



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE
HIDALGO**

FACULTAD DE BIOLOGÍA

**PROGRAMA INSTITUCIONAL DE MAESTRÍA EN
CIENCIAS BIOLÓGICAS**

ÁREA TEMÁTICA

SALUD Y PRODUCCIÓN ACUÍCOLA

**INFLUENCIA DE PREBIÓTICOS, ÁCIDOS ORGÁNICOS
Y SAPONINAS EN EL DESEMPEÑO PRODUCTIVO,
PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS E HISTOLOGÍA DE
LA TILAPIA DEL NILO (*Oreochromis niloticus*).**

TESIS

**PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRA
EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA

BIOL. DALIA LLENERI RODRÍGUEZ RAMÍREZ

DIRECTOR DE TESIS:

DR. ANTONIO CAMPOS MENDOZA



MORELIA, MICHOACÁN JULIO DE 2024

DEDICATORIA

A mis padres: Leticia Ramírez y Elías Rodríguez, por ser el mejor apoyo en el mundo, ambos constituyen pilares preciosos y fuertes como granito en mi vida, siempre han sido ejemplo de perseverancia y amor, así como una fuente inagotable de aliento y admiración en mi vida.

A mis hermanos: Kinari, Brenda y Diego, por ser mi chispa, las personas que me hacen reír incluso cuando todo parece totalmente gris, son la luz en cada uno de mis caminos, la diversión, aventura y magia en mi vida.

AGRADECIMIENTOS

Al programa institucional de maestría en ciencias biológicas, de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, al programa CONAHCYT por el apoyo de beca con el cual fue posible el presente proyecto.

A mi director de tesis el Dr. Antonio Campos Mendoza, por el apoyo académico y económico que me brindó durante la elaboración del presente proyecto, por su guía por todas las anécdotas compartidas tanto divertidas como tristes en estos dos años de maestría.

Al Dr. Samuel Sánchez Serrano, por su importante colaboración en el presente proyecto, sin su amable apoyo y facilidades no se podría haber realizado la parte histológica de este estudio, así como al Laboratorio de Histología de la Facultad de Ciencias Marinas de la Universidad Autónoma de Baja California, Unidad Ensenada, Baja California, México.

A la Dra. Rebeca Anelí Rueda Jasso, por todo su apoyo académico y emocional, por ser una guía en este proyecto, así como una amiga paciente y amorosa que me respalda y aconseja siempre y una gran mujer a la que admiro mucho.

Al Dr. Alberto Asiain Hoyos por su amable cooperación en este proyecto, por toda la literatura compartida, por sus bonitas fotos en cada examen.

Al Dr. Jorge Fonseca Madrigal por aceptar a formar parte de este comité sinodal.

A la Dra. Ivette Marai Villa Julio quien me enseñó la técnica apropiada para tomar la muestra sanguínea en peces, así como el adecuado análisis de los parámetros hematológicos.

A mi maravilloso equipo de trabajo, comenzando por mi gran amigo Uriel Lira Martínez, cuyo apoyo laboral, emocional e intelectual fueron de suma importancia en este proyecto, así como a mis amigos Diego Silva Rojas, Uver Gama Hernández, quienes con toda su colaboración fueron un gran apoyó en el extenuante trabajo en campo, a todos los chicos prestadores de servicio social: Cruz, Abel, Mitzi, Ximena, Tania, Carlos quienes me apoyaron mucho con el duro trabajo de las biometrías. A mi mejor amiga María Ángeles González Vázquez, por ser siempre una fuerza de la naturaleza que me impulsa a seguir y a mantenerme tranquila, que me apoya intelectual, pero sobre todo emocionalmente. Así como a al profesor Mario Romero y a sus trabajadores quienes me proporcionaron mucha ayuda en la siembra de mis organismos, al señor Noé quien me enseñó a remar. A don Paco Galicia, quien siempre me proporciono consejo y ayuda.

A mis papás Leticia Ramírez y Elías Rodríguez, a mis hermanos Kinari Rodríguez y Diego Moctezuma, quienes siempre me han apoyado, con sus consejos, con sus buenos deseos, con su presencia que es siempre tan firme y me llena de vitalidad, con su preocupación y con todas sus visitas a La Huacana, mientras yo incursionaba la travesía de la vida de campo.

Infinitas gracias.

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
1 INTRODUCCIÓN	3
2 ANTECEDENTES.....	5
2.1 Importancia económica de la tilapia	5
2.2 Cultivo de tilapia.....	5
2.3 Enfermedades en el cultivo de tilapia	6
2.4 Uso de antibióticos en cultivo	6
2.5 Prebióticos	7
2.6 Ácidos orgánicos	8
2.7 Saponinas	8
2.8 Hematología en peces	9
2.8.1 Eritrocitos	10
2.8.2 Leucocitos	10
2.8.3 Análisis de parámetros hematológicos	10
2.9 Sistema digestivo de la tilapia	13
2.10 Efecto de prebióticos en los parámetros hematológicos e histomorfología de la tilapia del Nilo	14
2.11 Efecto de las saponinas en los parámetros hematológicos e histomorfología de la tilapia del Nilo	16
3. Hipótesis.....	20
4. Objetivo General	20
5. Objetivos Particulares	20
6. Materiales y Métodos.....	21
6.1 Obtención de organismos	21
6.2 Adición de los suplementos alimenticios	22
6.3 Prueba en cultivo intensivo	22
6.4 Preparación del alimento.....	23
6.5 Calidad de agua.....	24

6.6 Índices de desempeño productivo	25
6.7 Toma de muestra sanguínea.....	25
6.8 Análisis de la muestra sanguínea.....	26
6.9 Toma de muestra histológica	29
6.10 Análisis estadístico.....	30
7 Costo de la inclusión de aditivos en la dieta	30
8 Resultados.....	32
8.1 Calidad de agua.....	32
8.2 Peso de los organismos	33
8.3 Longitud de los organismos	34
8.4 Relación peso-talla.....	35
8.5 Ganancia en peso (GP).....	36
8.6 Tasa de crecimiento específico (TCE).....	37
8.7 Factor de conversión alimenticio (FCA).....	38
8.8 Relación de Fulton	39
8.9 Parámetros Hematológicos de la tilapia del Nilo	40
8.10 Histología de intestino de tilapia del Nilo	44
8.11 Mortalidad	48
8.12 Pérdida de organismos en el experimento	49
8.13 Huracán Lidia.....	51
8.14 Aprovechamiento económico del uso de dietas suplementadas.....	53
9. Discusión.....	54
10. Conclusión	62
11. Recomendaciones	63
12. Referencias.....	64

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Valores de referencia (mínimos – máximos) para los parámetros hematológicos de la tilapia (De acuerdo a varios autores, los datos fueron transformados al sistema internacional).	¡Error! Marcador no definido.
Tabla 2. Prebióticos en tilapia del Nilo	14
Tabla 3. Saponinas en tilapia del Nilo	16
Tabla 4. Ácidos orgánicos en tilapia del Nilo	18
Tabla 5. Aproximación de costos en la inclusión de los aditivos a dietas comerciales.	30
Tabla 6. Promedio $\pm$ error estándar de los parámetros de calidad de agua.	32
Tabla 7. Aprovechamiento económico del uso de dietas suplementadas	53

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Localización de la presa de Zicuirán, La Huacana, Mich (Mapa: López-Quiroz, 2024).	21
Figura 2. Siembra de organismos juveniles de tilapia del Nilo, en la presa Zicuirán, La Huacana, Mich.	22
Figura 3. Sistema experimental (cultivo intensivo), presa Zicuirán, La Huacana, Michoacán.	23
Figura 4. Preparación de alimento (revolvedora CIPSA).	24
Figura 5. Extracción muestra sanguínea.	26
Figura 6. Toma de hemoglobina y hematocrito.....	27
Figura 7. Cámara Neubauer, solución Natt-Herricks, pipeta de toma de glóbulos.	28
Fig. 8. Velocidad de sedimentación eritrocítica.	29
Figura 9. Extracción muestra histológica.	30
Figura 10. Peso promedio $\pm$ error estándar de la TN a los 0, 45 y 90 días de ser alimentadas con las dietas suplementadas; las letras evidencian diferencias estadísticas significativas entre tratamientos ($p < 0.05$).	33
Figura 11. Longitud promedio $\pm$ error estándar de la TN a los 0, 45 y 90 días de ser alimentadas con las dietas suplementadas.	34
Figura 12. Relación peso-talla en la tilapia del Nilo a los 90 días experimentales, en el grupo control vs los tres tratamientos de dietas suplementadas.	35
Figura 13. Ganancia en peso promedio $\pm$ error estándar de la TN a los 45 y 90 días de ser alimentadas con dietas suplementadas, las letras muestran diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$).	36
Figura 14. Tasa de crecimiento específico promedio $\pm$ error estándar de la TN a los 45 y 90 días de ser alimentadas con dietas suplementadas, las letras exhiben diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$).	37
Figura 15. Factor de conversión alimenticia promedio $\pm$ error estándar de la TN a los 45 y 90 días de ser alimentadas con dietas suplementadas, las letras indican diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$).	38
Figura 16. Relación de Fulton promedio $\pm$ error estándar de la TN a los 90 días de ser alimentadas con dietas suplementadas, las letras muestran diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$).	39
Figura 17. Hemoglobina (g/L) promedio $\pm$ error estándar de la tilapia del Nilo alimentada con dietas suplementadas y control a los 0, 45 y 90 días	

