requerimientos nutricionales, del alimento natural presente en el estanque. Sin embargo, en sistemas intensivos, se desconoce el grado en el que el alimento natural contribuye en su nutrición. Se estima que la mayor contribución del alimento natural, puede ser en forma de nutrientes traza, como vitaminas, minerales y ácidos grasos esenciales (30).

Alimento balanceado o artificial: dependiendo del proceso empleado, el alimento balanceado puede ser ofrecido en forma de pellet o galleta extrudida. El pelletizado, es un alimento que una vez mezclado con los ingredientes, recibe un acondicionamiento mediante la aplicación de vapor. La humedad se eleva a valores cercanos a 17 – 18 % y la temperatura a 710 – 850 ° C, el vapor ayuda a gelatinizar los almidones, que son responsables de la impartición de la estabilidad al proceso (30).

Los alimentos extruidos, son la mezcla de harinas, las cuales se preacondicionan de 3 a 5 minutos en la cámara de acondicionamiento, proceso en el que se eleva la humedad hasta aproximadamente un 25 %, para posteriormente en tratar al extrudir, en cuyo cilindro, por la acción combinada de la inyección de vapor y la fricción generada por un tornillo “sinfin”, se eleva la temperatura hasta 130 – 1500 °C, conforme el producto plastificado pasa por el dado, tiene lugar una súbita disminución de la presión, dando lugar a una vaporización del agua, reflejándose en una expansión del alimento, responsable de la flotación del producto en el agua (30).

2.2.7. Enfermedades de la tilapia.

En tilapias se puede distinguir dos tipos de enfermedades; por agentes patógenos y/o deficiencias nutricionales. Siendo prevalentes aquellas causadas por agentes patógenos, **ver en Tabla 2.** (31).

Tabla 2. *Enfermedades más comunes de la tilapia.*

Enfermedades	Agente causal	Sintomatología
Deshilachamiento de las aletas y pudrición de las branquias	Bacterias: <i>Aeromona sp.</i> <i>Pseudomona sp.</i>	Reborde blanquecino en el margen de las aletas hasta su destrucción. Branquias pálidas y con abundante moco. Nado lento y pérdida de apetito
	Bacteria: <i>Aeromonas almonica</i>	Ulceraciones sangrientas en la piel. Pérdida de apetito y aislamiento.
Ascitis infecciosa.	Bacterias: <i>Aeromona sp.</i> <i>Pseudomona sp.</i>	Abultamiento del vientre. Aislamiento. Forma crónica: lesiones ulcerosas en la piel y músculo. Forma aguda: liquido sanguinolento en el vientre ojos hundidos, inflamación de órganos internos.

Saprolegniasis o micosis.	Hongo: <i>Saprolegnia sp.</i>	Manchas algodonosas sobre el cuerpo, aletas y cabeza. Aislamiento. Nado lento y pérdida de apetito.
Costiasis.	Protozooario: <i>Costia sp.</i>	Película blancoazulosa en la piel. Enrojecimiento de zona afectada. Aletas replegadas Pérdida de apetito.
Iricodiniasis.	Parásitos protozoarios: <i>Icichodina sp.</i>	Exceso de mucosidad en cuerpo y branquias. Desprendimiento de escamas. Enrojecimiento en zonas afectadas.
Hirudiniasis.	Hirudinas.	Enrojecimiento en el sitio donde se encuentra el parásito que se ve a simple vista, sobre aletas y cavidad oral principalmente.
Lerneasis.	Crustáceos.	Parásitos visibles sobre el pez, escamas levantadas.
Argulosis.		Aislamiento del pez. -de aspecto blanquecino, aparece como un piojo discoidal de 2 a 3 mm. De diámetro que se fija sobre el flaco del pez al que chupa sangre.

Fuente: O, Armijo (31).

Elaborado: Autora.

2.2.8. Sistema inmune.

La función esencial del sistema inmune en todos los vertebrados es la defensa contra las infecciones (32). El sistema inmunitario de los peces es similar al de vertebrados superiores, aunque presenta algunas diferencias. En todos los vertebrados, incluidos los peces, la respuesta inmunitaria puede ser de dos tipos: innata (también conocida como natural o inespecífica) y adaptativa (también conocida como adquirida o específica) (33).

La primera respuesta es la que poseen todos los seres vivos desde el nacimiento, formado por componentes celulares y humorales, y la segunda respuesta involucra la producción de anticuerpos a través de un reconocimiento específico del antígeno, donde también participan elementos celulares. La actividad relativa de estos tipos de respuestas depende de su adaptación evolutiva. La importancia de la respuesta adaptativa se va haciendo mayor en organismos más complejos, por lo tanto, en peces la respuesta inmune innata está más desarrollada que la adaptativa, en contraste con lo que ocurre en vertebrados superiores que es menos desarrollada (32).

2.2.9. Sistema inmune no específico.

La respuesta inmune no específica está mediada en peces por una serie de factores que constituyen la respuesta humoral y celular. Las respuestas humorales del sistema inmune inician con la secreción del mucus, cuya función protectora previene la colonización de parásitos, bacterias y hongos, a través de una continua pérdida y reemplazo del mismo (34).

El mucus está presente en la piel, intestino y branquias, y su compuesto principal es la mucina. Además del mucus, hay diversos mecanismos de defensa que incluye la participación de componentes del suero, como la proteína C-reactiva, la transferrina, la lisozima, las aglutininas, las citoquinas, el sistema del complemento, péptidos antimicrobianos, carbohidratos, entre otros (32).

La respuesta celular del sistema inmune innato en peces, participan los leucocitos como: monocitos-macrófagos, linfocitos, granulocitos, trombocitos y células citotóxicas naturales (35). Las células citotóxicas en peces cumplen con un papel funcional similar que las células “natural killer” (NK) presentes en vertebrados superiores. Su función es ejercer una toxicidad inespecífica de diferentes células blanco sin un previo reconocimiento (35).

En cuanto al resto de las células que participan en la respuesta inmune inespecífica se clasifican cómo; granulocitos y agranulocitos (fagocitos mononucleares) y a su vez estos se dividen en dos categorías: la primera que incluye a los neutrófilos, los eosinófilos y los basófilos y en la segunda los monocitos-macrófagos. El principal mecanismo de defensa que presentan, es un proceso de ingestión y digestión de material extraño particulado, a este proceso se le llama fagocitosis (36).

Otro proceso importante que involucra a las células fagocíticas es el estallido respiratorio, proceso seguido de la fagocitosis. El estallido respiratorio es un mecanismo que consiste en la liberación de especies reactivas de oxígeno (ROS); peróxido de hidrogeno, aniones superóxido y radicales hidroxilos, todas estas con la capacidad de degradar a las partículas fagocitadas por los macrófagos y neutrófilos (fagocitos). Este proceso implica la reducción de oxígeno (O_2) a su radical anión (O_2^-). Esta reacción es catalizada por una enzima (oxidasa NADPH) y genera la producción de anión superóxido (O_2^-) el cual genera una matriz de ROS, la cual produce peróxido de hidrógeno (H_2O_2), radical hidroxilo (OH^-) y ácido hipocloroso ($HClO^-$). Todos estos radicales de oxígeno presentan efectos antimicrobianos potentes (37).

2.2.10. Inmunoestimulantes en la acuicultura.

Algunos autores definen como inmunopotenciador o inmunoestimulador a un compuesto químico, estresor o acción que potencie la respuesta inmune innata por interacción directa con las células que componen el sistema de defensa innato (7,9).

Los inmunopotenciadores pueden sostener o incrementar la duración de la respuesta inmune específica, tanto mediada por células como por anticuerpos, seguida de la vacunación; por lo que algunos investigadores utilizan las vacunas combinadas o adyuvadas con estas sustancias para fortalecer y potenciar la respuesta inmune (9).

Otra de sus novedosas aplicaciones es su combinación con antibióticos, la combinación de varios estimulantes y el uso de distintas vías de inmunización en un mismo tratamiento, con el fin de inducir la respuesta de diferentes receptores inmunológicos (15)

Según Rodríguez (38) a finales de la década de los ochenta comenzaron a emplearse inmunoestimulantes y probióticos en acuicultura, con la finalidad de aumentar la duración de la actividad de la respuesta inmunitaria inespecífica, debido a que tiene un uso profiláctico general se caracteriza por tener un modo de acción generalizado (no actúan contra un microorganismo específico), por lo que tienen un uso profiláctico general. Los primeros estudios sobre inmunomodulación de teleósteos se realizaron *in vitro* y, posteriormente, *in vivo*. *In vivo* estas sustancias pueden administrarse por inyección (técnica costosa que implica manipulación de los peces), o bien disueltas en el agua, es decir, mediante baño de los animales (que también implica manipulación y con ello, estrés).

El modo más reciente de aplicación de inmunoestimulantes es a través de la dieta, lo que ofrece muchas ventajas ya que resulta menos costoso y no implica manipulación de ejemplares. En la actualidad, se estudia su uso combinado con vacunas y antibióticos, así como el efecto de mezclas de inmunoestimulantes, evaluados a través de diferentes mecanismos de defensa inespecíficos; sin embargo, muchas veces los resultados son difíciles de evaluar y no ha sido fácil identificar un biomarcador efectivo para la resistencia a enfermedades en peces. Aoshima *et al.* demostraron que un incremento en las respuestas de defensa no específicas *in vitro* no siempre refleja el incremento de resistencia a la enfermedad, por tanto, las respuestas integradas adecuadas de varios mecanismos deben ser probadas con un desafío artificial estandarizado con un agente infeccioso. Así, la mayoría de reportes han descrito la resistencia a infecciones bacterianas principalmente en los desafíos de enfermedad (38).

Según Maqsood *et al* (39) los inmunoestimulantes pueden clasificarse en seis grandes grupos, independientemente de su modo de acción, tales como:

- a) **Químicos sintéticos:** levamisol y muramildipéptido (MDP).
- b) **Derivados de microbios:** β -glucanos, peptidoglicanos, lipopolisacáridos (LPS), bacterinas, adyuvante completo de Freud.
- c) **Factores nutricionales:** Vitaminas C y E.
- d) **Extractos de plantas y animales:** polisacáridos, quitosano, quitina, lentinanos, esquizofilano y oligosacáridos.
- e) **Hormonas:** hormona de crecimiento, hormona tiroidea y prolactina.
- f) **Citoquinas y otros:** RNA de doble cadena (39).

2.2.11. Quitosano.

El quitosano fue descubierto por Rougel en 1859, quien encontró que al tratar la quitina con una solución caliente de hidróxido de potasio se obtiene un producto soluble en ácidos orgánicos, esta quitina modificada, como él lo llamó, se tornaba color violeta en soluciones diluidas de yoduro y ácido, mientras la quitina era de color verde. Pero no es hasta 1894 cuando Hoppe-Seyler sometió la quitina a reflujo a 180 °C en hidróxido de potasio y observó que el producto que se formaba era bastante soluble en ácido acético y clorhídrico y lo denominó quitosano. Este se diferencia de la quitina por su capacidad de disolverse en soluciones acuosas diluidas de ácidos tales como el ácido acético (CH₃COOH) (40).

