



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**  
**CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIÓN**  
**PARA EL DESAROLLO INTEGRAL REGIONAL**  
**CIIDIR - MICHOACÁN**



“Respuesta fisiológica y metabólica de *Oreochromis niloticus* expuestas a dietas con niveles crecientes de chaya (*Cnidoscolus ssp*)”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRIA EN CIENCIAS EN:

PRODUCCIÓN AGRÍCOLA SUSTENTABLE

P R E S E N T A:

IBQ Marco Antonio Chávez Tinoco

Director de Tesis: M.C. Carlos Escalera Gallardo.

Dr. Claudia Lydia Treviño Santacruz

Jiquilpan, Michoacán.

Junio, 2018



SIP-14-BIS

**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**  
**SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**  
*ACTA DE REVISIÓN DE TESIS*

En la Ciudad de Jiquilpan, Michoacán siendo las 12:00 horas del día 8 del mes de Noviembre del 2018 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CIIDIR Unidad Michoacán para examinar la tesis titulada:

Respuesta fisiológica y metabólica de *Oreochromis niloticus* expuesta a dietas con niveles crecientes de chaya (*Cnidoscolus Ssp.*)

Presentada por el alumno:

Chávez	Tinoco	Marco Antonio
Apellido paterno	Apellido materno	Nombre

Con registro: 

B	1	6	1	2	6	3
---	---	---	---	---	---	---

aspirante de:

**Maestría en Ciencias en Producción Agrícola Sustentable**

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

**LA COMISIÓN REVISORA**  
**Directores de tesis**

  
M. en C. Carlos Escalera Gallardo

  
Dra. Claudia Lydia Treviño Santacruz

  
Dr. Rodrigo Moncayo Estrada

  
Dr. José Teodoro Silva García

  
Dr. José Luis Montañez Soto

  
Dra. Hortencia Gabriela Mena Violante.  
PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES.





**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**  
**SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

**CARTA CESION DE DERECHOS**

En la Ciudad de Jiquilpan de Juárez, Michoacán el día 04 del mes Septiembre del año 2018, el que suscribe Marco Antonio Chávez Tinoco alumno (a) del Programa de **Maestría en Ciencias en Producción Agrícola Sustentable** con número de registro B161263, adscrito a **C.I.I.D.I.R. I.P.N. Unidad Michoacán**, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del M en C. Carlos Escalera Gallardo y la Dra. Claudia Lydia Treviño Santacruz y cede los derechos del trabajo intitulado "Respuesta fisiológica y metabólica de Oreochromis niloticus expuesta a dietas con niveles crecientes de chaya (Cnidoscolus ssp)", al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a las siguientes direcciones: [chavezmac3@gmail.com](mailto:chavezmac3@gmail.com), [cescalera@ipn.mx](mailto:cescalera@ipn.mx) y [ctrevino@ibt.unam.mx](mailto:ctrevino@ibt.unam.mx). Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.



IBQ Marco Antonio Chávez Tinoco

I've had successes and setbacks and sometimes painful ones. Many of you are at the beginning of your professional, public, and political careers — you will have successes and setbacks too.

This loss hurts, but please never stop believing that fighting for what's right is worth it.

It is, it is worth it.

*Hillary Rodham Clinton*

"¡Mira", puedo decirme ahora, "hay algún lugar donde he conseguido hacerme comprender!"

Y si ese fuera el caso, nada me haría más feliz.

*Philip Roth*

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer primeramente al Consejo Nacional de Ciencia Y Tecnología CONACYT por haber apoyado mi estancia en la maestría dentro de la institución a la que debo agradecer en segundo lugar; al Instituto Politécnico Nacional, la cual siempre me permitió crecer en todos los sentidos y representar a mi centro en el consejo general consultivo, así mismo a la granja de peces AQUAMOL por los peces donados en la realización de este trabajo.

Mi más sincero agradecimiento a mi asesor; el Maestro Carlos Escalera Gallardo por haberle abierto las puertas a un estudiante del tecnológico que quería aprender sobre la ecología acuática. Por su confianza en que terminaríamos con un trabajo robusto la maestría y sobre todo por ser un modelo de vida, una persona que me ha inspirado en todos los sentidos y que durante más de dos años fue una figura paterna. Gracias de todo corazón.

Al igual que a mi directora externa siempre atenta a mi desarrollo académico y sobre todo una profesional inalcanzable que sigue siendo parte fundamental de mi formación Doctora Claudia Lydia Treviño Santacruz.

Al mismo tiempo a todos los miembros de mi comité tutorial, por su monitoreo constante de mi avance y amistad, sobre todo al Doctor Rodrigo Moncayo Estrada por su apertura a escuchar dudas y resolverlas.

A mis compañeros de laboratorio, por su incondicional apoyo, Paulina, Memo, Rosendo, por enseñarme cosas nuevas todo el tiempo. A los que apoyaron en este trabajo desde la recolección hasta el establecimiento del bioensayo, así como en perseguir el objetivo sin descanso, Lupita, Jonathan, Ángeles, Fernando, Memo, Salutina, Sabino y por su puesto y con especial cariño al señor Antonio Gómez.

Agradezco a mis amigos y compañeros de esta etapa, por ser mi roca y hacerme seguir exigiéndome, a Paula, Irving, Javier, Ricardo, Adrián, Ramón, Héctor, Areli y en sí a todos los que me acompañaron con su amistad y largas conversaciones.

Agradezco particularmente a los doctores Arturo Ramírez Cruz y a Monserrat Vásquez Sánchez por estar incondicionalmente en la etapa histológica del trabajo. A la Doctora Montse sobre todo por ser siempre un modelo de conducta y trabajo, por inspirarme a seguir a delante y por sus palabras de apoyo, gracias.

Y sobre todos los demás quiero agradecer a las personas que me permitieron seguir soñando con alcanzar mis metas a mi mamá Mónica Tinoco Ruíz, a mi hermana Belén Chávez, por estar junto a mí siempre exigiéndome y aplaudiéndome cuando era necesario, las amo.

A mi segunda familia de la biblioteca pública, por estar siempre cerca y presentes aplaudiendo y animándome a seguir creciendo. Al igual que vecinos, amigos y familiares que fueron apoyo directa e indirectamente.

Y a las personas que durante esta etapa me impartieron clases no solamente en la maestría sino en la vida, los docentes de las diferentes materias, los administrativos del centro y de dirección general, al profesor Jesús Álvarez Santillán del ITJ y mis compañeros del círculo de lectura de la UAER UNAM.

Gracias a las personas que conocí en Brasil, por enseñarme parte de una cultura fascinante, especialmente a la increíble Doctora Renata Guimaraes Moreira por ser un ejemplo de amabilidad sin precedentes.

Por último, quiero reiterar que siempre estaré en deuda con la fuerza universal que sin saber muy bien porqué ha sido increíblemente buena conmigo.

## **Dedicatoria**

A las personas que me han inspirado, amado y acompañado, desde las físicas hasta las que desde los libros nunca me dejaron solo.

A mi familia, a mi mamá y a mi hermana con todo el amor.

A los grandes amigos que no se van, sino que permanecen en el corazón.

## Tabla de contenido

Índice de figuras .....	ix
Índice de tablas .....	xi
Resumen .....	xii
Abstract .....	xiv
Introducción.....	1
Justificación.....	4
Hipótesis.....	5
Objetivos. ....	6
Objetivo general.....	6
Objetivos específicos.....	6
Marco teórico.....	7
La acuicultura crecimiento y perspectivas. ....	7
La tilapia como especie de interés global. ....	8
Los requerimientos proteicos de la tilapia y su inclusión en las dietas .....	9
Formulación de dietas acuícolas. ....	10
Materias primas usadas en la industria acuícola. ....	10
Alternativas alimenticias .....	11
Chaya generalidades.....	12
Los potenciales usos de la chaya .....	13
Control de calidad del agua en el cultivo de peces.....	13
Materiales y métodos .....	14
Formulación y evaluación de alimentos.....	14
Obtención de harinas problema .....	14
Análisis proximales .....	15
Formulación de las dietas .....	15
Elaboración de los alimentos. ....	16
Evaluación de propiedades físicas y funcionales de los alimentos. ....	16
Bioensayo de crecimiento.....	19
Establecimiento de un bioterio de peces.....	19
Establecimiento del bioensayo.....	19
Determinación de parámetros biológicos .....	20
Índices somáticos.....	21



Factor de condición y correlación de crecimiento .....	22
Determinación del nivel óptimo de sustitución de harina de chaya .....	22
Histología de órganos internos .....	22
Digestibilidad de alimentos .....	24
Determinación de la digestibilidad in vitro de las proteínas.....	24
Determinación de la digestibilidad “in vivo” .....	25
Eficiencia metabólica .....	27
Resultados y discusión.....	28
La inclusión de harina de chaya no afectó la estabilidad de los alimentos. ....	28
La dieta del 20% fue la más exitosa dentro de las experimentales. ....	36
Bioterio de crecimiento.....	36
Establecimiento del bioensayo.....	39
Parámetros biológicos.....	40
Tasa de crecimiento específico.....	44
Ganancia en peso .....	45
Conversión alimenticia .....	45
Peso final .....	46
Alimento suministrado total .....	47
Tasa de crecimiento diario .....	48
Tasa de ganancia en peso .....	48
Se determinó el nivel óptimo de sustitución de manera matemática .....	48
Los índices somáticos señalan un desequilibrio energético. ....	50
Índice gonadosomático .....	51
Índice hepatosomático .....	52
Índice intestinosomático .....	52
Índice viscerosomático .....	53
Medición de glucosa .....	54
Factor de condición y tipo de crecimiento.....	54
Monitoreo de parámetros de calidad del agua .....	58
Histología y fisiología interna.....	75
Conclusiones.....	83
Bibliografía .....	84

## Índice de figuras.

figura 1- Gráfica de pérdida de peso obtenida de la cinética de secado de hojas de chaya.....	28
Figura 2-Composición porcentual de harina de chaya de forma tabular y gráfica, % de composición base seca. ....	30
Figura 3- Composición porcentual de harina de H. plecostomus de forma gráfica y tabular en base seca, se observa que la fibra es prácticamente inexistente.....	32
Figura 4-variación de temperatura durante el periodo de crecimiento. ....	37
Figura 5-Comportamiento de Parámetros fluctuantes en los sistemas acuícolas. ....	38
Figura 6-Biomasa promedio de tratamientos al inicio del bioensayo.....	39
Figura 7-Biomasa promedio entre tratamientos .....	40
Figura 8-Biomasa de tratamientos semana 6.....	40
Figura 9-Tendencia de ganancia en peso por tratamiento 6 semanas.....	41
Figura 10-Ganancia en biomasa por semanas, S-0 semana inicial, S-3;semana tres, S-6;semana seis, S-9; semana nueve, S-12; semana 12, S-14; semana 14 y la ganancia de biomasa. ....	42
Figura 11-Ganancia Biomasa promedio por semana, S-0 semana inicial, S-3;semana tres, S-6;semana seis, S-9; semana nueve, S-12; semana 12, S-14; semana 14 y la ganancia de biomasa. ....	43
Figura 12- Logaritmo interpolante entre tasa de crecimiento específico, ganancia en peso y sustitución de chaya, en el eje de las x se muestra la sustitución de chaya en las dietas, contra el eje de la y la biomasa promedio, SGR, tasa de peso específico, WG, ganancia en peso. ....	49
Figura 13- Tendencias de estadio maduración gonádica por tratamiento .....	51
Figura 14-Comportamiento de la glucosa durante el bioensayo, GS6; glucosa a la semana 6, GS9; glucosa en semana 9, GS12; glucosa semana 12, GS15; glucosa semana 15.....	54
Figura 15- Relación logarítmica entre peso y talla, de cada una de las dietas.....	56
Figura 16- Factor de condición promedio entre dietas semana 3, se muestran los niveles de sustitución de chaya en la dieta, 20, 30, 40, 50 y 0% de inclusión en el eje de las x, contra el valor del factor de condición. ....	57
Figura 17-Factor de condición promedio entre tratamientos semana 6, en el eje de las x se muestra el porcentaje de harina de chaya incluida en las dietas, 20, 30, 40, 50 y 0%. ....	57
Figura 18- Variación del oxígeno en los sistemas en los dos primeros periodos de muestreo, se esquematizan los días de muestreo y el % de saturación de oxígeno disuelto. ....	59
Figura 19-Variación de nitratos en los primeros dos periodos de muestreo, en el eje de las X se muestran los días de muestreo contra la concentración en partes por millón de los nitratos.....	60
Figura 20- Variación de los sólidos totales disueltos en los sistemas teniendo los días de muestreo contra la concentración en partes por millón. ....	61

Figura 21-Variación de amonio entre tratamientos, se muestra la frecuencia de muestreo contra la concentración del amonio en partes por millón.....	62
Figura 22-Variación del amoniaco en el agua de los sistemas productivos, en un periodo de muestreo de 22 días, la concentración se muestra en partes por millón. ....	63
Figura 23-Variación de nitratos entre tratamientos en sistemas acuícolas, se presentan los 22 días de muestreo contra la concentración en partes por millón .	64
Figura 24-Variación de temperatura entre tratamientos por días de periodo de muestreo, la temperatura se presenta en grados centígrados. ....	65
Figura 25-Variación de sólidos totales disueltos en los tratamientos, se presentan los días de muestreo contra la concentración de sólidos en partes por millón.....	66
Figura 26-Variación de conductividad eléctrica en el agua de los tratamientos en los 22 días de periodo de muestreo, las unidades de la conductividad eléctrica se presentan en micro siemens. ....	67
Figura 27-Variación de pH y salinidad entre tratamientos en los días que abarcan un periodo de muestreo, 22 días, la salinidad se presenta en partes por millón (ppm) y el pH en valores estándar.....	68
Figura 28-Comportamiento de variación de cloruros entre tratamientos, se muestran los días de muestreo y la concentración de cloruros en partes por millón. ....	69
Figura 29-Regresión lineal entre ganancia en biomasa y parámetros ambientales: control, temperatura, biomasa, nitratos y sólidos. ....	70
Figura 30-Regresión lineal de ganancia en biomasa, sólidos totales disueltos y dietas experimentales al 20, 30, 40 y 50% de inclusión de harina de chaya, la tendencia refleja una relación recíproca entre parámetros ambientales y ganancia en peso. ....	71
Figura 31-Relación lineal entre ganancia en biomasa y amonio en dietas experimentales, de izquierda a derecha, 20, 30, 40 y 50% de inclusión de harina de chaya en la dieta, se representa la relación reciproca de la ganancia en peso y el parámetro ambiental. ....	72
Figura 32- Relación lineal entre ganancia en biomasa y nitratos entre dietas experimentales, de izquierda a derecha, 20, 30, 40 y 50% de inclusión de harina de chaya en la dieta, se representa la relación reciproca de la ganancia en peso y el parámetro ambiental de nitratos.....	73
Figura 33-Relación entre crecimiento y avance del crecimiento por Bray-Curtis, se relacionan los días de tratamiento en un periodo de muestreo, en relación con la ganancia en peso diaria y los parámetros ambientales.....	74
Figura 34-Representación de la apariencia física de los órganos internos de los organismos A) Hígado del tratamiento control B) Intestino del tratamiento 20% de chaya.....	75
Figura 35- Intestino corte transversal, dietas experimentales a (20%), b (30%), c (40%), d (50%) y e (Control), círculos y flechas señalan presunta vacuolización .	77
Figura 36-Fotografías (10x) de la tinción H&E del hígado de los tratamientos, a(20%), b(30%), c (40%), d (50%), e (Control), se observa una tinción óptima de los organismos, los círculos señalan zonas de agregación de hematocitos y las flechas células anómalas.....	78

Figura 37-Consumo de oxígeno y excreción de nitrógeno total por cada uno de los tratamientos, se esquematizan los periodos de muestreo contra la concentración de la excreción de nitrógeno y de oxígeno. ....	80
Figura 38-Actividad metabólica de los peces entre tratamiento, se observa el porcentaje de inclusión de chaya en las dietas (eje X), 0, 20, 30, 40 y 50%, así como la actividad metabólica en porcentaje (eje Y). ....	81

## Índice de tablas

Tabla 1-Tabla de técnicas histológicas según FEIST, 2009 con modificaciones. .	22
Tabla 2- Composición de harina de chaya en %/100 g .....	30
Tabla 3-Composición de harina de H plecostomus en g/100g .....	31
Tabla 4- Composición y formulación de las dietas experimentales. ....	33
Tabla 5-Propiedades físicas de los alimentos con su desviación de estándar, P/g; pellets por gramo, D; diámetro del alimento, L; longitud del alimento, %F; porcentaje de finos, Th; tiempo de hundimiento. ....	34
Tabla 6- Propiedades funcionales de las dietas experimentales, IS; índice de solubilidad, IAA; índice de absorción de agua, FH; factor de hinchamiento, %PMS; porcentaje de materia seca. ....	35
Tabla 7-Indices biológicos, Harina de chaya en el alimento (CM), Tasa de crecimiento específico (SGR), peso final (FW), Ganancia en peso (WG), Alimento suministrado total (TFI), Tasa de crecimiento diario (DGR), Tasa de ganancia en peso (WGR), Tasa de conversión alimenticia (FCR).....	44
Tabla 8- Valores de los índices somáticos y desviación estándar de acuerdo a las dietas, Índice gonadosomático (IGS), Índice intestinosomático (ISI), Índice hepatosomático (IHS), Índice Viscerosomático (IVS).....	50
Tabla 9- Factor de condición y correlación de crecimiento, última semana. ....	58
Tabla 10-Digestibilidad in vitro de las dietas, se muestra el porcentaje de harina de chaya (CM) y la digestibilidad.....	82
Tabla 11-Digestibilidad in vivo de las dietas, se muestra el porcentaje de harina de chaya (CM) y la digestibilidad.....	82

## Resumen

La acuicultura es la industria de crianza de animales de mayor proyección a nivel global, esto se demuestra por su exponencial crecimiento desde la década del setenta. Sin embargo, tiene un reto en un recurso limitante, la harina de pescado, ingrediente proteico por excelencia de los alimentos acuícolas, y que hoy enfrenta precios al alza. Ante esta problemática el uso de proteínas vegetales proveniente de plantas nativas se ha establecido como una de las grandes alternativas para desarrollar alimentos sanos a precios bajos. Entre las plantas nativas con potencial de uso como suplemento alimenticio acuícola, la chaya es uno de los insumos con mayores prospectivas a futuro, por lo que el objetivo del proyecto es: Evaluar las modificaciones metabólicas, fisiológicas y anatómicas de la tilapia alimentada con dietas isoproteicas a diferentes porcentajes basadas en harina de chaya y los efectos sobre la calidad del agua.

Para este fin primeramente se formularon, elaboraron y caracterizaron 4 dietas experimentales con niveles crecientes de inclusión de harina de chaya (20, 30, 40, 50) tras esto se aclimataron alevines en un bioterio de crecimiento previo a la división de los individuos en 4 tratamientos, con un control basado en una dieta comercial, por veinte días no hubo recambio de agua y se mantuvieron monitoreados los parámetros de calidad del agua, los cuales son fundamentales para la salud del pez, tras este periodo de días se realizaba un registro de los parámetros biológicos de la tilapia, longitud, peso y concentración de glucosa en sangre, al concluir el ensayo seis individuos por tratamiento fueron sacrificados para

posteriormente realizar cortes histológicos de órganos internos, como intestino e hígado. Como parte final se llevaron a cabo análisis estadísticos interrelacionando los parámetros ambientales, el crecimiento entre tratamientos y la integridad fisiológica.

## Abstract

Aquaculture is the animal husbandry industry of greater projection globally, this is demonstrated by its exponential growth since the seventies. However, it faces a challenge in a limiting resource, fishmeal, protein ingredient par excellence of aquafeeds, and that today faces rising prices. Faced with this problem, the use of vegetable proteins from native plants is established as one of the great alternatives for developing healthy foods at low prices. Among the native plants with potential for use as aquaculture food supplement the chaya is one of the inputs with greater future prospects, so the objective of the project is: Evaluate the metabolic, physiological and anatomical changes of tilapia fed with isoproteic diets. different percentages based on chaya flour and the effects on water quality. For this purpose, four experimental diets were initially elaborated and characterized with increasing levels of inclusion of chaya meal (20, 30, 40, 50). After this, juveniles were acclimatized in a growth habitat prior to the division of the individuals into 5 treatments. , with a control based on a commercial diet, for a period of twenty days there was no water exchange and the parameters of water quality were kept, which are fundamental for the health of the fish, after this period of days a registration was made of the biological parameters of tilapia, length, weight and concentration of glucose in blood, two individuals per treatment will be sacrificed to later perform histological sections of internal organs, such as intestine, gills, liver. As a final part, statistical analyzes will be carried out interrelating environmental parameters, growth between treatments and physiological integrity.





## Introducción

La acuicultura es una de las bases de la alimentación mundial, es además una de las industrias con mayor proyección de crecimiento, su importancia dentro de los países del tercer mundo es tan elevada que pocos se atreven a cuestionar que su éxito repercutirá en la dieta de la población en las siguientes décadas (FAO, 2016). Sin embargo, los costos crecientes de la acuicultura amenazan su crecimiento, sobre todo en especies dulceacuícolas, este aumento de los costos es efecto directo del precio de los alimentos acuícola, debido en gran parte por la baja disponibilidad de la harina de pescado como respuesta directa a la decreciente producción de la pesca de alta de captura (FAO, 2016) lo que se ha reflejado en las nuevas tendencias de desarrollo e innovación en la acuicultura.

Por ello, la investigación científica e innovación acuícola se ha expandido de una manera vertiginosa, en la actualidad uno de sus objetivos prioritarios se centra en las interrelaciones de la nutrición, la salud fisiológica y metabólica de los organismos (Pohlenz & Gatlin Iii, 2014), precisamente en ese tenor se insertan muchas de las investigaciones que se han desarrollado en la mayor parte de los centros de investigación acuícola del país y del mundo (Naylor et al., 2009).

Así, por ejemplo en el CIIDIR-IPN Michoacán el grupo de investigación de Escalera-Gallardo y Moncayo-Estrada han buscado diversificar la opción de formulación de dietas acuícolas incluyendo harina de lombriz (Escalera-Gallardo C., 2010) o de *Plecostomus* (Arroyo Damián, 2013) todas ellas con resultados que justifican su inclusión en el ambiente productivo.

La mayor parte de las investigaciones de nuevas alternativas proteicas se centran en el aprovechamiento de las proteínas de origen vegetal, pese a que estas han repercutido en el éxito acuícola, sobre todo por sus efectos en la estabilidad de los alimentos y por consiguiente en la calidad del agua, que afecta a la integridad

fisiológica de los peces teniendo en cuenta su naturaleza poiquiloterma (Borgeson, Racz, Wilkie, White, & Drew, 2006; E. M. Cabral et al., 2011).

En este orden de ideas las investigaciones dirigidas en la mayoría de los centros de investigación acuícola han vuelto a ver a las plantas nativas de cada una de las regiones del planeta para su integral aprovechamiento en la industria azul, así Abdel-Tawab y Chen han utilizado desde las semillas de alcaravea hasta el ginseng como suplementos alimenticios, todos ellos con resultados positivos a nivel laboratorio (Abdel-Tawwab, Ahmad, Khattab, & Shalaby, 2010; Chen et al., 2016). No obstante, la mayor parte de estas investigaciones se han centrado sólo en los efectos biológicos más evidentes; como es el caso de la tasa de crecimiento o la tasa reproductiva, más eso ya no es suficiente pues en su aplicación productiva existe una auténtica relación directa entre la salud del organismo, su respuesta inmune y fisiológica a las condiciones ambientales y a un nuevo alimento que dista de la naturaleza alimentaria de la especie estudiada (Gennotte et al., 2012; Pohlenz & Gatlin Iii, 2014).

En México el uso de la chaya (*Cnidoscolus ssp*) se ha estudiado en diferentes especies animales y sus resultados son provisorios para posteriores estudios a nivel más cuantitativo, por ejemplo en 2010 Poot-López estudio la suplementación, es decir, la implementación de hojas de chaya a la dieta normal de la tilapia en sistemas productivos y encontró tanto en un estudio socioeconómico como en los efectos en crecimiento, algunos datos que comprobaban la salud de los tratamientos expuestos a las hojas de la chaya (Poot-López & Gasca-Leyva, 2009; Rocha-Estrada, 2006).

Por lo tanto, el uso de la chaya no como suplemento al alimento balanceado sino como un ingrediente proteico en los alimentos de uso acuícola es un terreno inexplorado y sobre todo la cuantificación de sus efectos en el organismo y finalmente su posible aplicación en campo, que es finalmente lo que se busca en

cada una de las investigaciones que se relacionan con la piscicultura (Ofori, Abban, Karikari, & Brummett, 2010).

En el ámbito de la investigación científica el uso de la tilapia resulta esencial por sus características biológicas, amplia plasticidad ambiental, adaptación a altas salinidades entre otros factores que para especies dulceacuícolas con mayores niveles de sensibilidad resultarían críticas (El-Sayed, 2006), además en nuestro país pese a ser considerada en embalses naturales una especie exótica invasiva, en cultivo es una de las especies prioritarias por su amplio mercado y su producción creciente en nuestro país y en el resto del mundo (Alberto et al., 2012; FAO, 2006).

En este punto es importante destacar que existe una relación entre la investigación acuícola y el aprovechamiento de los recursos naturales, incluidos los hídricos, por lo tanto, si se propone una dieta aprovechable para especies de consumo debe responder a las necesidades de una comunidad determinada, en este caso en el estado de Michoacán de Ocampo, la presencia de especies acuáticas invasoras en cuerpos de agua de importancia como el *H. Plecostomus* han hecho disponible una nueva materia prima (Arroyo Damián, 2013), aunado a lo anterior existe un recurso vegetal de importancia como es la chaya, por lo que se puede deducir que realizar un ensayo de dietas a nivel laboratorio se refleja en la posibilidad de su posterior aplicación a nivel social (Ávila Meléndez, 2007).

## Justificación

La necesidad de encontrar alternativas proteicas de bajo costo y al mismo tiempo generar información sobre la respuesta fisiológica y metabólica del pez a estas, justifica nuestro trabajo pues se trata de una investigación de alto impacto productivo y que generará consigo información sobre los factores que pueden afectar el rendimiento de los especímenes. Además, se trata de implementar un recurso regional que puede vincular dos sectores productivos de manera independiente o que la gente lo haga simultáneamente en una práctica integral acuícola y agrícola. Para con ello incidir en la producción acuícola del país y del mundo.

## Hipótesis

- Los peces alimentados con dietas vegetales con niveles crecientes de harina de chaya presentarán tasas de crecimiento similares o superiores a los alimentados con la comercial.

## Objetivos.

### Objetivo general

Evaluar las modificaciones metabólicas, fisiológicas y anatómicas de tilapia alimentada con dietas isoproteicas con niveles crecientes de harina de chaya y los efectos sobre la calidad del agua.

### Objetivos específicos

- 1) Determinar la composición química (bromatología) y la calidad de la proteína (digestibilidad) de la harina de chaya. Para con esos datos formular, elaborar y caracterizar químicamente las dietas experimentales y compararla con una comercial.
- 2) Evaluar la calidad del agua de los sistemas de producción con las diferentes dietas y la comercial considerando principalmente los compuestos nitrogenados.
- 3) Determinar los parámetros biológicos de la tilapia: longitud, peso, tasa de crecimiento, conversión alimenticia, eficiencia proteica, mortalidad, entre otros, alimentados con las diferentes dietas
- 4) Analizar la morfología de los órganos internos y parámetros sanguíneos de los especímenes para determinar la digestibilidad de la proteína y las posibles modificaciones tisulares del organismo.

## Marco teórico

### La acuicultura crecimiento y perspectivas.

La acuicultura está en expansión, eso lo demuestran cifras recabadas por la FAO y publicadas en el informe difundido por la organización en el año 2017, en el mismo documento se hablan de alrededor de 73.8 millones de toneladas y donde la mayoría de esa producción se destina al consumo humano. En términos económicos eso se ve reflejado en aproximadamente cerca de 160.200 millones de dólares norteamericanos (FAO, 2016).

Es importante también decir que la acuicultura se ha modernizado y ha alcanzado altos niveles de sofisticación sobre todo en los 35 países que según datos de la FAO mantienen el mayor dinamismo de producción y consumo de pescado entre los que destacan La república popular de China, Vietnam, India y Egipto, en el resto de estos 35 países, entre los que se encuentra México la modernización de la producción siguen como parte fundamental del desarrollo científico y tecnológico de esas naciones (FAO, 2006, 2016).

Mas, ¿qué especies son las que han destacado en la producción acuícola? Sin duda el cultivo de peces mantiene la preponderancia por cerca de 49.8 millones de toneladas, seguido del cultivo de moluscos con 16.1 millones, crustáceos con 6.9 millones y 7.3 millones de toneladas distribuidas entre los restantes animales susceptibles a explotación como es el caso de las ranas (FAO, 2006, 2016).

El reto principal de la acuicultura moderna es su adaptación al cambio climático, incluyendo los efectos a la fisiología de los organismos al enfrentarse a climas extremos o fenómenos meteorológicos que repercuten en la salud del ambiente acuático y de sus habitantes (FAO, 2016). Sin embargo, el efecto inmediato se verá en la elevación de costos de producción conforme los insumos envueltos en la producción de alimentos acuícolas, (e.q. semillas, agua dulce) aumentan su precio conforme su disponibilidad se ve reducida (FAO, 2016; Naylor et al., 2009).

Otro campo en el cual el cambio climático tendrá un peso importante para su supervivencia es el de la pesca. Es importante destacar que la producción pesquera se encuentra en etapa de recesión, todo se refleja en la producción de la harina de pescado (Civera et al., 2010; FAO, 2016). Es evidente que estos insumos siguen siendo parte fundamental de la alimentación de los sistemas acuícolas y su disponibilidad ponen en riesgo la continuidad del avance de la industria azul (FAO, 2006, 2016).

Sin duda, los retos de la acuicultura son muchos, mas como se entiende uno de los rublos donde más se ve afectada la actividad acuícola es en la disponibilidad de alimentos y en cómo estos repercuten en la productividad de los sistemas acuícolas. Desde la década del ochenta la mayor parte de la harina de pescado, suministro esencial para la producción de alimentos con alto contenido proteico esenciales para el desarrollo de los organismos acuícolas, ha mantenido un desarrollo estacionario, es decir ya no se eleva la producción. Esto ha aumentado el precio de los alimentos y en las derogaciones que los productores tienen que destinar para obtenerlos, por lo que una de las perspectivas a futuro de la producción acuícola es buscar alternativas a la proteína del pescado (Abdel-Tawwab, Mousa, & Mohammed, 2010; Arroyo Damián, 2013; FAO, 2016).

### La tilapia como especie de interés global.

La tilapia que es nombre genérico que suele darse a un grupo de especies de amplio valor comercial y que pertenecen en su conjunto a la familia Cichlidae es de origen ecuatorial y su hábitat se encuentra en aguas cálidas, su plasticidad ambiental le ha permitido desde la segunda mitad del siglo pasado colonizar nuevos espacios a través del avance sostenido de la acuicultura, donde su uso es de los más extendido (El-Sayed, 2006; El-Sayed & Kawanna, 2008; Mehrim, 2014).