experimentales, las letras indican diferencias estadísticas entre los grupos ($p < 0.05$).....	41
Figura 18. Hematocrito (L/L) promedio $\pm$ error estándar de la tilapia del Nilo alimentada con dietas suplementadas y control a los 0, 45 y 90 días experimentales, las letras indican diferencias estadísticas entre los grupos ($p < 0.05$).....	41
Figura 19. Velocidad de sedimentación (mm/Hr) promedio $\pm$ error estándar de la tilapia del Nilo alimentada con dietas suplementadas y control a los 0, 45 y 90 días experimentales, las letras indican diferencias estadísticas entre los grupos ($p < 0.05$).....	41
Figura 20. Conteo de eritrocitos ($\times 10^{12}/L$) promedio $\pm$ error estándar de la tilapia del Nilo alimentada con dietas suplementadas y control a los 0, 45 y 90 días experimentales, las letras indican diferencias estadísticas entre los grupos ($p < 0.05$).....	42
Figura 21. Conteo de leucocitos ($\times 10^9/L$) promedio $\pm$ error estándar de la tilapia del Nilo alimentada con dietas suplementadas y control a los 0, 45 y 90 días experimentales, las letras indican diferencias estadísticas entre los grupos ($p < 0.05$)..	42
Figura 22. Volumen corpuscular medio (fL) promedio $\pm$ error estándar de la tilapia del Nilo alimentada con dietas suplementadas y control a los 0, 45 y 90 días experimentales, las letras indican diferencias estadísticas entre los grupos ($p < 0.05$).....	42
Figura 23. Hemoglobina corpuscular media (pg) promedio $\pm$ error estándar de la tilapia del Nilo alimentada con dietas suplementadas y control a los 0, 45 y 90 días experimentales, las letras indican diferencias estadísticas entre los grupos ($p < 0.05$).....	43
Figura 24. Concentración de hemoglobina corpuscular media (g/L) promedio $\pm$ error estándar de la tilapia del Nilo alimentada con dietas suplementadas y control a los 0, 45 y 90 días experimentales, las letras indican diferencias estadísticas entre los grupos ($p < 0.05$).	43
Figura 25. Glucosa (mg/dL) promedio $\pm$ error estándar de la tilapia del Nilo alimentada con dietas suplementadas y control a los 0, 45 y 90 días experimentales, las letras indican diferencias estadísticas entre los grupos ($p < 0.05$).....	43
Figura 26. Fotomicrografías del intestino distal correspondiente al grupo control, a los 0, 45 y 90 días experimentales.	44
Figura 27. Fotomicrografías del intestino distal correspondiente al grupo alimentado con la dieta adicionada con el PB, a los 0, 45 y 90 días experimentales.	45

Figura 28. Fotomicrografías del intestino distal correspondiente al grupo alimentado con la dieta adicionada con el PB, a los 0, 45 y 90 días experimentales.	46
Figura 29. Fotomicrografías del intestino distal correspondiente al grupo alimentado con la dieta adicionada con el PB, a los 0, 45 y 90 días experimentales.	47
Figura 30. Porcentaje de mortalidad de la tilapia del Nilo, a los 90 días experimentales.	48
Figura 31. Porcentaje de perdida de organismos del bioensayo a los 45 días experimentales.	49
Figura 32. Porcentaje de perdida de los organismos del bioensayo a los 90 días experimentales.	50
Figura 33. Porcentaje de mortalidad ocasionada por el huracán Lidia al final del bioensayo	52

RESUMEN

La tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*), ocupa el segundo lugar como la especie íctica más cultivada en México. Sin embargo, el cultivo de la misma, se enfrenta a importantes bajas debido a enfermedades, por esta razón el uso de antibióticos (AB) es una práctica común. No obstante, el uso de AB, es escasamente controlado y causa efectos adversos en los organismos y en el ambiente. Una alternativa a los AB en el cultivo de peces es el uso de aditivos mejoradores de la nutrición (prebióticos (PB), ácidos orgánicos (AO) y saponinas (S). Los cuales buscan incrementar la absorción de los nutrientes presentes en la dieta, mejorar la resistencia a enfermedades y en consecuencia disminuir la mortalidad. Por lo anterior, el presente estudio se enfocó en determinar si el uso de aditivos (PB, AO y S) en la dieta de la tilapia del Nilo, mejora la condición de los organismos medida a través de: índices productivos, parámetros hematológicos y del análisis histológico del intestino distal, luego de 90 días de prueba. Los resultados mostraron un mayor incremento en peso de las tilapias alimentadas con las dietas suplementadas (PB: 217.9 g, AO: 235.8 g y S: 202.2 g) vs la dieta control (201.3 g). Los grupos alimentados con AO (3.8 %) y PB (3.7 %) presentaron la mayor tasa de crecimiento específico respecto al control (3.6 %), el mejor factor de conversión alimenticio lo presentó la dieta de AO (1.8) vs control (2.2). En el caso de los parámetros hematológicos, los conteos de glóbulos rojos y blancos no presentaron diferencia estadística significativa entre las dietas manteniéndose dentro del intervalo de referencia para la especie, esto indica que los organismos de todos los tratamientos eran sanos. Por otro lado, si hubo diferencias estadísticas significativas para: hemoglobina (Hg), hematocrito (Hcto), velocidad de sedimentación eritrocitaria (VSE) y glucosa (todos dentro de los intervalos de referencia descritos para la especie), los cuales presentaron un incremento en comparación al grupo control a los 45 y 90 días experimentales. Además, se observó diferencias cualitativas en la histología del intestino distal de los organismos alimentados con las dietas suplementadas. A los 45 días de alimentación, el grupo del PB mostró un mayor incremento en vellosidades intestinales y mucinas, el AO evidenció mayor número de mucinas ácidas y neutras, el de S reveló la presencia de mastocitos (células de defensa), esto sin que los organismos presentaran síntomas de inflamación, el control no mostró ninguna afectación en el intestino distal. No obstante, a los 90 días de ingesta con las dietas adicionadas, los organismos dejaron de presentar aumento en las vellosidades intestinales, mucinas, así como la presencia de mastocitos respectivamente.

Palabras clave: Aditivos de la dieta, parámetros hematológicos, histología y tilapia del Nilo.

ABSTRACT

The Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) ranks second as the most cultivated fish species in Mexico. However, its cultivation faces significant losses due to diseases, that is why the use of antibiotics (AB) is a common practice. Otherwise, the use of AB is poorly controlled and causes adverse effects on organisms and the environment. An alternative to AB in fish farming is the use of nutrition-improving additives (prebiotics (PB), organic acids (OA) and saponins (S)). Which seek to increase the absorption of nutrients present in the diet, improve resistance to diseases and consequently reduce mortality. Therefore, the present study focused on determining if the use of additives (PB, OA and S) in the diet of the Nile tilapia improves organisms condition measured through: productive indices, hematological parameters and distal intestine histological analysis, after 90 days of testing. The results showed a greater weight increase in the tilapia fed with the supplemented diets. (PB: 217.9 g, OA: 235.8 g and S: 202.2 g) vs the control diet (201.3 g). The groups fed with PB (3.7%) and OA (3.8%) showed the highest specific growth rate in contrast to control (3.6 %) and the best food conversion factor was presented by the OA diet (1.8) vs control (2.2). Hematological parameters, red and white blood cell counts did not present a significant statistical difference among diets, remaining within the specie reference range, this indicates that the organisms in all treatments were healthy. On the other hand, there were significant statistical differences for: hemoglobin (Hg), hematocrit (Hcto), erythrocyte sedimentation rate (ESV) and glucose (all within the reference intervals described for the species), which presented an increase in comparison to the control group at 45 and 90 experimental days. Furthermore, qualitative differences were observed in the organisms distal intestine histology fed with the supplemented diets. After 45 days of feeding, the PB group showed a greater increase in intestinal villi and mucins, the OA showed a greater number of acidic and neutral mucins, the S group revealed the presence of mast cells (defense cells), since the organisms did not present symptoms of inflammation and the control group did not show any distal intestine affectation. However, after 90 days of ingestion with the added diets, the organisms stopped showing the increase in intestinal villi, mucins and the presence of mast cells respectively.