Según Rinaudo (41) El quitosano, en contraste a la quitina, se encuentra muy raramente presente en la naturaleza, se puede encontrar en forma natural en las paredes celulares de algunas plantas y hongos, por ejemplo, en el *Mucorrouxií* y *Choanephora cucurbitarum* con 30 y 28% de quitosano, respectivamente. También, dos diatomeas marinas, *Cyclotella cryptica* y *Thalassiosira fluviatilis* han demostrado ser una fuente de quitosano puro que no se asocia a las proteínas.

2.2.12. Propiedades del quitosano.

El quitosano es el único polisacárido catiónico natural, esto le confiere propiedades especiales tales como: inocuidad a la salud humana; propiedad antimicrobiana y biodegradabilidad (42).

a) Inocuidad a la salud humana.

El quitosano tiene la propiedad única de unirse a las grasas en el tracto digestivo antes de que éstas entren en contacto con las enzimas digestivas y se absorban. Al unirse con la grasa el quitosano se vuelve una masa gelatinosa imposible de absorber, por el organismo por lo tanto se elimina con las heces. Posee una carga eléctrica positiva que le permite enlazar químicamente a los lípidos, grasas y bilis cargados negativamente. Es para los humanos una fibra totalmente indigerible, por tanto, la ingestión del mismo no aporta ninguna caloría y al no absorberse a nivel sistémico, ejerce su mecanismo de acción sólo a nivel local; por lo cual no posee ninguna contraindicación, salvo la alergia manifiesta a los crustáceos. La dosis letal del quitosano (DL_{50}), en ratas, es de 16 g Kg^{-1} de peso corporal. Ello sitúa al quitosano en el nivel del azúcar y lo hace menos tóxico que la sal. Por este motivo, el quitosano ya ha sido aceptado como suplemento dietario o como aditivo alimentario por la legislación de varios países, entre ellos, Italia, Francia, Noruega, Estados Unidos, Argentina y Japón (42).

b) Propiedad antimicrobiana.

Los mecanismos de acción por los cuales el quitosano ejerce actividad antimicrobiana no han sido aclarados completamente; sin embargo, hay algunos mecanismos propuestos para explicar acciones específicas. La interacción electrostática entre el quitosano cargado positivamente y algunas bacterias con membranas celulares cargadas negativamente (Gram negativas) altera de manera significativa las propiedades de barrera de la membrana exterior del microorganismo (43).

La formación del complejo polielectrolito bloquea físicamente la membrana celular externa del microorganismo, impidiendo el flujo normal de nutrientes y desechos, provocando así la muerte bacteriana. Algunas bacterias Gram positivas que carecen de cargas negativas en la membrana celular, el quitosano ha mostrado actividad incluso mayor. En el caso de *S. aureus*, recientemente se ha planteado la posibilidad de que la membrana celular de estos microorganismos tenga poros lo suficientemente grandes como para que el quitosano logre entrar al interior de las células y alterar funciones vitales de éstas. Además, el quitosano inhibe multitud de especies de hongos, exceptuando, o siendo menos efectivo con aquellas que lo poseen en sus paredes celulares (43).

c) Biodegradabilidad.

Se entiende como biodegradable al producto o sustancia que puede descomponerse en elementos químicos naturales por la acción de agentes biológicos, como el sol, el agua, las bacterias, las plantas o los animales. En consecuencia, todas las sustancias son biodegradables, la diferencia radica en el tiempo que tardan los agentes biológicos en descomponerlas en químicos naturales. Más que el origen, la estructura química de los biopolímeros es la que determina su biodegradabilidad; aunque, en cualquier caso, para el quitosano, la respuesta biológica de este compuesto, así como cualquiera de sus propiedades, dependerá de sus características particulares, es decir, método de obtención, del peso molecular, del grado de desacetilación, etc (42).

La degradación del quitosano se debe principalmente a la susceptibilidad de ser hidrolizado enzimáticamente. Las macromoléculas son comúnmente degradadas fuera de las células a unidades mono o diméricas por la acción de exoenzimas y esos productos son absorbidos por las mismas. Y es debido a su biodegradabilidad que el quitosano abre un gran potencial económico y benéfico en el área de los empaques y películas o recubrimientos, dada las similitudes con los materiales sintéticos (42).

2.2.13. Aplicaciones del quitosano.

a) Aplicación en alimentos.

El quitosano es un biopolímero inocuo a la salud humana y que posee numerosas propiedades que lo hacen muy versátil en su aplicación en el área de los alimentos.

Se destacan en estas propiedades, su carácter emulsionante, gelificante, estabilizante y antioxidante. Además, el quitosano previene reacciones de deterioro de los alimentos como el pardeamiento enzimático. El quitosano es usado en la industria alimentaria ya que posee actividad antimicrobiana, por lo cual se lo emplea para extender el tiempo de preservación de los alimentos mínimamente procesados, por ejemplo, los productos hortofrutícolas sufren pérdidas de producto o disminución de su calidad por daños mecánicos, alteraciones fisiológicas o ataque de agentes patógenos como bacterias y hongos. La actividad antimicrobiana del quitosano se emplea para proteger a estos productos y proporcionarles una cobertura generada por la propiedad filmogénica de las soluciones del quitosano. Se utiliza, además, para recuperar materiales sólidos en residuos de industrias alimentarias; eliminar colorantes, sólidos, sustancias ácidas de jugos de frutas; y también para la recuperación de proteínas y grasas del suero de quesos (40).

b) Medicina.

Una gran variedad de usos médicos de quitina y quitosano han sido reportados, estos polímeros pueden ser usados para inhibir fibroplasias y promover el crecimiento de tejidos debido a sus propiedades de biocompatibilidad y biodegradabilidad, debido a que el quitosano activa inmunocitos y células inflamatorias además de servir como agente anticoagulantes, antitrombogénicos y hemostáticos (44).

Como dispositivos médicos tanto en implantes, suturas, oftalmología y bajo la forma de hidrogeles, films, tabletas, microcápsulas, microesferas y nano partículas en ingeniería de tejidos y actualmente, se usan a la quitina y quitosano en vendajes para heridas, alimentos dietéticos anticolesterolémicos, vehículos para la liberación controlada de fármacos, entre otras aplicaciones (44).

Se desarrollaron y caracterizaron scaffolds biodegradables basados en los polímeros biodegradables de quitosano y el poliéster sintético poli-ε-caprolactona, mediante la técnica de evaporación de solvente con el agregado de la droga con actividad osteogénica al endronato de sodio y compatibilizados mediante el uso del entre cruzante no tóxico tripolifosfato de sodio, dirigido a aplicaciones de liberación de fármacos en ingeniería de tejidos que favorezcan el crecimiento células del tejido óseo para su utilización en recuperación y regeneración del tejido óseo y su posterior aplicación en implantes óseos (44).

c) Agricultura y ganadería.

En términos generales, la aplicación de quitosano ha mostrado efectos positivos en el crecimiento de las plantas, tanto en la estimulación de la germinación de semillas como en el crecimiento de partes de la planta como raíces, retoños y hojas. En algunos casos, se ha observado que la estimulación de la germinación de semillas por tratamiento con quitosano ha logrado elevar el porcentaje de germinación a los niveles requeridos para la certificación (43).

El uso de quitina y quitosano en la agricultura se centra en mejorar los rendimientos agronómicos por medio de varios mecanismos. Las semillas recubiertas con soluciones de quitosano mejoran su germinación y producen altos rendimientos de cosecha. Adicionalmente, la quitina y el quitosano fueron usados en una proporción del 0.1% como suplementos de suelo y se encontró una buena modulación y fijación de nitrógeno después de la etapa de crecimiento. Como agente antifúngico acelerante del crecimiento de semillas. Otro campo de aplicación de la quitina y el quitosano en agricultura es su utilización como matrices para la liberación de agroquímicos para el control de plagas o para suministrar nutrientes de una manera sostenida y selectiva (43).

d) Cosméticos.

La actividad fungicida del quitosano y la capacidad para disolverse en ácidos orgánicos lo hace compatible en formulaciones de crema, lociones y acondicionadores para el cabello, pastas de dientes y enjuagues bucales, debido a sus propiedades fungicidas y fungistáticas (44).

Entre los efectos positivos del quitosano en formulaciones cosméticas, tenemos su compatibilidad con la piel, a la que protege actuando como una barrera física contra la radiación ultravioleta y la deshidratación. Su formulación en cremas aprovecha su carácter filmogénico, que permite una rápida disminución de las líneas de expresión (40).

e) Farmacéuticas y biotecnológicas.

Las industrias americana y japonesa han investigado, en las últimas décadas, el uso de quitosano en sistemas de liberación controlada de fármacos. Este biopolímero catiónico con grupos funcionales potencialmente reactivos tiene posibilidades especiales para utilizarse en esta tecnología. La biocompatibilidad y la biodegradabilidad del quitosano han sido claramente establecidas y son cualidades sumamente importantes para esos objetivos. Sus mayores usos han sido en la elaboración de membranas de hemodiálisis, suturas biodegradables, sustitutos artificiales de la piel, agentes cicatrizantes en quemaduras, sistemas liberadores de fármacos, liberación de la insulina, transporte de agentes anticancerígenos y paralizadores de las hemorragias. Otras aplicaciones incluyen en biocatálisis para inmovilización y atrapamiento de enzimas y células, su uso en fotografía (por su habilidad para formar films) y como bacterias en estado sólido (44).

f) Control ambiental.

Se ha empleado como un efectivo agente coagulante en reactores de lodo activado en plantas de tratamiento biológico secundario de aguas de origen doméstico e industrial. El mayor impacto en control ambiental de la quitina y el quitosano es el potencial que poseen en sistemas de tratamientos de aguas residuales que contienen metales tales como Cu (II), Cd (II), Zn (II), Pb (II), Fe (III), Mn (II), Ag (I).

Este hecho se debe a la capacidad que presentan estos polímeros de sufrir reacciones de quelación con ellos. Por último y tal como lo indica Hirano, quitina y quitosano se encuentran circulando en la atmósfera, biósfera, hidrósfera y litósfera, y la función de autodefensa del cuerpo para seres humanos animales y plantas está potenciada por contacto celular con estos biopolímeros. Quitina y quitosano son biológicamente renovables, biodegradables, biocompatibles, no-antigénicos, casi no tóxicos y biofuncionales (45).

g) Tratamiento de agua.

Es una de las áreas más importantes debido a que el quitosano y la quitina son sustancias “ambientalmente amigables”. Entre los principales usos que se hacen en la actualidad de estos biomateriales, y algunos de sus derivados, en este campo tenemos (46):

- Floculante para la remoción de partículas coloidales sólidas y aceites de pescado.
- Captura de metales pesados y pesticidas en soluciones acuosas. Algunos copolímeros de injerto del quitosano muestran alta efectividad para remover metales pesados, especialmente los derivados de ácidos alquenodiólicos (46).