Pero, ¿por qué es que la tilapia es uno de los peces más usados? Precisamente es por su capacidad de adaptación a ambientes adversos lo que le permite ser cultivada incluso en lugares con muy pobre calidad del agua, y considerando que la



degradación de la calidad del agua avanza a ritmos realmente escandalosos se ha perfilado como una de las soluciones a la falta de espacios para el desarrollo de la acuicultura (El-Sayed, 2006).

Dentro de la familia Cichlidae sus miembros se clasifican en el orden de los perciformes, que habitan en aguas dulces y salobres. De las tilapias se conocen al menos 60 especies, dentro de las cuales destaca la tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) la cual, es usada como consumo humano y es una de las más cultivadas en el hemisferio occidental. Esta especie es originaria de los ríos caudalosos del África y hoy se encuentra distribuida uniformemente en todos los climas del mundo y gracias a su fácil manejo los estudios acuícolas más serios prefieren trabajar con este espécimen (El-Sayed, 2006; El-Sayed & Kawanna, 2008).

Tal como lo explicó Vijayan et al., 1996 esta especie presenta una sensibilidad muy alta en cuanto a sus parámetros bioquímicos, en sangre, músculo e inmunopatología, y son utilizados como detectores de efectos adversos potenciales, tanto que han sido utilizados como biomarcadores de presencia de contaminantes en aguas o como ensayo para diferentes formulaciones alimenticias (Vijayan, Morgan, Sakamoto, Grau, & Iwama, 1996).

### Los requerimientos proteicos de la tilapia y su inclusión en las dietas

Los requerimientos de proteína de los peces se han calculado en diferentes especies, mediante estudios de composición y de tasa de crecimiento. En la tilapia se ha hecho usualmente por tratamientos de dosis-respuesta utilizando proteína de origen animal y vegetal (Diana & Víctor, 2012). La mayor parte de estos estudios se han concentrado en la respuesta sobre la talla y la velocidad de crecimiento, lo que ha conducido a la conclusión de que la calidad del agua y el alimento juegan un papel fundamental en la salud y el crecimiento del organismo (Abdel-Tawwab, Ahmad, Seden, & Sakr, 2010).

Otro de los datos que se han encontrado con mayor certeza es que el requerimiento proteico es mayor en las fases de crecimiento larvario, en este sentido el porcentaje de proteína ronda en esas etapas en 32% proteína. Este porcentaje se va ajustando conforme el peso y la talla va aumentando, desde el 26.8 al 32% (Boscolo, Feiden, & Signor, 2006; Lee, Jeon, & Lee, 2002).

Una parte fundamental en cuanto al estudio de los requerimientos nutricionales es el estudio de los aminoácidos. En el caso de la tilapia nilótica los aminoácidos más atendidos por su impacto en el rendimiento han sido la metionina, y la mezcla de metionina-cistina (Furuya & Furuya, 2010). Valderrama (2010), habla de la necesidad de los aminoácidos aromáticos como la fenilalanina, aunque se especifica que puede ser sustituido parcialmente por la tirosina y la lisina (Valderrama, 2010).

### Formulación de dietas acuícolas.

Las formulaciones de las dietas siguen las consideraciones propias de la biología de la especie, sus hábitos alimenticios, el comportamiento que siguen para alimentarse, además de las necesidades metabólicas, requerimientos de nutrientes, selección de ingredientes y disponibilidad de materias primas. Al mismo tiempo las propiedades de los ingredientes, su digestibilidad y composición en macronutrientes (Ahmad & Abdel-Tawwab, 2011).

### Materias primas usadas en la industria acuícola.

Los principales componentes de una dieta son considerados como fundamentales para el crecimiento de la especie, estos desde hace algún tiempo suelen clasificarse por su origen, animal y vegetal, composición, propiedades nutricionales o fisicoquímicas, incluso en función de ciertos criterios económicos (Bolla, Nicolaisen, & Amin, 2011).

Por su parte, ciertos ingredientes no son utilizados para integrar en la fórmula componentes equilibrados, sino conferirle al alimento ciertas propiedades particulares como: mejor palatabilidad, color atractivo o estabilidad en el agua. Sin embargo, se dan otros casos en los cuales las materias primas pueden tener un efecto o propiedades negativas, esto es ocasionado por la presencia de compuestos nocivos (Chen et al., 2016; Song et al., 2014)

La cantidad de proteína entonces en el sector acuícola se planea sustituir por ingredientes vegetales, lo que ha abierto la posibilidad del uso de diferentes alimentos (Abdel-Tawwab, 2015). Para este fin la alfalfa, cebada, canola, maíz, y otras semillas de diferentes gramíneas son algunos de las *comodities* agrícolas con mayor uso en la industria acuícola. Se ha optado por ellos por su gran contenido en almidones que le confiere un alto poder ligante y de estabilización a los alimentos. Sin embargo, existen reportes de que pueden repercutir en la fisiología de los peces debido a la presencia de elementos anti nutricionales (Ahmad & Abdel-Tawwab, 2011; Civera et al., 2010).

Mas, ¿cuál es la ventaja competitiva de la harina de pescado? En primer lugar, ofrece la mayor parte de los aminoácidos fundamentales para el organismo de los peces y la presencia de elementos anti nutricionales es prácticamente nula. Los anti nutricionales pueden encontrar en las hojas y hasta en los granos tiernos o secos, reduciendo su calidad alimenticia entre los que podemos mencionar a lectinas, flavonoides, alcaloides, taninos, aminoácidos libres, ácido cianhídrico, vitaminas D, E y B12, goitrógenos y fitatos. En el caso de algunos vegetales los elementos anti nutricionales se eliminan por tratamientos térmicos y de lavados (Villarreal-Cavazos et al., 2008).

## **Alternativas alimenticias**

Uno de los llamados ámbitos prioritarios de desarrollo de la piscicultura son las pérdidas derivadas de un pobre manejo de la alimentación y calidad del agua. Es importante destacar que el gasto en estos rublos son los que más afectan al desarrollo de esta práctica. Siendo la alimentación el más crítico. El uso de alimento

balanceado basado en el uso de proteínas originarias de la harina de pescado es el más extendido y sus costos repercuten directamente en el precio final del producto. Por lo que encontrar alternativas a este tipo de alimento resulta urgente (E. M. Cabral et al., 2011; Rodríguez-Miranda., 2014; Song et al., 2014).

Una de esas alternativas incluye la sustitución parcial o total de la harina de pescado por otros insumos de menor valor agregado como lo es la harina de lombriz sin embargo, la mayoría de estos experimentos pasan por alto puntos clave relacionados con el manejo de la calidad del agua y sus efectos en el crecimiento y desarrollo correcto de los peces (Escalera-Gallardo C., 2010).

En muchas partes del mundo se han empezado a buscar alternativas a las proteínas animales siendo las más explotadas, la soya y el choclo, o maíz. Es muy importante destacar que no se han buscado alternativas provenientes de plantas endémicas de la región (Poot Lopez, Gasca Leyva, & Olvera Novoa, 2012) entre las que se encuentra la chaya, una planta originaria del sur de México y en la que se ha probado anteriormente su potencial forrajero.

### Chaya generalidades.

La chaya es una planta originaria de nuestro país que taxonómicamente puede agruparse por la sección *Calyptosolen* más específicamente al género *Cnidoscolus*, perteneciente a la tribu *Manihoteae*, subfamilia *Crotonoideae*, familia *Euphorbiaceae* (Ross-Ibarra & Molina-Cruz, 2002). Poseen pelos urticantes, glándulas petiolares y se caracterizan por una sola envoltura de floral blanca (Ross-Ibarra, 2003).

Esta planta se encuentra distribuida en la mayor parte del territorio nacional, pero principalmente en el sureste mexicano, Yucatán, Tabasco, sureste de Chiapas, centro y sur de Veracruz, parte de Campeche, sur de Quintana Roo y norte de Morelos (Ross-Ibarra & Molina-Cruz, 2002).

En Michoacán se encuentra distribuida no uniformemente y en ciertas regiones del estado se le considera una plaga y en otras es buscada por sus supuestos atributos medicinales y diuréticos (Ross-Ibarra, 2003).

### Los potenciales usos de la chaya

La chaya se utiliza desde la época prehispánica, como parte de los llamados cercos vivos. Es comestible y se ha utilizado en la medicina tradicional y como planta ornato en las comunidades indígenas. Desde entonces es posible encontrarla en huertos familiares o jardines, y a menudo está sembrada junto a otros cultivos, milpa o campo de ornato. La hoja es una de las partes más aprovechadas en la cocina y el uso medicinal (Mena Linares et al., 2016).

En la actualidad y tras años de domesticación ha sufrido bastantes modificaciones como son pérdida de vellosidad y tendencia a la desaparición de ciertos glucósidos cianogénicos. Su suelen usar las hojas tiernas (Ross-Ibarra, 2003) como parte de una tradición herbolaria diversa en nuestro país, como infusión, la manera más sencilla de preparación se suele administrar en casos de colesterol y de erupciones en la piel, su uso está tan enraizado que suele atribuírsele funciones de reactivación de la función hepática (Ross-Ibarra & Molina-Cruz, 2002).

### Control de calidad del agua en el cultivo de peces.

Otro de los puntos clave del éxito acuícola se relaciona con la calidad del agua. Así por ejemplo tenemos que en sistemas automatizados e intensivos, con entradas extras de energía su control debe ser sumamente estricto pues se puede acelerar la eutrofización del sistema y el aumento de nutrientes que conlleva una toxicidad del agua (Poot-López & Gasca-Leyva, 2009).

Por lo que el manejo optimizado de las condiciones de agua, permite mantener una actitud de profilaxis en el sistema de cultivo, anticipándose a contingencias del tipo ambiental, disminución del oxígeno disuelto o aumento de la concentración de amoníaco; o estableciendo condiciones óptimas de crecimiento como la temperatura (Mehrim, 2014).

## Materiales y métodos

### Formulación y evaluación de alimentos

#### Obtención de harinas problema

Las harinas problema para la formulación del alimento fueron las de chaya y *Plecostomus*, ambas se habían establecido como base del alimento con la finalidad de que fuera una dieta que tuviera una aplicación en el estado de Michoacán y todo el país, se utilizó una planta nativa y una especie exótica invasiva en los principales embalses del país (Arroyo Damián, 2013; Ross-Ibarra & Molina-Cruz, 2002). Su obtención siguió lo expuesto por Aguilar-Ramírez y colaboradores en 2000, con modificaciones, donde las hojas de chaya fueron recolectadas, deshidratadas y trituradas en un molino.

1-. La colecta de hojas de chaya se realizó en diferentes puntos de la ciudad de Jiquilpan Michoacán, para esto se usaron bolsas de plástico, guantes y tijeras de metal inoxidable. Se procuraron recolectar las hojas tiernas ya que según lo reportado por Aguilar- Ramírez (2000) cuentan con mayor cantidad de proteína total. Posteriormente, se almacenaron en refrigeración por espacio de uno a dos días antes de ser colocadas en el secador (Theissen Montes De Oca, 2006).

2-. Como una forma de optimizar el proceso posterior de secado de hojas se procedió a realizar una cinética de secado, ésta se apoyó de la técnica estándar de peso constante, en el cual cada intervalo de tiempo se pesa la muestra hasta que esta llega a peso constante, prueba fehaciente de que se ha perdido toda el agua susceptible a perderse en el material. Se trabajaron con 4 muestras de hojas con peso equitativo de 111.5 g en base seca (Giraldo-Zuñiga, Arévalo-Pinedo, Rodrigues, Lima, & Feitosa, 2006)

3-. Se trituró la hoja seca en un molino mecánico para posteriormente ser cernido en un tamiz con abertura de malla de 420  $\mu\text{m}$ , ya que este tamaño de partícula es

el reportado como el adecuado para tener una mezcla optima en la elaboración de alimento para peces.

4-. La harina se almacenó en un recipiente de plástico con tapa rosca hasta su uso.

La metodología seguida para la obtener la proteína de origen animal fue la reportada por (Arroyo Damián, 2013). En esta destaca que la harina se obtuvo a partir del secado solar y la trituration subsecuente en un molino eléctrico y después fue cernida con una malla del número 40 a 320  $\mu\text{m}$ .

### Análisis proximales

Se llevaron a cabo una batería de dos etapas de pruebas bromatológicas, una a las harinas control y una segunda a los alimentos ya elaborados. Se siguieron las metodologías expuestas por la AOAC en cuanto a la determinación de nitrógeno por micro Kjeldahl, grasas por Soxhlet, cenizas por el método de la estufa y humedad por termobalanza (Association of official analytical chemists., Latimer, & Horwitz, 2006).

### Formulación de las dietas

Se utilizó el método del cuadrado de Pearson en el cual se ajusta con cuatro harinas con dos niveles de proteína equitativos. Así se utilizaron las harinas problema como pivote. El nivel de proteína al que se ajusto fue el de 32%, suficiente para el crecimiento de la especie (Pernía & Santana, 2015).

En este caso se determinó que las dietas con mayor nivel de proteína, soya y pleco, mantuvieran niveles constantes y que las harinas suaves, chaya y germen de trigo, fueran variando en cada una de ellas, de esta forma se cuidaba la integridad del alimento y el precio para el futuro estudio bio-económico.

Además, se utilizó una premezcla de vitaminas y minerales y se ajustó a los requerimientos de la especie, utilizando el ácido ascórbico como base, ya que como lo mencionan múltiples investigaciones este se relaciona directamente con la salud del organismo (Corredor A.S. and M.A. Landines, 2009).

### Elaboración de los alimentos.

Por medio del cuadrado de Pearson se formularon 4 dietas experimentales, las cuales consistieron en 20, 30, 40 y 50% de inclusión de harina de chaya.

Se realizó una mezcla de las harinas, las cuales fueron homogenizadas previamente junto con la premezcla de vitaminas calculada. Posteriormente fueron paletizados, ayudados de agua a 80 grados para lograr una gelatinización de los almidones. La masa resultante fue alimentada a un equipo de procesamiento de alimentos (Arroyo Damián, 2013; Escalera-Gallardo C., 2010).

Las líneas de alimento posteriormente fueron cortadas y homogenizadas a una talla que fueran fácilmente comestibles por los organismos. En este punto resulta interesante decir que el proceso se estandarizó en el tiempo para reducir lo más posible la variación entre periodos de elaboración de alimentos durante el bioensayo.

### Evaluación de propiedades físicas y funcionales de los alimentos.

Los alimentos fueron evaluados de acuerdo a lo expuesto por Escalera (2010) y (Samuelsen, Mjøs, & Oterhals, 2014), esto con la finalidad de tener alimentos que se ajustaran a los requerimientos de los animales y a la naturaleza del medio ambiente acuático así fueron evaluadas las siguientes propiedades (Mackie & Mitchell, 1985).

### *Propiedades funcionales de los alimentos.*

Las dietas experimentales deben presentar parámetros físicos adecuados para la talla del pez (tamaño, forma y color), textura (duro, suave, húmedo, seco, rugoso o liso), densidad (flotabilidad) y atracción (olor o sabor) con el fin de despertar una



respuesta alimenticia (Mackie & Mitchell, 1985). Por todas estas razones, el aspecto visual del alimento acuícola es un indicativo útil de su calidad global, en base a esto se determinaron el índice de solubilidad (ISA), índice de absorción de agua (IAA) y factor de hinchamiento (FH), por el método propuesto por (Rodríguez-Miranda., 2014)

Este método consiste en colocar 2.5 g de muestra y 30 ml de agua en tubos para centrifuga de 50 ml previamente tarados. Los tubos se incuban en baño maría por 30 minutos a 30°C y se agitan cada 5 minutos. Posteriormente estos se centrifugan a 2,500 rpm durante 20 minutos, se decanta el sobrenadante y se pesa el sedimento. El sobrenadante se filtra y se seca a peso constante en estufa a 90°C y se registra finalmente el peso de los sólidos solubles.

La estimación cuantitativa de estas propiedades funcionales es la siguiente:

*Índice de solubilidad (ISA).*

$$(1) \text{ ISA} = (C/A) \times 100$$

A= Peso de la muestra.

C= Peso de sólidos solubles.

Y equivale a los gramos de sólidos que son solubilizados a 30°C por cada 100 g de muestra.

*Índice de absorción de agua (IAA).*

$$(2) \text{ IAA} = B/A$$

A= Peso de la muestra.

B= Peso del gel.

Y equivale al número de veces que se incrementa el peso de la muestra debido a la absorción de agua.

*Factor de hinchamiento (FH).*

$$(3) \text{ FH} = \frac{B}{(A-C)}$$

B= Peso del gel.

A= Peso de la muestra.

C= Peso de sólidos solubles

Y equivale al número de veces que se incrementa el peso de los sólidos debido a la absorción de agua; en otras palabras, el factor de hinchamiento es el aumento de peso o de volumen que experimenta la muestra debido a la absorción de agua.

### *Análisis físicos de los alimentos.*

Los siguientes parámetros se realizaron de acuerdo con la metodología sugerida por (Elizabeth Cruz-Suarez et al., 2006) en cuanto a las pruebas que deben llevarse a cabo para comprobar la aceptación de los alimentos por los animales acuáticos.

**Densidad (g/cm<sup>3</sup>):** peso del alimento que ocupa un volumen de 500 cm<sup>3</sup>.

**Porcentaje de Flotabilidad:** Se colocaron 10 pellets en 200 ml de agua a temperatura de 26°C durante 3h posteriormente se cuantificaron los pellets que se mantuvieron en la superficie y se determinó su porcentaje (se realizará con tres replicas).

**Número de pellets por g de alimento:** Se pesó 1 g de alimento y se contó el número de pellets, en 3 réplicas.

**Diámetro de pellets**

**Longitud de pellets**

**Porcentaje de finos:** Se definió como porcentaje de partículas menores al tamaño especificado del alimento. Se midió el porcentaje de finos presentes en 100g de muestra, misma que se realizó con un tamiz del No. 20.

### *Determinación de la estabilidad de los alimentos.*

Se evaluó el grado de lixiviación de las dietas (pérdida de materia seca y proteína) después de una hora de inmersión en agua, por el método mencionado por (Elizabeth Cruz-Suarez et al., 2006). La pérdida de materia seca (PMS) y la pérdida de proteína (PP) en las dietas experimentales se determinaron utilizando las siguientes formulas:

**(4) % de pérdida de materia seca.**

% PMS: [(g) alimento integro – (g) alimento lixiviado/ (g) alimento integro] \* 100

**(5) % de pérdida de proteína.**

$\% \text{ PP} = (100 * [\text{PC}] \text{ A} - (100 - \text{PMS}) * [\text{PC}] \text{ AL}) / [\text{PC}] \text{ A}$

Donde:

[PC] A: Concentraciones de proteína cruda en el alimento integro.

[PC] AL: Concentración de proteína cruda en el alimento lixiviado.

PMS: Perdida de materia seca.

## Bioensayo de crecimiento

### Establecimiento de un bioterio de peces

Los organismos se adquirieron en el mes de junio con una talla promedio de tan sólo 1 cm, estos se llevaron a las instalaciones del CIIDIR-Michoacán. Donde se mantuvieron en cautiverio, con alimentación tres veces al día, una a las 8:00 am, una segunda a las 12:00 pm y la última a las 17:00 pm (Ahmad & Abdel-Tawwab, 2011; L. Wang et al., 2017).

Los parámetros ambientales, se ajustaron a las necesidades de la especie, rangos de temperatura de 25 a 27°C, oxígeno disuelto siempre por encima de 5 ppm, los mismos fueron monitoreados con un hydrolab DS5 por lo menos una vez cada semana, para detectar posibles afectaciones a la estabilidad del ambiente y que se pudieran establecer medidas profilácticas y de control de crecimiento.

Los peces fueron llevados a una talla promedio de 15 cm en un tiempo de tres meses momento en que se estableció el bioensayo.

### Establecimiento del bioensayo

Se establecieron cinco tratamientos con 50 peces por cada uno, repartidos en 3 repeticiones de aproximadamente 17 peces, cada uno cuidando homogenizar la talla entre cada una.

Los tratamientos consistieron en un control (una dieta comercial marca AQUAFEED), y cuatro dietas experimentales con 20, 30, 40 y 50 % de inclusión de harina de chaya en su formulación. Para cada repetición se utilizó una tina de capacidad de 400 L en ella se establecieron bombas de aireación y termostatos

para mantener el nivel oxígeno disuelto y temperatura del agua a valores adecuados para el crecimiento de los peces, en las tinas en las cuales se estableció el experimento.

Los peces se alimentaban dos veces al día, a las 8:00 am y a las 16:00 pm. Se establecieron además periodos de muestreo, durante 21 días el sistema no era limpiado y los parámetros ambientales eran constantemente evaluados por las mañanas. Transcurridos los 21 días los sistemas eran limpiados y los organismos pesados y medidos para determinar la tasa de crecimiento para ese periodo en cada tratamiento, mediante la ganancia en peso y la ganancia promedio en biomasa entre periodos.

### Determinación de parámetros biológicos

A la conclusión del experimento se determinó que de acuerdo con lo expuesto por investigaciones previas de (Abdel-Tawwab, Ahmad, Seden, et al., 2010; Deng, Chen, Mai, Mi, & Zhang, 2017), la tasa de crecimiento específico, ganancia en peso, peso final, suministro de alimento total, tasa de conversión alimenticia, tasa de eficiencia proteica, valor de proteína productiva, tasa de ganancia diaria, tasa de ganancia en peso.

Algunas de las fórmulas se esquematizan a continuación:

$$(6) \text{ tasa de crecimiento específico (SGR)} = \frac{100(\ln w_2 - \ln w_1)}{T}$$

$$(7) \text{ Tasa de conversión alimenticia (FCR)} = \frac{\text{Alimentación (g)}}{\text{Ganancia en peso (g)}}$$

$$(8) \text{ Tasa de eficiencia Proteica (PER)} = \frac{\text{Ganancia en peso (g)}}{\text{Proteína suministrada (g)}}$$

$$(9) \text{ Valor de proteína productiva (PPV)} = \frac{\text{Ganancia proteínica (g)}}{\text{Proteína suministrada (g)}}$$

$$(10) \text{ Eficiencia de crecimiento proteico (PGR)} \\ = \frac{100(\ln \text{ contenido proteico final} - \ln \text{ contenido proteico inicial})}{\text{Días de alimentación}}$$

$$(11) \text{Ganancia en peso \%} = \frac{\text{Peso final}(g) - \text{Peso inicial}(g)}{\text{Peso inicial}(g)} * 100$$

## Índices somáticos

Al concluir el bioensayo tras 14 semanas los peces se sacrificaron y se determinaron los índices somáticos más relevantes para conocer el éxito de la implementación de las dietas en los organismos (Piccolo et al., 2017; Song et al., 2014).

Para ello los peces se sacrificaron por choque térmico y trasladados al laboratorio donde eran diseccionados, los órganos internos separados y pesados, con estos datos se determinaron los índices gonadosomático, viscerosomático, intestinosomático, hepatosomático de acuerdo a lo expuesto por Piccolo et al., (2017).

Las fórmulas se esquematizan a continuación:

**(12) El índice gonadosomático** responde a la siguiente formula:

$$IGS = \frac{W_{Gonada}}{W_{TotalPez}} * 100$$

Donde:

Wgonada; es el peso de la gónada en gramos.

WTotalPez; es el peso total del pez en gramos.

**(13) El índice hepatosomático** se determina con la siguiente formula:

$$HSI = \frac{W_{higado}}{W_{TotalPez}} * 100$$

Donde;

Whigado; es el peso del hígado en gramos.

WTotalPez; es el peso total del pez en gramos.

**(14) El índice viscerosomático:**

$$HSI = \frac{W_{Visceras}}{W_{TotalPez}} * 100$$

Donde;

Wviceras; es el peso de la víscera en gramos.

WTotalPez; es el peso total del pez en gramos.

## Factor de condición y correlación de crecimiento

El factor de condición de Fulton se determinó de acuerdo a lo expuesto por Leyton, (2015); Sebastián Ramos-Cruz, (2009), esto con la finalidad de ver cómo es que se encontraban las condiciones de los tanques para ser susceptibles de crecimiento. Al mismo tiempo con los datos logarítmicos de talla y peso y su intersección por mínimos cuadrados se determina mediante la correlación de crecimiento de acuerdo con Leyton en 2015. Este valor nos señala como es que se lleva a cabo el crecimiento armónico del organismo (Leyton, 2015).

## Determinación del nivel óptimo de sustitución de harina de chaya

Con los datos de crecimiento se pudo establecer un gráfico de variable dependiente e independiente y esquematizar por medio de un polinomio interpolante una función que se ajustara al comportamiento del crecimiento con relación a la inclusión de chaya (Ahmad & Abdel-Tawwab, 2011).

De esta manera y con ayuda de una maximización de la función se pudo encontrar el valor de sustitución matemático para la chaya dentro de un alimento acuícola.

## Histología de órganos internos

Los órganos internos separados del pez se fijaron en formol previamente estabilizado, al 10% por 72 horas. Después se almacenaron en alcohol al 70%. Posteriormente se rehidrataron con baterías de etanol de menor a mayor concentración, en Xileno antes de ser inmovilizados en parafina (FEIST, 2009).

*Tabla 1-Tabla de técnicas histológicas según FEIST, 2009 con modificaciones.*

<b>PASO</b>	<b>RUTINA</b>
<b>10% FORMALDEHIDO</b>	24 -72 hrs
<b>70% ETANOL</b>	6 hrs
<b>90% ETANOL</b>	Toda la noche

<b>100% ETANOL</b>	2 hrs
<b>100% ETANOL</b>	1 hrs
<b>100% ETANOL+ACETONA</b>	1 hrs
<b>ACETONA</b>	1 hrs

Se realizaron cortes en un micrótomo en secciones de diferente espesor a partir de 5mm y hasta 3 a 5  $\mu\text{m}$  que fueron teñidas en hematoxilina y eosina. Esta técnica es la universal ya que logra teñir las partes de la célula aptas para la diferenciación en el organismo, con esta se buscara ver también los almacenes de glucógeno, esto último atendiendo que la ausencia de glucógeno sería una señal inequívoca de estrés metabólico en la tilapia (Bolla et al., 2011; Mehrim, 2014; Rojas, Mata, Oliveros, & Salazar-Lugo, 2013).

Las secciones fueron observadas y fotografiadas, en campos ópticos, bajo el microscopio óptico para su posterior análisis cualitativo. El análisis fue basado en literatura de *ciclídae* y salmónidos (Bolla et al., 2011).

El análisis histológico cualitativo seguirá las siguientes medidas: cuatro vellosidades del intestino se seleccionaron al azar por diapositiva y por segmento para calcularse un porcentaje relativo de la presencia de anormalidades en tales vellosidades, se calcula el área de las células teñidas. Por vellosidad seleccionada, se definió un área mediante la elaboración del límite exterior de la vellosidad y dentro de cada área se midieron los parámetros establecidos para evaluar la respuesta de enteritis, los valores obtenidos se promediaron por pez y por segmento de intestino (Bolla et al., 2011; Rojas et al., 2013).

En el caso del hígado y del riñón, la presencia o ausencia de glucógeno en el tejido, el tamaño de la célula y la presencia de gotas de grasa en los campos fotografiados, se tomarán como muestras de una anomalía fisiológica en los órganos, todas las anormalidades serán evaluadas de manera cualitativa y cuantitativa, atendiendo lo expuesto por (Rojas et al., 2013) (Zhao et al., 2016).

En cuanto a los estudios llevados a cabo en la sangre del pez se determinó de glucosa por medio de un glucómetro. Estos datos se interpretaron como cambios bruscos en la integridad metabólica del organismo.

## Digestibilidad de alimentos

### Determinación de la digestibilidad in vitro de las proteínas

Se determinó con el método de pepsina diluida (Association of official analytical chemists. et al., 2006), se utilizó una concentración de pepsina mil veces menor que el método oficial de la AOAC. Un gramo de muestra fue incubado con pepsina por 16 horas en una solución de ácido clorhídrico 0.075N a 45°C. Después de la hidrólisis, la mezcla de reacción se filtró para retener los sólidos insolubles, en los cuales se determinó posteriormente la cantidad de proteína residual por el método Kjeldahl.

Se determinó un porcentaje de digestibilidad corregida en pepsina, para el cual la proteína insoluble al final de la actividad enzimática es sustraída de la proteína insoluble en ácido (medida por una incubación similar en ausencia de enzima), y el resultado estimado de proteína solubilizada es expresado como un porcentaje de la proteína insoluble en ácido. Este procedimiento es útil para evitar una sobreestimación de la acción enzimática en harinas de pescado ricas en proteína insoluble. Las fórmulas para determinar la digestibilidad corregida son:

$$(15) \% \text{ de Nitrógeno} = V \times N \times 0.014 \times 100 / P$$

Donde:

V = ml de ácido gastados en titulación.

N = Normalidad del ácido.

P = Peso de la muestra.

0.014 = Miliequivalente de nitrógeno.



### **(16) % Digestibilidad en pepsina: (%NRA - %NRP) / (% NRA)**

%NRA = Porcentaje de nitrógeno residual en ácido.

%NRP = Porcentaje de nitrógeno residual con pepsina.

### Determinación de la digestibilidad “*in vivo*”

Para esta fase del experimento se seleccionaron tres peces de cada una de las dietas experimentales y se colocaron en acuarios separados con el propósito de incrementar la eficiencia en la extracción de las heces de los peces.

Para determinar la digestibilidad “*in vivo*”, se empleó el método con indicador (CHONG, HASHIM, & ALI, 2002), el cual ha sido desarrollado para obviar los problemas de la recolección cuantitativa usando un marcador inerte e indigerible. El marcador más utilizado es el óxido crómico ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ), el cual fue incorporado a los alimentos experimentales e identificado tanto en el alimento como en las heces de los peces.

Para el bioensayo de digestibilidad se elaboraron 500 g de alimento de cada una de las dietas (20, 30, 40, 50%). En el caso del alimento comercial, este será molido y tamizado para uniformizar el tamaño de partícula. A cada uno de los alimentos se le agregó el 1% de óxido crómico. Se homogenizaron los ingredientes, con el propósito de que el marcador quede incorporado en la misma proporción en cada uno de los nutrientes, evitando que exista defecación selectiva, ya que la precisión de los resultados depende en gran medida de este factor (Goytortúa-Bores, Civera-Cerecedo, Rocha-Meza, & Green-Yee, 2006).

Una vez hecha la mezcla, se elaboraron los pellets de la misma forma que los alimentos utilizados para la evaluación de crecimiento, dos días después de estar aplicando este alimento se comenzó la colecta de las heces de los peces, para evitar residuos de alimento en el tracto digestivo que pudieran intervenir en el momento de realizar la medición (McDonough et al., 1990).

La cantidad de alimento ofrecido a los peces en esta fase del experimento fue similar al utilizado durante su etapa de crecimiento. La limpieza de los acuarios se realizó de manera más profunda, con el fin de eliminar el alimento no consumido y heces acumuladas durante la noche. Posteriormente se alimentó y se revisaron cada media hora los acuarios para recolectar las heces y evitar la lixiviación de estas. La identificación de las heces en el acuario se facilitó por el tamaño y la coloración verde originada por el indicador. La colecta se realizó diariamente durante un periodo de 12 horas aproximadamente, a fin de obtener muestras representativas, ya que puede haber variabilidad en la calidad de las heces durante el día (Chong et al., 2002; McDonough et al., 1990).