Keywords: Diet additives, hematological parameters, histology and Nile tilapia.

1 INTRODUCCIÓN

La acuicultura es una industria de gran relevancia en la producción de alimentos, subproductos, divisas y fuentes de empleo. Una tercera parte de la producción está destinada a consumo humano, el resto a elaboración de aceites y harinas de pescado, entre otros (FAO, 2012). Actualmente, esta industria enfrenta una disminución en su tasa de crecimiento anual, la cual en el 2010 alcanzó 4.4 %, pero bajo a 3.3 % en el 2018 y 2.6 % entre el 2019 y 2022, que corresponde a una disminución del 40 %. Esto se debe principalmente al brote de COVID-19. La FAO predice una tasa de crecimiento anual promedio de 1.7 % para la década 2020-2030 (FAO, 2022).

Entre las diversas especies cultivadas en acuicultura se encuentra la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus* L.1758), esta es la segunda especie más cultivada en México, sólo superada por la carpa. En México, la producción de tilapia del Nilo en 2020 fue de 72,595 toneladas (t) (FAO, 2021). No obstante, el cultivo de tilapia enfrenta algunos problemas, como son las enfermedades en organismos de cultivo, las cuales ocasionan grandes pérdidas económicas (Nikoskelainen *et al.* 2003). Para tratar de mitigar las bajas por enfermedades, se han usado antibióticos (AB) tales como: la tetraciclina, cloranfenicol, quinolona, entre otros (Góngora, 1998). Sin embargo, el uso de estos no siempre es responsable ni controlado y causa efectos adversos (Vivanco, 2021) entre ellos la adaptación de los patógenos y el incremento de su resistencia a estos tratamientos.

Una alternativa a los antibióticos en el cultivo de peces es el uso de aditivos mejoradores de la nutrición (AMN) (prebióticos (PB), ácidos orgánicos (AO), saponinas (S), entre otros). Los cuales buscan incrementar la absorción de los nutrientes presentes en la dieta, mejorar la resistencia a enfermedades y en consecuencia disminuir la mortalidad (Cota, 2011).

Los PB son ingredientes de los alimentos no digeribles, que estimulan selectivamente una población específica de bacterias en el intestino (Oliveira y González-Molero, 2007) e impiden la colonización y proliferación de bacterias patógenas (Lima de Araújo *et al.* 2017). En tanto que los ácidos orgánicos pueden modular el pH intestinal y controlar el crecimiento de bacterias patógenas, así como conferir y aumentar la palatabilidad del alimento (Miller, 1987). Lo anterior resulta en una mayor aceptación del alimento y por lo tanto un mejor crecimiento de los organismos en cultivo (Xie *et al.* 2002). Otro aditivo son las saponinas, que son metabolitos secundarios de origen vegetal que facilitan la digestión y absorción de nutrientes en los organismos (Ahumada *et al.* 2016). El uso de este tipo de productos en el sector acuícola, mejora las técnicas productivas y mitiga el desarrollo de enfermedades en el cultivo (Rodríguez, 2017).

Una forma de determinar si el uso de los AMN mejora la condición de los organismos es la evaluación de los parámetros hematológicos (PHE) (Hrubec *et al.* 2000). Estos incluyen: el hematocrito (Hcto), hemoglobina (Hg), hemoglobina corpuscular media (HCM), concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM), volumen corpuscular medio (VCM), velocidad de sedimentación eritrocitaria (VSE), glucosa (Glu) y conteo de glóbulos rojos (CGR) y blancos (CGB) (Aranda, 2011). Otra forma de evaluar la condición del organismo es a través del análisis de tejido por medio de estudios histológicos en órganos diana, que permiten observar cambios en la anatomía microscópica en los organismos (Van Dyk y Pieterse, 2008).

Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue determinar a través de los PHE y de estudios histológicos del intestino de tilapia del Nilo (TN), si la adición de PB, AO y S en la dieta mejora la condición de la TN y comparar estos con un grupo control tratado con alimento convencional sin aditivos.

2 ANTECEDENTES

2.1 Importancia económica de la tilapia

La TN es una especie importante en la acuicultura; ostenta el segundo lugar de peces cultivados más importantes del mundo (FAO, 2017). Esto se debe a que la tilapia es una especie de fácil manejo, rápido crecimiento, fácil de reproducir, tolera altas densidades, entre otras características que la vuelven idónea para su cultivo. Lo que permite que su comercialización sea rentable, además de presentar excelente calidad en su carne y ser una buena fuente de proteína, esto la convierte en una especie muy popular en el mercado (FAO, 2009).

El mayor productor de tilapia es China con 26 % de la producción total, no obstante, Brasil e Indonesia están incrementando su porcentaje de cultivo y cosecha de esta especie. La producción mundial de tilapia en 2020, se estimó en casi 7 millones de t, de las cuales Indonesia y Filipinas produjeron 39 %, mientras que Brasil aportó 6.9 % y México produjo 1.04 % (FAO, 2020).

México produce tilapia en sus 32 entidades federativas, los estados más importantes en la producción de esta especie son: Chiapas (25 455 t), Jalisco (3 811 t), Veracruz (3 402 t), Nayarit (2 091 t), Sinaloa (1 606 t) y Michoacán (1 312 t). Estos estados son responsables de las tres cuartas partes de las 168,000 t cosechadas en México en 2018. Chiapas es el estado con mayor producción de tilapia proveniente de la acuicultura (90 %), mientras que en los demás estados esta se obtiene principalmente de la pesca (FAO, 2021). Sin embargo, para este año la producción de tilapia en México cayó en comparación a 2019, debido a la contingencia sanitaria COVID-19 llegando incluso a una disminución en su producción de hasta 50 % en algunos estados (FAO, 2021).

2.2 Cultivo de tilapia

La TN es una especie cultivada en altas densidades, su cultivo por lo general es semi-intensivo o intensivo. Este tipo de cultivos permiten un aumento en la cosecha, lo que equilibra los costos de producción y lo vuelve un sistema bastante rentable (Saavedra, 2006). No obstante, un mal manejo en este tipo de cultivos puede desencadenar en una serie de problemas como: desequilibrio nutricional, enfermedades en los organismos, uso de antibióticos, impacto al ambiente, entre otros (Turcios y Papenbrock, 2014). Además de que pueden propiciar estrés en los organismos debido a las altas densidades, lo que se reduce la resistencia del pez y quedan vulnerables a enfermedades (El-Sayed, 2019).

2.3 Enfermedades en el cultivo de tilapia

En el cultivo de tilapia es posible encontrar una amplia variedad de enfermedades, que van de las infecciosas a las no infecciosas. Estas enfermedades pueden ser causadas por estrés y/o por parásitos, bacterias, virus u hongos. La gravedad de los parásitos está asociada al número de organismos en el cultivo, estado de salud, sexo y edad. Los síntomas que se pueden presentar son: reemplazo de tejidos gonadales, hipertrofia en las vías respiratorias, destrucción en el epitelio branquial, aumento en el volumen abdominal y mortalidad entre 50 a 100 % (El-Sayed, 2019).

Las enfermedades en la tilapia se han asociado a bacterias tanto Gram-positivas, como Gram-negativas, las cuales están relacionadas con la calidad de agua, carga orgánica y densidad de cultivo. Entre las afecciones que pueden causar son: exoftalmía, desprendimiento del globo ocular, erosión en piel y aletas, hemorragias, melanosis, natación errática, letargo, falta de apetito, mortalidad, entre otras. Los virus pueden causar síntomas como: patrones de natación en giros rápidos, coloración oscura, letargo, reposo en el fondo, exoftalmía, palidez en branquias y órganos viscerales, hemorragias, además de necrosis e inflamación en los órganos, enfermedades linfocíticas, mortalidad masiva, entre otros. Por su parte los hongos, se consideran enfermedades secundarias, ya que aprovechan las lesiones en el pez causadas por enfermedades parasitarias o bacterianas, se asocian con malas condiciones de cultivo (FAO, 2011 y El-Sayed, 2019).