2.2.14. Quitosano en la acuicultura.

El polisacárido se une con relativa facilidad a la membrana y pared celular tanto de organismos unicelulares como multicelulares, siendo capaz de alterar la permeabilidad de las membranas y de interferir en los procesos que ocurren en la célula, como consecuencia es capaz de regenerar el tejido óseo y el tejido conectivo así como de detener los procesos de hemorragia, contribuyendo así a procesos como la formación del hueso y a regeneración de la dermis, cabe destacar la capacidad que tiene el quitosano para unirse a las células malignas convirtiéndolo en una biomolécula con un marcado potencial como un antitumoral, también puede actuar con facilidad tanto en el torrente sanguíneo como en el sistema linfático, por último se sabe que este polisacárido actúa como anticolesterolémico y como inmunoadyuvante, permitiendo la reducción del colesterol y aumentan la respuesta del sistema inmune (47).

Romalde *et al.*, lograron porcentajes de protección más altos en truchas inmunizadas vía oral contra *Lactococcus garviae* cuando encapsularon las bacterias en micropartículas de alginato. Se estudia también la posibilidad de usar vacunas de DNA por la vía oral incorporando genes encapsulados en quitosán, un polisacárido natural que protege los antígenos de las enzimas gástricas y adicionalmente incrementa el transporte paracelular y transcelular a través de las células epiteliales (48).

Mulero y cols., señalan que es posible el desarrollo de cierta tolerancia inmunológica en tratamientos ante antígenos en estado larvario de los peces. Esto puede reducir el uso de los inmunopotenciadores antigénicos desde etapas tempranas del cultivo como la larvicultura. Este fenómeno de tolerancia es una de las contraindicaciones o efectos adversos más frecuentes de la aplicación de estos productos en los peces, junto a la competencia antigénica. Por otra parte, se considera que en la etapa larval los inmunoestimuladores incrementan la respuesta inmune innata, mientras el sistema inmune adaptativo no se ha desarrollado lo suficiente como para desencadenar una respuesta efectiva ante el patógeno (49).

En el caso de la inmunización de alevines existen algunos resultados contradictorios con respecto a la inmunotolerancia ante inmunopotenciación con LPS (50,51). Swain y cols., (52), concluyen que larvas y alevines de carpa muestran resultados alentadores en cuanto a protección contra *E. tarda*, mientras que Evans y cols., demuestran que en alevines de tilapia el tamaño y la edad influían positivamente en la protección ante *Streptococcus agalactiae*, independientemente de la vía de inmunización (53).

Según Barandica (54), en su estudio de efectos de las dietas experimentales en la respuesta inmune de los peces, los inmunoestimulantes ensayados tienen diferentes efectos en las dos especies marinas, los resultados muestran que con las distintas dietas suplementadas, las doradas juveniles *Sparus aurata* responden con mayor sensibilidad a los parámetros inmunes (bateriolisis, Lisozima y complemento), con porcentajes más altos que glucanos en comparación a los de Manano-oligosacáridos (MOS), por el contrario la lubina *Dicentrarchus labrax* muestra una mayor sensibilidad a los porcentajes de Manano-oligosacáridos que a los glucanos.

Montero (55) en la lubina *Dicentrarchus labra*, observó un mejoramiento en el estatus inmune y resistencia al estrés en peces alimentados con la mezcla de glucano y Manano-oligosacaridos durante 60 días.

Torrencillas (56) estudios realizados en lubinas juveniles *Dicentrarchus labrax* alimentados con dietas con Manano-oligosacaridos presentaron un mayor crecimiento en general. Otras autores han visto en la trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss*, el gato de rio *Ictalurus punctatus* y en la tilapia hibrida *Morone saxatilis* efecto similares (57).

CAPITULO III
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Localización.

La investigación se llevó a cabo en el Campus “La María”, predios de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, que se encuentra localizada en el kilómetro 7^{1/2} de la vía Quevedo – El Empalme, recinto San Felipe, Cantón Mocache, provincia de Los Ríos. Su ubicación geográfica es 01°03'18'' de latitud Sur y 79°25'24'' de longitud Oeste, a una altura de 120 metros sobre el nivel del mar, **ver en Tabla 3.**

Tabla 3. *Características agrometeorológicas del Campus "La María".*

Parámetros	Promedio
Temperatura °C	26
Humedad relativa, %	87.71
Precipitación anual mm	2274.29
Heliofania, horas luz año	915.56
Zona ecológica	Bosque húmedo tropical (bh-T)
Topografía	irregular

Fuente: : INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGÍA E HIDROLOGÍA (2018) (58).

Elaborado: Autora

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, debido a que contribuye en la evaluación de los efectos del quitosano en dietas sobre la respuesta zootécnica y hematológica de alevines de tilapia roja.

3.3. Métodos de investigación.

3.3.1. Método inductivo.

El método que se ejecutó durante la investigación fue el método inductivo, debido a que mediante este se pudo observar y recopilar datos en las respuestas zootécnicas y hematológicas en el desarrollo de los alevines de tilapia roja, permitiendo llegar a conclusiones válidas.

3.3.2. Método analítico.

Se realizó un experimento, con análisis biométricos y cálculo de índices que permitió explicar el comportamiento productivo, y se analizó la respuesta inmunológica de los alevines de tilapia roja, al suministrarle quitosano en la dieta, los cuales fueron procesados estadísticamente.

3.4. Fuentes de recopilación de información.

La información recopilada para el proyecto de investigación fue obtenida de fuente primaria a través de la observación directa en el campo para medir los indicadores productivos y hematológicos en los alevines de tilapia roja, mientras que las fuentes secundarias se adquirieron de artículos científicos, libros, tesis de investigación, revistas, entre otros.

3.5. Diseño de la investigación.

Se aplicó un diseño completamente al azar (DCA), para tres tratamientos con tres repeticiones (tanques experimentales). Se empleó una densidad de 15 alevines/tanque, los cuales se colocaron en los 9 tanques, para un total de 135 peces.

Los tratamientos consistieron en dietas experimentales (tratamientos) con inclusión de quitosano al 0 %, 2% y 4 %, para alevines de tilapia. Las dosis se establecieron a partir de otros trabajos realizados por Zaki *et. al* (59) y Niu, *et. al* (60) . El ensayo duró 55 días. En la **tabla 4** se muestra el esquema de análisis de varianza.

Tabla 4. *Esquema de Análisis de Varianza.*

Fuente de variación	Fórmula	Grados de libertad
Tratamiento	t-1	2
Error experimental	t (r-1)	6
Total	t*r-1	8

Fuente: Experimentación en agricultura (61).

Elaborado: Autora

El modelo matemático:

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

Dónde:

Y_{ij} = Valor de la variable respuesta i “esimo” efecto de las observaciones

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 investigación.

3.6.1. Formulación, preparación y bromatología de dietas experimentales.

En la presente investigación las dietas se formularon utilizando software Linux. Dietas que se formularon y prepararon siguiendo los procedimientos sobre otras especies. Todos los ingredientes se tamizaron con una malla de 250 μ m, se pesaron con una balanza digital y cada dieta se preparó mezclando todos los macro ingredientes en una licuadora industrial hasta obtener una mezcla homogénea, los micro ingredientes y los aceites también se mezclaron individualmente antes de agregarlos a la mezcla de los macro ingredientes.

Durante este paso se añadió el 30% de su peso en agua. Ver en **tabla 5** los ingredientes de las dietas experimentales. La alimentación fue pasada por un molino de carne que produce gránulos de 2 mm para realizar los pellets. El producto obtenido se secó durante 8 horas a 45 °C en una estufa. Los gránulos secos se envasaron en bolsas de plástico herméticas y fueron almacenadas en refrigerador a -4 °C hasta cada uso.

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

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

El extracto libre de nitrógeno al ser una categoría del sistema Weende se obtuvo por diferencia; $ELN = 100 - (\text{ceniza} + \text{extracto etéreo} + \text{proteína} + \text{fibra})$ (62). La determinación de energía se obtuvo al comprimir una muestra para formar una pastilla fue colocada en una cápsula pequeña de cuarzo, la cápsula con la muestra se coloca en la bomba calorimétrica automática donde se produce la combustión, en este proceso se produce un cambio de temperatura convirtiendo la señal en Kcal/Kg, el calorímetro mide las cantidades de calor liberadas por el alimento (63). Ver en tabla 5 la composición bromatología de las dietas.

Tabla 5. Formulación y composición química *de las dietas*.

Ingredientes	Inclusión de quitosano (%)		
	0	2	4
Harina de pescado ²	46.50	46.50	46.50
Pasta de soya ⁴	28.00	28.00	28.00
Harina de trigo ¹	13.90	13.90	12.90
Harina de maíz ¹	4.00	2.00	1.00
Quitosano ⁵	0.00	2.00	4.00
Aceite vegetal ¹	1.00	1.00	1.00
Aceite de pescado ³	1.50	1.50	1.50
Alginato de sodio ⁶	2.00	2.00	2.00
Premezclas minerales ¹	1.00	1.00	1.00
Premezclas vitamínicas ¹	2.00	2.00	2.00
Vitamina C ¹	0.10	0.10	0.10
Composición proximal (% Materia Seca)			
Materia seca	94.68	94.02	93.80
Ceniza	8.20	10.10	12.01
Grasa	7.15	8.01	7.18
Proteína	32.07	32.47	32.22
Fibra	5.63	5.92	6.66
Energía (kJ/g)	18.38	18.22	17.57
E.L.N.N	46.95	43.50	41.93

¹ Supermaxi – Quevedo, ² Comercial “El Gordillo” - Santo Domingo de los Tsáchilas, ³ FORTIDEX S.A - Santa Elena, ⁴ Avícola Bullón -Valencia, ⁵ Sigma Aldrich - China, ⁶ Suministros AZ, La Paz, BCS, México.

Elaborado: Autora

3.6.2. Condiciones experimentales.

Los alevines de tilapia roja fueron obtenidos del Programa de Piscicultura de la Facultad de Ciencias Pecuarias en el Campus “La María”, los mismos fueron desparasitados con Stress Zyme, durante la semana de aclimatación en el laboratorio. Se emplearon tanques experimentales de plástico (operados en 90 L de agua), los cuales eran sifoneados todas las mañanas antes de alimentar para desechar las heces y alimentos sobrantes, el 40% de agua era reemplazado. Los alevines inicialmente fueron alimentados a una tasa del 5% de la biomasa día⁻¹ dividido en dos raciones de 60% a las 9:00 horas y 40% a las 17:00 horas.