Esta recolección se realizó por sifones con un dispositivo que se desarrolló previamente en el laboratorio por Escalera-Gallardo y que consta de dos piezas, la primera de ellas es una manguera para acuario unida a un alambre rígido para sumergirla hasta el fondo y extraer las heces, la segunda se realizó con la parte anterior de una botella de plástico, en cuya tapa se le adaptó una manguera como desagüe; por el lado opuesto de la botella se coloca una malla de 80 $\mu$  que tiene la función de cernidor. Una vez colectadas las heces se pasaron a una caja Petri debidamente rotulada para cada dieta; se colocaron en una estufa a 50°C por 24 horas, se molieron en un mortero y se almacenaron en un frasco ámbar hasta obtener 10 g de muestra seca por dieta (Arroyo Damián, 2013).

En dietas y heces se determinó proteína y grasa por duplicado de acuerdo a las técnicas Macro Kjeldahl (NMX-F-068-S-1980), y el método de Soxhlet (NMX-F-089-S-1978), respectivamente. Para la determinación de la digestibilidad del alimento se utilizó la siguiente fórmula:

**(17) (CDA = Coeficiente de Digestibilidad Aparente):**

***%CDA Proteína = 100 - 100 (% cromo en el alimento / % cromo en las heces) (% proteína en las heces / %proteína en el alimento).***

**(18) %CDA Grasa = 100 - 100 (% cromo en el alimento / % cromo en las heces) (% grasa en las heces / %grasa en el alimento).**

Estas determinaciones se denominan “aparentes” porque no se ha corregido la posible interferencia que involucra la excreción de materia fecal de origen endógeno (descamación de las células digestivas, enzimas secretadas en el lumen, bacterias).

### Eficiencia metabólica

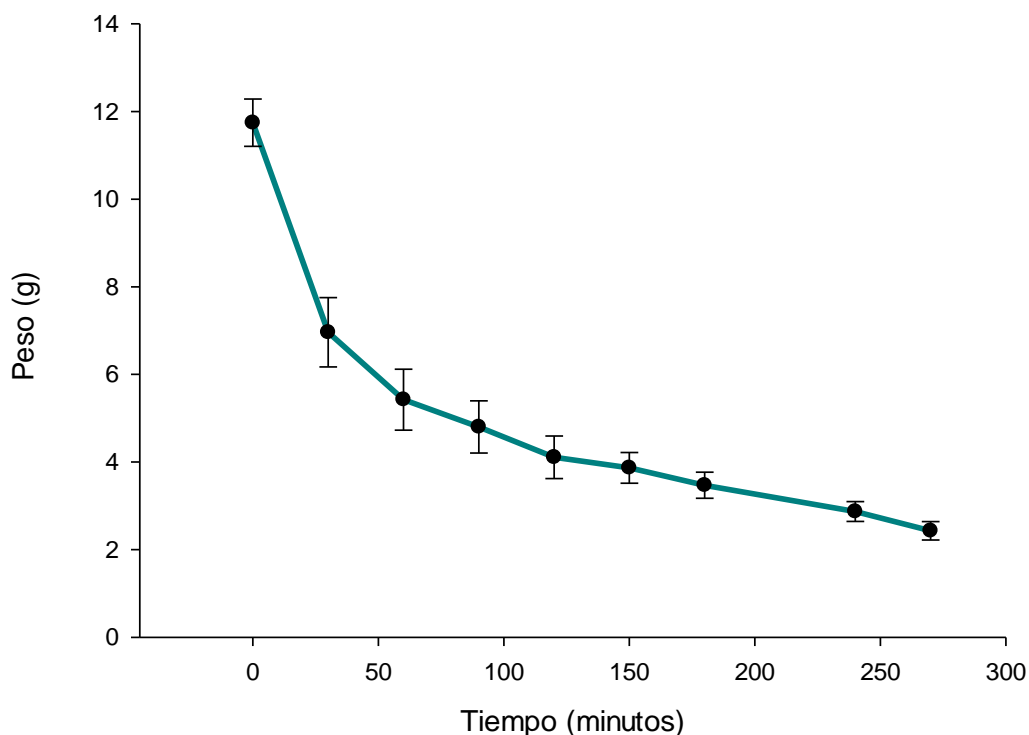
Las técnicas metabólicas utilizadas son descritas por Stiller y Gnaiger, en tales metodologías se parte del cálculo del consumo de oxígeno, estos datos fueron obtenidos por el monitoreo de oxígeno durante el periodo de muestreo. Además, se calcula el total de excreción de nitrógeno. Con esta información se puede calcular el coeficiente de amonio. Y por medio de reglas estequiométricas se obtiene un valor de capacidad metabólica (Gnaiger, 1983; Kevin T. Stiller et al., 2017; Stiller et al., 2013).

## Resultados y discusión.

### La inclusión de harina de chaya no afectó la estabilidad de los alimentos.

En el proceso se encontró que las hojas de chaya alcanzan el peso constante tras 300 minutos a temperaturas de entre 50 y 55 °C. Es importante destacar que se perdió cerca del 80% de la biomasa en forma de agua, lo que implica que la masa aprovechable de las hojas equivale a sólo el 20 % de la biomasa recolectada. Este dato implica que la cantidad necesaria para formular las dietas deberá analizarse más a fondo en un estudio bio económico (Poot-López & Gasca-Leyva, 2009).

#### Cinética de secado



*Figura 1- Gráfica de pérdida de peso obtenida de la cinética de secado de hojas de chaya.*

En la figura 1 se observa con claridad como en las primeras etapas del secado se pierde la mayor cantidad de humedad, la cual corresponde al agua libre, que es la más susceptible a perderse ante el calentamiento. Es importante destacar que en estas etapas el alimento pierde muchas de las cualidades que le brinda este tipo de

humedad como a la turgencia y el color. Tras esta etapa se llega a una etapa de pérdida lenta de humedad hasta alcanzar una asíntota de peso constante.

Con los datos encontrados en este paso se pudo posteriormente adoptar estrategias para optimizar el proceso de secado, teniendo como base que tras 5 horas expuestas al sol en un secador rustico y manteniendo la temperatura a 50 °C, se lograba el peso constante y por lo tanto se tenían las hojas listas para la molienda. Después del secado las hojas fueron molidas, cernidas para asegurar un tamaño de partícula homogéneo 420 µm. Este tamaño de partícula responde a que los alimentos deben mantener sus propiedades isoproteica e iso-energéticas y que se tenga certeza de trabajar con las mismas proporciones de cada ingrediente en los alimentos es esencial (Zhao et al., 2016).

La harina animal que decidimos usar fue la de *H. plecostomus* ya que responde a la necesidad de utilizar los recursos presentes en la región, entendiendo que nuestro centro de investigación abarca la totalidad del estado de Michoacán y que la investigación científica debe tener una vocación social anti entes hegemónicos, (Ávila Meléndez, 2007; Naylor et al., 2009).

Aunado a lo anterior el trabajo desplegado en el laboratorio por Arroyo-Damián y Sánchez-Pérez atribuyen a la harina de *H. plecostomus* propiedades funcionales propias al aprovechamiento en la industria acuícola. (Arroyo Damián, 2013)

Con ambas harinas se procedió a realizar pruebas de su composición proximal, como lo es el contenido de nitrógeno, de carbohidratos, lípidos y fibra entre otros, encontrándose lo siguiente;

La harina de chaya presenta un contenido proteico que ronda el 27% de su composición total, esto se relaciona con lo encontrado por Mena Linares y Theissen Montes De Oca y que la hace susceptible a aprovechamiento en la industria alimentaria (tabla 2). Además es importante recordar que debido a su aporte calórico

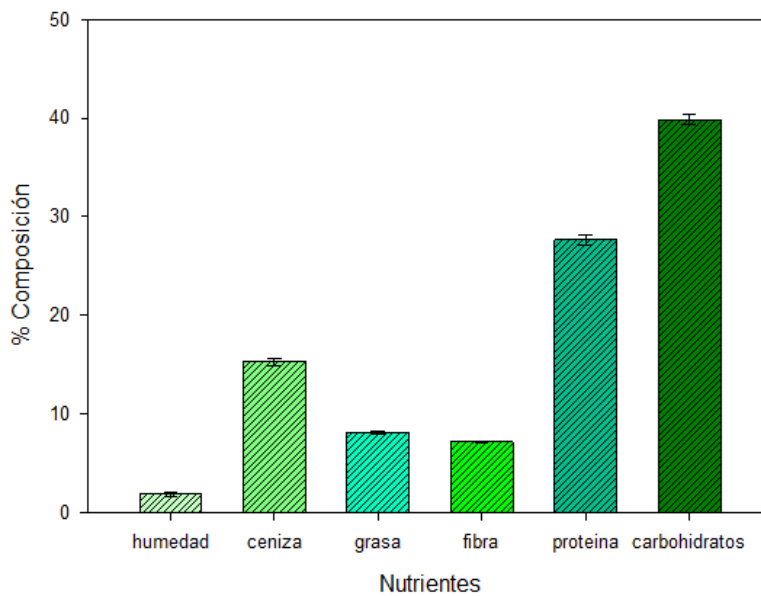
es ampliamente usada por algunas comunidades indígenas en el sur del país (Mena Linares et al., 2016; Theissen Montes De Oca, 2006).

*Tabla 2- Composición de harina de chaya en %/100 g*

**Harina de *C.chayamansa***

<b>Humedad</b>	1.87±0.18
<b>Cenizas</b>	15.32±0.38
<b>Grasas</b>	8.13±0.15
<b>Fibra</b>	7.22±0.09
<b>Proteína</b>	27.65±0.49
<b>Carbohidratos</b>	39.82±0.49

Harina Chaya



*Figura 2-Composición porcentual de harina de chaya de forma tabular y gráfica, % de composición base seca.*

En la figura 2 se esquematiza la composición de la chaya, entre lo destacable podemos encontrar que tal como sucede con la mayor parte de las harinas de origen vegetal, la composición de carbohidratos es la dominante, sin embargo, discordante con lo habitualmente visto en los vegetales la cantidad de proteína supera el 25 %

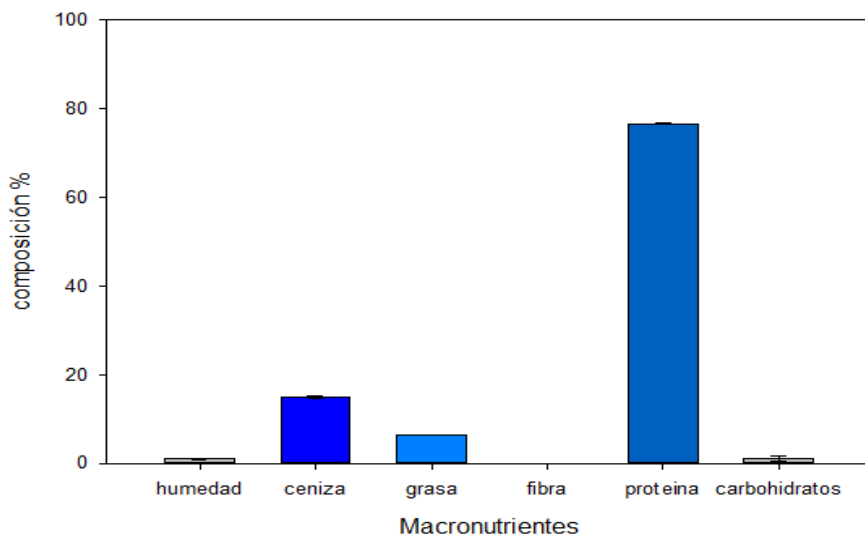
con esta información se calculará posteriormente la formulación del alimento (Martínez Villalobos, 2006)

En cuanto a lo obtenido en la harina de *plecostomus* es importante destacar que se ratificó lo expuesto previamente que su contenido proteico superaba el 70 %, algo que es fundamental para la elaboración de un alimento acuícola (Tabla 3). Aunado a lo anterior, la harina de pescado resultó ausente de fibra y con altos contenidos de lípidos, fundamentales en la salud del pez (Agata Kowalska, Zakeś, Jankowska, & Siwicki, 2012; Tan, Dong, Mai, Xu, & Ai, 2016)

*Tabla 3-Composición de harina de H plecostomus en g/100g*

<i>Harina de H. plecostomus</i>	
<i>Humedad</i>	0.98±0.21
<i>Cenizas</i>	14.90±0.40
<i>Grasas</i>	6.37±0.01
<i>Fibra</i>	0
<i>Proteína</i>	76.67±0.22
<i>Carbohidratos</i>	1.09±0.54

### Harina H. plecostomus



*Figura 3- Composición porcentual de harina de H. plecostomus de forma gráfica y tabular en base seca, se observa que la fibra es prácticamente inexistente.*

En la figura 3 se puede apreciar que los componentes que le siguen en importancia a la proteína son los lípidos y los minerales tal como lo menciona Arroyo Damián, (2013) se debe a que en la formulación se involucra también la parte ósea del pez, lo que repercute en su composición final.

Con la información generada con los análisis proximales se llevó a cabo la formulación por el método de cuadrado de Pearson, para tal método es importante llevar a cabo un ajuste a un valor conocido de proteína, en nuestro caso, la dieta comercial con la cual será comparada los alimentos es del 32% apta para el crecimiento del pez, por lo que se procedió a buscar los datos de harinas que complementaran la dieta. Finalmente se encontró que las harinas de germen de trigo y soya son las que tenían los niveles óptimos para complementar el balanceo de los ingredientes (Pernía & Santana, 2015).

Con este método numérico se formularon 4 dietas experimentales, con 20, 30, 40, 50% de inclusión de harina de chaya en las mismas. Es importante destacar lo obtenido en los análisis proximales y que coincide con lo expuesto previamente por



otros autores, la cantidad de carbohidratos, este factor es inicial para dar estabilidad a los alimentos. Ante estos valores es crítico usarlo en alimentos acuícolas ya que no garantiza que los alimentos mantengan la estabilidad durante el almacenamiento y sobre todo en el ambiente acuático.

Aunado a esto y como se muestra en la tabla todas las dietas experimentales se suplementaron con las vitaminas óptimas para la especie, se realizó un cálculo en el cual se tomó nutriente esencial el ácido ascórbico sin obviar los niveles de treonina que son también fundamentales para la conservación de una correcta estabilidad fisiológica (Corredor A.S. and M.A. Landines, 2009; Gao et al., 2014). Nguyen & Allen Davis (2009) lo utilizaron como pivote para el posterior cálculo matemático de los nutrientes, el procedimiento algebraico se muestra en los anexos. También se decidió mantener fijas las proporciones de la harina de *plecostomus* y de soya, esto con dos finalidades, (1) para que al final como los ingredientes con mayor impacto económico no repercutan en los costos finales y (2) porque repercuten en la densidad de los alimentos (Silva et al., 2015).

Las dietas formuladas se elaboraron, haciendo una premezcla de menor a mayor en proporción de harinas y combinando con la premezcla vitamínica. Posteriormente se agregó agua a 80°C y se realizó una homogenización hasta obtener una masa la cual se manejó hasta obtener, estructuras delgadas y alargadas. Tras su secado se homogenizaron hasta obtener pellets pequeños para su posterior análisis de propiedades funcionales y físicas.

*Tabla 4- Composición y formulación de las dietas experimentales.*

<b>Ingredientes</b>	<b>20 %</b>	<b>30 %</b>	<b>40 %</b>	<b>50 %</b>
<b><i>H. plecostomus</i></b>	5.4	5.4	5.4	5.4
<b>Soya</b>	8.5	8.5	8.5	8.5
<b>Germen Trigo</b>	23.99	35.9	47.98	59.97
<b>Chaya</b>	62.52	51.3	40.14	28.95

<b>Minerales y Vit</b>	0.025	0.025	0.025	0.025
<b>Composición</b>				
<b>Cenizas</b>	8.53	5.53	4.9	7.06
<b>Humedad</b>	7.323	4.994	4.494	5.251
<b>Proteína</b>	31.97	32.03	32.08	31.98

Los análisis proximales mostraron además que en efecto se trataban de dietas isoproteicas y que, de acuerdo, a lo encontrado estábamos seguros de que no habría un desequilibrio nutricional entre tratamientos. Lo que puede repercutir en la tasa de crecimiento y en la maduración sexual de los organismos (E. Cabral et al., 2013).

La tilapia es una especie con tendencia a ser herbívora y alimentarse en la superficie de las aguas, lo que está relacionado con su origen de un sistema hídrico lótico, por lo que las propiedades funcionales del alimento deben responder a tales características (El-Sayed, 2006).

*Tabla 5-Propiedades físicas de los alimentos con su desviación de estándar, P/g; pellets por gramo, D; diámetro del alimento, L; longitud del alimento, %F; porcentaje de finos, Th; tiempo de hundimiento.*

<b>Dieta</b>	<b>P/g</b>	<b>D</b>	<b>L</b>	<b>%F</b>	<b>P</b>	<b>Th</b>
<b>20</b>	<b>37.33±0.58</b>	<b>0.17±0.02</b>	<b>0.77±0.13</b>	<b>3.16±0.29</b>	<b>1.126±0.12</b>	<b>0.473±0.05</b>
<b>30</b>	<b>32.67±0.58</b>	<b>0.16±0.04</b>	<b>0.59±0.06</b>	<b>0.9±0.1</b>	<b>1.151±0.12</b>	<b>1.093±0.01</b>
<b>40</b>	<b>36.33±0.58</b>	<b>0.23±0.09</b>	<b>0.82±0.04</b>	<b>1.17±0.15</b>	<b>1.007±0.005</b>	<b>0.257±0.05</b>
<b>50</b>	<b>27.67±0.58</b>	<b>0.15±0.02</b>	<b>0.55±0.07</b>	<b>3±0.2</b>	<b>1.234±0.2</b>	<b>1.99±0.12</b>

Uno de los parámetros fundamentales incluso para el comportamiento de los organismos es el correspondiente a los pellets por gramo, ya que este parámetro

se relaciona con la agresividad de los peces. Mientras exista una mayor competencia por el alimento podemos estar seguros de que habrá una mayor cantidad de peces que están logrando ingerirlo. En caso contrario se presenta una estratificación de los organismos que en efecto se están alimentando, llevándose a cabo un crecimiento desproporcionado entre los individuos. En la tabla 5 se observa que la cantidad de pellet por gramo supero los 30 pellets por dieta lo que repercutirá positivamente en el correcto crecimiento de los organismos (Edmunds Nicholas B., McCann Kevin, 2016).

En el caso de la densidad y tiempo de hundimiento estos factores se relacionan con la posibilidad del pez de consumirlos mientras se encuentran en la superficie, como es su hábito natural, en las dietas experimentales podemos encontrar valores aptos para su consumo ya que como señalan (Edmunds Nicholas B., McCann Kevin, 2016) su aplicación en estanques es consumida tras apenas llegar a tocar el agua y enviar señales que son percibidas por las escamas sensibles de la línea lateral de los peces.

*Tabla 6- Propiedades funcionales de las dietas experimentales, IS; índice de solubilidad, IAA; índice de absorción de agua, FH; factor de hinchamiento, %PMS; porcentaje de materia seca.*

<i>Dietas</i>	<i>IS</i>	<i>IAA</i>	<i>FH</i>	<i>PMS</i>
20	0.46±0.04	3.246±0.06	3.217±0.008	68.607±0.853
30	1.29±0.03	2.857±0.017	2.929±0.081	59.063±0.764
40	1.49±0.04	3.536±0.103	3.537±0.022	65.63±0.529
50	1.56±0.05	3.749±0.048	3.763±0.012	57.81±0.548

Las propiedades funcionales de los alimentos van de la mano con su aplicación y es importante ver cómo responde a su inclusión en ambientes acuáticos, en el caso de lo mostrado en la tabla 6, el porcentaje de materia seca responde a la cantidad

de materia que permanece en el ambiente acuático tras una hora de inmersión, este parámetro tiende a ser crítico en dietas con altos niveles de inclusión de harinas vegetales, como es nuestro caso, ya que estas tienden a diluirse con mayor rapidez al estar en contacto con agua (Elizabeth Cruz-Suarez et al., 2006).

Además, el índice de solubilidad describe la estabilidad de los alimentos al encontrarse sumergido en un ambiente acuático, cuando su valor se acerca a 2 nos dice que el alimento tiende a perder estabilidad, sin embargo, como se muestra en la tabla 6 este valor nunca supero el 1.6 lo que suele señalar que existe una estabilidad adecuada para su uso. Además, existe una relación entre la manera de preparación del alimento y estas propiedades ya que si no se realizó correctamente la homogenización de la masa resultante de la inclusión de agua esto puede afectar la estabilidad de los alimentos (Elizabeth Cruz-Suarez et al., 2006; Escalera-Gallardo C., 2010).

Al momento de formular el alimento se tuvo la inquietud del efecto de incrementar la proporción de la harina de chaya en los alimentos. Sin embargo, en los resultados obtenidos no se observó un efecto dramático en la estabilidad de estos, lo que al final nos indica no hubo efectos negativos en la estabilidad tras la inclusión de la harina de chaya.

**La dieta del 20% fue la más exitosa dentro de las experimentales.**

### **Bioterio de crecimiento**

Al momento de adquirir los alevines presentaron una talla promedio de 1 cm, tamaño que los hacía inviables para someterlos a un bioensayo nutricional. Por lo tanto, se mantuvieron bajo condiciones de crecimiento, que corresponde a valores fijos de oxígeno disuelto y de temperatura. Para este fin se usaron bombas de aire, y calentadores automáticos (Stiller et al., 2015).

Durante espacio de tres meses se llevó a cabo alimentación tres veces al día hasta saciedad, con alimento de crecimiento balanceado. El monitoreo de los parámetros

ambientales se hacía una vez por semana y ante cualquier variación anómala el agua se recambiaba o había un desdoblamiento de la población hacia otra tina con condiciones ambientales.

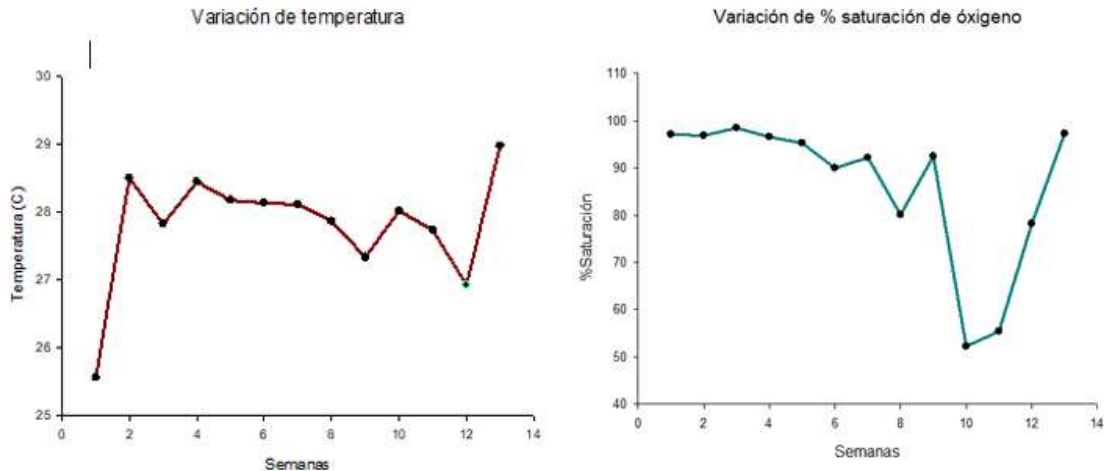


Figura 4-variación de temperatura durante el periodo de crecimiento.

En la figura anterior se puede ver como varió la temperatura durante las semanas del experimento, es importante destacar que se mantuvo por encima de la óptima para la especie cercana a 25 grados centígrados. Aunado a la temperatura se monitoreo la variación del porcentaje de saturación de oxígeno, este parámetro nos permitió además mantener la supervivencia de los alevines. Además es fundamental para el crecimiento de los organismos, e incluso como lo señala Gutiérrez y colaboradores en 2014 puede acarrear problemas en la integridad fisiológica de los organismos (Gutierrez De Paula et al., 2014; Qiang, Wang, He, & Xu, 2013).

Ambos parámetros se relacionan con las condiciones de crecimiento de los alevines, los requerimientos de la especie, incluso de una con una amplia plasticidad ambiental como es la tilapia, en este primer momento del experimento se mantuvo una densidad de población de 0.2 peces/Litro, esta concentración se fue reduciendo

hasta llegar a los 0.025 peces/Litro, esta densidad es óptima evitar problemas por espacio y competencia (Ibáñez, Castellanos, Rodríguez, & Alvarez, 2017).

Durante el proceso del bioterio se llevó a cabo dos desdobles de población hasta establecer alrededor de 3 tinas acondicionadas con 100 peces cada uno. Más adelante se llevó a cabo un monitoreo de los parámetros críticos de la especie, relacionados con los compuestos nitrogenados (Felipe Santoyo-Telles, José Mariscal-Romero, 2015).

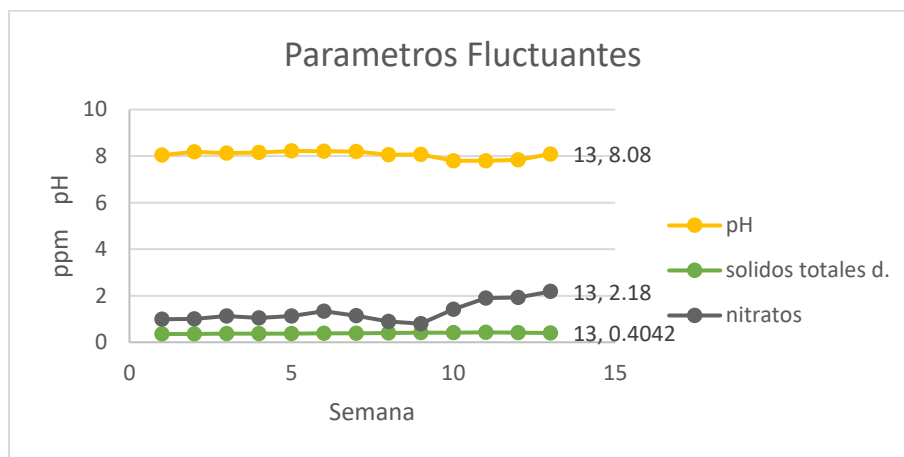


Figura 5-Comportamiento de Parámetros fluctuantes en los sistemas acuícolas.

En este caso como lo muestra la figura 5, cuando se vieron cambios en los parámetros, fue clara señal de cambio tanto en el agua presente o en una división de poblaciones. En el caso de nitratos estos se mantuvieron crecientes durante las últimas semanas debido en parte a que el organismo de los peces, ya cercanos a la época de post-reversión tiende a desechar mayor cantidad de compuestos amoniacales. Después 15 semanas de crecimiento con la comprobación del peso y la talla se procedió a iniciar el bioensayo.

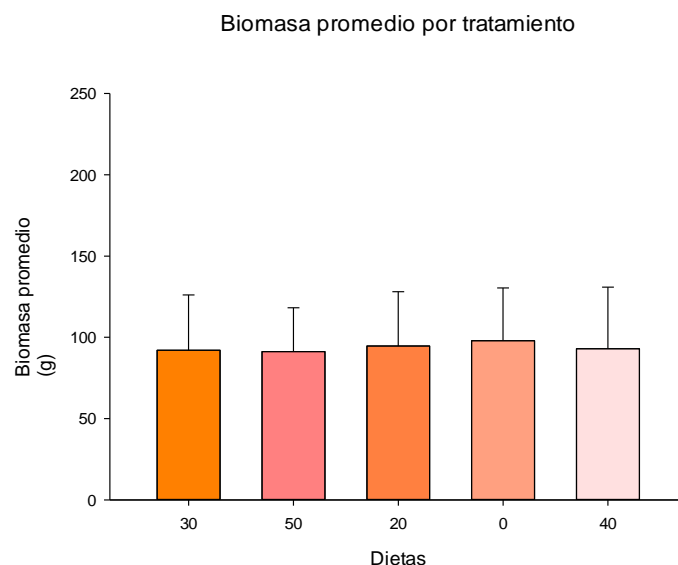
Otro de los parámetros que es importante destacar de esta etapa son los sólidos totales disueltos. Estos se relacionan con la cantidad de alimento que permanece disuelto en el medio acuoso, en este sentido los resultados indican, permanece más estable tras su inclusión en la dieta de los organismos. Es importante también

destacar que se puede deber a que se tratan de alimentos extruidos, y que son conservados con elementos hidrofóbicos para que permanezcan más tiempo estable. Estos datos son importantes ya que al momento de realizar el ensayo con el alimento experimental este puede ser un factor crítico entre tratamientos (Felipe Santoyo-Telles, José Mariscal-Romero, 2015; Kotrschal & Palzenberger, 1992).

### **Establecimiento del bioensayo.**

Tras los tres meses de aclimatación de los organismos, se llegó a la talla y peso óptimo para el inicio del experimento, así que se procedió a realizar la división completamente al azar de los peces entre los cinco tratamientos. Se colocaron 50 peces los cuales no mostraron diferencias significativas en peso, como se muestra en la figura 6 (Thongprajukaew et al., 2015).

En la misma figura se observa que la biomasa promedio de los peces se encuentra en la post-reversión cuando los peces muestran tendencias más estables de la alimentación entre organismos, pues en esa etapa el aprovechamiento de la proteína es más estable y tiende a enfocarse en el mantenimiento del organismo (Diana & Víctor, 2012).



*Figura 6-Biomasa promedio de tratamientos al inicio del bioensayo.*

Tras la división de los organismos se ajustó la alimentación en relación con un porcentaje de biomasa, teniendo como base el 2.5 %. La dosis se aplicaba en dos

ocasiones, la primera 8 am y la última a las 16 horas, con esto el tiempo entre comidas era el que ha sido reportado por otros autores (Damasceno et al., 2016).

## Parámetros biológicos

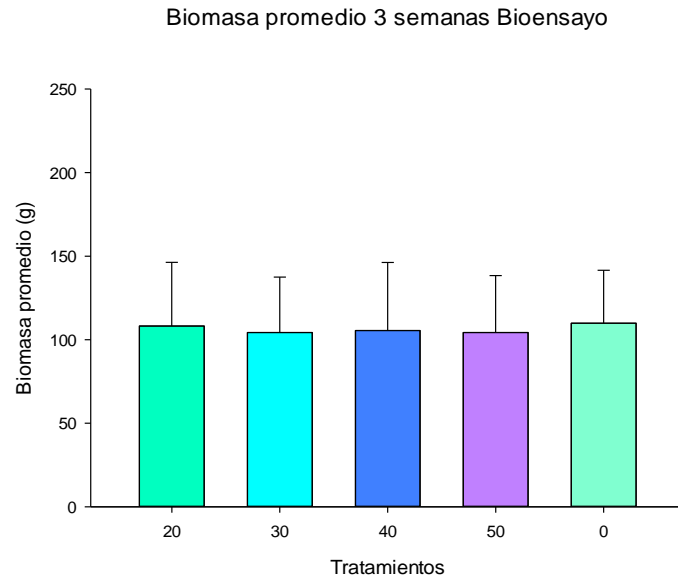


Figura 7-Biomasa promedio entre tratamientos

En cuanto al crecimiento de los especímenes entre tratamiento, la tendencia vista en las primeras tres semanas en cuanto a la biomasa promedio es que no existen diferencias significativas es decir no existe diferenciación entre tratamientos por biomasa.