2.4 Uso de antibióticos en cultivo

El uso de AB, es la forma convencional de tratar enfermedades en los cultivos acuáticos. Los AB más usados en el cultivo de tilapia son: oxitetraciclina, tetraciclina, clortetraciclina, ciprofloxacina, enrofloxacin, sarafloxacin, norfloxacina, sulfatiazol, sulfadimetoxina, florfenicol, entre otros (Monteiro *et al.* 2016). No obstante, suministrar AB sin control, resulta en varios problemas tales como: bacterias resistentes a AB, destrucción de la población microbiana en el medio, bioacumulación de AB en músculo del pez (posible causa de deterioro en salud humana), además, de que permanecen residuos de AB en la columna de agua y causan daños en el ecosistema (Paschoal *et al.* 2017 y Desbois *et al.* 2021).

En una prueba toxicológica aguda en larvas de TN expuestas a florfenicol, se observó que la exposición a este fármaco disminuye el peso y talla de las larvas y causar mortalidad. La concentración letal para 50 % de mortalidad (CL₅₀), se determinó en: 349.94 mg L⁻¹ (Campos *et al.* 2020).

Para evitar lo anterior y minimizar el uso de AB en cultivos acuáticos se opta por emplear productos como lo son: prebióticos, ácidos orgánicos y saponinas en la dieta de los organismos (Azevedo *et al.* 2015).

2.5 Prebióticos

Los PB están compuestos por oligo y polisacáridos (azúcares presentes en tejidos vegetales, que se originan de la unión de dos o más monosacáridos) (Pabón, 2004). Estos son ingredientes no digeribles que estimulan ciertas bacterias benéficas en el colon (Gibson y Roberfroid, 1995) y actúan como sustrato para las bacterias amigables, lo que le permite al organismo producir ácidos grasos de cadena corta (AGCC) que se convierten en una fuente de energía y en un efecto positivo en el metabolismo del intestino grueso y la prevención de enfermedades (Astiasarán *et al.* 2003 y Corzo *et al.* 2015). De igual manera los AGCC reducen el pH del colon, lo que inhibe el crecimiento de bacterias patógenas (Mussatto y Mancilha, 2007).

Los PB deben de cumplir ciertas características para ser considerados como tal: tolerar las condiciones ácidas del estómago, llegar intactos al colon y propiciar el crecimiento de microorganismos relacionados con la salud del huésped (Castro y Rodríguez, 2005).

El uso de PB en la dieta estimula el crecimiento en los organismos, además de que mejora su salud debido a los subproductos que se obtienen a través de la fermentación que realizan bacterias en el tracto digestivo (Roberfroid, 2005). De tal manera que los PB pueden equilibrar el sistema inmune tanto directa como indirectamente (Fransen *et al.* 2017). En forma directa, estos modulan la respuesta del sistema inmune, por medio de la activación de algunos de sus componentes y de forma indirecta propician la producción de diferentes metabolitos que dan energía a la célula. En ambos casos, mejoran el crecimiento de las bacterias involucradas con actividades en el SI (Nawaz *et al.* 2018). Entre los metabolitos que se originan y que tienen efecto en el SI se encuentran los AGCC que tienen propiedades antiinflamatorias (Hoseinifar *et al.* 2015). Además, los PB también impulsan la proliferación de las células epiteliales intestinales que se encargan de liberar proteínas antimicrobianas (Cani y Everard, 2016). Así mismo los PB encausan una mejor salud intestinal al generar una mayor altura y grosor en las vellosidades intestinales y con ello una mayor absorción de nutrientes (Sado *et al.* 2008).

Los PB que actúan de forma directa con el SI son los inmunosacáridos como: la inulina, fructo-oligosacáridos (FOS), manano-oligosacáridos (MOS) y β -glucanos que actúan como agentes inmunomoduladores (Vogt *et al.* 2015). Estos pueden mediar la actividad de los receptores de reconocimiento como los β -glucanos y la

dectina-1 presentes en los macrófagos (leucocitos polimorfonucleares o granulocitos), que activan moléculas de transducción y estos estimulan a las células inmunitarias (Song *et al.* 2014).

Los PB se relacionan con la microbiota que habita en el tracto digestivo intestinal (Hooper *et al.* 2012), lo que podría generar efectos de los PB en el SI del organismo (Fransen *et al.* 2017).

El nivel de respuesta a los PB en el organismo, se ve afectado por el prebiótico elegido, porcentaje de suplementación dietética, duración de uso, además de a qué especie y en qué etapa de vida se les proporcione el mismo (Grisdale-Helland *et al.* 2008).

2.6 Ácidos orgánicos

Los AO son compuestos carboxílicos, su estructura general es $R-COOH$, su acidez está relacionada al grupo carboxilo ($-COOH$), son ácidos débiles, se disocian parcialmente en agua, su solubilidad en agua varía de acuerdo al número de átomos de carbono que lo conformen. Los AO compuestos por cuatro átomos de carbono son relativamente solubles en agua, entre más átomos de carbono presente un AO menor será su solubilidad en agua, los que presentan seis carbonos son prácticamente insolubles en agua (Lim *et al.* 2015).

Los AO actúan en el organismo, por medio de la reducción del pH en el tracto digestivo, particularmente en el intestino delgado, inhiben el crecimiento de bacterias Gram-negativas por medio de la disociación de ácidos y aniones en las células de las bacterias (Lim *et al.* 2015). Así mismo, los AO permite a los organismos retener nitrógeno y digerir mejor los nutrientes (Kluge *et al.* 2004). Por estas razones se usan en la acuicultura como aditivo en las dietas de peces.

2.7 Saponinas

Las S se encuentran presentes en diferentes grupos de plantas. Estos compuestos son metabolitos que consisten en carbohidratos que contienen glucosa, galactosa, ácido glucorónico, xilosa y ramnosa, que se unen a una aglicona por medio de un enlace glucosídico (Hostettmann y Marston, 1995). Estas pueden presentar una estructura de triterpenos o glúcidos esteroides (Oakenfull y Sidhu, 1989). Las S esteroidales se encuentran principalmente en las plantas monocotiledóneas, mientras que las S triterpénicas se encuentran en plantas dicotiledóneas (Sparg *et al.* 2004). Cada tipo de S presenta estructuras distintas que varían de acuerdo a la planta en la que se originan (Fenwick *et al.* 1991), lo que resulta en que ninguna de ellas tiene las mismas características físicas, químicas y/o biológicas, por lo tanto, tienen distintas propiedades (Güçlü-Üstündağ y Mazza,

2007). Entre sus propiedades fisicoquímicas se encuentra que son compuestos tensioactivos con cualidades detergentes, humectantes, emulsionantes, espumantes y surfactantes (Wang *et al.* 2005). Las S presentan cualidades biológicas como anti fúngicas, insecticidas, antibacterianas, antivirales, antitumorales, adyuvantes inmunológicos, entre otras (Lacaille-Dubois y Wagner, 2000 y Tava y Avato, 2006). Sus cualidades inmunológicas, se deben a que pueden estimular el SI y mejoran la producción de anticuerpos (Oda *et al.* 2000).

En el caso de los animales, si las S se encuentran en grandes cantidades en la dieta pueden tener efectos negativos (Cheeke, 1996). Se consideran importantes anti nutrientes en la dieta de los peces, además de que pueden ser tóxicas para ellos (Neuwinger, 1994, Francis *et al.* 2001 y Francis *et al.* 2005). Sin embargo, los estudios realizados en TN y carpa común, demostraron que el uso de S triterpenoides presentes en un árbol medicinal, endémico de Chile (*Quillaja saponaria*), propician una mayor tasa de ganancia en peso y reduce su tasa metabólica (Francis *et al.* 2001 y Francis *et al.* 2002). Por su parte, el extracto etanólico de *Aloe vera* incorporado a las dietas para carpa común a 2.5 % promovió el crecimiento en este pez (Mahdavi *et al.* 2013). Por ello, estas S se empezaron a utilizar en el cultivo de peces, como promotores de crecimiento y para minimizar el uso de AB en la acuicultura (Francis *et al.* 2005).