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

3.6.3. Variables evaluadas.

3.6.3.1. Variables zootécnicas:

Los alevines se pesaron individualmente en una balanza digital y el total de la longitud se determinó con un pie de rey (Vernier) manual. La biometría se realizó cada 15 días. El registro del peso y crecimiento de los alevines se llevó a cabo mediante un libro de campo (bitácora) para elaborar la base de datos, procesarlos estadísticamente y expresarlos en los resultados. Todas las tendencias se obtuvieron a partir de la media de las tres réplicas. La ingesta de alimento se determinó evaluando la saciedad aparente. Los gránulos no consumidos fueron secados a 50 °C durante 18 horas en un horno de flujo de aire considerado como excedentes de alimento, las raciones diarias se ajustaron cada semana para minimizar la cantidad de comida sobrante. **Se aplicaron las siguientes formulas (64):**

(Ecuación 1)

$$\text{Incremento de peso (\%)} = 100 \times (W_x - W_i)$$

(Ecuación 2)

$$\text{Incremento de talla (\%)} = 100 \times (L_x - L_i)$$

(Ecuación 3)

$$\text{Ganancia de peso} = (W_x - W_i)$$

(Ecuación 4)

$$\text{Ganancia de talla} = (L_x - L_i)$$

(Ecuación 5)

$$\text{Tasa de crecimiento específico (TCE)} = \frac{[\ln W_x - \ln W_i]}{t} \times 100$$

(Ecuación 6)

$$\text{Tasa de supervivencia (SR, \%)} = (\text{número final de alevines} / \text{número inicial de alevines}) \times 100$$

(Ecuación 7)

$$\text{Factor de condición (CF, \%)} = 100 \times (W_x / L_x^3).$$

Dónde:

W_x es el peso corporal final (g), W_i es el peso corporal inicial (g), y t es la duración del experimento (días), L_x es el cuerpo final longitud (cm), L_i es la longitud inicial del cuerpo.

(Ecuación 8)

$$\text{Tasa de crecimiento absoluto} = \frac{(Y_2 - Y_1)}{t_2 - t_1} \times 100$$

Dónde:

Y_1 y Y_2 Peso o Talla al inicio y al final del experimento. t_1 y t_2 Tiempo al inicio y al final del experimento (65).

3.6.3.2. Variables nutricionales:

(Ecuación 9)

Tasa de conversión alimenticia (C.A) = alimento ingerido / Peso ganado

(Ecuación 10)

Eficiencia alimenticia (E.A.) = Peso ganado / alimento ingerido *100

3.6.3.3. Variables hematológicas.

Al final del experimento, los alevines restantes fueron anestesiados con solución relación 1:3 mL de eugenol: alcohol, en 10 litros de agua, durante 2 minutos. Para la obtención de las muestras de sangre se disectaron por el pedúnculo caudal con tijera quirúrgica y se emplearon tubos capilares para la recolección de las muestras de sangre procedente de la vena caudal hasta llenar 2 tubos capilares por repetición. Las muestras de sangre se conservaron en refrigeración a 4 °C por 24 horas. Para separar el plasma y poder determinar el contenido de glucosa, colesterol y triglicéridos se centrifugaron las muestras a 1200 R.P.M por 10 minutos, una vez obtenido el plasma se aplicaron reactivos de marca Human para cada una de las variables hematológicas, estas pruebas colorimétricas cambiaron de acuerdo a la variable, para colesterol y triglicéridos fueron pruebas con factor aclarante de lípidos y para glucosa fue a través del método de desproteinización. Las muestras fueron incubadas a una temperatura de 25 °C, en baño María, luego fue llevada al espectrofotómetro para determinar la longitud de onda por cada variable, estas longitudes fueron de 500 nm, para transformar las longitudes de onda emitidas por el espectrofotómetro se utilizaron las siguientes formulas:

(Ecuación 11)

Cálculo de la concentración de glucosa

$$C = 100 \times \frac{\Delta A \text{ muestra}}{\Delta A \text{ STD}} \text{ (mg/dl)}$$

(Ecuación 12)

Cálculo de la concentración de colesterol

$$C = 200 \times \frac{\Delta A \text{ muestra}}{\Delta A \text{ STD}} \text{ (mg/dl)}$$

(Ecuación 13)

Cálculo de la concentración de triglicéridos

$$C = 200 \times \frac{\Delta A \text{ muestra}}{\Delta A \text{ STD}} \text{ (mg/dl)}$$

3.7. Tratamiento de los datos.

El análisis estadístico de los resultados se presentó como medias \pm desviación estándar (SD). Se aplicaron las pruebas de Kolmogorov - Smirnov ($P < 0.05$) y Bartlett ($P < 0.05$) previamente al análisis de varianza (ANOVA), cuando se observó valores significativos de F, se utilizó la prueba de rangos múltiples de Fisher, en los supuestos donde no se cumplieron la homogeneidad y homocedasticidad de los datos se trataron por medio **Kruskal Wallis**. Para comparar las diferencias entre las medias, se empleó significancia para $P < 0.05$. Se aplicó el software InfoStat. Todos los datos porcentuales fueron transformados por medio de log, antes que los estadísticos. En la **Tabla 6** se muestra los tratamientos en estudio.

Tabla 6 *Tratamiento en estudio.*

Tratamientos	Dosis de quitosano
T1	Balanceado con 0 % de quitosano.
T2	Balanceado con 2 % de quitosano.
T3	Balanceado con 4 % de quitosano.

Elaborado: Autora.

3.8. Recursos humanos y materiales.

3.8.1. Talento humano.

- Director del proyecto de investigación Ing. Yuniel Méndez Martínez PhD.
- Autora del proyecto de investigación Pacheco Morales Ginger Karina.
- Laboratorista clínica Lcda. Wendy Hidalgo (Will -Mar).
- Laboratorista de bromatología Ing. Lourdes Ramos Mackliff.

3.8.2. Insumos.

- Harina de trigo
- Harina de pescado.
- Harina de maíz.
- Pasta de soya.
- Aceite de pescado.
- Aceite vegetal.
- Vitamina C.
- Premezcla mineral.
- Premezcla vitamínica.
- Alginato de sodio.
- Quitosano.
- Stress Zyme (desparasitante)

3.8.3. Reactivo.

- Eugenol.
- Alcohol.

3.8.4. Materiales de campo.

- Alevines de tilapia roja.
- Tamiz malla de 250 μm .

- Licuadora industrial.
- Molino de carne.
- Estufa.
- Bolsas plásticas.
- Balanza analítica.
- Recipientes de plástico.
- Pie de rey digital.
- Tanques de plásticos (100 L).
- Tubos PVC.
- Termómetro.
- Kit colorímetro.
- Medidor de oxígeno.
- Termostato.
- Pipeta.
- Guantes.
- Algodón.
- Tijera quirúrgica.
- Tubos capilares biocap.
- Gradillas.
- Plastilina.
- Hielera.
- Funda hidratada para preservar muestras biológicas.

3.8.5. Materiales de oficina.

- Lápiz.
- Calculadora.
- Computadora.
- Impresora.
- Cámara fotográfica.
- Hojas A4.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Parámetros zootécnicos.

En la tabla 7, se observa la media con la respectiva desviación estándar de los parámetros zootécnicos (peso, talla, ganancia de peso, ganancia de talla, incremento de peso, incremento de talla, factor de condición, tasa de crecimiento específico, tasa de crecimiento absoluto) después de 55 días de cultivo. De acuerdo con el análisis estadístico entre el T3 (4% de inclusión de quitosano) y T2 (2% de inclusión de quitosano) no hubo diferencias significativas, sin embargo, dichos tratamientos con respecto al T1 (0% de inclusión de quitosano) presenta estadísticamente diferencias obteniendo así el T1 los valores más bajos para las variables como el peso final, talla final, incremento de peso, ganancia de peso, cabe reiterar que numéricamente el tratamiento con los valores más altos en todas las variables fue el T3 (4% de inclusión de quitosano).

Los resultados expuestos coinciden con los reportados por Zaki *et al.* (59), quienes en su investigación con alevines de lubina (*Dicentrarchus labrax*), muestran que las medias del peso corporal final, ganancia de peso, los grupos de peces alimentados con quitosano en dieta mostraron significancia ($P \leq 0,05$) con valores más altos en comparación con grupos de peces alimentados con dieta de control (sin quitosano).

Lin *et al.* (66), en su estudio con alevines de carpa (*Cyprinus carpio*) reportan que durante el período experimental, peces alimentados con dietas suplementadas con oligosacáridos de quitosano ($0.2 \% \text{ mg kg dieta}^{-1}$) y *B. coagulans* ($0.1 \% \text{ mg kg dieta}^{-1}$) o en combinación, tendieron a tener un mejor rendimiento de crecimiento, peso final, tasa de crecimiento específico y factor de condición en comparación con el tratamiento control. Las variables de ganancia de talla, incremento de talla, tasa de crecimiento específico, tasa de crecimiento absoluto mostrados en este estudio no presentaron diferencias significativas entre tratamientos.

Así también, Kamali *et al.* (67), muestran en su estudio que los alevines de *Rutilus kutum*, que fueron alimentados con dietas que contenían quitosano a diferentes niveles (0, 0.25, 0.5, 1 y 2 g kg^{-1} de dieta) por un período de 60 días, quienes encontraron que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos para la variable en comento ($P > 0.05$).

Los resultados presentados de los parámetros productivos tales como peso, talla, incremento de peso, ganancia de peso en este estudio pueden deberse a las acciones estimulantes que se le otorga al biopolímero quitosano, Torrencillas *et al.* (56), revelan que la mejora de los parámetros de crecimiento puede estar relacionado con una mayor absorción de aminoácidos, por la mejora en la integridad funcional de la membrana de enterocitos en animales alimentados con nano oligosacáridos.

De la misma manera, Méndez-Martínez. *et al* (68), manifiestan que el empleo de bioestimulantes favorece una mejor digestión del organismo, se reduce la pérdida de nutriente (la proteína principalmente) por medio de la excreción y a su vez se genera mayores crecimientos.

Tabla 7. *Parámetros zootécnicos de alevines de tilapia roja con inclusión de quitosano en dieta.*

Parámetros productivos	Tratamientos			P > 0.05	F	CV	
	T1	T2	T3				
Peso (g)	Inicial	7.47 ± 2.19 ^a	7.53 ± 2.08 ^a	7.69 ± 2.44 ^a	0.89	0.12	29.66
	Final	12.66 ± 4.90 ^b	15.72 ± 7.06 ^a	18.08 ± 5.88 ^a	0.0002	9.20	38.84
Talla (cm)	Inicial	7.44 ± 0.83 ^a	7.46 ± 0.76 ^a	7.26 ± 1.12 ^a	0.54	0.62	12.42
	Final	9.05 ± 1.70 ^b	9.58 ± 2.40 ^{ab}	10.14 ± 1.13 ^a	0.02	4.03	18.98
Incremento de peso (%)		518.98 ± 77.27 ^b	818.84 ± 371.28 ^{ab}	1039.36 ± 174.18 ^a	0.09	3.53	30.41
Incremento de talla (%)		161.11 ± 39.14 ^a	211.87 ± 126.11 ^a	287.56 ± 12.90 ^a	0.36	1.21	9.60
Ganancia de peso (g)		5.19 ± 0.77 ^b	8.19 ± 3.71 ^{ab}	10.39 ± 1.74 ^a	0.09	3.53	30.41
Ganancia de talla (cm)		1.61 ± 0.39 ^a	2.12 ± 1.26 ^a	2.87 ± 0.13 ^a	0.20	2.07	34.74
FC (%)		1.71 ± 0.17 ^a	1.79 ± 0.26 ^a	1.73 ± 0.07 ^a	0.87	0.13	19.06
TCE (%)		108.57 ± 3.17 ^a	117.12 ± 11.32 ^a	123.97 ± 4.30 ^a	0.10	3.31	1.36
TCA (%)		9.44 ± 1.40 ^a	14.89 ± 6.75 ^a	18.90 ± 3.16 ^a	0.12	3.00	13.39

Letras iguales no difieren estadísticamente al nivel $P \geq 0.05$.