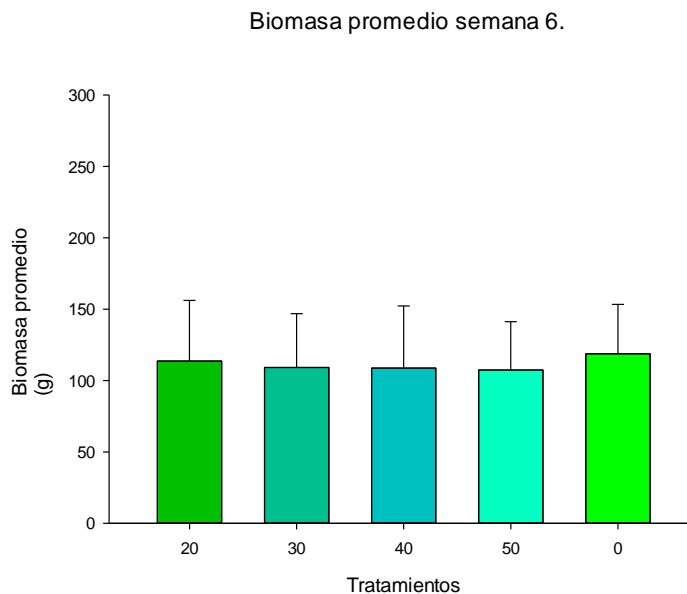


Figura 8-Biomasa de tratamientos semana 6



En la semana seis los tratamientos permanecen sin diferencias, sin embargo, esto no se traduce en el ambiente productivo ya que como se mostrará más adelante en cuanto a la ganancia en peso hay una diferencia evidente de masa ganada entre tratamiento como se muestra en la figura 9. Esto puede entonces presentar dos tipos de lecturas en primer lugar es que, aparentemente no existen diferencias estadísticas entre tratamiento más en segundo lugar existe una tendencia que no puede ignorarse al momento de su aplicación en campo que repercute en una mayor cantidad de alimento a suministrar (Harohau et al., 2016).

Además, como también se puede apreciar en la gráfica tan sólo dos tratamientos superan la biomasa promedio de la población, siendo el de 20 % y el control comercial, los datos que recolectaremos en el futuro ayudaran a comprobar esta tendencia o a desmentirla. La misma puede deberse aún a la posibilidad de que los peces aún estén en una etapa de adaptación a nuevas dietas (Kumar et al., 2009). Otro aspecto que se ha visto afectado es el comportamiento, el cual es modificado de acuerdo con las dietas suministradas ya que las cuales se alimentaron con una dieta comercial, (pellets más grandes y menor cantidad por gramo), ex comportamiento más agresivo a la hora de consumir el alimento (Sánchez-Muros, Sánchez, Barroso, & García-Mesa, 2010).

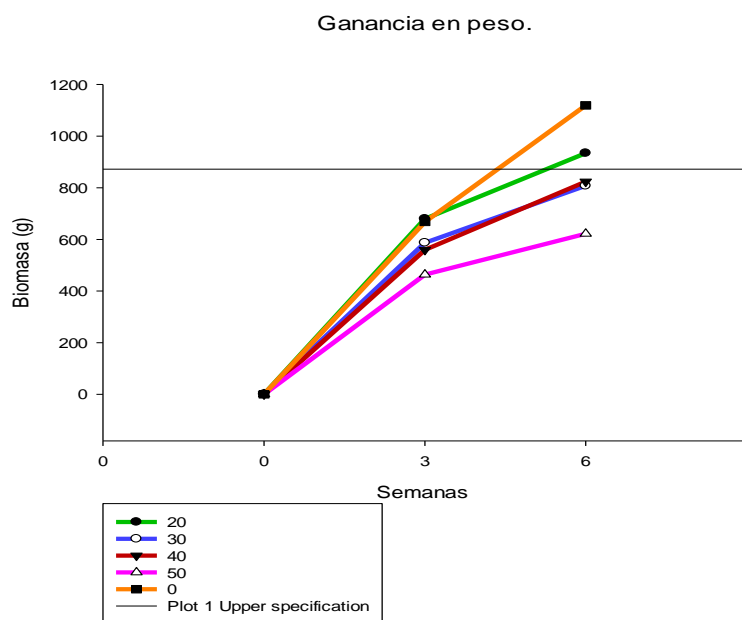


Figura 9-Tendencia de ganancia en peso por tratamiento 6 semanas.

El bioensayo siguió por el mismo tenor por espacio de otras 8 semanas hasta completar 14 semanas, tiempo en que los peces llegaron a una madurez fisiológica sexual. Para estas alturas el crecimiento entre los tratamientos Control, 20, 30 y 40% de harina de chaya (CM) no mostraron diferencias significativas esto quiere decir que las dietas mostraron éxito para llevar a los peces a un crecimiento óptimo de los especímenes. La dieta del 50 % en términos de crecimiento de biomasa, se rezagó desde un principio separándose de magnitud al final del experimento. Esta tendencia es similar cuanto se analiza el crecimiento promedio, aunque aquí el mayor peso se observó en el tratamiento 40 % (Figura, 11).

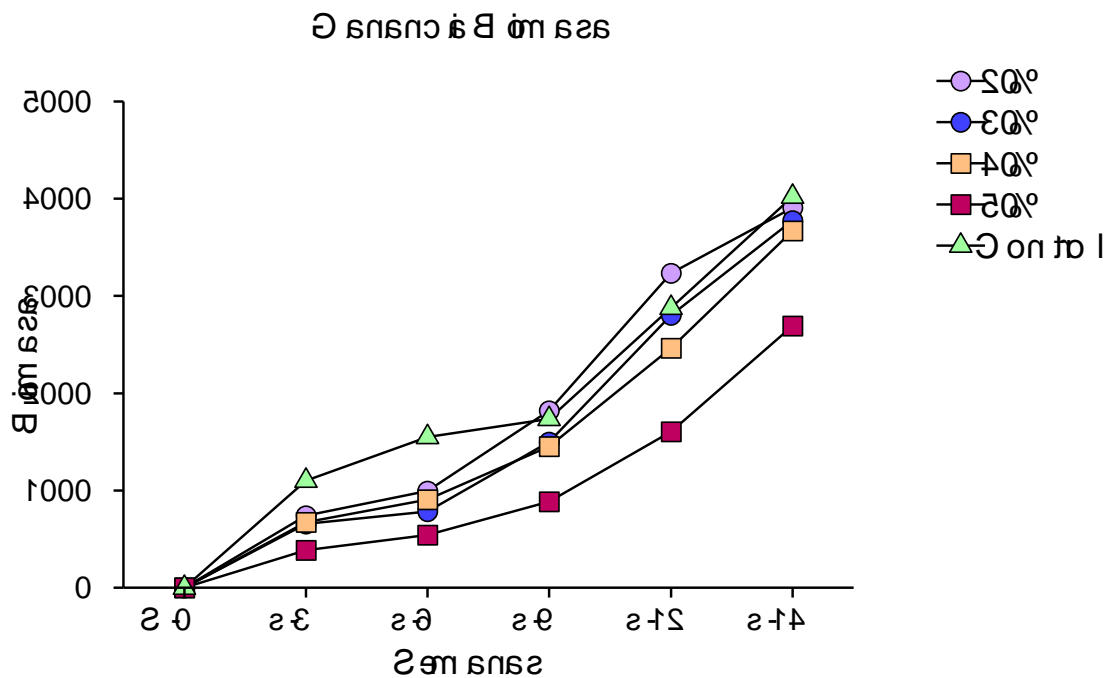


Figura 10-Ganancia en biomasa por semanas, S-0 semana inicial, S-3; semana tres, S-6; semana seis, S-9; semana nueve, S-12; semana 12, S-14; semana 14 y la ganancia de biomasa.

Así como se ve en la gráfica 10 las dietas del control y del 20 % de inclusión de chaya mostraron el crecimiento más elevado en cuanto a biomasa, mientras que los tratamientos de 30 y 40% durante las últimas semanas parecen empatar el crecimiento de las dietas que desde un principio lograron ser más asimiladas por el

organismo del pez. La dieta del 50% en términos de crecimiento de biomasa sin embargo se rezagó lo que se ve reflejado en la línea asíntota de la gráfica.

Tal como lo señala Abdel Tawwab (2010) en sus estudios con alcaravena, ginseng y té verde como especies con usos medicinales, bajas inclusiones de estos ingredientes parecen ser más exitosas que el uso excesivo o cercano a la saturación de estos.

Además de harinas vegetales se han usado algunas alternativas proteicas como el gusano *Tenebrio molitor*, el cual demostró efectos positivos, pero no concluyentemente superiores a lo visto en su ausencia (Panini et al., 2017; Piccolo et al., 2017).

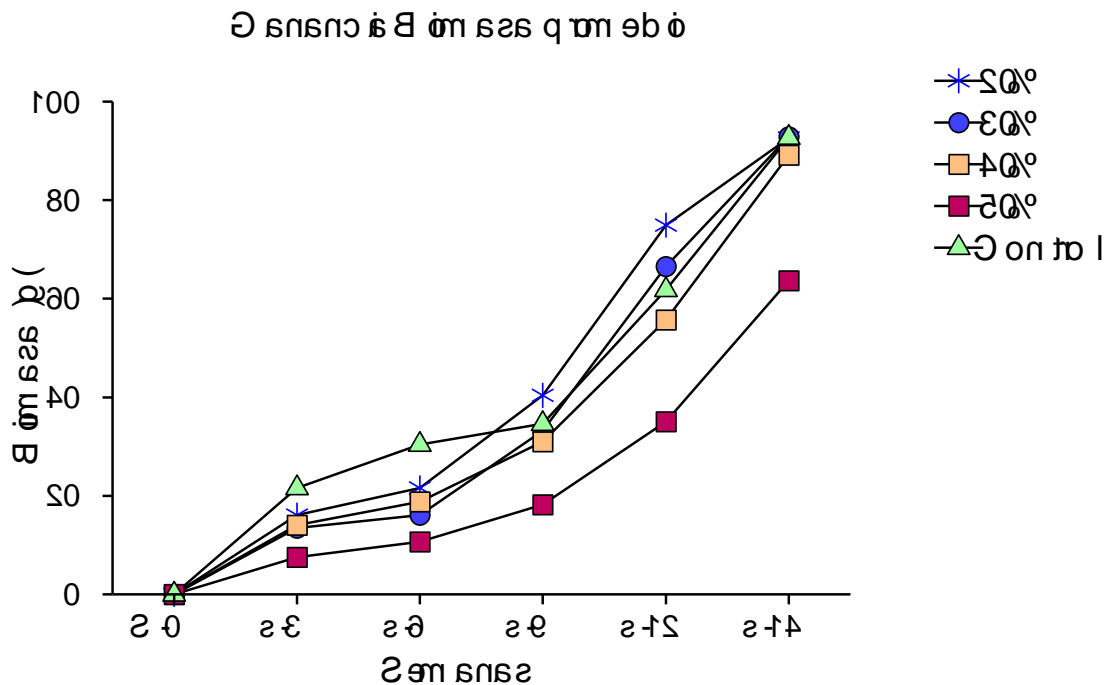


Figura 11-Ganancia Biomasa promedio por semana, S-0 semana inicial, S-3; semana tres, S-6; semana seis, S-9; semana nueve, S-12; semana 12, S-14; semana 14 y la ganancia de biomasa.

En cuanto al crecimiento promedio es importante decir que el mayor peso de individuo se observó en el tratamiento 40 %. Al mismo tiempo el crecimiento de los organismos en este rublo igualmente se observó una tendencia en los tratamientos

de control, 20, 30, 40 y 50 % a empatarse tras 14 semanas de aclimatación a las nuevas dietas.

*Tabla 7-Índices biológicos, Harina de chaya en el alimento (CM), Tasa de crecimiento específico (SGR), peso final (FW), Ganancia en peso (WG), Alimento suministrado total (TFI), Tasa de crecimiento diario (DGR), Tasa de ganancia en peso (WGR), Tasa de conversión alimenticia (FCR)*

<b>CM</b>	<b>SGR</b>	<b>FW</b>	<b>WG</b>	<b>TFI</b>	<b>DGR</b>	<b>WGR</b>	<b>FCR</b>
<b>20</b>	0.378	7138	3909	28718.550	21.522	60.484	10.675
<b>30</b>	0.308	6878	3776	27758.850	17.602	47.037	12.616
<b>40</b>	0.298	6695	3669	28294.875	16.659	45.144	13.588
<b>50</b>	0.184	6526	2694	29225.700	10.737	25.891	21.775
<b>0</b>	0.365	7463	4020	31004.400	21.854	57.737	11.350
<b>P ≤</b>	0.0125	$1.21 \times 10^{-10}$	$3.68 \times 10^{-7}$	$2.04 \times 10^{-11}$	0.2762	0.1054	0.1517

### **Tasa de crecimiento específico**

La tasa de crecimiento mayor en los peces se encontró en la dieta control. Siguiéndole las dietas de 20, 30 y 40 % y con una rezagada actividad de la dieta del 50%. Estadísticamente aplicando una prueba ANOVA de una vía se determinó (con un valor de significancia  $P \leq 0.01$ ) que existe diferencia significativa entre tratamientos.

Según lo señala Azaza en 2015 la inclusión de harinas vegetales no afecta el crecimiento de los organismos, incluso a niveles altos no hay afectaciones a la tasa de crecimiento. Sin embargo, lo más interesante de lo encontrado en esta investigación es que las altas inclusiones de almidones en las dietas pueden derivar en crecimiento incluso en oposición al alto nivel de proteína (Azaza, Khiari, Dhraief, & Aloui, 2015).

En nuestro caso es importante destacar que la tendencia fue a que los valores de tasa de crecimiento disminuyen conforme se aumenta el nivel de inclusión, tal como

lo señala Abdel Tawwab en 2009 un dato relevante a la hora de sustituir plantas medicinales en dietas acuícolas es que a niveles menores de sustitución parece que hay un mejor efecto en el crecimiento y en el estado de la salud de los peces. En este caso la chaya parece estar teniendo su mejor implementación en los niveles más bajos de 20 y 30% de inclusión, tal como se puede observar con la sustitución de otras plantas como alcaravea, ginseng y té verde (Abdel-Tawwab, 2015; Abdel-Tawwab, Ahmad, Seden, et al., 2010; Ahmad & Abdel-Tawwab, 2011).

### **Ganancia en peso**

La ganancia en peso también mostró una superior ganancia en la dieta control mientras que de cerca le sigue la dieta del 20%. Es importante decir que de nuevo la prueba ANOVA mostró que existieron diferencias significativas, lo que demuestra que las dietas mostraron una tendencia discordante en cuanto el crecimiento de las tilapias.

La ganancia en peso es otro factor decisivo para la adopción de una dieta en la industria acuícola, así por ejemplo, Deng en 2017 utilizó la remolacha por su alto contenido de almidones y proteínas, lo que observaron es que la inclusión de harinas vegetales no generó desordenes de crecimiento, salvo en aquellas en que su incremento no fue acompañado de condiciones ambientales adecuadas (Deng, Wang, et al., 2017).

En nuestro caso la chaya en altas concentraciones parece deprimir el crecimiento de los organismos sin impedir que el organismo siga presentando señales claras de seguir creciendo, dato que también se complementa con lo visto en investigaciones previas, donde la inclusión de nuevas dietas genera crecimiento menor a lo esperado cuando se usan dietas estándar (Abdul Malik, Illahi Bus Kalhor, & and Hameeda Kalhor, 2014).

### **Conversión alimenticia**

La conversión alimenticia no mostró diferencias significativas entre tratamientos en la prueba ANOVA de una vía con  $P \leq 0.05$ , sin embargo, fue interesante ver que el

valor máximo de conversión alimenticia se encontró en la dieta del 50% es decir, esta necesitaba una inclusión mayor de alimento para lograr un correcto crecimiento. En ese tenor la dieta del 20% mostró un menor nivel y, por lo tanto, es considerada la más exitosa, comparando a cantidad de alimento consumido y el crecimiento alcanzado.

Según lo encontrado por Valente en 2011 valores superiores a 2 se consideran exitosos, en nuestro caso todos se encontraron muy por encima de estos valores, es decir a pesar de que el crecimiento, sobre todo en dietas con alta concentración de chaya no es el mejor, se siguen presentando valores de tasa de conversión superiores a lo visto en peces silvestres, por lo que el cultivo y la suplementación con harinas vegetales no es descabellado sobre todo en peces con tendencias herbívoras (Valente et al., 2011).

También debe rescatarse la razón por la cual usar chaya, pues se considera por sus altas propiedades benéficas como un posible probiótico en la industria acuícola, así Telli en 2014 probaba que la tasa de crecimiento no se ve afectada por dosis excesivas de inclusión de probióticos, sino que a bajas concentraciones estos parecen tener una respuesta igual en comparación a concentraciones mayores. En nuestro caso la chaya parece funcionar mejor a bajas concentraciones (Telli et al., 2014).

### **Peso final**

El peso final también mostró diferencia estadística entre los tratamientos (ONEWAY ANOVA  $P \leq 0.001$ ), lo que además nos ayuda a esquematizar que existió una gran diversidad entre los tratamientos y sus pesos máximos. La dieta del 50% sigue mostrando un rezago con respecto a las demás, eso es evidente en este parámetro sobre todo teniendo en cuenta que este es el que tiene un mayor impacto en el ambiente productivo.

El peso final también habla de la voracidad de los organismos más avanzados sobre los pequeños, lo que se relaciona directamente con la competencia por objetos alimenticios derivado de un alimento muy denso. Es de destacar que las dietas más

uniformes en crecimiento fueron las de valores medios de sustitución de chaya, es decir, en estas la presencia de alimentos menos densos repercutió en la capacidad de los pequeños para alimentarse (Gilaad, Galil, Diamant, & Goren, 2017).

El uso de espirulina reportado por Gomes et al., (2012), no afecta las tallas máximas que pueden alcanzar los peces, depende menos de la formulación del alimento que de la capacidad del organismo de obtener un alimento que satisfaga sus necesidades alimenticias.

### **Alimento suministrado total**

En cuanto al consumo de alimento con valores sumamente discordantes entre tratamiento podemos observar que aquellas a las que se les suministró una mayor cantidad de alimento (50% y el control) presentan valores antagónicos de conversión alimenticia. Lo que demuestra el mayor éxito de una (el control) sobre la experimental.

La relación que guarda el suministro de alimento con el peso final y la misma densidad de los organismos es estrecha pues mientras que el peso final muestra el peso promedio de los peces y permite observar la discriminación entre individuos, el valor de TFI también nos señala que las propiedades del alimento como la densidad y pellet por gramo mueven la cantidad disponible de alimento y la cantidad que un pez puede aprovechar (García-Ulloa, Hernandez-Llamas, de Jesús Armenta-Soto, & Rodríguez-González, 2017).

Kowalska et al., (2012), señala que el uso de alimentos con lípidos vegetales involucra una saciedad mayor y, por lo tanto, una cantidad de alimento suministrado menor. Es decir, cuando el alimento se suministra a saciedad depende más de la cantidad aparente que llega a saciar al organismo. En nuestro caso el uso de una medida en base a la biomasa brindó un valor fijo que pudo afectar el comportamiento y el crecimiento de los organismos.

### **Tasa de crecimiento diario**

En cuanto al crecimiento diario, es una medida que nos permite tener en cuenta como el crecimiento se va dando a través del ciclo productivo. En el ensayo no se mostraron diferencias significativas entre tratamiento (ONEWAY ANOVA  $P \leq 0.05$ ) es importante destacar que existe una tendencia clave que se relaciona con el menor crecimiento de las dietas con mayor inclusión de chaya y es precisamente la menor velocidad de crecimiento diario conforme se va aumentando dicha inclusión.

### **Tasa de ganancia en peso**

Otro factor que no mostró diferencias significativas fue la tasa de ganancia en peso, esto estadísticamente, pero, como es el caso en todos los parámetros biológicos se puede ver una tendencia clara de rezago de las dietas experimentales con mayor inclusión de harina de chaya. La dieta del 20% incluso mostró una mejor actividad en este factor que la dieta control.

### **Se determinó el nivel óptimo de sustitución de manera matemática**

Para la determinación del nivel de sustitución se siguió el método matemático de maximización de una función matemática lo cual se hizo de acuerdo con lo encontrado en los valores de tasa de crecimiento específico y ganancia en peso. Los datos encontrados se ajustaron por medio de una función polinomial, misma a la que se aplicó una maximización matemática, dando como resultado dos niveles de sustitución análogos entre sí y que pueden ser fundamentales para futuras investigaciones (Ahmad & Abdel-Tawwab, 2011).



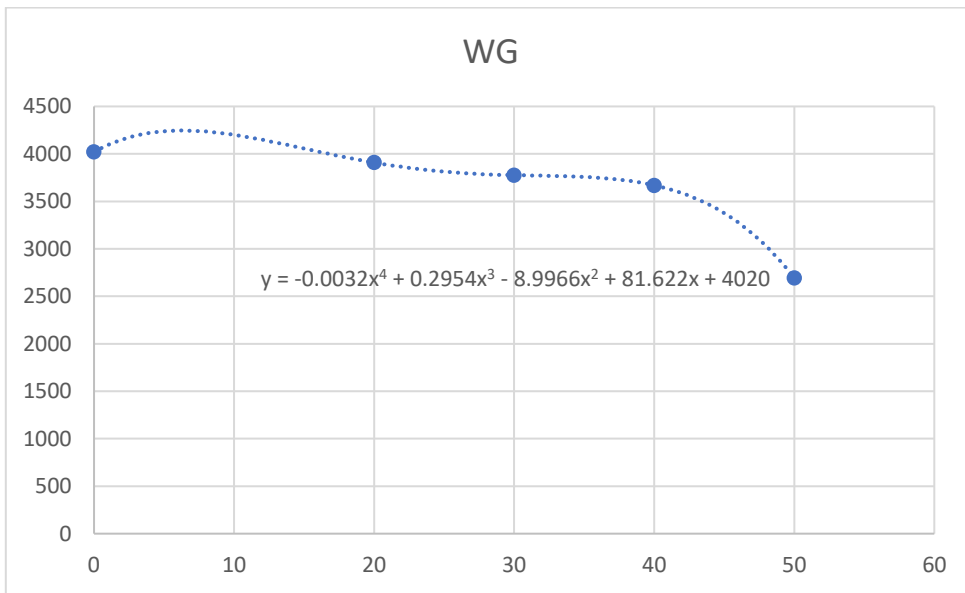
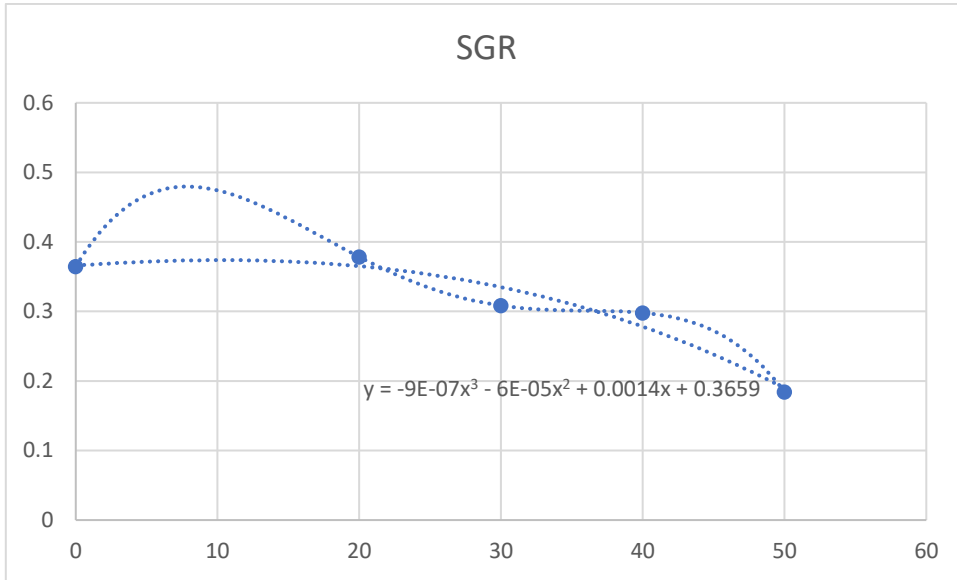


Figura 12- Logaritmo interpolante entre tasa de crecimiento específico, ganancia en peso y sustitución de chaya, en el eje de las x se muestra la sustitución de chaya en las dietas, contra el eje de la y la biomasa promedio, SGR, tasa de peso específico, WG, ganancia en peso.

Los cálculos matemáticos sitúan el nivel óptimo de sustitución en el 11% en el caso de querer lograr el nivel máximo de la tasa de crecimiento específico y en 9.78% si lo que se desea es el valor máximo de ganancia en peso.

Es decir, la chaya es un gran sustituto a bajas concentraciones y esto se reflejaría en la estabilidad de los alimentos y en la salud del organismo. Es importante destacar también que tanto para la tasa de crecimiento como la ganancia en peso los valores que encontramos de sustitución óptima pueden analizarse en futuros ensayos.

Como se mencionó antes los valores menores de chaya son los mejores, tal como lo señalan Mohamed, Traifalgar, & Augusto E Serrano, (2013) y Telli et al., (2014), valores menores parecen brindar al organismo mayores beneficios derivados del uso de plantas con compuestos medicinales u homeopáticos.

### Los índices somáticos señalan un desequilibrio energético.

Los índices somáticos se calcularon de acuerdo con lo expuesto por Liu et al., (2016), para tal finalidad los peces se sacrificaron, se desangraron para la obtención de sangre para pruebas de glucosa, los órganos pesados y observados con detenimiento, se conservaron en formaldehído al 10% y tras tres días en esa solución cambiados a alcohol al 70%.

*Tabla 8- Valores de los índices somáticos y desviación estándar de acuerdo a las dietas, Índice gonadosomático (IGS), Índice intestinosomático (ISI), Índice hepatosomático (IHS), Índice Viscerosomático (IVS).*

<i>Dietas</i>	<i>IGS</i>	<i>ISI</i>	<i>IHS</i>	<i>IVS</i>
0	0.711±0.34	5.260±1.15	2.301±0.53	7.991±1.63
50	0.914±0.25	3.504±0.74	2.075±0.64	6.932±1.59
40	0.764±0.45	3.678±0.74	2.000±0.41	6.472±0.81
30	0.796±0.69	4.170±1.29	1.790±0.22	6.645±1.78
20	0.703±0.51	4.682±0.81	2.588±0.65	8.665±0.70

## Índice gonadosomático

En el estadio reproductivo se presenta algo interesante, pues el tratamiento que muestra el número mayor de organismos sexualmente maduros es el de 50% mientras que el menor resulta ser el control, esto nos puede estar diciendo que en efecto el organismo expuesto a una dieta con mayor nivel de harina de chaya fue sometido a una presión metabólica superior lo que pudo obligarla a llevar a cabo un crecimiento superior de su aparato reproductivo (Arcos-Ortega et al., 2015).

De acuerdo con Piccolo 2017, el aumento paulatino del índice gonadosomático es prueba fehaciente de que hubo un desequilibrio energético, que condujo a peces que desarrollaron mayor nivel de hormonas sexuales, paso previo para el inicio de una maduración sexual. En la siguiente figura se esquematiza la relación de los tratamientos con el grado de maduración gonádica (Piccolo et al., 2017).

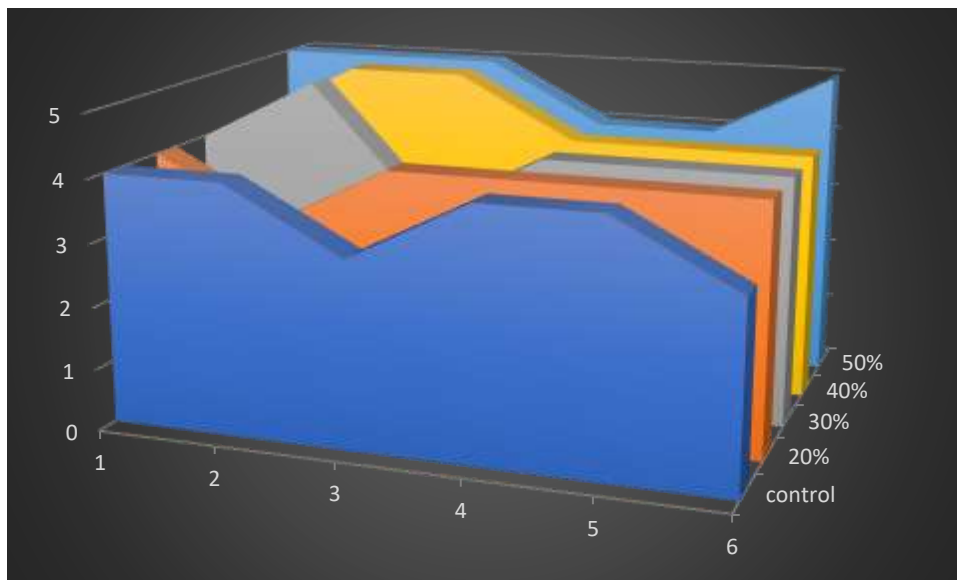


Figura 13- Tendencias de estadio maduración gonádica por tratamiento

Como se observa en los tratamientos con menor éxito en crecimiento existe un índice somático mayor y una maduración gonádica uniforme. Esto habla que en los niveles más crecientes de chaya existen desequilibrios alimenticios que se reflejan en la fisiología reproductiva de los organismos. Tal como lo explica Mewes en 2016

y Enes 2010, los órganos gonadales son de los más sensibles a los cambios alimenticios que empujan una mayor maduración sexual, tal como la inclusión de almidones (Mewes et al., 2016).

### **Índice hepatosomático**

Al igual que el anterior, este índice nos dice mucho de la cercanía del organismo a su primera reproducción, en este caso de nuevo la dieta del 50% mostro tendencias a una mayor madurez sexual en comparación a lo visto en otros tratamientos, lo que nos hace pensar que en definitiva el peso del estrés metabólico cayó sobre esta dieta, es decir, en los especímenes sometidos a mayor inclusión de chaya hubo una tendencia a alcanzar una madurez sexual de forma más acelerada (Thongprajukaew et al., 2015).

¿Qué nos dice un índice hepatosomático mayor? Según Azaza 2015, Rawles 2008, entre otros, es una primera señal que existe una acumulación energética en este tejido lo que indica un desequilibrio energético en las dietas que se vieron reflejados de manera indirecta en tal valor (Azaza et al., 2015).

Diversos investigadores señalan que un incremento del tamaño del hígado también señala una gradual adaptación a condiciones ambientales que empujan al pez a acumular energía de reserva como contrapeso a un constante gasto energético derivado de mantener la homeostasis interna, como sostiene Oliva-Teles (2012).

### **Índice intestinosomático**

En cuanto al intestino las dietas del 20% y el control mostraron valores más elevados, en el caso de los peces con tendencias herbívoras como la tilapia, su peso y longitud van relacionadas con la adaptación a la degradación de moléculas más complejas, como oligosacáridos en este caso además señala que hubo una inflamación que será comprobada con análisis histológicos posteriores (Brown et al., 2016).

El intestino es uno de los órganos en el que son más evidentes los impactos dietarios sobre el organismo, es el principal órgano donde los taninos causan daño como es el caso de la inflamación. De manera cuantitativa es el órgano donde se reflejan también cambios anómalos en composición lipídica y en absorción de nutrientes (Gao et al., 2014; Wassef, Wahbi, Saqr, & Saleh, 2016).

De manera cualitativa el hecho de que el intestino se encuentre inflamado puede verse en un valor alto del índice intestino somático. Lo que sin duda despeja dudas sobre cómo se estuvo comportando de manera fisiológica la dieta.