2.8 Hematología en peces

En peces el volumen total de sangre es del 3 % respecto a su peso corporal. De este, 17 % del volumen está conformado por células sanguíneas (eritrocitos, leucocitos y trombocitos), mientras que el 83 % restante es plasma compuesto por agua, minerales en solución, anticuerpos, enzimas y sustancias disueltas. Al no poseer médula ósea, la sangre en peces, se forma principalmente en el intersticio del riñón y del bazo, así como un poco en el órgano del timo, en hígado y en la submucosa del intestino (Del Rio-Zaragoza, 2004). En la sangre periférica de un pez sano, es común observar una dominancia de eritrocitos y en menor cantidad los diferentes tipos de leucocitos (linfocitos, neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monocitos y trombocitos) (Yasutake y Wales 1983). De tal forma, que la evaluación de los PHE es útil para conocer la condición de los organismos. Los PHE que se evalúan son: el hematocrito (Hcto) (cantidad de eritrocitos en una muestra de sangre), hemoglobina (Hg) (concentración de Hg, expresada en gramos por unidad de volumen), hemoglobina corpuscular media (HCM) (peso promedio de Hg presente en los eritrocitos), concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) (muestra la proporción de Hg existente en un eritrocito-promedio con relación a su tamaño), volumen corpuscular medio (VCM), (mide la dimensión promedio de eritrocitos), velocidad de sedimentación eritrocitaria (VSE) (rapidez con

que los eritrocitos sedimentan en una muestra, determina si existe o no inflamación en el organismo), glucosa (cantidad de azúcar en sangre), conteo de glóbulos rojos (CGR), conteo de glóbulos blancos (CGB) (Aranda, 2011).

2.8.1 Eritrocitos

Los eritrocitos en peces, son células ovaladas con un núcleo compacto, contienen hemoglobina (proteína de la sangre, cuya función es transportar oxígeno). Estos son metabólicamente más activos en comparación con sus homólogos en mamíferos. El tamaño promedio de los glóbulos rojos es diferente entre los grupos taxonómicos de peces, en teleósteos suelen medir de 8 a 15 μm . En su estado inmaduro son denominados reticulocitos y se diferencian de los eritrocitos por su citoplasma basófilo, poseen menos hemoglobina y son células más pequeñas (Fange, 1992; Hrubec y Smith 2010 y Campbell 2012).

2.8.2 Leucocitos

Los leucocitos son células involucradas en el sistema inmune, que se pueden encontrar en el torrente sanguíneo, en tejidos y órganos linfoides (Fange, 1992). Actúan protegiendo al organismo de enfermedades inducidas por bacterias, virus o parásitos (Hrubec y Smith, 2010). La cantidad de leucocitos en sangre es muy variable depende de la especie y/o de las condiciones fisiológicas del pez (Fernández *et al.* 2012). Existen diferentes tipos de leucocitos, que se catalogan de acuerdo a su morfología en: a) Granulocitos (células con gránulos lisosomales, vacuolas y otros organelos en su citoplasma), son móviles y fagocíticamente activas, estos se dividen en: neutrófilos, eosinófilos y basófilos, según cómo se tiñan (técnica Romanovsky) y b) en no granulocitos (linfocitos, monocitos y trombocitos). En peces teleósteos, se pueden encontrar todos los tipos de leucocitos, pero no siempre están presentes todos ellos, ni en las mismas proporciones en las diferentes especies ícticas (Hine, 1992; Fange, 1992 y Fernández *et al.* 2016).

2.8.3 Análisis de parámetros hematológicos

El análisis de PHE, permite monitorear la condición en la que se encuentran los organismos en cultivo. Esto resulta importante ya que proporciona datos confiables acerca del estado fisiológico de los peces (Satheeshkumar *et al.* 2012 y Fazio, 2019). De igual forma el análisis de PHE, facilita el desarrollo de indicadores en los cambios de calidad de agua, alimento, desbalance nutricional, enfermedades, factores ambientales, genética del organismo, madurez sexual, género y especie (Ranzani-Paiva *et al.* 2003, Tavares-Dias y Morales, 2004, Magill y Sayer, 2004,

Vázquez y Guerrero, 2007 y Jamalzadeh y Ghomi, 2009). En este sentido, son una herramienta eficiente, compuesta por tres partes esenciales:

1. La serie de glóbulos rojos (eritrocitos), mide: Hcto, Hg e índices hematimétricos que comprenden: VCM, HCM, CHCM.
2. La serie de glóbulos blancos (leucocitos), mide la cantidad de los mismos. Estos glóbulos blancos son células sanguíneas encargadas de intervenir en procesos inmunitarios como: inflamación, producción de inmunoglobulinas, control de infecciones y defensa del organismo ante posibles agentes patógenos.
3. La VSE, esta puede revelar inflamación en el organismo (Aranda, 2011). Así como realizar conteos de GB y GR, en los peces para realizar estos conteos se hace de forma manual con una cámara Neubauer, debido a la presencia de eritrocitos nucleados (Conroy, 1998).

Un adecuado análisis de PHE, puede detectar cambios en los niveles de eritrocitos o su estado de madurez, lo que permite diagnosticar diferentes tipos de anemias (Fazio *et al.* 2015) o mecanismos de adaptación fisiológica, así como su capacidad de transportar oxígeno (Faggio *et al.* 2013). Mientras que los niveles de leucocitos y su estado de madurez se usan para determinar estrés o enfermedades en los peces (Clauss *et al.* 2008). Para realizar una apropiada interpretación de los valores hematológicos, es necesario interpretar de acuerdo a los valores de referencia de cada especie. En los últimos años se han establecido valores de referencia de los PHE de algunas especies de peces de cultivo y silvestres (Fazio *et al.* 2013, Witeska *et al.* 2016). En el caso de la tilapia del Nilo, se tienen valores de referencia de sus PHE, como se observa en la Tabla 1.

Tabla 1. Valores de referencia (mínimos – máximos) para los parámetros hematológicos de la tilapia (los datos fueron transformados al sistema internacional).

Especie	Parámetro	Intervalo de referencia	Unidad	Autor
<i>O. hybrid</i>	Hcto	0.27 - 0.37	L/L	(Hrubec <i>et al.</i> 2000)
	Hg	70 - 98	g/L	
	VCM	115 - 183	fL	
	HCM	28.3 - 42.3	pg	
	CHCM	220 - 290	g/L	
	Eritrocitos	1.91 - 2.83	10 ¹² /L	
	Leucocitos	21.55 - 154.69	10 ⁹ /L	
	Linfocitos	28.33 - 167.22	10 ⁹ /L	
	Neutrofilos	0.55 - 9.87	10 ⁹ /L	
	Monocitos	0.4 - 4.28	10 ⁹ /L	
	Eosinófilos	0.035 - 1.64	10 ⁹ /L	
	Trombocitos	25.06 - 85. 21	10 ⁹ /L	
<i>O. niloticus</i>	Glucosa	30 - 69	mg/dL	(Bittencourt <i>et al.</i> 2003)
	Hcto	0.15 - 0.45	L/L	
	Hg	65.8 - 159.8	g/L	
	VCM	123.6 - 528.57	fL	
	HCM	5.07 - 120.86	pg	
	CHCM	0.19 - 0.87	g/L	
	Eritrocitos	0.7 - 2.8	10 ¹² /L	
<i>O. niloticus</i>	Glucosa	22.7-107	mg/dL	(Hahn-Von-Hesberg <i>et al.</i> 2011)
	Hcto	0.27 - 0.43	L/L	
	Hg	55.9 - 116.1	g/L	
	VSE	1 - 5	mm/h	
	VCM	97.82 - 357.79	fL	
	HCM	23.36 - 88.84	pg	
	Eritrocitos	1.09 - 2.76	10 ¹² /L	
	Leucocitos	18 - 21	10 ⁹ /L	
	Trombocitos	42 - 49.6	10 ⁹ /L	
	Linfocitos	5.92 - 11.3	10 ⁹ /L	
	Neutrofilos	0 - 3.2	10 ⁹ /L	
	Monocitos y Macrofagos	0 - 0.96	10 ⁹ /L	
	Eosinófilos	0 - 0.025	10 ⁹ /L	
	Basófilos	0 - 0.04	10 ⁹ /L	
<i>O. niloticus</i>	Hcto	0.32 - 0.35	L/L	(Villa, 2016)
	Hg	85 - 92	g/L	
	VSE	1.81 - 2.12	mm/h	
	VCM	173.61 - 183	f/L	
	Eritrocitos	1.8 - 2.1	10 ¹² /L	
	Leucocitos	44 - 50	10 ⁹ /L	
	Trombocitos	25.06 - 85.21	10 ⁹ /L	
	Linfocitos	36.93 - 41.93	10 ⁹ /L	
	Neutrofilos	1 - 3.50	10 ⁹ /L	
	Monocitos	0.05 - 1.20	10 ⁹ /L	

2.9 Sistema digestivo de la tilapia

El aparato digestivo de las tilapias comienza por la boca, continua con la faringe, a la cual le sucede el esófago que dispone de células secretoras de una sustancia mucilaginosa destinada a favorecer el avance del bolo alimenticio hacia el estómago (Villarruel *et al.* 2011). El hígado y el páncreas forman parte del sistema digestivo, al presentar funciones que favorecen la digestión, como lo es: la adición de bilis y la generación de reservas de glucógeno (Brown, 2000). En la pared intestinal se encuentran vellosidades, las cuales aumentan la superficie de absorción del intestino (Rodríguez y Beltrán, 2012), las vellosidades intestinales son proyecciones digitiformes o evaginaciones que están conformadas por una hilera de células epiteliales de varios tipos, que afectan el moco gastrointestinal y amplían la superficie de absorción de 5 a 6 veces más (Herreira, 2013). El moco gastrointestinal se compone de diferentes tipos de mucinas, entre ellas las mucinas neutras (neutralizan el pH y protegen estómago e intestino) y las mucinas ácidas que se dividen en dos grupos: sialomucinas y sulfomucinas, ambos tipos se encargan de proteger y lubricar el intestino (Lynch *et al.*, 1972). Las mucinas en el tracto gastrointestinal de los peces varían según las diferentes especies, edades, así como partes del tracto y son generadas por las células calciformes (Grau *et al.*, 1992; Sarasquete *et al.*, 2001).