FC: Factor de condición, TCE: Tasa de crecimiento específico, TCA: Tasa de crecimiento absoluto, F: Fisher, CV: Coeficiente de variación.

Elaborado por: Autora

En el gráfico 1 se presenta el crecimiento en gramos en los alevines de tilapia roja durante el periodo de cultivo. En donde se muestra que el mayor crecimiento lo obtuvo el T3 (4% de inclusión de quitosano) con un promedio de 18.08 g a diferencia del tratamiento control con 12.66 g. Estos resultados fueron similares con Arul *et al.* (69) que en su estudio reportan que la suplementación dietética de quitosano, levamisol y quitina mejoró significativamente el crecimiento de todos los peces tratados ($P < 0.05$) en comparación con los peces alimentados con una dieta no suplementada.

El gráfico 2, T1, T2 y T3 se muestra el tipo de relación que se establece entre la talla (cm) y el peso (g) de los alevines de tilapia roja, se encontró una relación de tipo polinómica con un coeficiente de correlación de $R = 0.901$, $R = 0.948$ y $R = 0.947$ respectivamente. Al correlacionar estas dos variables, talla y peso se halló que el T2 y T3 poseen una estrecha relación entre dichas variables morfométricas, debido a que el valor de R es más cercano al 1, lo que indica un alto grado de relación. Los resultados presentados en este estudio son similares a los de Ibarra *et al.* (70), donde reportan que al relacionar estas variables se ajustan a un modelo de tipo potencial, con un coeficiente de correlación de $R = 0.988$.

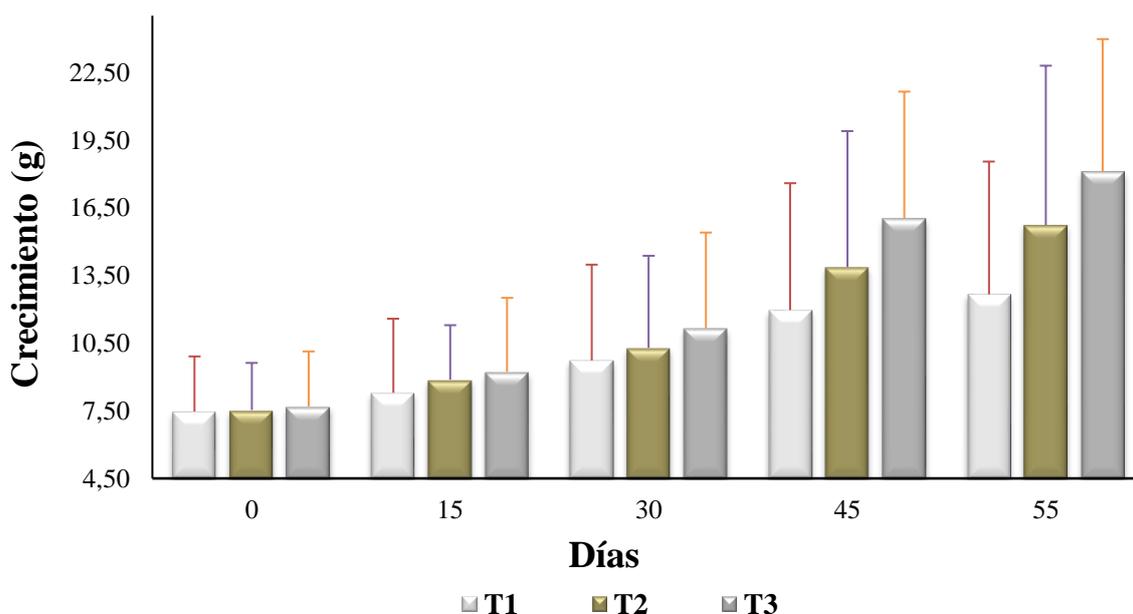


Gráfico 1. Crecimiento (g) de los alevines durante el tiempo de experimento con inclusión de quitosano en dieta.

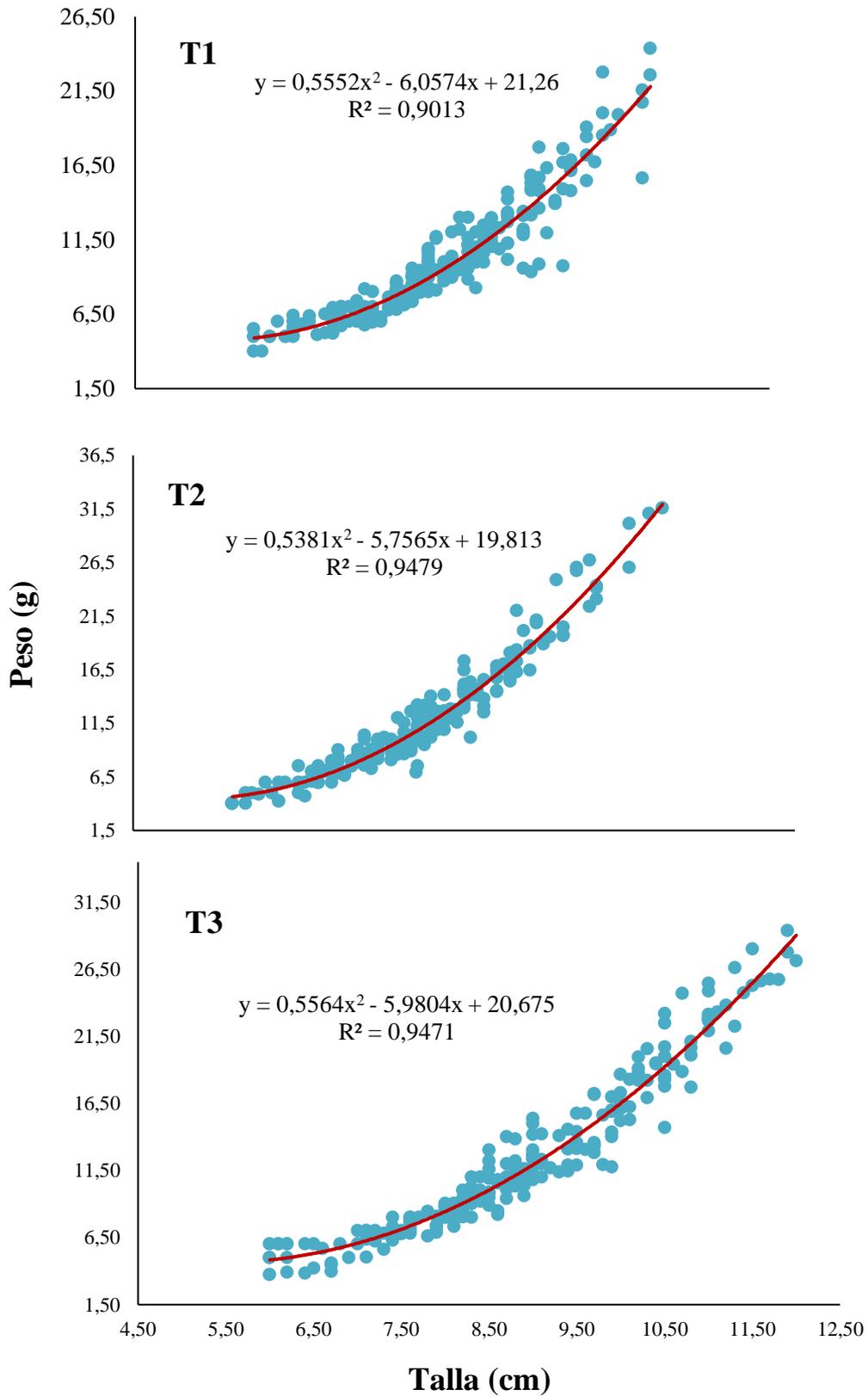


Gráfico 2. Comportamiento de la talla (cm) con respecto al peso (g) de los alevines de tilapia roja durante el tiempo de experimento.

En cuanto al índice de supervivencia no arrojó diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre tratamientos, sin embargo, durante el tiempo de experimento el T3 (4% inclusión de quitosano) presentó un índice de supervivencia del 100% a diferencia de los demás tratamientos. Los resultados expuestos en el gráfico 3, coinciden con los de Kim *et al.* (71) que en su estudio establecen que la mortalidad acumulada se encontró baja en peces alimentados con dietas enriquecidas con quitina y quitosano que los de tratamiento control.

Según Hurtado (72), en su estudio con juveniles de *Oncorhynchus mykiss*, esto puede deberse al aumento en la actividad fagocitaria y en la producción de citoquinas, estas últimas estimulan la formación de nuevos leucocitos, lo que hace aumentar la producción de anticuerpos. La investigación realizada por Lin *et al.* (66) en alevines de carpa (*Cyprinus carpio*), establecen que el quitosano tiene un efecto positivo en la respuesta inmune y en los resistencia a agentes patógenos.

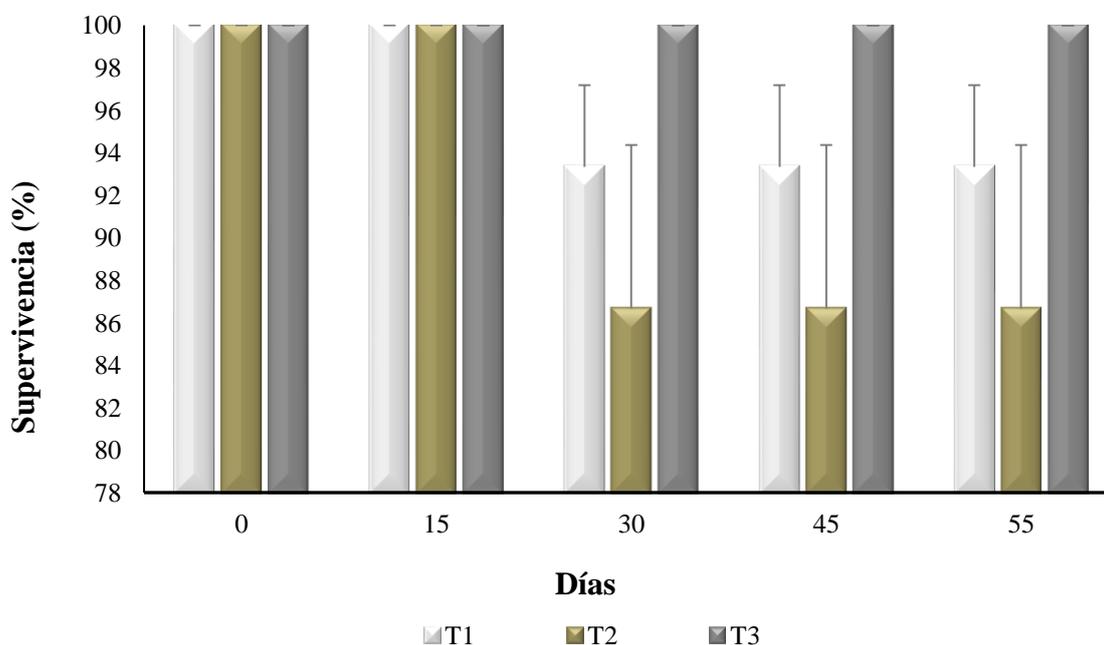


Gráfico 3. Índice de supervivencia (%) de los alevines durante el tiempo de experimento con inclusión de quitosano en dieta.