### **Índice viscerosomático**

Las vísceras y su relación con la parte comestible del pez se ven reflejado en el índice viscerosomático en este caso es interesante ver que las dietas más exitosas fueron en las que efectivamente hubo un mayor índice de vísceras, en la que es además interesante destacar que hubo una gran cantidad de tejido adiposo almacenado. Esto como una autentica señal de un desequilibrio energético, lo que se puede traducir como un crecimiento mayor y almacenamiento de reservas adiposas (Azaza et al., 2015; Mehrim, 2014).

Las dietas experimentales con mayor inclusión de harina de chaya no presentan diferencias significativas entre sus datos, pero confirman que en estas no existió un almacenaje de energía metabólico (Haidar, Petie, Heinsbroek, Verreth, & Schrama, 2016; Maas, Verdegem, Dersjant-Li, & Schrama, 2018).

Según lo enuncia Ren y colaboradores en 2011, la inclusión de dietas con altos contenidos de almidones se refleja precisamente en la capacidad del organismo de almacenar energía en forma de grasa subcutánea y en el hinchamiento de órganos internos que se reflejan menor carne disponible al consumo (Ren, Ai, Mai, Ma, & Wang, 2011).

## Medición de glucosa

En el caso de la medición de glucosa como se observa en la gráfica 14, la glucosa buscó estabilizarse en un valor normal entre tratamientos, lo que nos muestra que los peces se adaptaron a la dieta experimental a la cual fueron sometidas. Así por ejemplo las tilapias alimentadas con la dieta del 20% empezaron a expresar niveles normales de glucosa hacia mediados del experimento mientras que los individuos de las dietas de 30 y 40% hacia el final lo que claramente también se ve reflejado en la tendencia de alcanzar el crecimiento máximo logrado por la dieta control (Bartoňková, Hyršl, & Vojtek, 2016).

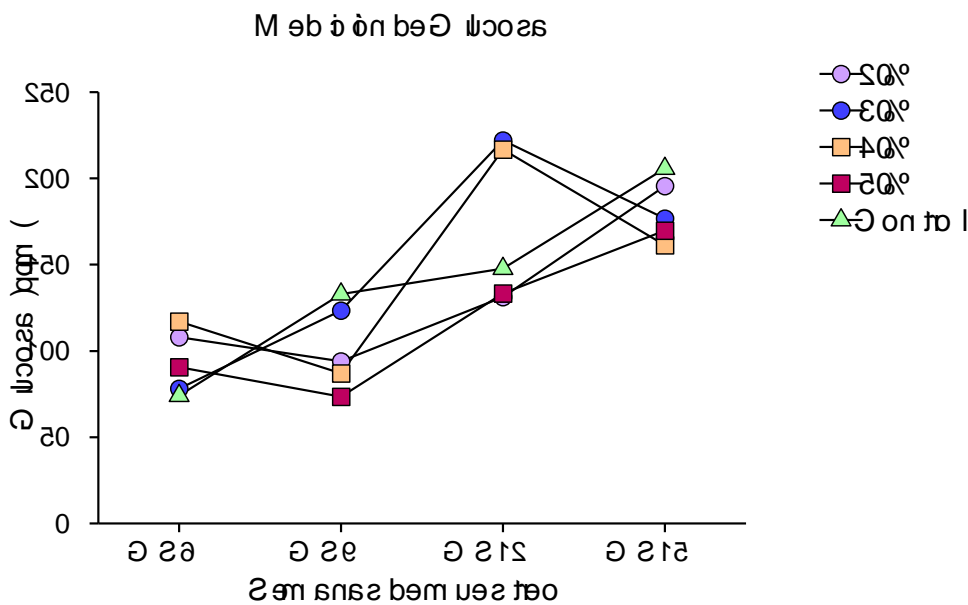


Figura 14-Comportamiento de la glucosa durante el bioensayo, GS6; glucosa a la semana 6, GS9; glucosa en semana 9, GS12; glucosa semana 12, GS15; glucosa semana 15.

## Factor de condición y tipo de crecimiento

El factor de condición es uno de los parámetros más importantes para revelar la tendencia de desarrollo de la especie, sobre todo en ambientes silvestres (Leyton,

2015; OK & AN, 2016). Sin embargo, en ambientes productivos existe también la correlación de crecimiento el cual se lee como una relación entre el crecimiento en talla y en biomasa, y el cual busca descifrar cómo se comporta el crecimiento, por ejemplo, si se está llevando de forma armónica, isométrico, o en forma anómala, alométrica desfasado entre la longitud y la biomasa (Leyton, 2015; Sebastián Ramos-Cruz, 2009).

En todos los tratamientos se observa tanto una tendencia al crecimiento como la correlación entre crecimiento que se lleva a cabo de forma isométrica, estos datos pueden servir para caracterizar los sistemas de acuicultura, como sistemas con condiciones ambientales propias para el desarrollo de los especímenes, mientras que la cantidad de alimento es consumida equitativamente entre los individuos por lo que su aplicación se está dando de manera equilibrada (OK & AN, 2016).

Si las condiciones ambientales y el crecimiento son equilibradas entonces podemos deducir que los índices de crecimiento pueden resultar positivos al final del experimento. Esto no quiere decir que las dietas estén funcionando de forma equitativa pues como se mencionó antes hay una posibilidad de que sólo se refleje de manera estadística pero no de forma real en el término productivo (Harohau et al., 2016).

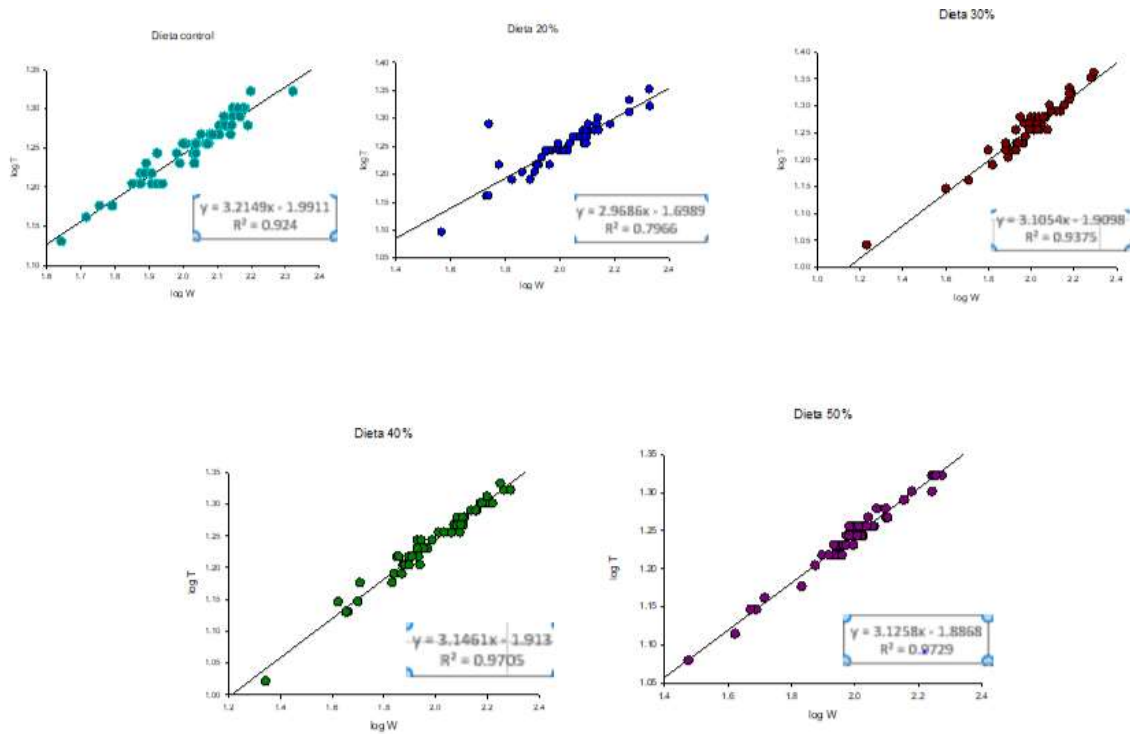
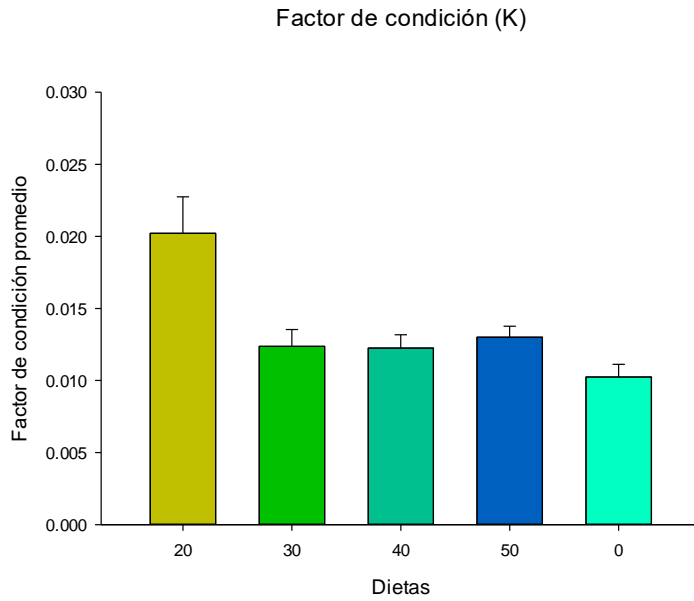


Figura 15- Relación logarítmica entre peso y talla, de cada una de las dietas.

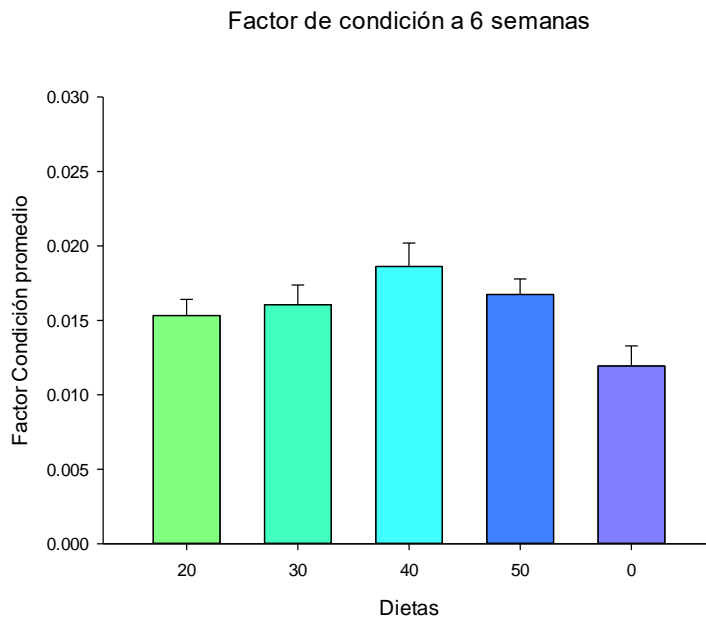
En la figura 15 se observa como la correlación entre el logaritmo de crecimiento de talla y biomasa se ajusta a valores superiores a 2.5 lo que se traduce como un crecimiento isométrico, como se mencionó antes, esto se relaciona con el éxito de la alimentación en los organismos, esta tendencia se repite en el siguiente periodo de muestreo en el cual la tendencia de crecimiento armónico se sigue presentando con igual tendencia (Sebastián Ramos-Cruz, 2009).

Ahora en relación con el factor de condición como se puede observar en la figura 16 este es superior a 0.01 lo que indica una tendencia al desarrollo del organismo, en nuestro caso este resultado ilustra que las condiciones de alimentación, ambientales y de hacinamiento son las indicadas para los peces, este factor junto con subsecuentes estudios estadísticos señalan que el pez siguió creciendo y con tendencias homologas entre tratamientos (OK & AN, 2016).





*Figura 16- Factor de condición promedio entre dietas semana 3, se muestran los niveles de sustitución de chaya en la dieta, 20, 30, 40, 50 y 0% de inclusión en el eje de las x, contra el valor del factor de condición.*



*Figura 17-Factor de condición promedio entre tratamientos semana 6, en el eje de las x se muestra el porcentaje de harina de chaya incluida en las dietas, 20, 30, 40, 50 y 0%.*

El comportamiento del factor de condición ha variado con el tiempo (figura 12 y 13) esto se puede deber a una mejor aclimatación de los peces a las nuevas dietas y a las condiciones ambientales dispares entre los tratamientos. Este factor, sin embargo, ofrece más luz sobre como los peces permanecen en crecimiento e incluso en los tratamientos con menor tendencia de crecimiento como es el de 50%, se observa que las condiciones para el crecimiento son mucho más estables y de tendencia a la estabilización.

Tanto en las primeras como en las últimas semanas se mantuvieron las tendencias de crecimiento y de factores de condición hacia el crecimiento.

*Tabla 9- Factor de condición y correlación de crecimiento, última semana.*

	20	30	40	50	Control
<i>K</i>	0.01637597	0.01272864	0.01366755	0.03700592	0.01506281
<i>Correlación</i>	3.0481	3.106	3.0824	2.7656	3.0769

## **Monitoreo de parámetros de calidad del agua**

¿Cuál fue el efecto de las dietas sobre la calidad del agua? En las subsecuentes series de datos recabadas durante el experimento se tratará de responder esta pregunta.

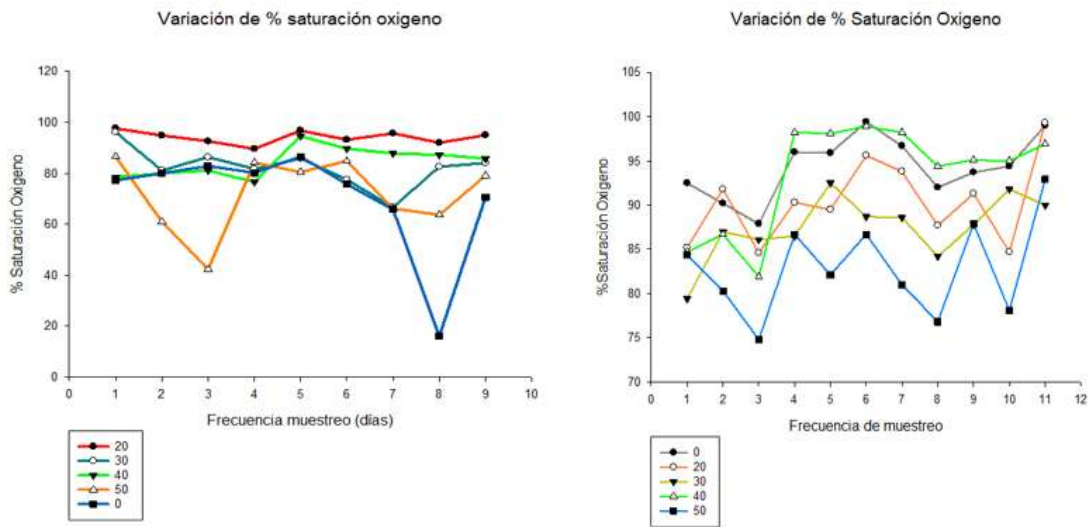


Figura 18- Variación del oxígeno en los sistemas en los dos primeros periodos de muestreo, se esquematizan los días de muestreo y el % de saturación de oxígeno disuelto.

En la figura 18 se esquematizan las variaciones de saturación de oxígeno durante los primeros dos periodos de muestreo, esta variable es importante en la sobrevivencia de la especie y según a lo observado ésta mantuvo un carácter fluctuante, esto se ha tratado de disminuir con relación a los muestreos que se llevan en los sistemas acuícolas. La necesidad de lograr una estabilidad en el oxígeno parece que ya se ha logrado en las subsecuentes semanas, sin embargo, es importante decir que en ninguno de los tratamientos se estuvo por debajo del 60% cifra crítica para la sobrevivencia de los individuos, por lo que no hay problemas biológicos (Fridman, Bron, & Rana, 2012; Harohau et al., 2016).

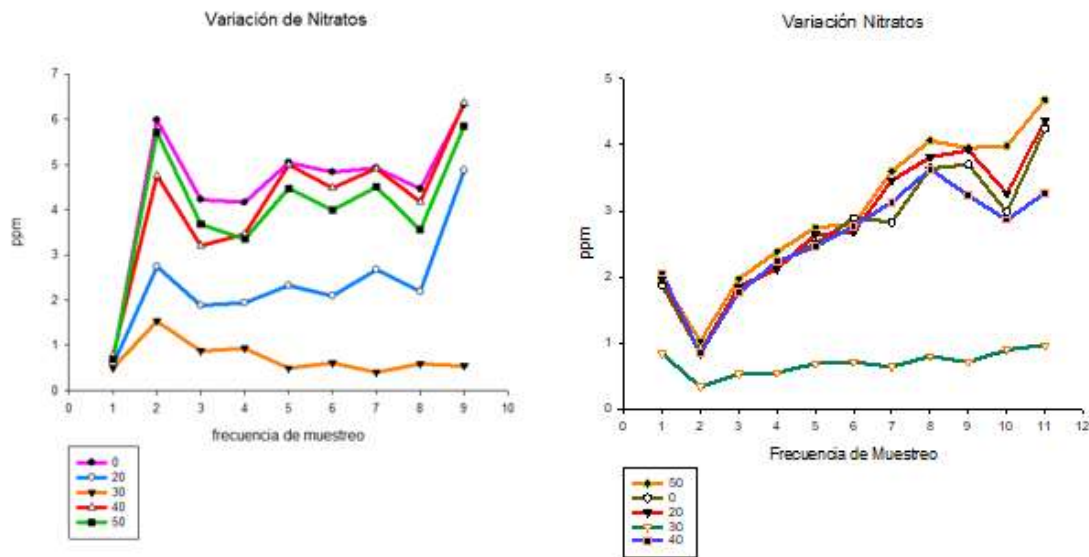


Figura 19-Variación de nitratos en los primeros dos periodos de muestreo, en el eje de las X se muestran los días de muestreo contra la concentración en partes por millón de los nitratos.

Los nitratos se relacionan con la descomposición de las proteínas en un ambiente acuático, en este caso podemos relacionar este resultado con las propiedades funcionales de las dietas, y la capacidad de disolución de las proteínas en el agua, sin embargo, es importante destacar que aquellas dietas con niveles más altos de chaya presentan propiedades de estabilidad menores que la dieta de 30%, por lo que podemos intuir que existe una relación chaya-trigo que resulta crítico para que los almidones logren estabilizar a los alimentos acuícolas, esta estabilidad además está relacionada con la temperatura del agua y con el grado de agitación del agua, es de destacar que el tratamiento de 30% es la que muestra una mayor turbulencia y también temperaturas y niveles de oxígeno mayores (Qiang et al., 2013).

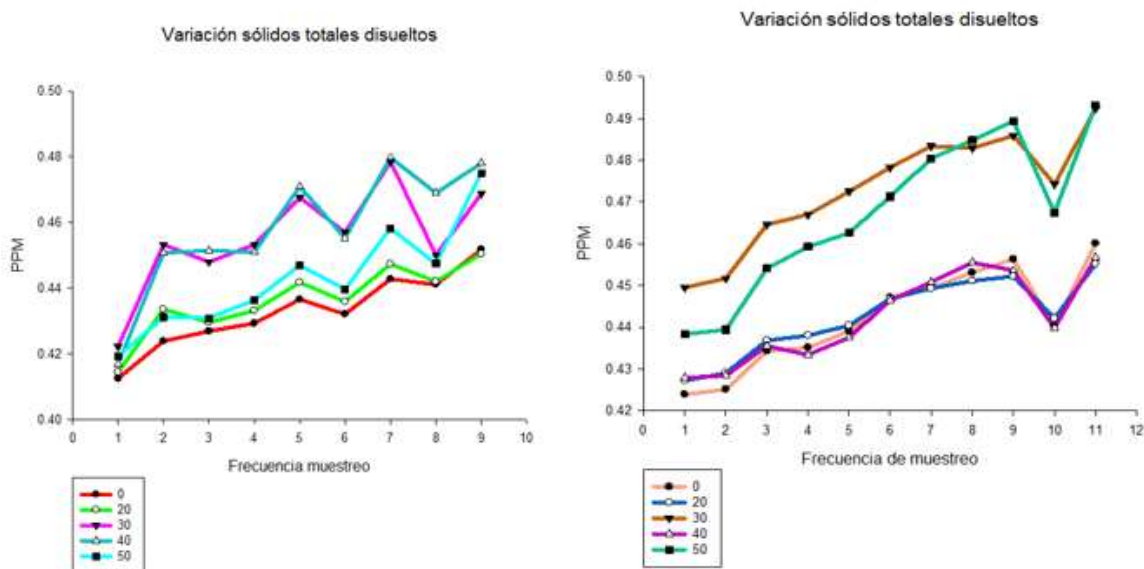


Figura 20- Variación de los sólidos totales disueltos en los sistemas teniendo los días de muestreo contra la concentración en partes por millón.

Aunado a lo anterior en la figura 20 se muestra como varían los sólidos totales disueltos, estos representan la cantidad de materia en disolución dentro de los sistemas y al igual que en la mayor parte de los parámetros ambientales hay niveles permisibles para la salud de los peces. En este caso como sucede con el oxígeno y con los nitratos no se llega jamás a los niveles críticos de la especie, sin embargo, existe diferenciación entre las dietas, lo que puede estar relacionado con la misma naturaleza paletizada de las mismas, que las hace más inestables en el ambiente acuático y con las propiedades de solubilidad de las dietas menos estables con la inclusión de harinas ligeras (Fridman et al., 2012), aunado a esto existe material de excretas que ante la turbulencia generada con los aireadores repercuten en la estabilidad del sustrato orgánico (Velazco Arce Javier Marcial de Jesús, Varela Raúl, & Partida José Rosendo, 2006).

Al mismo tiempo el amonio que es un compuesto directamente relacionado con la digestibilidad de los alimentos tiene una relación con las dietas con altos niveles de inclusión de vegetales, tal como lo menciona Zhao, Song y su equipo en el 2013, existe una mejor digestibilidad de las proteínas y aceites de origen vegetal. Por lo

que, podemos deducir que estamos ante una dieta con mejores niveles de digestibilidad con respecto a que tenga como principal, por no decir único ingrediente proteico. Al mismo tiempo y tal como sucede con lo expuesto en cuanto a los nitratos la estabilidad de los alimentos puede estar influyendo en el medio acuático (Zhao et al., 2016).

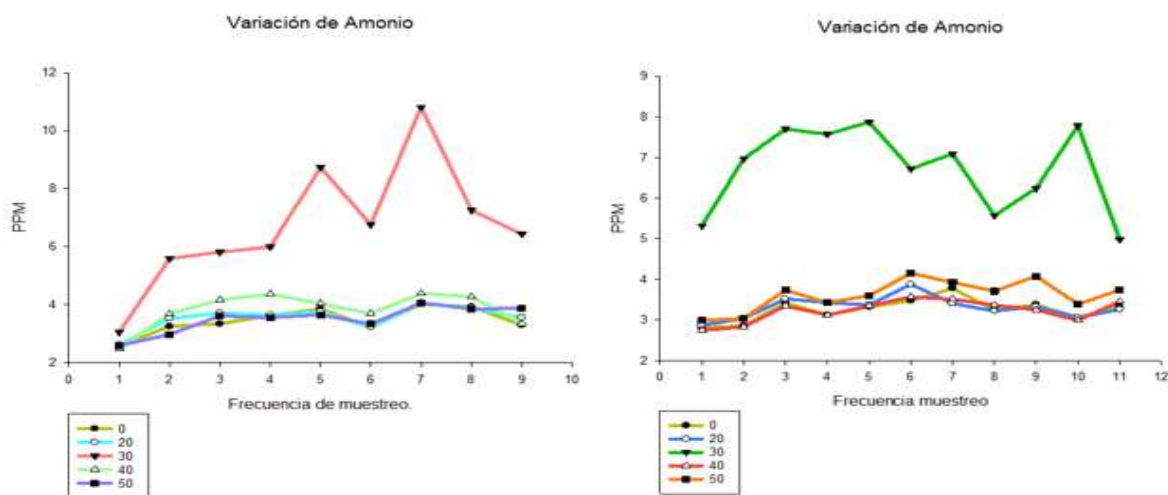


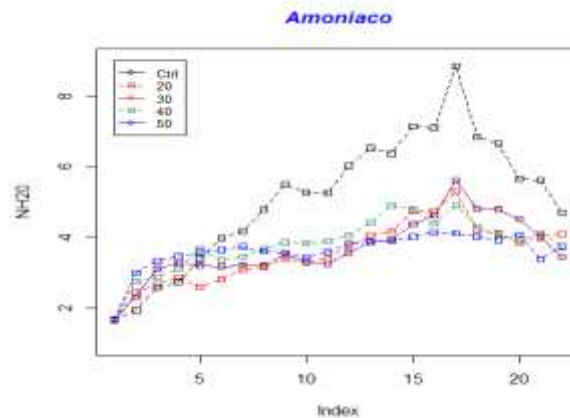
Figura 21-Variación de amonio entre tratamientos, se muestra la frecuencia de muestreo contra la concentración del amonio en partes por millón.

La relación entre la calidad del agua, el crecimiento y salud de los organismos es esencial en el proyecto ya que esto a la larga también debe considerarse para su aplicación productiva, por ejemplo, la dieta del 30% muestra una tendencia a ser menos estable en condiciones acuáticas y de turbulencia, esto puede traducirse en la práctica a sistemas mucho menos saludables, ya que aguas turbias promueven disminución de producción primaria. Lo contrario sucede con la dieta de 20% que ha demostrado una mayor estabilidad y que a la fecha puede tener efectos en la calidad del agua semejantes a la comercial, con una digestibilidad, basada en la harina vegetal, más óptima para las tendencias alimenticias de la especie (Boglione et al., 2014; Gutierrez De Paula et al., 2014; Qiang et al., 2013).

Cabe mencionar que la dieta se evalúa reológicamente y se comprobó que era una harina considerada ligera, es decir, no presenta capacidad aglutinante, lo que la hace poco susceptible a ser panificable.

Durante el resto del bioensayo los parámetros ambientales se monitorearon con Hydrolab y sin duda, fueron contrastantes entre tratamientos. En lo referente a compuestos nitrogenados se observaron variaciones entre tratamientos, así por ejemplo, el amoníaco presentó un comportamiento inversamente proporcional con el nivel de sustitución de chaya.

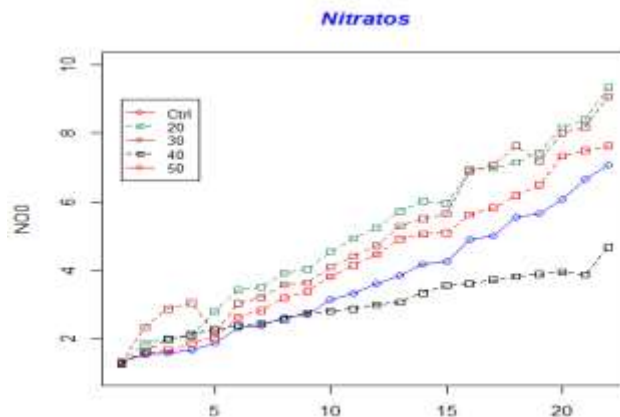
El agua de la dieta del 20% mostró niveles más altos de amoníaco, siendo el valor más alto encontrado en la dieta control. Esto nos dice que la salud de los peces en relación con este parámetro era mejor, por ejemplo, en aquellos que crecieron con la dieta del 30% la cual, siempre mostró un nivel menor en concentración de este compuesto (Fig. 11).



*Figura 22-Variación del amoníaco en el agua de los sistemas productivos, en un periodo de muestreo de 22 días, la concentración se muestra en partes por millón.*

En contraposición a lo visto en amoníaco, los nitratos presentaron una mayor concentración en dietas con niveles mayores de chaya lo que hacen pensar que guardan una relación directa con la completa y más eficiente digestibilidad de las dietas con inclusión de harinas vegetales. Pues en ese sentido los nitratos presentes

en el control (una dieta comercial balanceada) fueron los que mantuvieron concentraciones menores en relación con los demás.



*Figura 23-Variación de nitratos entre tratamientos en sistemas acuícolas, se presentan los 22 días de muestreo contra la concentración en partes por millón .*

El amonio guarda una relación más directa con lo visto con el amoniaco, sus niveles más altos siempre se encontraron en relación inversa con la concentración de chaya en la dieta. Las dietas con niveles incluso críticos de este compuesto fueron tanto la del 20% y el control que se supone mantiene en su formulación una mayor inclusión de harina de pescado. Mientras que las de 30, 40 y 50% mantenían niveles más estables de este compuesto

Como se mencionó antes, la presencia de estos compuestos se relaciona directamente con la completa digestibilidad del alimento por parte del organismo íctico. Lo que le da a la lectura de estos compuestos una mayor importancia en relación con los otros parámetros ambientales (Stiller et al., 2015; Z. Wang, Xu, & Li, 2013).

La temperatura se varió entre periodos de muestreo, esto con la finalidad de conocer cómo se veía afectada la estabilidad del alimento y la tendencia de crecimiento de la especie. De esta manera se varió la temperatura entre el rango de crecimiento de la especie, 22.5 a 27°C, lo cual debe afectar la capacidad del individuo para adaptarse a nuevas dietas de origen vegetal (Jobling, 1981).



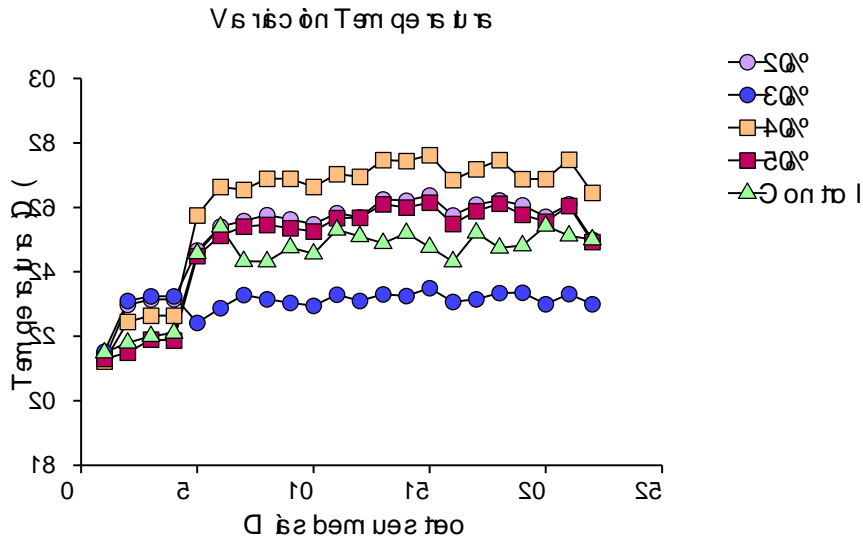


Figura 24-Variación de temperatura entre tratamientos por días de periodo de muestreo, la temperatura se presenta en grados centígrados.

De esta manera las temperaturas óptimas se presentaron alternativamente entre los periodos de muestreo. Lo que permitió más adelante dilucidar que existe una relación directa entre las temperaturas y el crecimiento de los especímenes. Así como que esta afecta el resto de los parámetros ambientales relacionados con la estabilidad de los alimentos como los sólidos totales disueltos (Torres, González, & Peña, 2010).

Los sólidos totales disueltos por su parte también mostraron un comportamiento discordante y que sin duda se relaciona con la estabilidad de los alimentos. La turbiedad del agua también fue evidente como se muestra en ambas gráficas, existe una relación entre la pérdida del nivel fótico y los alimentos con inclusiones mayores de harina de chaya. La estabilidad de los alimentos ante un menor nivel de almidones, macromoléculas de importancia para la estabilidad de los alimentos, se refleja en una pérdida de integridad en el agua, tal como señalan Srithongouthai y Tada en 2017, la concentración de nutrientes y la pérdida de transparencia también repercute en la salud de los organismos cultivados, algo que debe controlarse no solamente en ambientes productivos a gran escala como él lo plantea sino en producción modelo como la nuestra (Nhu et al., 2016; Srithongouthai & Tada, 2017).