El tamaño y densidad de las microvellosidades es otro factor que influye en la capacidad del intestino para digerir y absorber los nutrientes del alimento; mayor altura de las vellosidades es igual a mayor superficie intestinal, además de mayor actividad de las enzimas y de los sistemas de transporte de nutrientes (Pluske *et al.* 1988; Rodríguez y Beltrán, 2012). El uso de aditivos en la dieta, como los son: PB, AO y S, pueden incentivar mayor crecimiento en las microvellosidades intestinales y por lo tanto mayor absorción de nutrientes y mejor salud intestinal (Hisano *et al.* 2006; Giannenas *et al.* 2011; Yuji-Sado *et al.* 2015; Cornejo, 2017; Alves Jesus *et al.* 2021).

2.10 Efecto de prebióticos en los parámetros hematológicos e histomorfología de la tilapia del Nilo

Los prebióticos en la dieta efectúan algunos cambios en la TN como se describe en la tabla 2

Tabla 2. Prebióticos en tilapia del Nilo

Especie	Prebiótico	Conc. Y Duración	Parámetros Hematológicos	Histología	Fuente
<i>O. niloticus</i> (juveniles)	MOS	0, 1, 2 y 3 % Levadura entera (LE), levadura autolizada (LA) y pared celular (PC) (<i>S. cerevisiae</i>), mezclados en una dieta comercial (80 días).	Peces alimentados con 2 % LE, exhibieron un aumento en CGR y Hg ($2.0 \times 10^6 \mu\text{L}$ y 6.5 g dL respectivamente) en comparación al grupo control ($1.6 \times 10^6 \times \mu\text{L}$ y 6.3 g dL respectivamente).	Las vellosidades del tercio medio del intestino de las tilapias alimentadas con 2 % LE expresaron el mayor perímetro en las vellosidades intestinales ($1048.3 \mu\text{m}$), en comparación con los otros tratamientos.	(Hisano <i>et al.</i> 2006)
<i>O. niloticus</i> (juveniles)	MOS	0, 0.2, 0.4 y 0.6 % mezclados en una dieta comercial (60 días).	La concentración de lisozima sérica, la actividad de explosión respiratoria de leucocitos y la concentración de proteína total en suero, no presentaron cambios significativamente distintos en comparación al control.	A los 30 días se observó pliegues intestinales significativamente más altos en el trat. 0.4 % MOS ($400 \mu\text{m}$). Los trat. 0.4 % y 0.6 % presentaron capas de la musculatura intestinal más gruesa ($65 \mu\text{m}$ y $60 \mu\text{m}$ respectivamente).	(Yuji-Sado <i>et al.</i> 2015)
<i>O. niloticus</i> (juveniles)	MOS	0, 2 g/ kg mezclado en una dieta comercial (6 semanas).	_____	Las vellosidades intestinales del gpo. tratado con PB son significativamente más grandes (alto: $268.5 \mu\text{m}$, ancho: $55 \mu\text{m}$ y perímetro: $2.4 \mu\text{m}$) en comparación al control (alto: $188.7 \mu\text{m}$, ancho: $50 \mu\text{m}$ y perímetro: $1.5 \mu\text{m}$)	(Azevedo <i>et al.</i> 2016)
<i>O. niloticus</i> (juveniles)	β -glucanos y MOS	0, 0.1 y 0.2 % mezclados en una dieta comercial (2 meses).	El trat. 0.1 % mostro un mayor CGB ($201 \times 10^3 \text{ cel/mL}$) y de Hg (9.17 g/dL) en comparación al control (CGB: $130 \times 10^3 \text{ cel/mL}$, Hg: 8.43 g/dL) y trat. 0.2% (CGB: $156 \times 10^3 \text{ cel/mL}$, Hg: 9.07 g/dL).	El control exhibió una estructura tisular normal de hígado, riñón, bazo e intestino, mientras que el gpo. tratado con el PB, mostró infiltración de células pigmentadas con melanina en el parénquima, de igual forma en bazo y en riñón no se encontró alteraciones histológicas.	(Abu-Elala <i>et al.</i> 2018)

Cont. Tabla 2. Prebióticos en tilapia del Nilo

Especie	Prebiótico	Conc. Y Duración	Parámetros Hematológicos	Histología	Fuente
O. niloticus (juveniles)	MOS y β -glucanos	0, 0.1 % MOS y 0.03 % de β -glucanos mezclados en una dieta comercial (90 días).	Peces tratados con MOS y β -glucanos vs control, presentaron Hcto similar (33.3, 34 y 34.3 % respectivamente), el VCM se diferenció en el control, pero no entre tratamientos (2.0, 2.2 y 2.5 fL respectivamente) y CGR (166.7, 138.6 y 156.6 $\times 10^4 \mu\text{L}$ respectivamente).	La estructura de la parte delantera del intestino mostró diferencias significativas en la altura (61.8, 69.0 y 69.1 μm), la altura total de las vellosidades (66.7, 76.3 y 74.1 μm) y el espesor del epitelio (7.6, 6.4 y 8.4 μm) para control, MOS y β -glucanos respectivamente.	(Liranco <i>et al.</i> 2013)
O. niloticus (juveniles)	MOS	0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1 % mezclados en una dieta comercial (45 días).	Organismos tratados con 1% MOS, evidenciaron un ligero aumento en los PHE vs gpo control (Hcto: 29.5, 29.3 %, VCM: 210.6 fL vs 232.4 fL, CGR: $1.47 \times 10^6 \mu\text{L}$ vs 1.32×10^6 respectivamente), el trat. 0.6 % mostró un mayor CGB (84,000 / μL), en comparación al control (73,613 μL). Las diferencias no fueron significativas.		(Sado <i>et al.</i> 2008)
O. niloticus (juveniles)	β -glucanos y MOS	0, 3, 5 y 7 % de levadura <i>Yarrowia lipolytica</i> mezclado en una dieta comercial (35 días).	El trat. 7% presento valores significativamente más bajos de Hcto y VCM (34.5 % y 182.7 fL respectivamente) en comparación con el trat. 5% (Hcto: 39.5 % y VCM: 219.4 fL respectivamente) y el control (Hcto: 37.6 % y VCM 201.7 fL). El trat. 5% exhibio un mayor número de monocitos (3.17%), en comparación al resto de tratamientos.		(Neuls <i>et al.</i> 2021)

2.11 Efecto de las saponinas en los parámetros hematológicos e histomorfología de la tilapia del Nilo

Las saponinas en la dieta efectúan algunos cambios en la TN como se describe en la tabla 3