4.2. Parámetros nutricionales.

El efecto del quitosano como suplemento en dieta mostró que los parámetros nutricionales como la tasa de conversión alimenticia y la eficiencia alimenticia mostraron diferencias altamente significativas ($P < 0.05$), entre el T3 y T1, destacándose el T3 con la mejor conversión alimenticia con 0.40, a su vez la eficiencia alimenticia fue de 4.46, lo que se puede observar en la tabla 8.

Los resultados obtenidos en la investigación son similares de los resultados reportados por Kamali *et al.* (67) que en su estudio mostraron que la relación de conversión alimenticia disminuyó significativamente en la dieta con peces que contenía 1 g kg^{-1} de quitosano en comparación con los otros grupos (0, 0.25, 0.5, y 2 g kg^{-1} dieta) ($P < 0.05$), pero no hubo diferencias significativas entre los tratamientos. Por otro lado Zaki *et al.*, (59), muestran que el efecto de los tratamientos dietéticos sobre los peces que se alimentaban de la dieta 3 ($1 \text{ g} \cdot \text{kg dieta}^{-1}$ quitosano) mostró significativamente la relación de consumo de alimento más alta en comparación con los peces alimentados con la dieta 6 ($4 \text{ g} \cdot \text{kg dieta}^{-1}$ quitosano), también reportan que los grupos de peces alimentados con la dieta 3 y 4 (1 y $2 \text{ g} \cdot \text{kg dieta}^{-1}$ quitosano) tenía significativamente ($P \leq 0.05$) los mejores valores para tasa de conversión alimenticia. Los resultados más pobres se registraron con grupos de peces alimentados con la dieta 1 y 2 (0 & $0,5 \text{ g} \cdot \text{kg dieta}^{-1}$ quitosano). Se ha encontrado que los prebióticos como el quitosano contribuyen con el aumento de las microvellosidades del intestino, lo cual se correlaciona con la absorción de nutrientes lo que conduce a una mayor digestibilidad, mejorando el rendimiento y aprovechamiento del alimento (73).

Tabla 8. Parámetros nutricionales de alevines de tilapia roja.

Parámetros nutricionales	Tratamientos			P > 0.05	F	CV
	T1	T2	T3			
Tasa de conversión alimenticia	0.50 ± 0.04^b	0.45 ± 0.05^{ab}	0.40 ± 0.03^a	0.086	3.80	9.68
Eficiencia alimenticia	3.63 ± 0.29^b	3.99 ± 0.43^{ab}	4.46 ± 0.36^a	0.085	3.83	13.91

Elaborado por: Autora

4.3. Indicadores hematológicos.

De acuerdo con el análisis de los datos se muestra diferencias significativas ($P \leq 0.10$) entre tratamientos. El gráfico 4A, 4B y 4C representa los indicadores hematológicos evaluados, revelan que el T3 (4% de inclusión de quitosano) obtuvo los valores más bajos tanto para glucosa con un valor de 17.33 mg dL⁻¹, así como para colesterol con 65.00 mg dL⁻¹ diferenciándose estos resultados con respecto al T1 y T2, demostrando así que el quitosano tiene un efecto hipoglucémico e hipo colesterol tal como describen en su estudio Xu *et al.* (14), esto puede deberse a que el quitosano entre sus propiedades tiene la capacidad de unirse a las grasas en el tracto digestivo antes de que éstas entren en contacto con las enzimas digestivas y puedan ser absorbidas (42). En cuanto a la variable de triglicéridos el T3 y T1 no fueron estadísticamente diferentes con 43.33 mg dL⁻¹ y 38.33 mg dL⁻¹ respectivamente. Pero estos si con respecto al T2.

Los datos obtenidos en este estudio son similares a los de Chen *et al.* (74), en su estudio con juveniles de carpa de gibel (*Carassius auratus gibelio*), muestran en su investigación que el colesterol sérico y las lipoproteínas de baja densidad disminuyeron en 10 y 20 g . kg⁻¹ de quitosano.

En el presente estudio las concentraciones de glucosa, colesterol y triglicéridos en la sangre se vieron significativamente afectados por la inclusión de quitosano. Estos resultados podrían deberse a lo expuesto por Rosas *et al.*, (75), quienes declaran que la calidad de los alimentos afecta directamente la concentración de glucosa en la sangre.

La síntesis de triglicéridos y glucógeno en el organismo pueden metabolizar y transportarse a la sangre y ser empleados para producción de energía (ATP) y desarrollo del crecimiento en tejido muscular (76). Sin embargo, los niveles altos de lípidos en el organismo pueden interferir con el uso de otros nutrientes o inhibir absorción de aminoácidos, péptidos o inclusive ácidos grasos en el intestino. Con los resultados obtenidos en esta investigación se encontró que los peces tratados con quitosano en dieta con concentraciones hasta el 4% muestran buena respuesta metabólica con bajos niveles de glucosa, colesterol y triglicéridos.

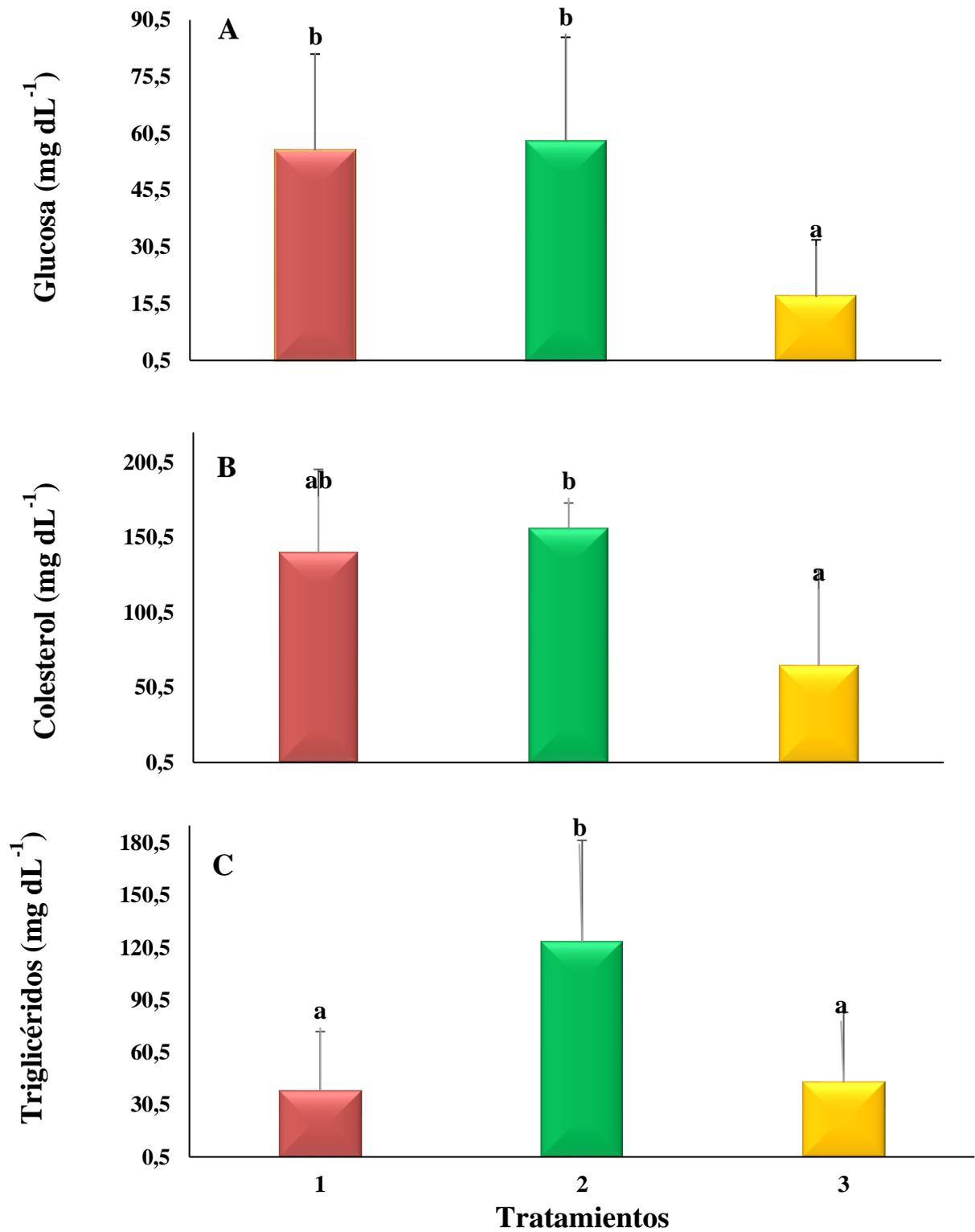


Gráfico 4. Contenido de glucosa, colesterol y triglicéridos en alevines de tilapia roja con inclusión de quitosano en dieta.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones.

De los resultados obtenidos, se establecen las siguientes conclusiones:

- La inclusión de quitosano en dietas de alevines de tilapia roja incidió de manera positiva en los parámetros zootécnicos estudiados, obteniendo diferencias estadísticas entre el T3 (4% de inclusión de quitosano) con respecto al T1 (0% de inclusión de quitosano), en donde el T3 obtuvo los mejores valores zootécnicos en las variables de peso final, talla final, incremento de peso, ganancia de peso. En cuanto al índice de supervivencia el T3 no se registraron mortalidades.
- Por otro lado, en los parámetros nutricionales como la tasa de conversión alimenticia y la eficiencia alimenticia estadísticamente hubo diferencias significativas entre el T3 y T1, obteniendo los mejores valores nutricionales el T3.
- El efecto del quitosano en dieta sobre las respuestas hematológicas provocó que los valores de las variables evaluadas tales como glucosa y colesterol disminuyeran de manera significativa con el T3 (4% de inclusión de quitosano) el contenido de glucosa tuvo una media de 17.33 mg/dL y colesterol con 65.00 mg/dL, en cuanto a la variable de triglicéridos no hubo diferencias estadísticas entre los tratamientos 1 y 3.