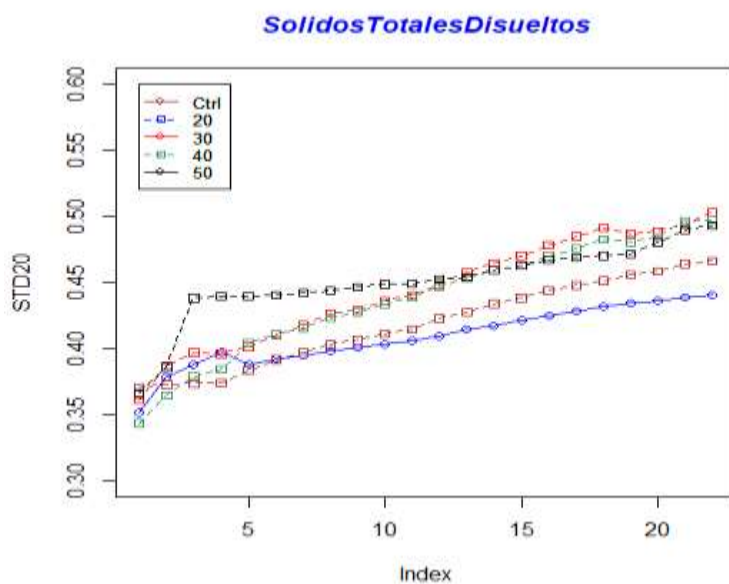


Figura 25-Variación de sólidos totales disueltos en los tratamientos, se presentan los días de muestreo contra la concentración de sólidos en partes por millón.

El mayor nivel de sólidos totales disueltos se observó en el tratamiento del 40% y tras 15 días de inclusión del alimento lo que sin duda, puede en el ámbito ya productivo impactar en la capacidad de un sistema para ser autosustentable (Viera, Courtois de Viçose, Robaina, & Izquierdo, 2015).

En ese orden de ideas los datos recabados en conductividad eléctrica, también ayudan a caracterizar el ambiente en el cual el pez creció, la dureza de las aguas desde un inicio en el experimento se fue acentuando con marcada tendencia en las dietas experimentales, lo que nos muestra que en efecto los desechos de estas dietas tenían mayor cantidad de compuestos amoniacales capaces de modificar este parámetro (Qiang et al., 2013).

En ambientes naturales la presencia de iones se relaciona con la capacidad de los peces para lograr un intercambio gaseoso adecuado, se debe monitorear por lo tanto la presencia de sales en ambientes productivos y de manera profiláctica controlarlo (Fridman et al., 2012).

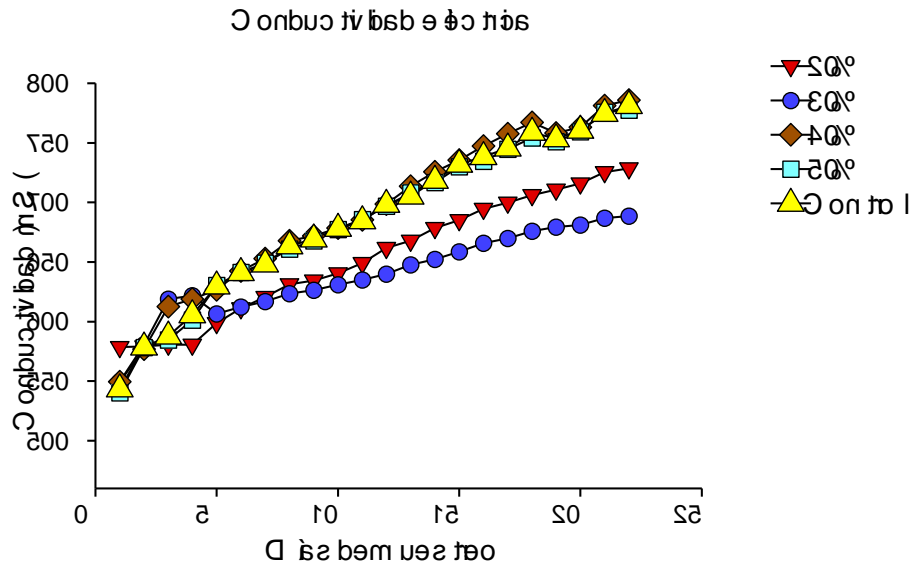


Figura 26-Variación de conductividad eléctrica en el agua de los tratamientos en los 22 días de periodo de muestreo, las unidades de la conductividad eléctrica se presentan en micro siemens.

El pH y la salinidad se distinguen por ser los parámetros más estables en los sistemas. Pues alrededor de los ciclos de muestreo son los parámetros que se mantienen equitativos entre tratamientos, claramente la misma definición de estos parámetros nos invitan a pensar efectivamente que se tratan de parámetros que son menos afectados por impactos externos y que se relacionan con las propiedades coligativas del agua (Qiang et al., 2013; L. Wang et al., 2017).

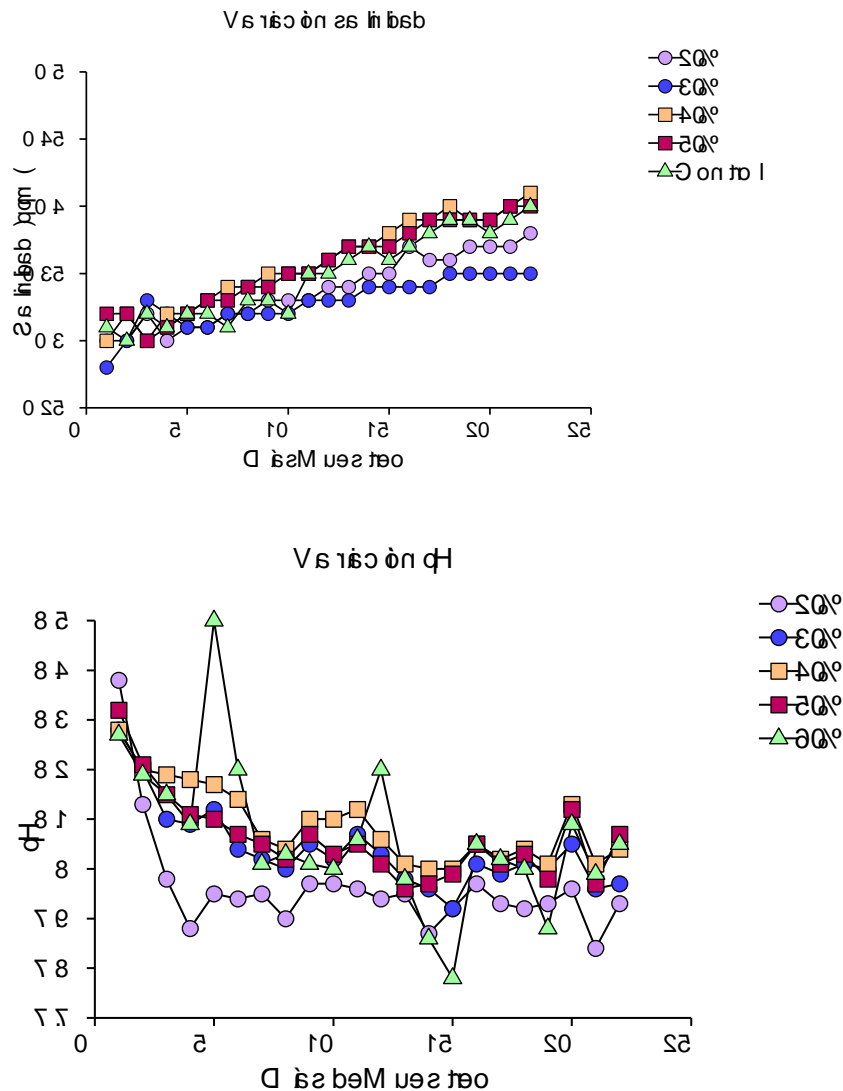


Figura 27-Variación de pH y salinidad entre tratamientos en los días que abarcan un periodo de muestreo, 22 días, la salinidad se presenta en partes por millón (ppm) y el pH en valores estándar.

Los cloruros fueron uno de los parámetros ambientales que resultó fuertemente modificado por las dietas, aun cuando los cloruros en el agua por lo regular no son considerados limitantes del crecimiento de los peces, en el estudio las dietas experimentales presentaron menores niveles de cloruros con respecto al control algo relevante pues los cloruros por lo regular se ven afectados cuando hay Bloom de fitoplancton.

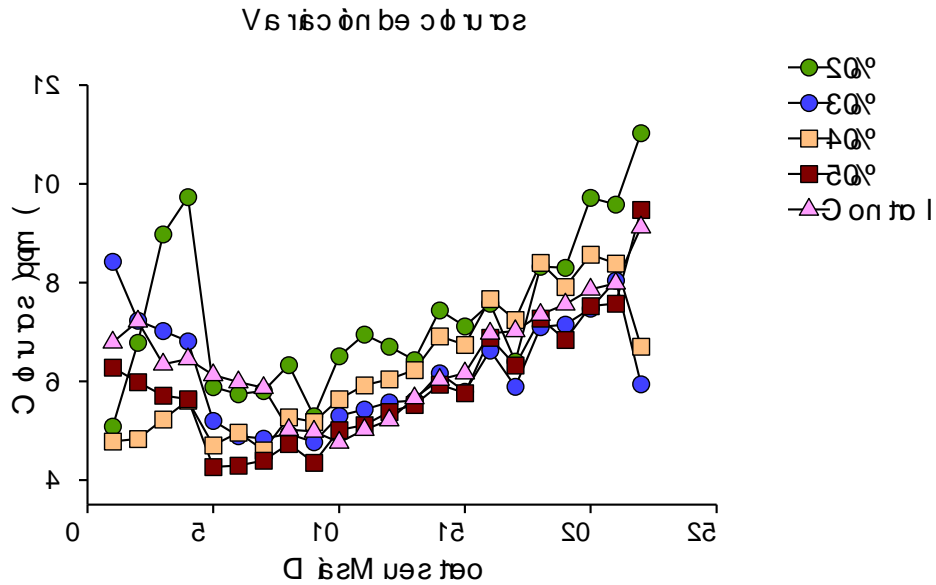


Figura 28-Comportamiento de variación de cloruros entre tratamientos, se muestran los días de muestreo y la concentración de cloruros en partes por millón.

Para evaluar el impacto de los principales parámetros ambientales en el crecimiento se llevaron a cabo análisis de correlación lineal, en estos ensayos se determinó que en efecto, muchos de estos parámetros impactan la velocidad de crecimiento de los organismos. Muchos de ellos derivados de la digestión de dietas (Kevin T. Stiller, Klaus H. Vanselow, Damian Moran, Guido Riesen, Wolfgang Koppe, 2017; Liu et al., 2016).

La temperatura como es bien sabido impacta de manera más directa al crecimiento, es decir, es un factor abiótico que está relacionado con el metabolismo y la biología del pez. En el caso de la tilapia con el cual trabajamos, pese a que la temperatura siempre se mantuvo dentro del rango de crecimiento de la especie, algunas diferencias en el crecimiento de los individuos pueden ser atribuidos a las variaciones de temperatura que se presentaban entre los estanques experimentales (Changgeng Yang, Ming Jiang, Hua Wen, Juan Tian, Wei Liu, Fan Wu, 2015; Qiang et al., 2013).

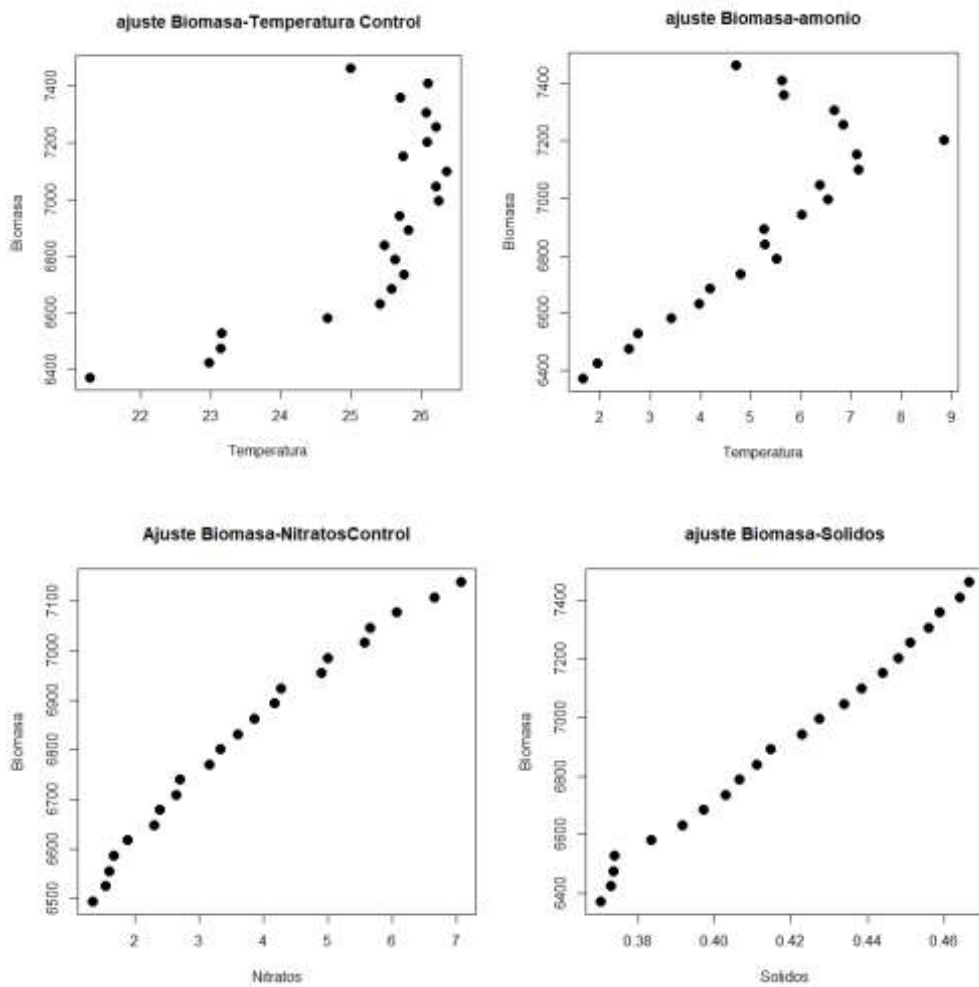


Figura 29-Regresión lineal entre ganancia en biomasa y parámetros ambientales: control, temperatura, biomasa, nitratos y sólidos.

Lo que nos muestra las gráficas de la figura 29 es que efectivamente existe una tendencia de relación directa entre la tasa de crecimiento y parámetros ambientales tales como los nitratos y los sólidos totales, esto es corroborado por la literatura, la cual señala que estos son esenciales para mantener un ambiente sano para el crecimiento de los organismos (Ibáñez et al., 2017; Jobling, 1981).

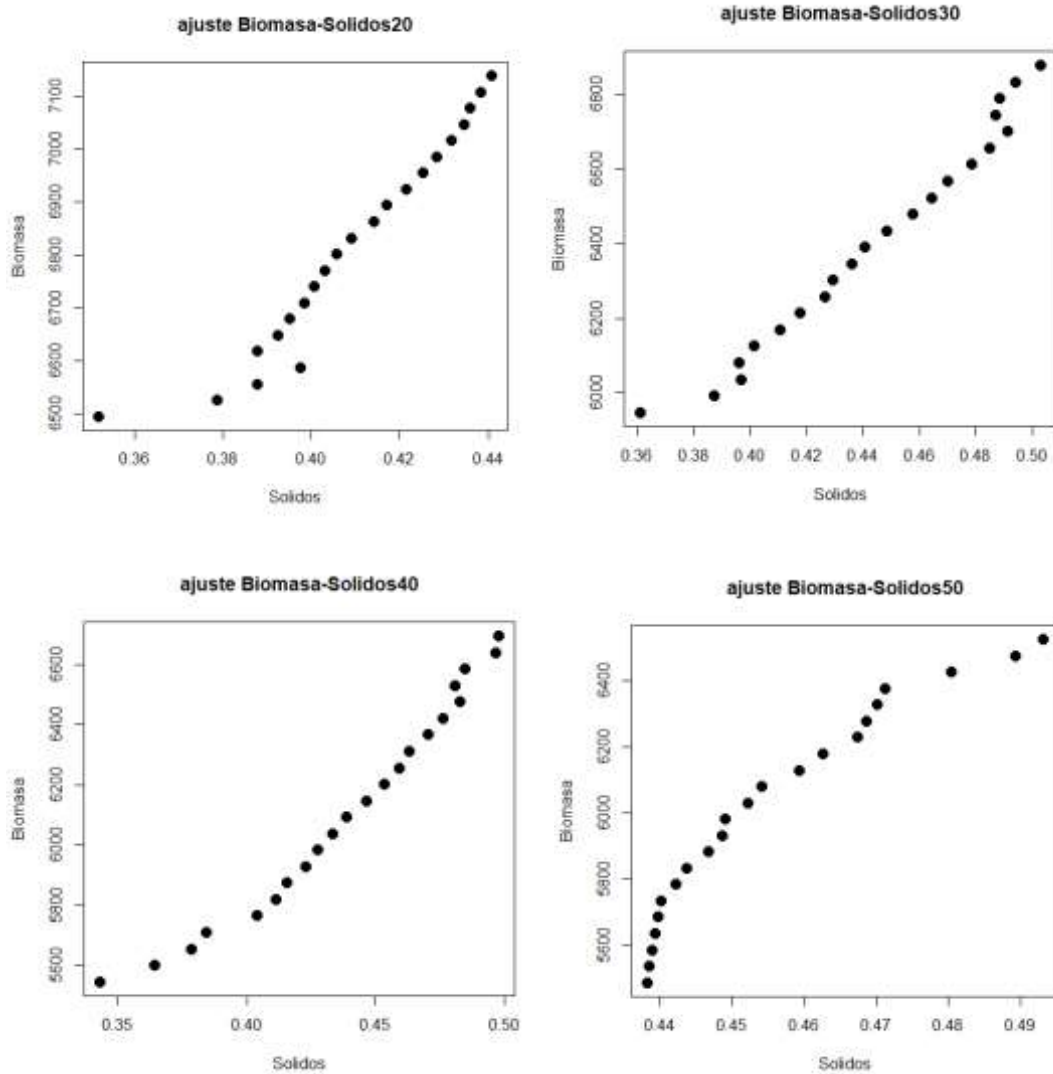


Figura 30-Regresión lineal de ganancia en biomasa, sólidos totales disueltos y dietas experimentales al 20, 30, 40 y 50% de inclusión de harina de chaya, la tendencia refleja una relación recíproca entre parámetros ambientales y ganancia en peso.

Tal como se vio en el control en el caso de las dietas experimentales los sólidos totales disueltos juegan un papel fundamental para el crecimiento. Es importante destacar que el tratamiento con mayor grado de dispersión con respecto a este parámetro es el 20%, la dieta más estable en el ambiente acuático. Lo que señala sin lugar a duda, que efectivamente el impacto de la estabilidad de los alimentos en el crecimiento es evidente (Stiller et al., 2015; Torres et al., 2010).

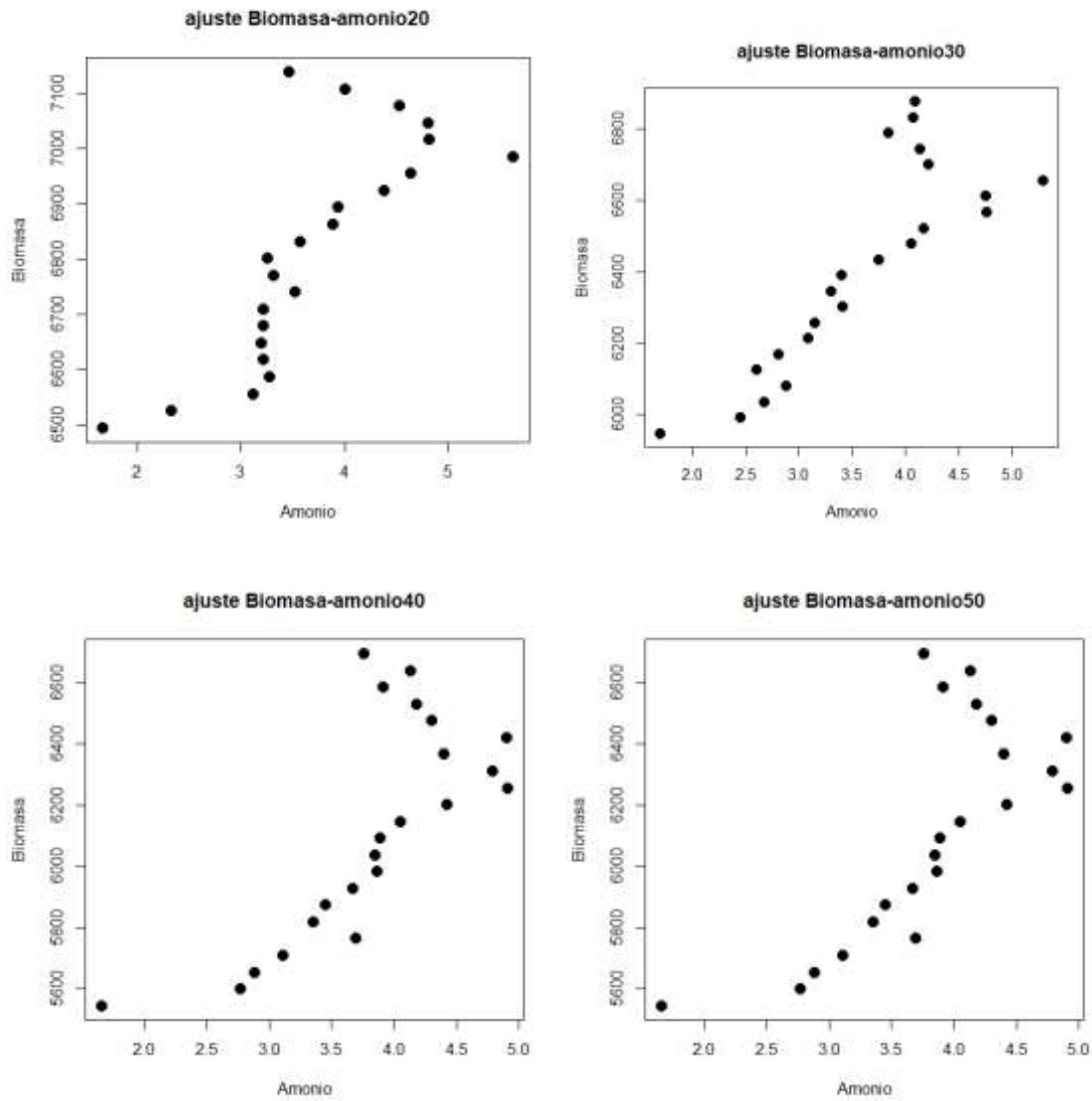


Figura 31-Relación lineal entre ganancia en biomasa y amonio en dietas experimentales, de izquierda a derecha, 20, 30, 40 y 50% de inclusión de harina de chaya en la dieta, se representa la relación reciproca de la ganancia en peso y el parámetro ambiental.

En ese mismo tenor las figuras 20 y 21 señalan la relación del crecimiento y los parámetros nitrogenados de mayor relevancia. Como se observa el amonio fue una variable ambiental que no se ajustó al modelo lineal, pero eso puede deberse en esencia a que este compuesto es demasiado volátil lo que impide su acumulación. Los nitratos por otro lado parecen tener un impacto mayor en relación con el crecimiento (Abdou et al., 2017).



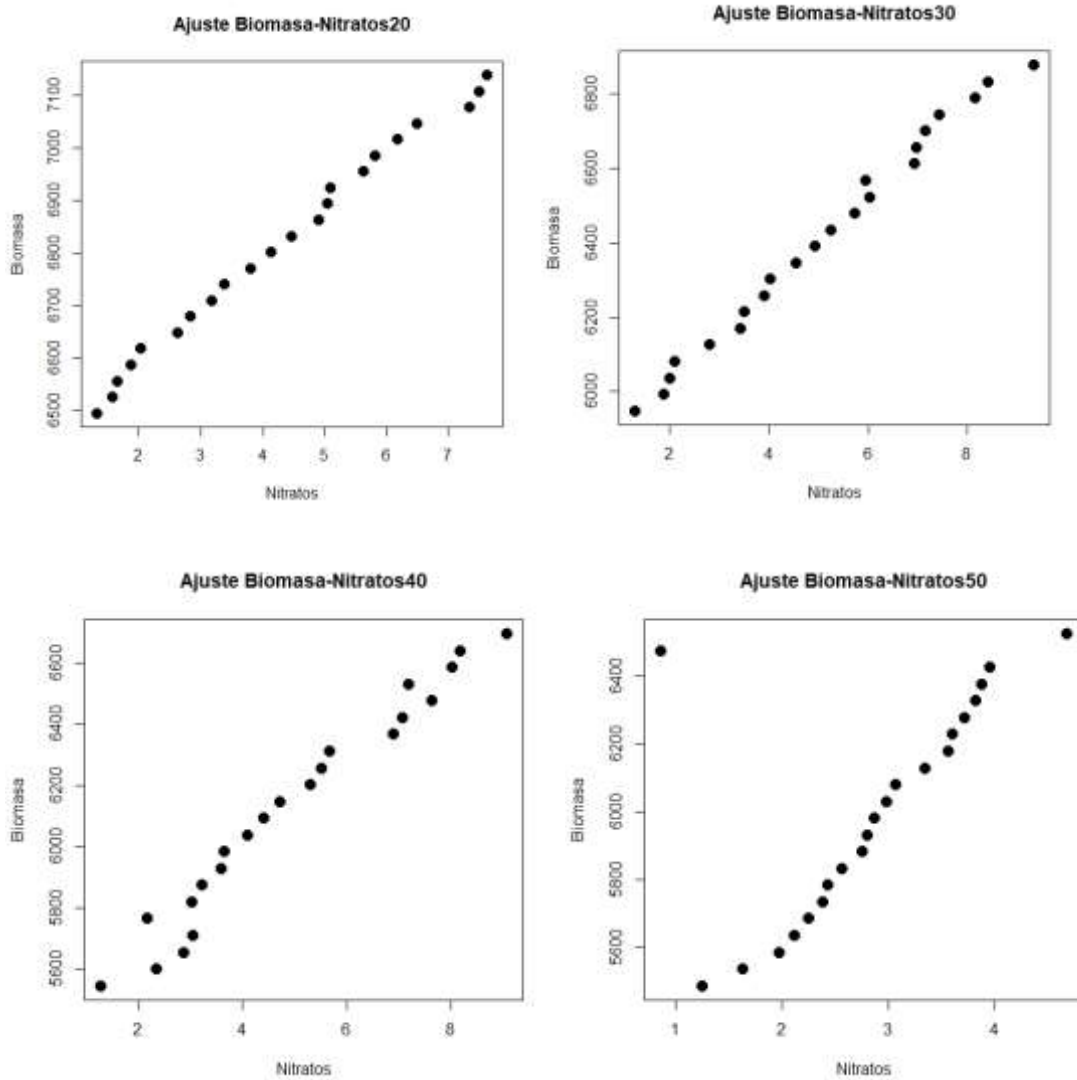
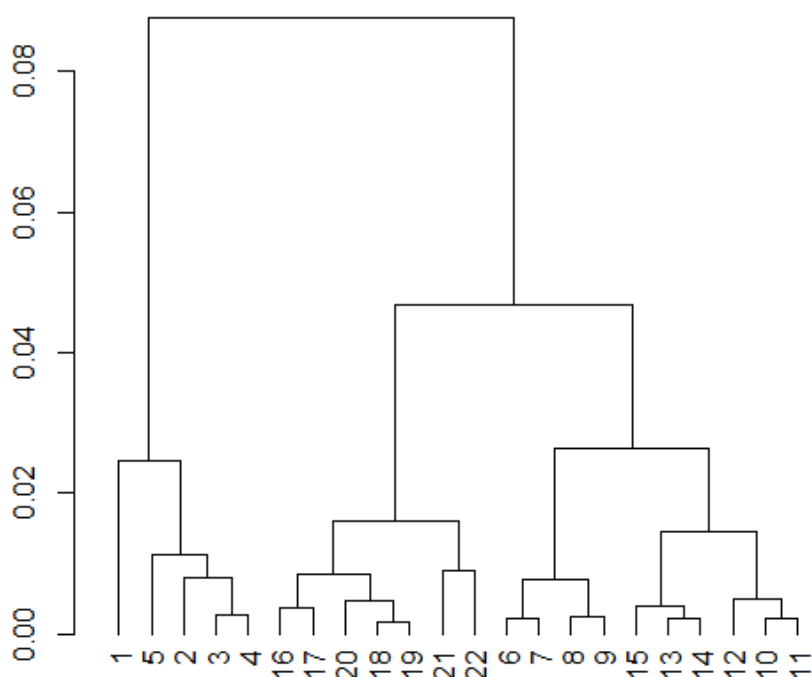


Figura 32- Relación lineal entre ganancia en biomasa y nitratos entre dietas experimentales, de izquierda a derecha, 20, 30, 40 y 50% de inclusión de harina de chaya en la dieta, se representa la relación recíproca de la ganancia en peso y el parámetro ambiental de nitratos.

La relación nos muestra una tendencia a que en efecto existe una relación directa entre el crecimiento y al mismo tiempo con otros parámetros relacionados con la estabilidad de los alimentos (Abdou et al., 2017; Felipe Santoyo-Telles, José Mariscal-Romero, 2015).

Los análisis de relación lineal muestran que el crecimiento de los organismos se ve fuertemente impactado por la concentración de compuestos nitrogenados, esta relación se esquematiza de forma gráfica y matemática en las anteriores páginas. Cabe destacar, que las tendencias muestran entonces que mientras el sistema de crecimiento es afectado por el alimento, esto a su vez, se refleja en la salud del pez y en su capacidad de crecimiento.

### Vínculo Ward parámetros



*Figura 33-Relación entre crecimiento y avance del crecimiento por Bray-Curtis, se relacionan los días de tratamiento en un periodo de muestreo, en relación con la ganancia en peso diaria y los parámetros ambientales.*

En el dendrograma de la figura 33 podemos ver como se distribuyó el crecimiento de acuerdo con los días de muestreo, mientras que en los primeros días el impacto del muestreo sigue presionando al crecimiento de los organismos, el crecimiento comienza a acelerarse a los seis días y sigue así hasta que la degradación de los

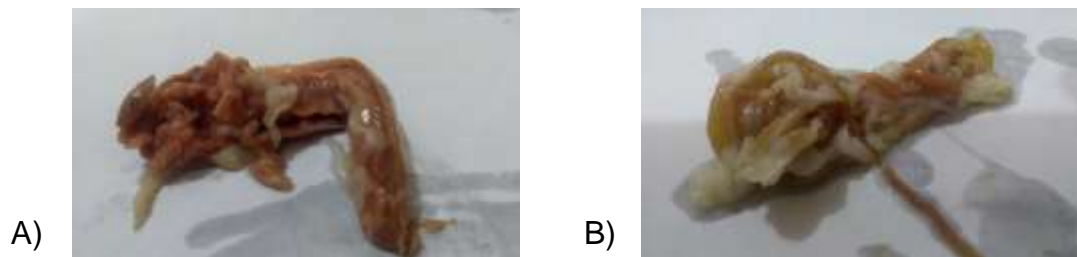
parámetros ambientales era tan elevada que de nuevo se ralentiza en los últimos días del periodo de muestreo.