Tabla 3. Saponinas en tilapia del Nilo

Especie	Saponina	Conc. Y Duración	Parámetros Hematológicos	Histología	Fuente
O. niloticus (crías)	Hierba de Ginseng (Ginsana® G115)	0, 50, 100, 150, 200 y 250 mg/ Kg en una dieta comercial (17 semanas).	Crías alimentadas con 200 mg/kg de S, presentaron un aumento significativo de Hcto (34.3 %) , Hg (12.9 g/dL) y CGR (2.2 10 ⁶ /μL) vs control (Hcto: 30.7%, Hg: 11.7 g/dL y CGR: 1.9 10 ⁶ /μL). Por otro lado el VCM fue significativamente mayor en control (160.5 fL) vs tratamientos.	_____	(Goda, 2008)
O. niloticus (juveniles)	Harina de <i>Moringa oleifera</i>	0, 5, 10 y 15 % en una dieta comercial (33 semanas).	Los PHE de peces tratados con 5 % de la S (Hcto: 15.2 %, Hg: 4.4 g/dL, VCM: 151 fL) y 10 % (Hcto: 15.2 %, Hg: 4.7 g/dL, VCM: 156.2 fL) aumentaron un poco vs al control (Hcto: 14.4 %, Hg: 4.1 g/dL, VCM: 146.2 fL), sin llegar a ser significativos. Por otro lado, el trat. 15% de S presentó los niveles más bajos en sus PHE.	_____	(Bbole <i>et al.</i> 2016)
O. niloticus (crías)	Harina de <i>Quillaja saponaria</i>	0 y 300 mg/kg en una dieta comercial (60 días).	Peces tratados con la S, no exhibieron diferencias significativas en (Hcto 25.21 %), Hg 7.92 g/dL y CGR 1.10 x 10 ⁶ /μL) vs el control (Hcto: 24.55 %, Hg: 8.91 g/dL y CGR 1.45 x 10 ⁶ /μL). La glucosa en sangre fue superior en control (62.15 mg/dL) vs el trat. (47.89 mg/dL).	El gpo control presentó daño en branquias (tejido necrótico y pérdida) vs el trat. de S que presentó disminución de tejido necrótico en branquias, así como mayor área y longitud de vellosidades intestinales.	(Elkaradawy <i>et al.</i> 2021)
O. niloticus (juveniles)	Harina de <i>Aloe barbadensis</i> y extracto de propóleo (1:1)	0.5, 1 y 2 % en una dieta comercial (15 días).	Peces alimentados con 0.5 % de la S mostraron (Hcto: 20.8 %, CGR 2.3 x 10 ⁶ μL y CGB 34.8 x 10 ³ μL), el trat. 2 % (Hcto: 23 %, CGR: 2.4 x 10 ⁶ μL y CGB 29.5 x 10 ³ μL) vs control (Hcto: 24.2 %, CGR 2.2 x 10 ⁶ μL y CGB 33.4 x 10 ³ μL).	_____	(Dotta <i>et al.</i> 2015)

Cont. Tabla 3. Saponinas en tilapia del Nilo

Especie	Saponina	Conc. Y Duración	Parámetros Hematológicos	Histología	Fuente
<i>O. niloticus</i> (alevines)	Harina de <i>Carica papaya</i>	0, 2, 4, 6 y 8 g/Kg en una dieta comercial (28 días).	El trat. 4 g/Kg de S obtuvo el nivel más alto de Hg (7.75 g/dL) vs control (7.25 g/dL), al igual que los niveles de HCM (23.14 %) y VCM (68.66 fL) vs control (HCM: 21.02% y VCM: 60.88 fL). En CGR, CGB y plaquetas no hubo diferencias significativas entre los tratamientos.	Las gónadas de los alevines alimentados con la S, mostrarán varios niveles de malformación, fenómeno que fue en aumento de acuerdo al incremento en la concentración de la S.	(Solomon <i>et al.</i> 2017)
<i>O. niloticus</i> (crías)	Harina de <i>Aloe vera</i>	0, 0.5, 1, 2 y 4 % en una dieta comercial (8 semanas).	Crías alimentadas con la S no tuvieron cambios significativos en Hcto, Hg y CGR vs control. Por otro lado, los trat de 2 y 4% de S presentaron disminución en VCM, HCM y CHCM. Las mismas crías fueron expuestas a un desafío con la bacteria <i>S. inia</i> y se observó que a las 48 y 96 hrs de infección, las crías alimentadas con 0.5 % de la S, elevaron sus niveles de Hcto, Hg y CGR vs control, mientras que el trat. 4 % de S disminuyó significativamente sus niveles de Hcto, Hg y CGR vs control.	_____	(Gabriel <i>et al.</i> 2015)
<i>O. niloticus</i> (crías)	Extracto etanólico-acuoso de <i>Tribulus terrestris</i>	0, 200, 400 y 600 mg/Kg en una dieta comercial (88 días).	Peces alimentados con 200 mg/Kg de la S presentaron (Hcto: 34 %, Hg: 7.46 g/dL y VCM 130.2 μm^3), el trat. 400 mg/Kg (Hcto: 29.2 %, Hg: 6.3 g/dL y VCM 152.5 μm^3), el trat. 600 mg/kg (Hcto: 31.4%, Hg: 6.1 g/dL y VCM: 146.8 μm^3) vs control (Hcto: 31%, Hg: 6.4 g/dL, VCM: 148 μm^3)	_____	(Gültepe, <i>et al.</i> 2014)

2.13 Efecto de los ácidos orgánicos en los parámetros hematológicos e histomorfología de la tilapia del Nilo

Los ácidos orgánicos en la dieta efectúan algunos cambios en la TN como se describe en la tabla 4

Tabla 4. Ácidos orgánicos en tilapia del Nilo

Especie	Ác. orgánico	Conc. Y Duración	Parámetros Hematológicos	Histología	Fuente
<i>O. niloticus</i> (crías)	Ác. fórmico, ác. propiónico y propianato de Ca (Acidbac TM)	0, 1 y 2 g/Kg en una dieta comercial. Alimentados por 60 días.	Las crías alimentadas con la dieta de 2 g/Kg del AO, exhibieron un incremento significativo en algunos de sus PHE, en comparación al grupo control. El grupo 2g/KG presento: Hcto: 25 %, Hg: 5.8 g/dL, VCM: 181.5 fL, MCHC: 22.6 g/dL, mientras que el control mostro: Hcto: 25.3 %, Hg: 3.8 g/dL, VCM: 141.5 fL, MCHC: 25.3 g/dL	_____	(Reda <i>et al.</i> 2016)
<i>O. sp</i> (crías)	Butirato, acetato, propianato y formiato de sodio	D1: Butirato 2 % D2: Acetato 2 % D3: Propianato 2 % D4: Formiato de sodio 2 % Control Alimentados por 90 días	_____	Los organismos alimentados con las dietas: D1, D2, D3 y D5 exhibieron hígados con una estructura sinusoidal normal y venas des congestionadas y hepatocitos intactos. Aquellos alimentados la dieta D4 presentaron infiltraciones de GB y lipofusina que se distribuyó entre los hepatocitos y páncreas.	(Ebrahimi <i>et al.</i> 2017)
<i>O. niloticus</i> (alevines)	Sales de ác. orgánicos (propianato de Ca y lactato de Ca)	0, 0.5, 1 y 1.5 % de manera individual en una dieta isonitrogenada e isocalórica. Alimentados por 90 días.	Las dietas suplementadas con propianato de calcio o lactato de calcio, propiciaron un aumento significativo en los PHE de los alevines, en comparación con aquellos del grupo control. Se observó que la dieta al 1 % de cada sal generó el valor más alto de Hcto: 20.7 % en propianato y en lactato un Hcto: 20.8, en comparación con el control que presento un Hcto: 17.7 %	_____	(Hassaan <i>et al.</i> 2014)

Cont. Tabla 4. Ácidos orgánicos en tilapia del Nilo

Especie	Ác. orgánico	Conc. Y Duración	Parámetros Hematológicos	Histología	Fuente
<i>O. niloticus</i> (juveniles)	Ác. orgánico en conc. 0.5 % y mezcla de ác. orgánico con aceite esencial de <i>Lippia organoides</i>	0, 0.5 y 0.125 % de forma individual en una dieta comercial. Alimentados por 30 días.	Los PHE de los juveniles tratados on las dietas suplementadas, no son significativamente distintos en comparación al grupo control. Excepto la glucosa que en el trat. 0.5 % del ác. orgánico fue superior (61.9 g/dL) en comparación al grupo control (50.8 g/dL).	La dieta (mezcla de ác. org. Y <i>L. organoides</i>), dio como resultado mayor número de vellosidades intestinales en la región anterior (25.78µm), en comparación al grupo control (14.39 µm), mientras que la región posterior del intestino, los peces alimentados sólo con <i>L. organoides</i> las vellosidades aumentaron en perímetro (12.69 µm), en comparación al control (12.03 µm).	(Alves Jesus <i>et al.</i> 2021)
<i>O. niloticus</i> (juveniles)	ác. málico	0, 0.5 y 10 g/Kg	La suplementación con el ác. málico aumento los niveles de Hcto (24.8 %), Hg (14.63 g/dL) y CGR (2.25 x 10 ³ µm), en el caso del grupo alimentado a 0.5 %, mientras que el grupo alimentado con la dieta de 10 g/Kg mostró un Hcto: 24.36 %, Hg: 15.98 g/dL y CGR: 2.50 10 ³ µm, en comparación al control que presento un Hcto: 22.15 %, Hg: 13.2 g/dL y CGR: 1.80 10 ³ µm.	_____	(Hassan <i>et al.</i> 2020)

3. Hipótesis

La tilapia del Nilo alimentada con dietas adicionadas con prebióticos, ácidos orgánicos y saponinas de forma individual, tendrá una mejora en su condición, evaluada a través de los parámetros hematológicos (hematocrito, morfometría y morfología de células sanguíneas, conteo de glóbulos blancos y rojos, velocidad sedimentaria de eritrocitos y glucosa), así como un incremento en las vellosidades intestinales estimadas por medio de morfometría histológica en comparación con los organismos alimentados sólo con una dieta convencional (sin aditivos).