5.2. Recomendaciones.

En base a los resultados y conclusiones se recomienda:

- Dado que gran parte de las variables evaluadas de cada parámetro tuvieron una respuesta positiva con la inclusión de quitosano, se podría sugerir estudios enfocados en evaluar parámetros productivos bajo el efecto del quitosano en dietas en otras etapas de desarrollo de tilapia roja u otras especies.
- Evaluar el efecto del quitosano sobre los parámetros nutricionales y su efecto en las microvellosidades del intestino de tilapia roja.
- Evaluar la acción del quitosano en otras variables hematológicas, tales como; Plaquetas, leucocitos, linfocitos, monocitos, basófilos, entre otras.
- Realizar investigaciones con aplicación de diferentes niveles de inclusión de quitosano en tilapia roja, en condiciones de campo abierto bajo las condiciones ambientales diarias y hacer un análisis de rentabilidad.

CAPÍTULO VI

BIBLIOGRAFÍA.

6.1. Referencias bibliográficas.

1. FAO. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. 2018. 233 p.
2. SUSTAINAQUA. Manual de acuicultura sostenible. 2006;123.
3. Valarezo M. “Estudio De La Producción Y Comercialización De Tilapia Roja *Oreochromis sp.* PARA EL CONSUMO EN LA CIUDAD DE LOJA.” 2011;62.
4. Delfini A, Delfini ASAA, Guayaquil ASA, Guayaquil E. Cultivo de Tilapia en Estanques de Cultivo de Tilapia en Estanques de Tierra en Ecuador Tierra en Ecuador. 2016;
5. Lara-Flores M, Olvera-Novoa MA, Guzmán-Méndez BE, López-Madrid W. Use of the bacteria *Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*, and the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as growth promoters in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*. 2003;216(1–4):193–201.
6. Kumari J, Sahoo PK. Dietary levamisole modulates the immune response and disease resistance of Asian catfish *Clarias batrachus* (Linnaeus). *Aquac Res*. 2006;37(5):500–9.
7. Heo GJ, Kim JH, Jeon BG, Park KY RJ. Effects of FST-chitosan mixture on cultured rockfish (*Sebastes schlegeli*) and olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Korean J Vet Public Heal [Internet]*. 2001 Jan 1;25(3):141–9.
8. Sahoo PK. Role of immunostimulants in disease resistance of fish. Vol. 2, *Cab Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*. 2010.
9. Aly SM, Abd-allah O, Mahmoud A, Gafer H. Efficiency of Levamisole in Improving the Immune Response of Catfish (*Clarias gariepenus*) to *Aeromonas hydrophila* Vaccine : Clinico- Pathological Studies. 2012;1(1):8–17.
10. Li HY, Yan SM, Shi BL, Guo XY. Effect of chitosan on nitric oxide content and inducible nitric oxide synthase activity in serum and expression of inducible nitric oxide synthase mrna in small intestine of broiler chickens. *Asian-Australasian J Anim Sci*. 2009;22(7):1048–53.

11. Goiri I, Oregui LM, Garcia-Rodriguez A. Use of chitosans to modulate ruminal fermentation of a 50:50 forage-to-concentrate diet in sheep1. *J Anim Sci* [Internet]. 2010;88(2):749–55.
12. Liao F-H, Shieh M-J, Chang N-C, Chien Y-W. Chitosan supplementation lowers serum lipids and maintains normal calcium, magnesium, and iron status in hyperlipidemic patients. *Nutr Res*. 2007;27(3):146–51.
13. Pusateri AE, Holcomb JB, Kheirabadi BS, Alam HB, Wade CE, Ryan KL. Making sense of the preclinical literature on advanced hemostatic products. *J Trauma Acute Care Surg*. 2006;60(3):674–82.
14. Xu Y, Shi B, Yan S, Li T, Guo Y, Li J. Effects of chitosan on body weight gain, growth hormone and intestinal morphology in weaned pigs. *Asian-Australasian J Anim Sci*. 2013;26(10):1484–9.
15. Pérez R, Romeu B, Lastre M, Morales Y, Cabrera O, Reyes L, et al. Inmunopotenciadores para la acuicultura TT - Immunepotentiators for the Aquaculture. *Vaccimonitor* [Internet]. 2014;23(1):24–31. A
16. Guibal E, Milot C, Tobin JM. Metal-Anion Sorption by Chitosan Beads: Equilibrium and Kinetic Studies. *Ind Eng Chem Res* [Internet]. 1998 Apr 1;37(4):1454–63.
17. Fraccional PM. ANIMALES : UN ENFOQUE DE. 2016;(November).
18. Bocek A. Introduccion a los sistemas de produccion de alevines de oreochromis niloticus.
19. Verónica Mora S., Miguel Uyaguari D. Y VOC. (PDF) Situación Actual De Las Especies Introducidas En El Ecuador Con Fines Acuícolas. 2009;(March).
20. Rosero BU, Cadena MT, Gallardo CT, Larco CP. Fundamentos de hematología. 2017.
21. Baltazar PM. La Tilapia en el Perú: Acuicultura, mercado, y perspectivas. *Rev Peru Biol*. 2007;13(3):267–73.
22. Méndez-Martínez Y, Pérez-Tamames Y, Torres-Navarrete Y, Réyes-Pérez JJ. Estado del arte del cultivo de tilapia roja en la mayor de las antillas. *Biotecnia*. 2018;20(2):15–24.

23. ALEMAN SR. ENGORDA DE “TILAPIA.” UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO”; 2002.
24. Cuellar GA. Cultivo de Tilapia en Estanques y Jaulas Flotantes. Menorías del Curso, abril SEMARNAP, Tampico, Tamaulipas. 2000;
25. Pérez M, Ramos M. Crecimiento de las tilapias *Oreochromis niloticus* en cultivo monosexual y ambos sexos, en sistema de producción semi-intensivos. 2015;30–93.
26. POOT-DELGADO CA, NOVELO-SALAZAR RA, HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ MF. ABC, EN EL CULTIVO INTEGRAL DE LA TILAPIA. 2009;1:97.
27. ROSKO E. Aquatic. Raw Goods Invent. 2018;3–3.
28. Saavedra M. MANEJO DEL CULTIVO DE tilapiasalinas Coy, Y., Agudelo Córdoba, E., Instituto Amazónico de Investigaciones Científicas (Colombia), & Colombia. Ministerio del Medio Ambiente. (2000). Peces de importancia económica en la Cuenca Amazónica Colombiana. Ins. 2006;
29. Olvera-Novoa MA. Nutrición y alimentación de tilapia. Lab Nutr Acuícola, Cent Investig y Estud Av del IPN-CINVESTAV, Unidad Mérida AP. 2002;10–50.
30. Zendejas HJ. Manual para la alimentación y manejo del camarón. Purina México. 1996;
31. Armijo OA. Piscicultura. Foll para la Capacit Pesq Dir Gen Organ y Capacit Pesq UAM México DF. 1982;36–9.
32. Olabuenaga SE. Fish immune system. Gayana (Concepc). 2000;64(2):205–15.
33. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Propiedades generales de la respuesta inmunitaria. Inmunol Cel y Mol 4ta ed España mcgrawhill. 2000;3–16.
34. Ourth DD. Secretory igm, lysozyme and lymphocytes in the skin mucus of the channel catfish, *Ictalurus punctatus*. Dev Comp Immunol. 1980;4:65–74.
35. Manning MJ. Immune defence systems. Biol farmed fish. 1998;180–221.
36. Isabel S, Contreras E, California B. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada , Baja California Programa de Posgrado en Ciencias en

- Acuicultura. 2016;
37. Carbone D, Faggio C. Importance of prebiotics in aquaculture as immunostimulants. Effects on immune system of *Sparus aurata* and *Dicentrarchus labrax*. *Fish Shellfish Immunol.* 2016;54:172–8.
 38. Rodriguez F, Esteban M, Meseguer J, Bravo M, Gómez G, Rojas-Luna T, et al. Estrategias de Control de Enfermedades en Acuicultura. In: II congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura. II Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura: CIVA; 2003. P. 624–54.
 39. Maqsood S, Singh P, Samoon MH, Munir K. Emerging role of immunostimulants in combating the disease outbreak in aquaculture. *Int Aquactic Res.* 2011;3:147–63.
 40. Peniche C, Argüelles-Monal W. Chitosan based polyelectrolyte complexes. In: *Macromolecular Symposia.* Wiley Online Library; 2001. P. 103–16.
 41. Rinaudo M. Chitin and chitosan: properties and applications. *Prog Polym Sci.* 2006;31(7):603–32.
 42. Goycoolea F, Agulló E, Mato R. Fuentes y procesos de obtención. In: *Quitina y quitosano: Obtención, caracterización y aplicaciones.* Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima; 2004. P. 105–54.
 43. Velásquez CL. Algunas potencialidades de la quitina y el quitosano para usos relacionados con la agricultura en Latinoamérica. 2008;8(1):1–22.
 44. Berghoff CF. Desarrollo y caracterización de matrices compuestas quitosano/polímero sintético para regeneración de tejido óseo. 2011.
 45. Salvador UDEEL, Luis J, Lara V. Película biodegradable de quitosano a partir de la extracción de quitina de langostino (*Pleuroncodes planipes*) para la industria de alimentos . 2011;
 46. Velásquez CL. Quitina y quitosano : materiales del pasado para el presente y el futuro. *Av en Quim [Internet].* 2006;1:15–21.
 47. Piedrahita DG. Utilización de flavonoides en recubrimientos comestibles productos acuícolas. 2017;

48. Ramos EA, Relucio JL V, Torres-Villanueva CAT. Gene expression in tilapia following oral delivery of chitosan-encapsulated plasmid DNA incorporated into fish feeds. *Mar Biotechnol.* 2005;7(2):89–94.
49. Mulero I, García-Ayala A, Meseguer J, Mulero V. Maternal transfer of immunity and ontogeny of autologous immunocompetence of fish: a minireview. *Aquaculture.* 2007;268(1–4):244–50.
50. Dalmo RA, Seternes T, Arnesen SM, Joergensen TO, Bøggwald J. Tissue distribution and cellular uptake of *Aeromonas salmonicida* lipopolysaccharide (LPS) in some marine fish species. *J Fish Dis.* 1998;21(5):321–34.
51. Selvaraj V, Sampath K S V. Extraction and Characterization of Lipopolysaccharide from *Aeromonas hydrophila* and its Effects on Survival and Hematology of the Carp, *Cyprinus carpio* Extraction and Characterization of Lipopolysaccharide from *Aeromonas hydrophila* and Its Effects on Sur. 2017;(January 2004).
52. Swain P, Nayak SK, Sahu A, Mohapatra BC, Meher PK. Bath immunisation of spawn, fry and fingerlings of Indian major carps using a particulate bacterial antigen. *Fish Shellfish Immunol.* 2002;13(2):133–40.
53. Evans JJ, Klesius PH, Shoemaker CA. Efficacy of *Streptococcus agalactiae* (group B) vaccine in tilapia (*Oreochromis niloticus*) by intraperitoneal and bath immersion administration. *Vaccine.* 2004;22(27–28):3769–73.
54. Cañon LB. Efectos de las dietas experimentales en la respuesta inmune de los peces. 2010;
55. Montero D, Socorro J, Tort L, Caballero MJ, Robaina LE, Vergara JM, et al. Glomerulonephritis and immunosuppression associated with dietary essential fatty acid deficiency in gilthead sea bream, *Sparus aurata* L., juveniles. *J Fish Dis.* 2004;27(5):297–306.
56. Torrecillas S, Makol A, Caballero MJ, Montero D, Robaina L, Real F, et al. Immune stimulation and improved infection resistance in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides. *Fish Shellfish Immunol.* 2007;23(5):969–81.
57. Staykov Y, Spring P, Denev S, Sweetman J. Effect of a mannan oligosaccharide on