Dicho diagrama también nos muestra que existen impactos que el ambiente tiene un profundo impacto en el crecimiento, la salud y la capacidad del pez para usar el alimento no solamente para sus funciones vitales sino para mantener el crecimiento (Haidar et al., 2016; Pohlenz & Gatlin lli, 2014).

## Histología y fisiología interna

La observación física de los órganos internos reportó paradójicamente las dietas más exitosas presentando acumulación de tejido adiposo o grasa, lo que puede ser debido a un desequilibrio de utilización energética (Chen et al., 2016; Justi, Hayashi, Visentainer, & Souza, 2003).

En el caso del control la grasa se presentó en el hígado mientras que en la dieta del 20% lo presentó en el intestino.

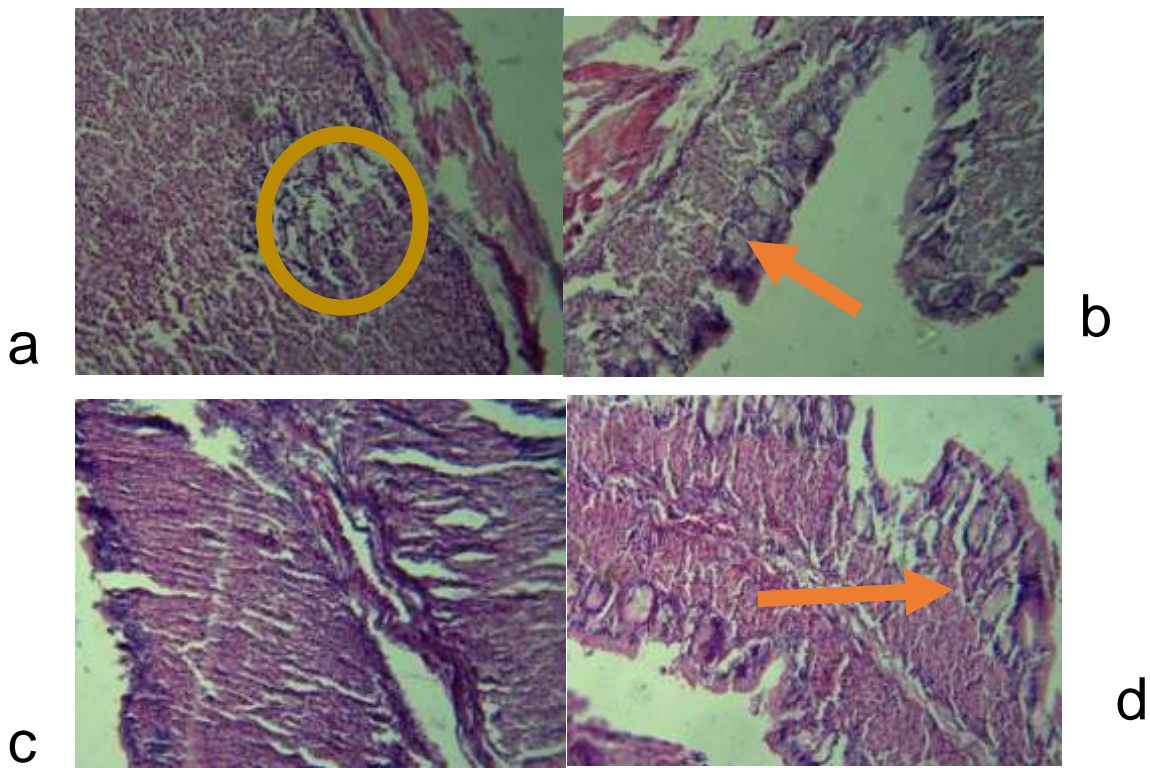


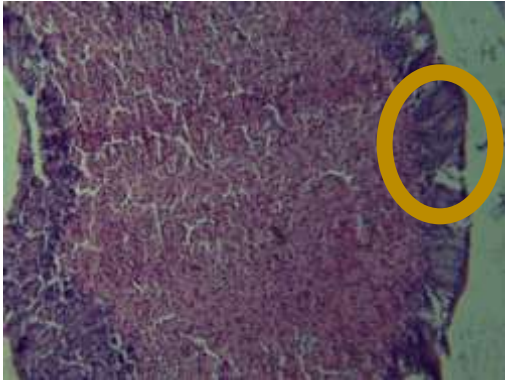
*Figura 34-Representación de la apariencia física de los órganos internos de los organismos A) Hígado del tratamiento control B) Intestino del tratamiento 20% de chaya.*

Las pruebas histológicas demostraron que la integridad fisiológica se vio afectada en dietas experimentales, así por ejemplo, en las imágenes siguientes, se observa, que en el tratamiento 30 y 50% se presentan células con vacuolización, éstas en las imágenes presentan una dimensión considerable y figuran en el tejido epitelial. El hecho de que esto se presente es señal de que la inclusión de la harina de chaya pudo afectar la estabilidad metabólica teniendo en cuenta que los carbohidratos pueden originar almacenamiento de energía en el tejido interno de los peces (A.

Kowalska, Zakes, Jankowska, & A., 2011; Saraiva, Costa, Serrão, Cruz, & Eiras, 2015).

En el caso de la dieta del 20% y el control de la vacuolización sólo se presentó de forma esporádica mientras que en la dieta del 40% no se presenta de forma evidente, esto nos puede decir que en el caso de esa dieta el efecto de los alimentos no se reflejó en la salud del organismo, como un nivel medio de harina de chaya en relación con las harinas vegetales no afectó de forma evidente al pez. La presencia de vacuolización y de estructuras anormales señalan almacenaje de energía en este órgano (Rojas et al., 2013).





e

*Figura 35- Intestino corte transversal, dietas experimentales a (20%), b (30%), c (40%), d (50%) y e (Control), círculos y flechas señalan presunta vacuolización*

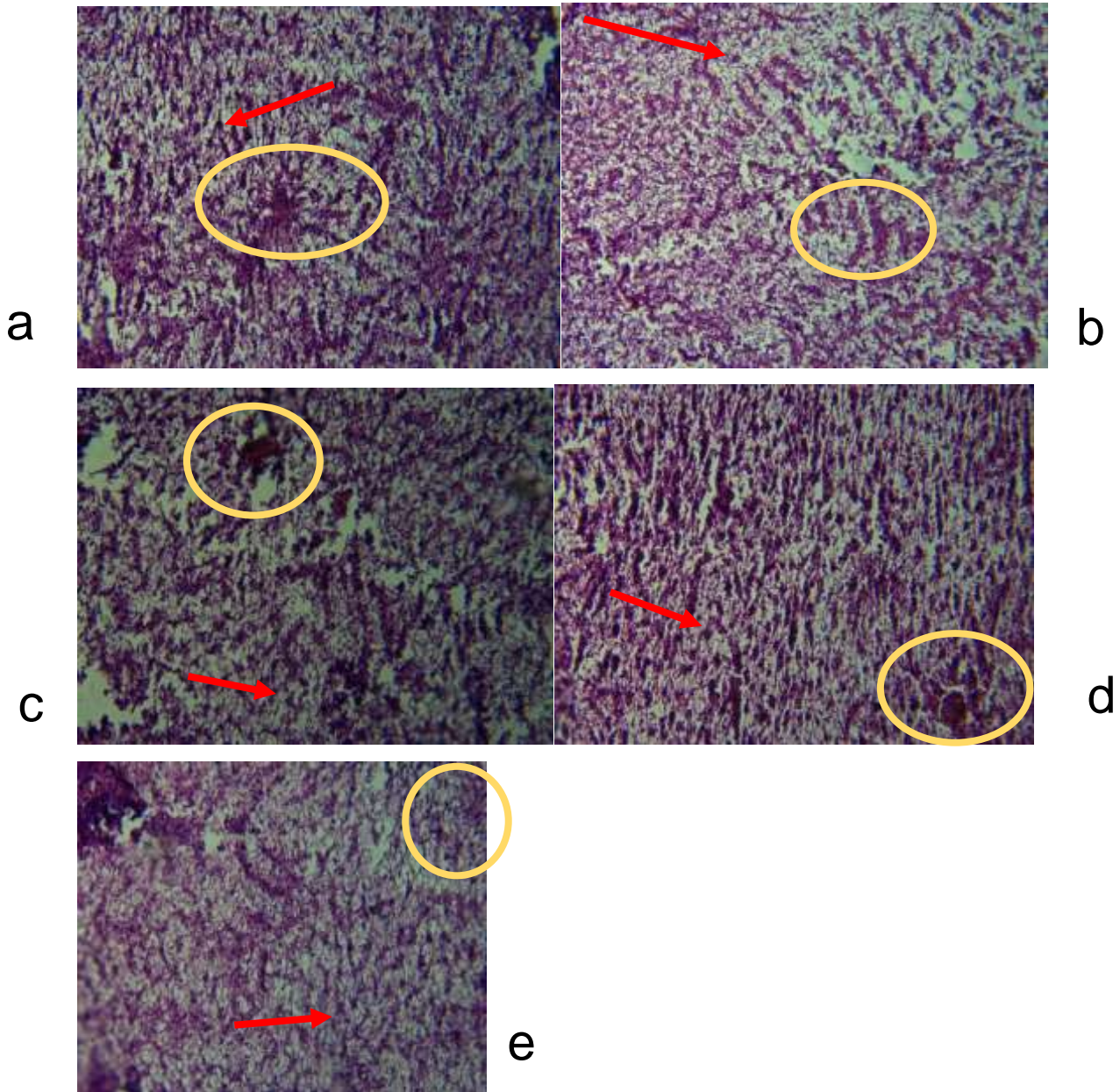
En el caso de la histología de hígado se observaron núcleos no definidos en todos los tratamientos. Siendo tal vez el tratamiento de 50% de chaya el que presentó una mayor integridad celular (Clarkson et al., 2017; Wassef et al., 2016).

Se observaron diferencias que abarcan color, textura y peso incluso presencia en la cavidad torácica de los organismos, estas diferencias se pueden asociar con diferencias histológicas; tamaño de vacuolas y acumulación y ausencia de glucógeno asociados a las diferentes composiciones de los alimentos (Bolla et al., 2011).

También se presentaron células con vacuolización, las cuales fueron más evidentes en el control y en el 20%, esto se ha relacionado con la capacidad del organismo para adaptarse a los impactos nutricionales y ambientales, teniendo en cuenta que el hígado es uno de los órganos con mayor susceptibilidad a los impactos ambientales (Azaza et al., 2015; Bolla et al., 2011).

En las imágenes de la figura 36 además se señalan las regiones con lesiones o acumulación de hematocitos.



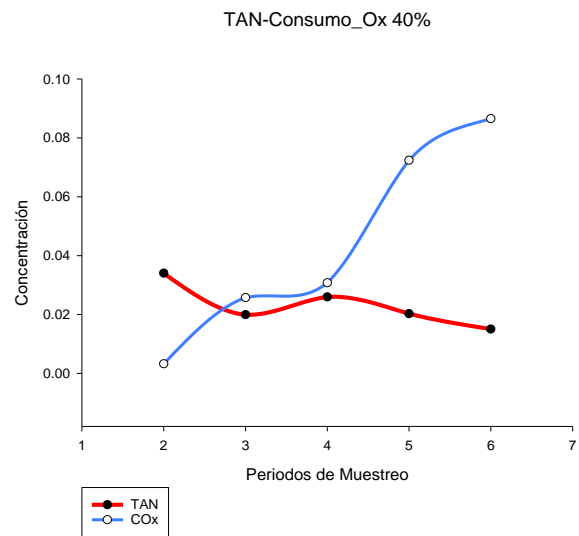
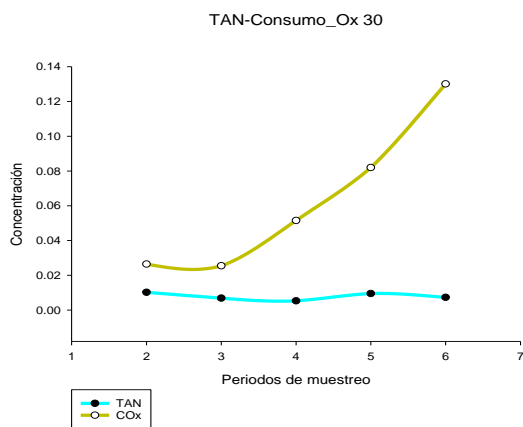
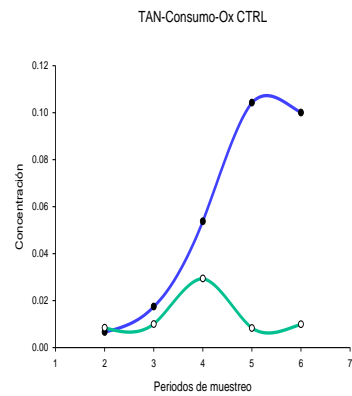
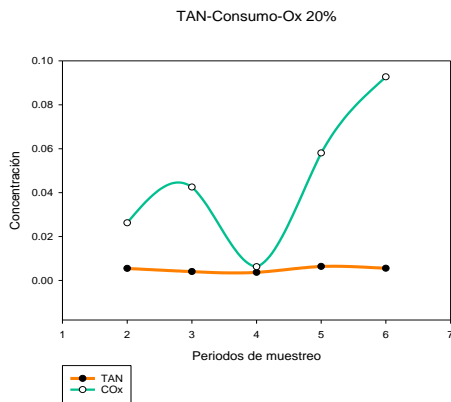


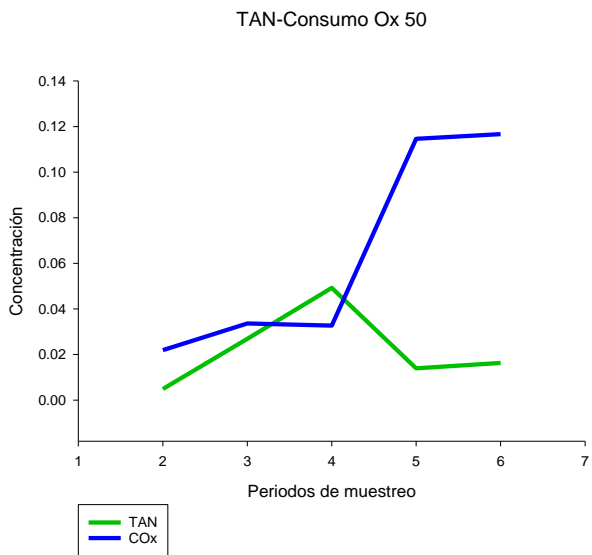
*Figura 36-Fotografías (10x) de la tinción H&E del hígado de los tratamientos, a(20%), b(30%), c (40%), d (50%), e (Control), se observa una tinción óptima de los organismos, los círculos señalan zonas de agregación de hematocitos y las flechas células anómalas.*

Aunado a lo anterior se llevaron a cabo análisis de respiración y de actividad metabólica de acuerdo con lo expuesto por Stiller en 2014 y en 2017, para lo cual, se calcularon el consumo de oxígeno y la excreción total de nitrógeno.

Posteriormente, según las fórmulas expuestas por Gnaiger en el 83 se determinó la eficiencia metabólica como una relación estequiométrica entre el consumo de oxígeno y la oxidación completa de la proteína suministrada (Gnaiger, 1983; Kevin T. Stiller et al., 2017; Stiller et al., 2015).

Como resultados de consumo de oxígeno y excreción total de nitrógeno (TAN) se presentan las siguientes figuras:



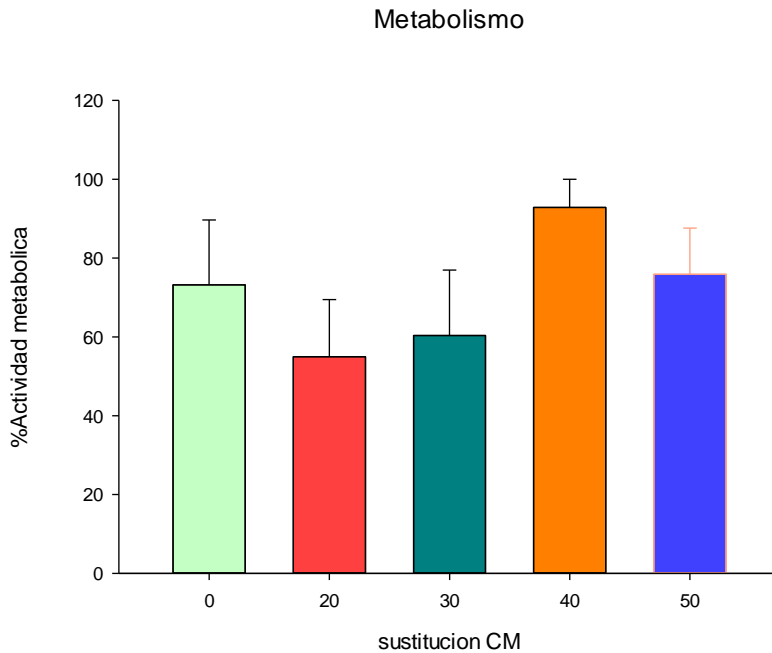


*Figura 37-Consumo de oxígeno y excreción de nitrógeno total por cada uno de los tratamientos, se esquematizan los periodos de muestreo contra la concentración de la excreción de nitrógeno y de oxígeno.*

Lo que se observa en la figura 30 es que en cada uno de los tratamientos y salvo algunos puntos focalizados, el oxígeno y la excreción de nitrógeno siempre se mantuvieron en una relación de reciprocidad, que tal como lo señala Gnaiger en 1983, es químicamente estequiométrico, indicando que existió una correcta metabolización energética (Gnaiger, 1983).

En el caso del **amonia quotient** o eficiencia metabólica es interesante ver que las dietas con mayores índices de acción metabólica, es decir, de asimilación del alimento son las que incluyen mayores niveles de chaya, lo cual tiene lógica teniendo en cuenta que en la dieta de la tilapia silvestre el consumo de proteína vegetal es preponderante (El-Sayed, 2006; Kutty, 1978).





*Figura 38-Actividad metabólica de los peces entre tratamiento, se observa el porcentaje de inclusión de chaya en las dietas (eje X), 0, 20, 30, 40 y 50%, así como la actividad metabólica en porcentaje (eje Y).*

La actividad metabólica sirve además para concluir de forma definitiva con la caracterización de todo el espectro de la respuesta biológica de la tilapia a la dieta. Mostrando desde todos los ángulos posibles que existieron cambios metabólicos y fisiológicos entre los tratamientos.

Los desarrolladores de este método, además, explican que la eficiencia metabólica se relaciona en efecto con el desempeño de las dietas y del medio ambiente donde se desarrolló el trabajo acuícola. Así se debe destacar que en efecto la tasa de crecimiento específico menor son las correspondientes a los niveles de inclusión de mayor chaya (Gnaiger, 1983; Stiller et al., 2013, 2015).

Las pruebas de digestibilidad aportan información sobre la actividad digestiva del alimento. Ya que desde la idealidad de una pepsina súper activada hasta las excretas recolectadas nos permiten tener una visión clara de cómo se lleva a cabo la degradación del alimento y realizar comparaciones a nivel fisiológico de la

actividad del organismo de los peces y como el alimento es aprovechado verdaderamente (CHONG et al., 2002; Z. Wang et al., 2013).

Lo que es relevante es la diferencia de casi el 10% entre la digestibilidad alcanzada en la solución estándar de pepsina por Torry y lo logrado por el metabolismo del pez, este desajuste se puede deber a la presencia de compuestos nitrogenados no proteicos como es el caso de taninos. Que a la larga también afectan el metabolismo del pez (Borgeson et al., 2006).

*Tabla 10-Digestibilidad in vitro de las dietas, se muestra el porcentaje de harina de chaya (CM) y la digestibilidad.*

<b>CM</b>	<b>Digestibilidad</b>
<b>0</b>	91.111±0.76
<b>20%</b>	96.740±0.51
<b>30%</b>	95.922±0.55
<b>40%</b>	94.925±0.01
<b>50%</b>	93.471±1.01

*Tabla 11-Digestibilidad in vivo de las dietas, se muestra el porcentaje de harina de chaya (CM) y la digestibilidad.*

<b>CM</b>	<b>Digestibilidad</b>
<b>0</b>	81.802±0.73
<b>20%</b>	86.474±0.68
<b>30%</b>	86.201±0.05
<b>40%</b>	85.583±0.09
<b>50%</b>	83.761±0.27

La digestibilidad de las dietas es un factor que afecta el crecimiento, sin embargo, en el caso de las proteínas, la digestibilidad de los aminoácidos afecta en su conjunto al general del alimento. Es importante destacar que en dietas vegetales algunas digestibilidades de aminoácidos se reducen sobre todo por la excreción de algunos anti nutricionales a nivel fisiológico, como sucede con la tripsina y la presencia de soya (Liu et al., 2016).

En ese mismo sentido Thiessen en 2013 habla de la posibilidad de que la digestibilidad de los alimentos acuícolas se vea afectados por la presencia de oligosacáridos complejos que realmente son afectados por los métodos de manufactura de los alimentos. En nuestro caso es necesario destacar que la digestibilidad de los alimentos se encuentran en lo óptimo de las dietas acuícolas, sobre todo en los ensayos in vivo, lo que demuestra que las dietas son particularmente bien metabolizados por los organismos y que al mismo tiempo permiten empatar a las dietas comerciales (McDonough et al., 1990)

## Conclusiones

Las dietas basadas en chaya demostraron ser exitosas en proveer crecimiento, lo que le garantiza una posible aplicación en campo. Es necesario, sin embargo, analizar más a fondo sus posibles efectos negativos a largo plazo en la salud de los individuos.

La calidad de los sistemas productivos se vio afectada por las diferentes cantidades de los ingredientes utilizados en cada dieta experimental y en el procesamiento rustico de su elaboración, esto generó diferentes comportamientos de los alimentos y al mismo tiempo esto contribuyo a un más lento acoplamiento a las nuevas dietas. Existieron algunos desordenes del orden fisiológico que se vieron reflejados de forma histológica y en los índices somáticos, sin embargo, estos no afectaron de manera evidente el crecimiento de los individuos.

## Bibliografía

- Abdel-Tawwab, M. (2015). The use of American Ginseng ( *Panax quinquefolium* ) in practical diets for Nile tilapia ( *Oreochromis niloticus* ): resistance to waterborne copper toxicity. *Aquaculture Research*, 46(4), 1001–1006. <https://doi.org/10.1111/are.12237>
- Abdel-Tawwab, M., Ahmad, M. H., Khatlab, Y. A. E., & Shalaby, A. M. E. (2010). Effect of dietary protein level, initial body weight, and their interaction on the growth, feed utilization, and physiological alterations of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture*, 298, 267–274. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.10.027>
- Abdel-Tawwab, M., Ahmad, M. H., Seden, M. E. A., & Sakr, S. F. M. (2010). Use of Green Tea, *Camellia sinensis* L., in Practical Diet for Growth and Protection of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), against *Aeromonas hydrophila* Infection. *Journal of the World Aquaculture Society*, 41, 203–213. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2010.00360.x>
- Abdel-Tawwab, M., Mousa, M. A. A., & Mohammed, M. A. (2010). Use of Live Baker's Yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, in Practical Diet to Enhance the Growth Performance of Galilee Tilapia, *Sarotherodon galilaeus* (L.), and Its Resistance to Environmental Copper Toxicity. *Journal of the World Aquaculture Society*, 41, 214–223. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2010.00361.x>
- Abdou, K., Aubin, J., Salah Romdhane, M., Le Loc 'h, F., Ben, F., & Lasram, R. (2017). Environmental assessment of seabass (*Dicentrarchus labrax*) and seabream (*Sparus aurata*) farming from a life cycle perspective: A case study of a Tunisian aquaculture farm. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.01.019>
- Abdul Malik, S. A. S., Illahi Bus Kalhoro, & Hameeda Kalhoro. (2014). Growth Performance and Adaptation of Imported Strain of Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) Culture at Fish Hatchery Chilya Thatta, (Sindh-Pakistan). *Lasbela, Uni. J. Sci. Tech*, 3, 5–9. Retrieved from [https://www.researchgate.net/profile/Abdul\\_Malik12/publication/276273293\\_Growth\\_Performance\\_and\\_Adaptation\\_of\\_Imported\\_Strain\\_of\\_Nile\\_Tilapia\\_Oreochromis\\_niloticus\\_Linnaeus\\_1758\\_Culture\\_at\\_Fish\\_Hatchery\\_Chilya\\_Thatta\\_Sindh-Pakistan/links/55547c0908ae6943a](https://www.researchgate.net/profile/Abdul_Malik12/publication/276273293_Growth_Performance_and_Adaptation_of_Imported_Strain_of_Nile_Tilapia_Oreochromis_niloticus_Linnaeus_1758_Culture_at_Fish_Hatchery_Chilya_Thatta_Sindh-Pakistan/links/55547c0908ae6943a)
- Ahmad, M. H., & Abdel-Tawwab, M. (2011). The use of caraway seed meal as a feed additive in fish diets: Growth performance, feed utilization, and whole-body composition of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) fingerlings. *Aquaculture*, 314, 110–114. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.01.030>
- Alberto, J., Padilla, A., Sánchez, A. O., De, S., Rural, D., Castillo, R. A., ... Talavera, R. V. (2012). *Anuario estadístico de acuacultura y pesca, México*. (1a ed.). CONAPESCA. Retrieved from [http://www.conapesca.gob.mx/work/sites/cona/dgppe/2012/ANUARIO\\_ESTADISTICO\\_DE\\_ACUACULTURA\\_Y\\_PESCA\\_2012.pdf](http://www.conapesca.gob.mx/work/sites/cona/dgppe/2012/ANUARIO_ESTADISTICO_DE_ACUACULTURA_Y_PESCA_2012.pdf)
- Arcos-Ortega, F. G., León-Hing, S. J. S., Rodríguez-Jaramillo, C., Burgos-Aceves, M. A., Giffard-Mena, I., & García-Esquivel, Z. (2015). Biochemical And

- Histochemical Changes Associated with Gonad Development of the Cortez Geoduck, *Panopea globosa* (Dall 1898), from the Gulf of California, Mexico. *Journal of Shellfish Research*, 34(1), 71–80.  
<https://doi.org/10.2983/035.034.0110>
- Arroyo Damián, M. (2013). Aprovechamiento de la harina de plecostomus spp. como ingrediente en alimento para el crecimiento de tilapia (*Oreochromis niloticus*). *IPN*. Retrieved from  
<http://tesis.ipn.mx:8080/xmlui/handle/123456789/12228>
- Association of official analytical chemists., Latimer, G. W., & Horwitz, W. (2006). *Official methods of analysis of AOAC international*. AOAC International. Retrieved from  
[https://www.researchgate.net/publication/292783651\\_AOAC\\_2005](https://www.researchgate.net/publication/292783651_AOAC_2005)
- Ávila Meléndez, L. A. (2007). Producción del conocimiento y marginación social. *Revista de La Educación Superior*, XXXVI(143), 77–90. Retrieved from  
<http://www.scielo.org.mx/pdf/resu/v36n143/v36n143a5.pdf>
- Azaza, M., Khiari, N., Dhraief, M., & Aloui, N. (2015). Growth performance, oxidative stress indices and hepatic carbohydrate metabolic enzymes activities of juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L., in response to. *Aquaculture*. Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/are.12153/full>
- Bartoňková, J., Hyršl, P., & Vojtek, L. (2016). Glucose determination in fish plasma by two different moderate methods. *Acta Veterinaria Brno*, 85, 349–353.  
<https://doi.org/10.2754/avb201685040349>
- Boglione, C., Pulcini, D., Scardi, M., Palamara, E., Russo, T., & Cataudella, S. (2014). Skeletal Anomaly Monitoring in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792) Reared under Different Conditions. *PLoS ONE*, 9(5), e96983.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096983>
- Bolla, S., Nicolaisen, O., & Amin, A. (2011). Liver alterations induced by long term feeding on commercial diets in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) females. Histological and biochemical aspects. *Aquaculture*, 312, 117–125.  
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.12.019>
- Borgeson, T. L., Racz, V. J., Wilkie, D. C., White, L. J., & Drew, M. D. (2006). Effect of replacing fishmeal and oil with simple or complex mixtures of vegetable ingredients in diets fed to Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture Nutrition*, 12(2), 141–149. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2006.00394.x>
- Boscolo, W., Feiden, A., & Signor, A. (2006). Energia digestível para alevinos de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*, L.). *Revista Brasileira De*. Retrieved from  
[https://www.researchgate.net/profile/Aldi\\_Feiden/publication/262467498\\_Digestible\\_energy\\_for\\_Nile\\_tilapia\\_Oreochromis\\_niloticus\\_fingerlings/links/551d66d70cf2bb3a536b3d94/Digestible-energy-for-Nile-tilapia-Oreochromis-niloticus-fingerlings.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Aldi_Feiden/publication/262467498_Digestible_energy_for_Nile_tilapia_Oreochromis_niloticus_fingerlings/links/551d66d70cf2bb3a536b3d94/Digestible-energy-for-Nile-tilapia-Oreochromis-niloticus-fingerlings.pdf)
- Brown, T. D., Hori, T. S., Xue, X., Ye, C. L., Anderson, D. M., & Rise, M. L. (2016). Functional Genomic Analysis of the Impact of Camelina (*Camelina sativa*) Meal on Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Distal Intestine Gene Expression and Physiology. *Marine Biotechnology*, 18(3), 418–435.  
<https://doi.org/10.1007/s10126-016-9704-x>

- Cabral, E., Fernandes, T., Campos, S., Castro-Cunha, M., Oliveira, M., Cunha, L., & Valente, L. (2013). Replacement of fish meal by plant protein sources up to 75% induces good growth performance without affecting flesh quality in on-growing Senegalese sole. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.12.006>
- Cabral, E. M., Bacelar, M., Batista, S., Castro-Cunha, M., Ozório, R. O. A., & Valente, L. M. P. (2011). Replacement of fishmeal by increasing levels of plant protein blends in diets for Senegalese sole (*Solea senegalensis*) juveniles. *Aquaculture*, 322–323, 74–81. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.09.023>
- Changgeng Yang, Ming Jiang, Hua Wen, Juan Tian, Wei Liu, Fan Wu, G. G. (2015). Analysis of differential gene expression under low-temperature stress in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) using digital gene expression. *GENE*, 564, 134–140. Retrieved from [https://ac.els-cdn.com/S0378111915000682/1-s2.0-S0378111915000682-main.pdf?\\_tid=db4fca4c-acfa-11e7-9c01-00000aacb35e&acdnat=1507558088\\_c43651dbbbaf27342a5674ed51b61dda](https://ac.els-cdn.com/S0378111915000682/1-s2.0-S0378111915000682-main.pdf?_tid=db4fca4c-acfa-11e7-9c01-00000aacb35e&acdnat=1507558088_c43651dbbbaf27342a5674ed51b61dda)
- Chen, Q.-Q., Liu, W.-B., Zhou, M., Dai, Y.-J., Xu, C., Tian, H.-Y., & Xu, W.-N. (2016). Effects of berberine on the growth and immune performance in response to ammonia stress and high-fat dietary in blunt snout bream *Megalobrama amblycephala*. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.05.023>
- CHONG, A. S. C., HASHIM, R., & ALI, A. B. (2002). Assessment of dry matter and protein digestibilities of selected raw ingredients by discus fish (*Symphysodonaequifasciata*) using in vivo and in vitro methods. *Aquaculture Nutrition*, 8(3), 229–238. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2095.2002.00214.x>
- Civera, R., Galicia, A., Nolasco, H., Goytortúa, E., Cruz, L. E., Ricque, D., ... Álvarez, A. (2010). Uso del cártamo (*Carthamus tinctorius*) como ingrediente en alimentos para juveniles del camarón *Litopenaeus vannamei* Summary, 393–466. Retrieved from [http://www.uanl.mx/utilerias/nutricion\\_acuicola/X/archivos/17-RobertoCivera.pdf](http://www.uanl.mx/utilerias/nutricion_acuicola/X/archivos/17-RobertoCivera.pdf)
- Clarkson, M., Migaud, H., Metochis, C., Vera, L. M., Leeming, D., Tocher, D. R., & Taylor, J. F. (2017). Early nutritional intervention can improve utilisation of vegetable-based diets in diploid and triploid Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *British Journal of Nutrition*, 118(01), 17–29. <https://doi.org/10.1017/S0007114517001842>
- Corredor A.S. and M.A. Landines. (2009). Efecto del acido ascorbico sobre la respuesta de los peces ante condiciones de estres. *Revista Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia.* , 56.1, 53. Retrieved from <http://go.galegroup.com/ps/i.do?p=IFME&u=pu&id=GALE%7CA298751458&v=2.1&it=r&sid=summon&authCount=1>
- Damasceno, F. M., Fleuri, L. F., Márcia, M., Sartori, P., Amorim, R. L., Pezzato, L. E., ... Barros, M. M. (2016). Effect of dietary inorganic copper on growth performance and hematological profile of Nile tilapia subjected to heat-induced stress. *Aquaculture*, 454, 257–264. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.12.029>
- Deng, J., Chen, L., Mai, K., Mi, H., & Zhang, L. (2017). Effects of replacing soybean meal with rubber seed meal on digestive enzyme activity, nutrient digestibility and retention in tilapia (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis*

- aureus ). *Aquaculture Research*, 48(4), 1767–1777.  
<https://doi.org/10.1111/are.13014>
- Deng, J., Wang, K., Mai, K., Chen, L., Zhang, L., & Mi, H. (2017). Effects of replacing fish meal with rubber seed meal on growth, nutrient utilization, and cholesterol metabolism of tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 43(4), 941–954. <https://doi.org/10.1007/s10695-016-0313-4>
- Diana, M., & Víctor, L. (2012). Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) nutritional requirements. *ORINOQUIA*. Retrieved from [http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0121-37092012000100007&script=sci\\_arttext&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0121-37092012000100007&script=sci_arttext&tlng=es)
- Edmunds Nicholas B., McCann Kevin, L. F. (2016). Food Web Structure Shapes the Morphology of Teleost Fish Brains. *Brain, Behavior and Evolution*, 1. Retrieved from [https://www.researchgate.net/profile/Kevin\\_Mccann/publication/303470194\\_Food\\_Web\\_Structure\\_Shapes\\_the\\_Morphology\\_of\\_Teleost\\_Fish\\_Brains/links/5752468d08ae02ac1277b78b/Food-Web-Structure-Shapes-the-Morphology-of-Teleost-Fish-Brains.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Kevin_Mccann/publication/303470194_Food_Web_Structure_Shapes_the_Morphology_of_Teleost_Fish_Brains/links/5752468d08ae02ac1277b78b/Food-Web-Structure-Shapes-the-Morphology-of-Teleost-Fish-Brains.pdf)
- El-Sayed, A.-F. M. (2006). *Tilapia culture*. CABI Pub.
- El-Sayed, A.-F. M., & Kawanna, M. (2008). Effects of dietary protein and energy levels on spawning performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodstock in a recycling system. *Aquaculture*, 280, 179–184. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.04.030>
- Elizabeth Cruz-Suarez, L., Patricia Ruiz-Díaz, P., Cota-Cerecer, E., Nieto-Lopez, M. G., Guajardo-Barbosa, C., Tapia-Salazar, M., ... Ricque-Marie, D. (2006). Revisión sobre Algunas Características Físicas y Control de Calidad de Alimentos Comerciales para Camarón en México. *Universidad Autónoma de Nuevo León*. Retrieved from [http://universidad.uanl.mx/utillerias/nutricion\\_acuicola/VIII/archivos/21CruzSuarez.pdf](http://universidad.uanl.mx/utillerias/nutricion_acuicola/VIII/archivos/21CruzSuarez.pdf)
- Escalera-Gallardo C., C.-S. V. (2010). sustitucion parcial de harina de pescado (*Plecostomus* spp.) por harina de lombriz (*Eisenia foetida*) en alimento para bagre de canal (*I. punctatus*). *Bioteología Acuicola*, 3, 115–123. Retrieved from <http://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/10032/257.pdf?sequence=1>
- FAO. (2006). *Informe de la Consulta de Expertos sobre los Procesos de Regulación del Acceso a la Pesca y la Sostenibilidad de las Pesquerías en Pequeña Escala en América Latina : Lima, Peru, 9-12 de mayo de 2006*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Retrieved from <http://www.redalyc.org/html/636/63613155007/>
- FAO. (2016). *El Estado Mundial de la Pesca y La Acuicultura. Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos*. Retrieved from <http://www.fao.org/3/a-i5555s.pdf>
- FEIST, S. W. (2009). ATLAS OF FISH HISTOLOGY - Edited by F. Genten, E. Terwinghe and A. Danguy. *Journal of Fish Biology*, 75(3), 757–758. [https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2009.02318\\_3.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2009.02318_3.x)
- Felipe Santoyo-Telles, José Mariscal-Romero, H. G.-P. y C. G.-G. (2015). Fishery

- and environmental aspects of tilapia population *Oreochromis niloticus* in Zapotlan El Grande lagoon, Jalisco, Mexico. *Ciencia Pesquera* , 23, 59–72. Retrieved from [https://www.researchgate.net/profile/Humberto\\_Gutierrez\\_Pulido/publication/295010108\\_Aspectos\\_pesquero-ambientales\\_de\\_la\\_poblacion\\_de\\_tilapia\\_Oreochromis\\_niloticus\\_en\\_la\\_Laguna\\_de\\_Zapotlan\\_El\\_Grande\\_Jalisco\\_Mexico\\_Fishery\\_and\\_environmental\\_aspects\\_of\\_tilapia](https://www.researchgate.net/profile/Humberto_Gutierrez_Pulido/publication/295010108_Aspectos_pesquero-ambientales_de_la_poblacion_de_tilapia_Oreochromis_niloticus_en_la_Laguna_de_Zapotlan_El_Grande_Jalisco_Mexico_Fishery_and_environmental_aspects_of_tilapia)
- Fridman, S., Bron, J. E., & Rana, K. J. (2012). Ontogenic changes in the osmoregulatory capacity of the Nile tilapia *Oreochromis niloticus* and implications for aquaculture. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.05.010>
- Furuya, W., & Furuya, V. (2010). Nutritional innovations on amino acids supplementation in Nile tilapia diets. *Revista Brasileira de Zootecnia*. Retrieved from [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-35982010001300010&script=sci\\_arttext&tlng=es](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-35982010001300010&script=sci_arttext&tlng=es)
- Gao, Y.-J., Yang, H.-J., Liu, Y.-J., Chen, S.-J., Guo, D.-Q., Yu, Y.-Y., & Tian, L.-X. (2014). Effects of graded levels of threonine on growth performance, biochemical parameters and intestine morphology of juvenile grass carp *Ctenopharyngodon idella*. *Aquaculture*, 424–425, 113–119. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.12.043>
- García-Ulloa, M., Hernandez-Llamas, A., de Jesús Armenta-Soto, S., & Rodríguez-González, H. (2017). Substituting fishmeal with mixtures of wheat, corn and soya bean meals in diets for the white leg shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone): effect on production parameters and preliminary economic assessment. *Aquaculture Research*, 48(9), 4864–4873. <https://doi.org/10.1111/are.13306>
- Gennotte, V., Sawadogo, P., Milla, S., Kestemont, P., Mélard, C., & Rougeot, C. (2012). Cortisol is responsible for positive and negative effects in the ovarian maturation induced by the exposure to acute stressors in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 38(6), 1619–1626. <https://doi.org/10.1007/s10695-012-9656-7>
- Gilaad, R.-L., Galil, B. S., Diamant, A., & Goren, M. (2017). The diet of native and invasive fish species along the eastern Mediterranean coast (Osteichthyes). *Zoology in the Middle East*, 63(4), 325–335. <https://doi.org/10.1080/09397140.2017.1375196>
- Giraldo-Zuñiga, A. D., Arévalo-Pinedo, A., Rodrigues, R. M., Lima, C. S. S., & Feitosa, A. C. (2006). KINETIC DRYING EXPERIMENTAL DATA AND MATHEMATICAL MODEL FOR JACKFRUIT ( *Artocarpus integrifolia* ) SLICES DATOS EXPERIMENTALES Y MODELO MATEMÁTICO DE LA CINÉTICA DE SECADO DE RODAJAS DE JACA ( *Artocarpus integrifolia* ). *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 5(2), 89–92. <https://doi.org/10.1080/11358120609487676>
- Gnaiger, E. (1983). Calculation of Energetic and Biochemical Equivalents of Respiratory Oxygen Consumption. In *Polarographic Oxygen Sensors* (pp. 337–345). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-81863-9\\_30](https://doi.org/10.1007/978-3-642-81863-9_30)
- Goytortúa-Bores, E., Civera-Cerecedo, R., Rocha-Meza, S., & Green-Yee, A.



- (2006). Partial replacement of red crab (*Pleuroncodes planipes*) meal for fish meal in practical diets for the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Effects on growth and in vivo digestibility. *Aquaculture*, 256(1–4), 414–422. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.02.035>
- GRF Gomes, I., Ing Pesq, E., Chaves, F. H., Barros, R. N., Moreira, R. L., Teixeira, E. G., ... Pesq, I. (2012). Dietary supplementation with *Spirulina platensis* increases growth and color of red tilapia. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 25, 462–471. Retrieved from <https://search-proquest-com.ezproxy.conricyt.org/docview/1243046503/fulltextPDF/8465CACC234F4C22PQ/1?accountid=189277>
- Gutierrez De Paula, T., Losi, F., De Almeida, A., Carani, F. R., Vechetti-Júnior, I. J., Padovani, C. R., ... Dal-Pai-Silva, M. (2014). Rearing temperature induces changes in muscle growth and gene expression in juvenile pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 169, 31–37. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2013.12.004>
- Haidar, M. N., Petie, M., Heinsbroek, L. T. N., Verreth, J. A. J., & Schrama, J. W. (2016). The effect of type of carbohydrate (starch vs. nonstarch polysaccharides) on nutrients digestibility, energy retention and maintenance requirements in Nile tilapia. *Aquaculture*, 463, 241–247. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2016.05.036>
- Harohau, D., Sulu, R. J., Phillips, M. J., Sukulu, M., Pickering, T., & Schwarz, A. M. (2016). Improving household tilapia (*Oreochromis mossambicus*) aquaculture through participatory action research. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.09.024>
- Ibáñez, A., Castellanos, M., Rodríguez, A., & Alvarez, S. (2017). The influence of temperature, density, oxygen and food in the mark formation on the scales of tilapia. *Rev. Biol. Trop. Int. J. Trop. Biol*, 65(2), 613–622. Retrieved from <http://www.scielo.sa.cr/pdf/rbt/v65n2/0034-7744-rbt-65-02-00613.pdf>
- Jobling, M. (1981). Some effects of temperature, feeding and body weight on nitrogenous excretion in young plaice *Pleuronectes platessa* L. *Journal of Fish Biology*, 18(1), 87–96. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1981.tb03763.x>
- Justi, K., Hayashi, C., Visentainer, J., & Souza, N. De. (2003). The influence of feed supply time on the fatty acid profile of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed on a diet enriched with n-3 fatty acids. *Food Chemistry*. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814602003175>
- Kevin T. Stiller, Klaus H. Vanselow, Damian Moran, Guido Riesen, Wolfgang Koppe, C. D. and C. S. (2017). The effect of diet, temperature and intermittent low oxygen on the metabolism of rainbow trout. *British Journal of Nutrition*, 117, 784–795. <https://doi.org/10.1017/S000>
- Kotrschal, K., & Palzenberger, M. (1992). Neuroecology of cyprinids: comparative, quantitative histology reveals diverse brain patterns. *Environmental Biology of Fishes*, 33(1–2), 135–152. <https://doi.org/10.1007/BF00002560>
- Kowalska, A., Zakes, Z., Jankowska, B., & A., S. (2011). Substituting vegetable oil for fish oil in pikeperch diets: the impact on growth, internal organ histology, blood biochemical parameters, and proximate composition. *Aquaculture Nutrition*, 17(2), e148–e163. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2009.00744.x>
- Kowalska, A., Zakęś, Z., Jankowska, B., & Siwicki, A. (2012). Impact of diets with

- vegetable oils on the growth, histological structure of internal organs, biochemical blood parameters, and proximate composition of pikeperch *Sander lucioperca* (L.). *Aquaculture*, 301(2012), 69–77.  
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.01.028>
- Kumar, V., Sahu, N. P., Pal, A. K., Kumar, S., Sharma, P., Chettri, J. K., & Sinha, A. K. (2009). Non-gelatinized starch influences the deposition of n-3 fatty acids in the muscle of a tropical freshwater fish, *Labeo rohita*. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 93(5), 659–668.  
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2008.00853.x>
- Kutty, M. N. (1978). Ammonia Quotient in Sockeye Salmon (*Oncorhynchus nerka*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 35(7), 1003–1005.  
<https://doi.org/10.1139/f78-162>
- Lee, S., Jeon, I., & Lee, J. (2002). Effects of digestible protein and lipid levels in practical diets on growth, protein utilization and body composition of juvenile rockfish (*Sebastes schlegeli*). *Aquaculture*. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848601008808>
- Leyton, S. A. (2015). Estimación del factor de condición de Fulton (K) y la relación longitud-peso en tres especies ícticas presentes en un sector sometido a factores de estrés ambiental en la cuenca alta del río Cauca. *REVISTA DE LA ASOCIACION COLOMBIANA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS*, 1(27). Retrieved from <http://www.ojs.asociacioncolombianadecienciasbiologicas.org/index.php/accb/article/view/99>
- Liu, H., Zhu, X., Yang, Y., Han, D., Jin, J., & Xie, S. (2016). Effect of substitution of dietary fishmeal by soya bean meal on different sizes of gibel carp (*Carassius auratus gibelio*): nutrient digestibility, growth performance, body composition and morphometry. *Aquaculture Nutrition*, 22(1), 142–157.  
<https://doi.org/10.1111/anu.12239>
- Maas, R. M., Verdegem, M. C. J., Dersjant-Li, Y., & Schrama, J. W. (2018). The effect of phytase, xylanase and their combination on growth performance and nutrient utilization in Nile tilapia. *Aquaculture*, 487, 7–14.  
<https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2017.12.040>
- Mackie, A., & Mitchell, A. (1985). Identification of gustatory feeding stimulants for fish applications in aquaculture. *Nutrition and Feeding in Fish*.
- Martínez Villalobos, R. (2006). Caracterización nutricional de hojas de chaya (*Cnidoscolus chayamansa*) en tres diferentes etapas fenológicas y tres estaciones del año en Aguascalientes, México /. Retrieved from <http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=UAA.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&exresion=mfn=004677>
- McDonough, F. E., Steinke, F. H., Sarwar, G., Eggum, B. O., Bressani, R., Huth, P. J., ... Phillips, J. G. (1990). In vivo rat assay for true protein digestibility: collaborative study. *Journal - Association of Official Analytical Chemists*, 73(5), 801–805. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2273008>
- Mehrim, A. I. (2014). Physiological, biochemical and histometric responses of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) by dietary organic chromium (chromium picolinate) supplementation. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2013.04.002>

- Mena Linares, Y., Dulce María González Mosquera, I., Arianna Valido Díaz, I., Arelys Pizarro Espín, I., Orestes Castillo Alfonso, I., & Raylen Escobar Román, I. (2016). Estudio fitoquímico de extractos de hojas de *Cnidoscolus chayamansa* Mc Vaugh (Chaya) Phytochemical study of extracts from leaves of *Cnidoscolus chayamansa* Mc Vaugh (chaya). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 21(4). Retrieved from <http://scielo.sld.cu>
- Mewes, J. K., Meurer, F., Tessaro, L., Buzzi, A. H., Syperreck, M. A., & Bombardelli, R. A. (2016). Diets containing crude glycerin damage the sperm characteristics and modify the testis histology of Nile tilapia broodstock. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.08.035>
- Mohamed, A. H., Traifalgar, R. F., & Augusto E Serrano, J. (2013). Assessment of probiotic application on natural food, water quality and growth performance of saline tilapia *oreochromis mossambicus* L. cultured in concrete tanks. *Fisheries and Aquaculture Journal*, 1–9. Retrieved from <http://go.galegroup.com.ezproxy.conricyt.org/ps/i.do?p=AONE&u=pu&id=GAL E%7CA364501984&v=2.1&it=r&sid=summon&authCount=1>
- Naylor, R. L., Hardy, R. W., Bureau, D. P., Chiu, A., Elliott, M., Farrell, A. P., ... Nichols, P. D. (2009). Feeding aquaculture in an era of finite resources. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(36), 15103–15110. <https://doi.org/10.1073/pnas.0905235106>
- Nguyen, T. N., & Allen Davis, D. (2009). Methionine Requirement in Practical Diets of Juvenile Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 40(3), 410–416. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2009.00261.x>
- Nhu, T. T., Schaubroeck, T., Henriksson, P. J. G., Bosma, R., Sorgeloos, P., & Dewulf, J. (2016). Environmental impact of non-certified versus certified (ASC) intensive *Pangasius* aquaculture in Vietnam, a comparison based on a statistically supported LCA. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.10.006>
- NMX-F-068-S-1980. (n.d.). Retrieved from <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-068-S-1980.PDF>
- NMX-F-089-S-1978. (n.d.). Retrieved from <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-089-S-1978.PDF>
- Ofori, J. K., Abban, E. K., Karikari, A. Y., & Brummett, R. E. (2010). Production Parameters and Economics of Small-Scale Tilapia Cage Aquaculture in the Volta Lake, Ghana. *Journal of Applied Aquaculture*, 22(4), 337–351. <https://doi.org/10.1080/10454438.2010.527591>
- OK, K., & AN, O. (2016). Growth Patterns and Condition Factor of *Hepsetus odoe* (Bloch, 1794) Captured in Eleyele Lake, Southwest Nigeria. *Fisheries and Aquaculture Journal*, 7(3). <https://doi.org/10.4172/2150-3508.1000178>
- Oliva-Teles, A. (2012). Nutrition and health of aquaculture fish. *Journal of Fish Diseases*, 35(2), 83–108. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2011.01333.x>
- Panini, R. L., Freitas, E. L., Guimarães, A. M., Rios, C., Fernanda, M., Da Silva, O., ... Amboni, R. D. M. C. (2017). Potential use of mealworms as an alternative protein source for Pacific white shrimp: Digestibility and performance. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.02.008>
- Pernía, L. A., & Santana, D. A. (2015). Historical, mathematical and nutritional bases of Pearson Square as a Ft method for ruminant rations. *Revista Cubana*

- de Ciencia Agrícola*, 49(3). Retrieved from <http://www.redalyc.org/html/1930/193042629002/>
- Piccolo, G., Iaconisi, V., Marono, S., Gasco, L., Loponte, R., Nizza, S., ... Parisi, G. (2017). Effect of *Tenebrio molitor* larvae meal on growth performance, in vivo nutrients digestibility, somatic and marketable indexes of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Animal Feed Science and Technology*, 226, 12–20. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2017.02.007>
- Pohlenz, C., & Gatlin Iii, D. M. (2014). Interrelationships between fish nutrition and health. *Aquaculture*, 431, 111–117. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.02.008>
- Poot-López, G. R., & Gasca-Leyva, E. (2009). Substitution of Balanced Feed with Chaya, *Cnidoscopus chayamansa*, Leaf in Tilapia Culture: A Bioeconomic Evaluation. *Journal of the World Aquaculture Society*, 40(3), 351–362. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2009.00255.x>
- Poot Lopez, G. R., Gasca Leyva, E., & Olvera Novoa, M. A. (2012). Produccion de tilapia nilotica (*Oreochromis niloticus* L.) utilizando hojas de chaya (*Cnidoscopus chayamansa*). *Latin American Journal of Aquatic Research*, 40(4), 835–846. <https://doi.org/10.3856/vol40-issue4-fulltext-2>
- Qiang, J., Wang, H., He, J., & Xu, P. (2013). Effect of water temperature, salinity, and their interaction on growth, plasma osmolality, and gill Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase activity in juvenile GIFT tilapia *Oreochromis niloticus* (L.). <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2013.04.002>
- Ren, M., Ai, Q., Mai, K., Ma, H., & Wang, X. (2011). Effect of dietary carbohydrate level on growth performance, body composition, apparent digestibility coefficient and digestive enzyme activities of juvenile cobia, *Rachycentron canadum* L. *Aquaculture Research*, 42(10), 1467–1475. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2010.02739.x>
- Rocha-Estrada, A. (n.d.). *Cnidoscopus chayamansa* McVaugh COMO FUENTE DE PROTEINA INCORPORADA EN DIETAS PARA *Petiaeds stylirostris*. Retrieved from <http://eprints.uanl.mx/6032/1/1080087135.PDF>
- Rodriguez-Miranda. (2014). EFFECT OF BEAN FLOUR CONCENTRATION (*Phaseolus vulgaris* L.), MOISTURE CONTENT AND EXTRUSION TEMPERATURE ON THE FUNCTIONAL PROPERTIES OF AQUAFEEDS, 13(3), 649–663. Retrieved from <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmiq/v13n3/v13n3a1.pdf>
- Rojas, L.-M., Mata, C., Oliveros, A., & Salazar-Lugo, R. (2013). Histología de branquias, hígado y riñón de juveniles del pez neotropical *Colossoma macropomum* (Characiformes, Characidae) expuesto a tres temperaturas. *Revista de Biología Tropical*, 61(2), 797–807. Retrieved from <http://go.galegroup.com/ps/i.do?p=AONE&u=pu&id=GALE%7CA344602337&v=2.1&it=r&sid=summon&authCount=1>
- Ross-Ibarra, J. (2003). Origen y domesticación de la chaya (*Cnidoscopus aconitifolius* Mill I. M. Johnston): La espinaca Maya. *Mexican Studies/Estudios Mexicanos*, 19(2). Retrieved from <http://msem.ucpress.edu/content/19/2/287>
- Ross-Ibarra, J., & Molina-Cruz, A. (2002). The Ethnobotany of Chaya (*Cnidoscopus Aconitifolius* ssp. *Aconitifolius* Breckon): A Nutritious Maya Vegetable1. *Economic Botany*, 56(4), 350–365. <https://doi.org/10.1663/0013->

- 0001(2002)056[0350:TEOCCA]2.0.CO;2
- Samuelsen, T. A., Mjøs, S. A., & Oterhals, Å. (2014). Influence of type of raw material on fishmeal physicochemical properties, the extrusion process, starch gelatinization and physical quality of fish feed. *Aquaculture Nutrition*, *20*(4), 410–420. <https://doi.org/10.1111/anu.12093>
- Sánchez-Muros, M., Sánchez, B., Barroso, F., & García-Mesa, S. (2010). Effects of culture densities on feed demand, behavioural tests and on the hepatic and cerebral oxidative status in tilapia (*Oreochromis* sp.). *Applied Animal Behaviour Science*, *185*, 137–145. Retrieved from [http://ac.els-cdn.com/S0168159116302891/1-s2.0-S0168159116302891-main.pdf?\\_tid=4558b96a-8d95-11e7-87b6-00000aacb35f&acdnat=1504105972\\_5090f462c7d04ac61152af77360d8e0b](http://ac.els-cdn.com/S0168159116302891/1-s2.0-S0168159116302891-main.pdf?_tid=4558b96a-8d95-11e7-87b6-00000aacb35f&acdnat=1504105972_5090f462c7d04ac61152af77360d8e0b)
- Saraiva, A., Costa, J., Serrão, J., Cruz, C., & Eiras, J. C. (2015). A histology-based fish health assessment of farmed seabass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture*, *448*, 375–381. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.06.028>
- Sebastián Ramos-Cruz. (2009). RELACIÓN LONGITUD-PESO Y FACTOR DE CONDICIÓN EN EL BARRILETE NEGRO *Euthynnus lineatus* (KISHINOUE, 1920) (PERCIFORMES: SCOMBRIDAE), CAPTURADO EN EL LITORAL DE OAXACA, MÉXICO. *Rev. Invest. Mar.*, *30*, 45–53. Retrieved from <http://www.cim.uh.cu/rim/pdf/2009/1/2009-45.pdf>
- Silva, P. F., McGurk, C., Knudsen, D. L., Adams, A., Thompson, K. D., & Bron, J. E. (2015). Histological evaluation of soya bean-induced enteritis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): Quantitative image analysis vs. semi-quantitative visual scoring. *Aquaculture*, *445*, 42–56. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.04.002>
- Song, Z., Li, H., Wang, J., Li, P., Sun, Y., & Zhang, L. (2014). Effects of fishmeal replacement with soy protein hydrolysates on growth performance, blood biochemistry, gastrointestinal digestion and muscle composition of juvenile starry flounder (*Platichthys stellatus*). *Aquaculture*, *426–427*, 96–104. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.01.002>
- Srithongouthai, S., & Tada, K. (2017). Impacts of organic waste from a yellowtail cage farm on surface sediment and bottom water in Shido Bay (the Seto Inland Sea, Japan). <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.01.021>
- Stiller, K. T., Moran, D., Vanselow, K. H., Marxen, K., Wuertz, S., & Schulz, C. (2013). A novel respirometer for online detection of metabolites in aquaculture research: Evaluation and first applications. *Aquacultural Engineering*, *55*, 23–31. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2013.01.004>
- Stiller, K. T., Vanselow, K. H., Moran, D., Bojens, G., Voigt, W., Meyer, S., & Schulz, C. (2015). The effect of carbon dioxide on growth and metabolism in juvenile turbot *Scophthalmus maximus* L. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.04.001>
- Tan, P., Dong, X., Mai, K., Xu, W., & Ai, Q. (2016). Vegetable oil induced inflammatory response by altering TLR-NF-κB signalling, macrophages infiltration and polarization in adipose tissue of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*). *Fish & Shellfish Immunology*, *59*, 398–405. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.11.009>
- Telli, G. S., Jos, M., Ranzani-Paiva, T., De, D., Dias, C., Sussel, F. R., ...

- Tachibana, L. (2014). Dietary administration of *Bacillus subtilis* on hematology and non-specific immunity of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* raised at different stocking densities. *Fish and Shellfish Immunology*, 39, 305–311. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.05.025>
- Theissen Montes De Oca, D. M. (2006). *UTILIZACIÓN DE HARINA DE CHAYA (Cnidoscopus aconitifolius) como fuente de proteína en dietas de lechones*. UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA. Retrieved from <http://www.repositorio.usac.edu.gt/5762/1/Tesis Lic.Zoot.Delsy.pdf>
- Thongprajukaew, K., Rodjaroen, S., Yoonram, K., Sornthong, P., Hutcha, N., Tantikitti, C., & Kovitvadh, U. (2015). Effects of dietary modified palm kernel meal on growth, feed utilization, radical scavenging activity, carcass composition and muscle quality in sex reversed Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 439, 45–52. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.01.021>
- Torres, G. A., González, S., & Peña, E. (2010). Descripción Anatómica, Histológica y Ultraestructural de la Branquia e Hígado de Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Anatomical, Histological and Ultraestructural Description of the Gills and Liver of the Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Int. J. Morphol*, 28(3), 703–712. Retrieved from <https://scielo.conicyt.cl/pdf/ijmorphol/v28n3/art08.pdf>
- Valderrama, J. E. (2010). Evaluacion de diferentes niveles de energia y proteina sobre el desempeño productivo de alevinos de *Oreochromis niloticus* variedad chitalada. Retrieved from <http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/6665/00797721.pdf?sequence=1>
- Valente, L. M. P., Linares, F., Villanueva, J. L. R., Silva, J. M. G., Espe, M., Escórcio, C., ... Peleteiro, J. B. (2011). Dietary protein source or energy levels have no major impact on growth performance, nutrient utilisation or flesh fatty acids composition of market-sized Senegalese sole. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.05.026>
- Velazco Arce Javier Marcial de Jesús, R., Varela Raúl, T., & Partida José Rosendo. (2006). Evaluation of a semi-intensive farming of tilapia (*Oreochromis niloticus*) in circular tanks with thermal waters. *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET*, 11. Retrieved from <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>
- Viera, M. P., Courtois de Viçose, G., Robaina, L., & Izquierdo, M. S. (2015). First development of various vegetable-based diets and their suitability for abalone *Haliotis tuberculata coccinea* Reeve. *Aquaculture*, 448, 350–358. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2015.05.031>
- Vijayan, M. M., Morgan, J. D., Sakamoto, T., Grau, E. G., & Iwama, G. K. (1996). FOOD-DEPRIVATION AFFECTS SEAWATER ACCLIMATION IN TILAPIA: HORMONAL AND METABOLIC CHANGES. *The Journal of Experimental Biology*, 199, 2467–2475. Retrieved from <http://jeb.biologists.org/content/jexbio/199/11/2467.full.pdf>
- Villarreal-Cavazos, D. A., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Nieto-López, M., Guajardo-Barbosa, C., Lemme, A., ... Cruz-Suárez, E. (2008). Digestibilidad Aparente de Aminoácidos de 10 Harinas d Pescado Utilizadas en Alimentos Comerciales Para Camarón Blanco (*L. vannamei*) en México. *Avances En*

- Nutrición Acuícola IX*, 27(382–409). Retrieved from <http://eprints.uanl.mx/8391/1/20-Villarreal.pdf>
- Wang, L., Li, J., Jin, J. N., Zhu, F., Roffeis, M., & Zhang, X. Z. (2017). A comprehensive evaluation of replacing fishmeal with housefly ( *Musca domestica* ) maggot meal in the diet of Nile tilapia ( *Oreochromis niloticus* ): growth performance, flesh quality, innate immunity and water environment. *Aquaculture Nutrition*, 23(5), 983–993. <https://doi.org/10.1111/anu.12466>
- Wang, Z., Xu, F., & Li, Y. (2013). Effects of total ammonia nitrogen concentration on solid-state anaerobic digestion of corn stover. *Bioresource Technology*, 144, 281–287. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2013.06.106>
- Wassef, E. A., Wahbi, O. M., Saqr, E. M., & Saleh, N. E. (2016). Response of European seabass (*Dicentrarchus labrax*) to canola oil diets: effect on growth performance, fish health and liver and intestine histomorphology. *Aquaculture International*, 24(4), 1073–1088. <https://doi.org/10.1007/s10499-016-9972-5>
- Zhao, Z., Song, C., Xie, J., Ge, X., Liu, B., Xia, S., ... Zhu, S. (2016). Effects of fish meal replacement by soybean peptide on growth performance, digestive enzyme activities, and immune responses of yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*. *Fisheries Science*, 82(4), 665–673. <https://doi.org/10.1007/s12562-016-0996-6>