- the growth performance and immune status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquac Int.* 2007;15(2):153–61.
58. Plan Anual Terminado 2018 INAMHI - Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología. 2018;1–27.
 59. Zaki MA, Salem ME-S, Gaber MM, Nour AM. Effect of Chitosan Supplemented Diet on Survival, Growth, Feed Utilization, Body Composition & Histology of Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*). *World J Eng Technol.* 2015;03(04):38–47.
 60. Niu J, Liu Y, Lin H, Mai K, Yang H, Liang G, et al. Effects of dietary chitosan on growth, survival and stress tolerance of postlarval shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquac Nutr.* 2011;17(2):e406–12.
 61. Trapero-casas A, Escobar RF, J. Dominguez. *Experimentación en Agricultura.* 2015.
 62. Novoa M, Martínez C, Real de León E. *Manual de técnicas para laboratorio de nutrición de peces y crustáceos.*
 63. Goddard. S. *Feed Management in Intensive Aquaculture.* Chapman Hall, New York. 1996;194.
 64. Zhang L, Sun Z, Tan T, Hu S. Combination of Iris Recognition and Cryptography for Information Security. In: 2008 Chinese Conference on Pattern Recognition. 2008. P. 1–5.
 65. Salazar MBS, Ocampo DH. Guanajuato, Gto., México. 2002;12(2).
 66. Lin S, Mao S, Guan Y, Luo L, Luo L, Pan Y. Effects of dietary chitosan oligosaccharides and *Bacillus coagulans* on the growth, innate immunity and resistance of koi (*Cyprinus carpio koi*). *Aquaculture.* 2012;342:36–41.
 67. Najafabad MK, Imanpoor MR, Taghizadeh V, Alishahi A. Effect of dietary chitosan on growth performance, hematological parameters, intestinal histology and stress resistance of Caspian kutum (*Rutilus frisii kutum Kamenskii*, 1901) fingerlings. *Fish Physiol Biochem.* 2016;42(4):1063–71.
 68. Méndez-Martínez Y, Pérez-Tamames Y, Torres-Navarrete YG, Ramírez De La Ribera JL, Tamayo-Llanes EL, Cortes-Jacinto E. El efecto del Bacterol-SHRIMP

- sobre respuesta productiva en juveniles de camarón blanco, *Litopenaeus vannamei*. Rev Electron Vet. 2017;18(12).
69. Gopalakannan A, Arul V. Immunomodulatory effects of dietary intake of chitin, chitosan and levamisole on the immune system of *Cyprinus carpio* and control of *Aeromonas hydrophila* infection in ponds. *Aquaculture*. 2006;255(1–4):179–87.
 70. Trinidad J, Ibarra U, José J, Belmont F, Benítez A. Relaciones talla – peso en la mojarra *Oreochromis aureus*. :41–53.
 71. Ramasamy H, Ju-Sang K, Chellam B, Heo Moon-Soo. Dietary supplementation with chitin and chitosan on haematology and innate immune response in *Epinephelus bruneus* against *Philasterides dicentrarchi*. *Exp Parasitol*. 2012;131(1):116–24.
 72. Bonaldo A, Thompson K, Manfrin A, Adams A, Murano E, Mordenti AL, et al. The influence of dietary β -glucans on the adaptive and innate immune responses of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) vaccinated against vibriosis. *Ital J Anim Sci*. 2007;6(2):151–64.
 73. Zhou QC, Buentello JA, Gatlin DM. Effects of dietary prebiotics on growth performance, immune response and intestinal morphology of red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Aquaculture* [Internet]. 2010;309(1–4):253–7.
 74. Chen Y, Zhu X, Yang Y, Han D, Jin J, Xie S. Effect of dietary chitosan on growth performance, haematology, immune response, intestine morphology, intestine microbiota and disease resistance in gibel carp (*C arassius auratus gibelio*). *Aquac Nutr*. 2014;20(5):532–46.
 75. Rosas C, Cuzon G, Taboada G, Pascual C, Gaxiola G, Van Wormhoudt A. Effect of dietary protein and energy levels on growth, oxygen consumption, haemolymph and digestive gland carbohydrates, nitrogen excretion and osmotic pressure of *litopenaeus vannamei* (Boone) and *L. Setiferus* (Linne) juveniles (Crustacea, Decapoda; Penae. *Aquac Res*. 2001;32(7):531–47.
 76. Cui Y, Ma Q, Limbu SM, Du Z, Zhang N, Li E, et al. Effects of dietary protein to energy ratios on growth, body composition and digestive enzyme activities in Chinese mitten-handed crab, *Eriocheir sinensis*. *Aquac Res*. 2017;48(5):2243–52.

CAPÍTULO VII
ANEXOS

Anexo 1. Proceso de elaboración de dietas experimentales.



Molino de harinas.



Tamizado de harinas.



Análisis bromatológicos.



Ingredientes de la dieta.



Premezcla vitamínica.



Harina de pescado.



Harina de maíz.



Quitosano.



Pasta de soja.



Quitosano.



Mezcla de macroingredientes.



Pesado de harinas.



Homogenizar harinas.



Dietas pasado por molino de carne 2mm.



Realizado de pellets.



Pellets



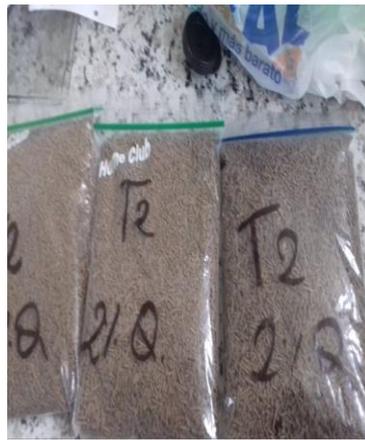
Pellets en estufa.



Pesado de dieta 60% de ración.



Pesado de dieta 40% de ración.



Pellets en fundas herméticas.



Refrigeración 4 °C.



Raciones diarias.

Anexo 2. Captura de los alevines, biometrías y parámetros físicos-químicos del agua.



Preparación de tanques.



Captura de alevines.



Pesaje de alevines, antes de trasladar.



Biometría inicial.



Biometría a los 15 días.



Biometría a los 30 días.



Biometría a los 45 días.



Biometría a los 55 días.



Ph de tanques.



Parámetros químicos del agua de tanques.



Anexo 3. Toma de muestras de sangre para análisis hematológicos.



Cortado de cola para recolectar las muestras de sangre



Toma de muestras de sangre mediante los capilares



Rotulación de las muestras.



Transporte de las muestras al laboratorio.



Espectofotómetro.



Gradilla.



Baño María.



Centrifuga.



Reactivos Human.



Procesamiento de sangre.

Anexo 4. Equipos utilizados para la investigación.



Kit colorimétrico.



Termostato.



Medidor de oxígeno disuelto.



Oxigenador de agua.



Piedra difusora.

Anexo 5. Análisis de varianza de las variables en estudio.

5.1. Peso día 0.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,17	2	0,59	0,12	0,8903
Tratamientos	1,17	2	0,59	0,12	0,8903
Error	664,04	132	5,03		
Total	665,21	134			

5.2. Talla día 0.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1,04	2	0,52	0,62	0,5404
Tratamientos	1,04	2	0,52	0,62	0,5404
Error	111,22	132	0,84		
Total	112,26	134			

5.3. Peso día 55.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	666,16	2	333,08	9,20	0,0002
Tratamientos	666,16	2	333,08	9,20	0,0002
Error	4776,64	132	36,19		
Total	5442,80	134			

5.4. Talla día 55.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	26,69	2	13,34	4,03	0,0201
Tratamientos	26,69	2	13,34	4,03	0,0201
Error	437,33	132	3,31		
Total	464,02	134			

5.5. Ganancia de peso.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
TRATAMIENTOS	2	40,93	20,467	3,53	0,097
Error	6	34,83	5,805		
Total	8	75,77			

5.6. Ganancia de talla.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
TRATAMIENTOS	2	2,429	1,2147	2,07	0,207
Error	6	3,520	0,5867		
Total	8	5,950			

5.7. Incremento de peso.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
TRATAMIENTOS	2	0,14	0,07	3,13	0,1175
Error	6	0,13	0,02		
Total	8	0,27			

5.8. Incremento de talla.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
TRATAMIENTOS	2	0,1155	0,05774	1,21	0,363
Error	6	0,2871	0,04785		
Total	8	0,4026			

5.9. Factor de condición.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
TRATAMIENTOS	2	0,000538	0,000269	0,13	0,877
Error	6	0,011995	0,001999		
Total	8	0,012534			

5.10. Supervivencia.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	6,0E-04	2	3,0E-04	0,60	0,5787
Tratamientos	6,0E-04	2	3,0E-04	0,60	0,5787
Error	3,0E-03	6	5,0E-04		
Total	3,6E-03	8			

5.11. Tasa de crecimiento específico.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
TRATAMIENTOS	2	0,004989	0,002494	3,31	0,107
Error	6	0,004517	0,000753		
Total	8	0,009506			

5.12. Tasa de crecimiento absoluto.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	135,27	2	67,64	3,53	0,0972
TRATAMIENTOS	135,27	2	67,64	3,53	0,0972
Error	115,10	6	19,18		
Total	250,37	8			

5.13. Conversión alimenticia.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
TRATAMIENTOS	2	0,01308	0,006542	3,80	0,086
Error	6	0,01033	0,001721		
Total	8	0,02341			

5.14. Eficiencia alimentaria.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
TRATAMIENTOS	2	0,011975	0,005987	3,83	0,085
Error	6	0,009389	0,001565		
Total	8	0,021363			

5.15. Glucosa.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3181,56	2	1590,78	2,91	0,1306
Tratamientos	3181,56	2	1590,78	2,91	0,1306
Error	3277,33	6	546,22		
Total	6458,89	8			

5.16. Colesterol.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	14384,22	2	7192,11	2,91	0,1310
Tratamientos	14384,22	2	7192,11	2,91	0,1310
Error	14841,33	6	2473,56		
Total	29225,56	8			

5.17. Triglicéridos.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	13760,22	2	6880,11	3,35	0,1055
Tratamientos	13760,22	2	6880,11	3,35	0,1055
Error	12328,00	6	2054,67		
Total	26088,22	8			