4. Objetivo General

Evaluar el efecto de dietas adicionadas con aditivos (prebióticos, ácidos orgánicos y saponinas) en la tilapia del Nilo a través de sus parámetros hematológicos y su morfometría histológica intestinal.

5. Objetivos Particulares

1. Determinar el desempeño productivo (relación peso-talla, tasa de crecimiento específico, ganancia en peso, factor de condición Fulton y mortalidad) en tilapia del Nilo alimentada con dietas adicionadas con aditivos (prebióticos, saponinas y ácidos orgánicos), en comparación con los organismos tratados con una dieta convencional (sin aditivos).
2. Determinar el efecto de los aditivos (prebióticos, saponinas y ácidos orgánicos) adicionados a la dieta de la tilapia del Nilo a través de sus parámetros hematológicos (hemoglobina, hematocrito, conteo de glóbulos blancos y rojos, velocidad sedimentaria de eritrocitos y glucosa), en comparación con los organismos tratados con una dieta convencional (sin aditivos).
3. Determinar el efecto de los aditivos (prebióticos, saponinas y ácidos orgánicos) adicionados a la dieta de la tilapia del Nilo en compararlos con el grupo control, a través de la morfometría histológica cualitativa de intestino.

6. Materiales y Métodos

Esta investigación se realizó en la presa de Zicuirán, se encuentra a 300 msnm, dentro del municipio de La Huacana, Michoacán, México. Ubicado en la zona norte, del centro del municipio con coordenadas $18^{\circ} 55' 10''$ N y $101^{\circ} 55' 58''$ W (Fig. 1). El embalse está dentro de la reserva de la biosfera Zicuirán – Infiernillo en la región hidrológica 18 balsas, dentro de la subregión hidrológica bajo balsas, en la subcuenca R. Tepalcatepec – Infiernillo, (CONANP, 2014). Y en el Laboratorio de Histología de la Facultad de Ciencias Marinas de la Universidad Autónoma de Baja California unidad Ensenada, Baja California, México.

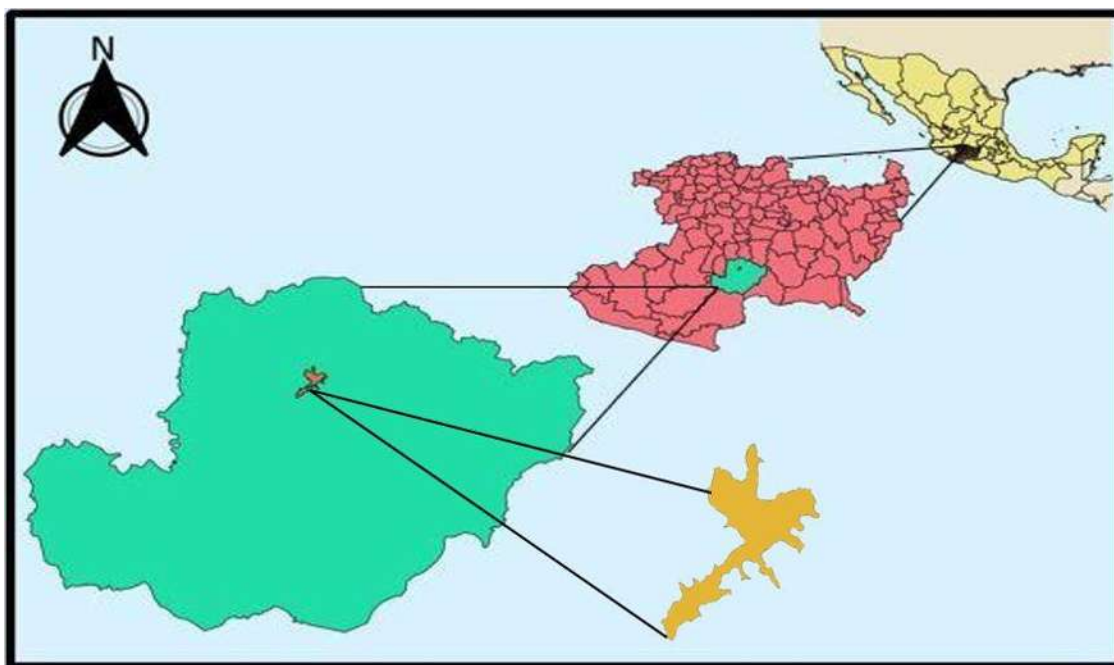


Figura 1: Localización de la presa de Zicuirán, La Huacana, Mich (Mapa: López-Quiroz, 2024).

6.1 Obtención de organismos

Las crías de tilapia *O. niloticus*, línea GIFT se obtuvieron de la granja acuícola “Rincon del Bonete”, en la localidad del Ciruelo, La Huacana, Michoacán. Los organismos fueron cultivados en la presa de Zicuirán, La Huacana, Michoacán.



Figura 2. Siembra de organismos juveniles de tilapia del Nilo, en la presa Zicuirán, La Huacana, Mich.

6.2 Adición de los suplementos alimenticios

Para conocer el efecto de las dietas suplementadas con aditivos, en la tilapia del Nilo, se realizó un experimento en cultivo intensivo y se alimentaron juveniles de esta especie, con las dietas adicionadas y una dieta control sin aditivos durante 90 días. Cada dieta se preparó de forma individual agregándose cada uno de los aditivos a la dieta comercial (Cargill, México).

6.3 Prueba en cultivo intensivo

El experimento se realizó en 12 jaulas flotantes (4 m de largo x 4 m de ancho x 2 m de profundo) (Fig. 3). Cada tratamiento contó con tres replicas y en cada una se colocaron 1100 crías.

Las crías se pesaron y midieron al inicio del experimento (día 0), para formar grupos con biomاسas similares con ayuda de una báscula (Rhino, modelo BAPRE, precisión de 0.02 g) y un ictiómetro; se tomaron muestras de sangre, así como de intestino para su posterior análisis, este procedimiento se repitió a mitad del experimento (día 45) y al final del experimento (día 90).

Los organismos se alimentaron a saciedad aparente, tres veces al día, reajustando el alimento de acuerdo a la talla de los organismos.

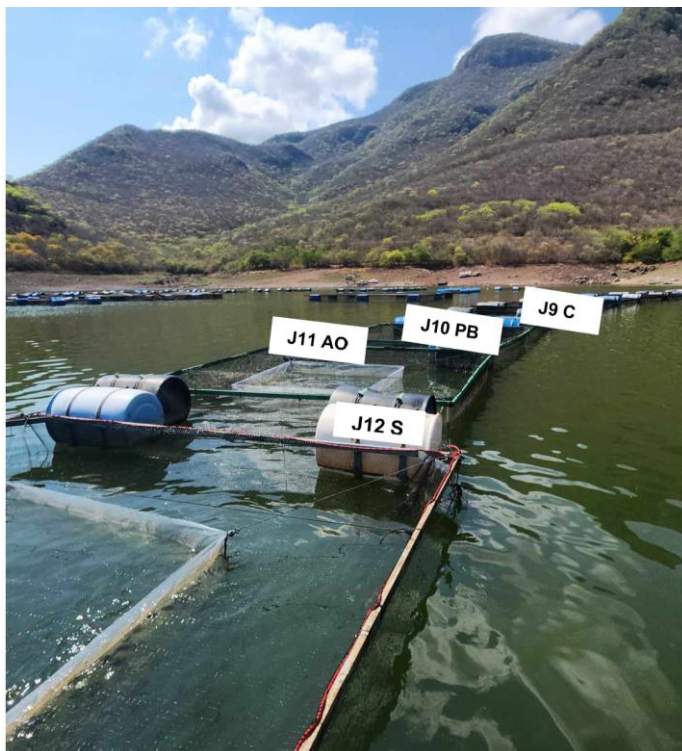


Figura 3. Sistema experimental (cultivo intensivo), presa Zicuirán, La Huacana, Michoacán.

6.4 Preparación del alimento

Dieta 1: Se realizó una mezcla homogénea del PB, con aceite vegetal, se usó la proporción de 6 g/Kg de PB y aceite vegetal (500 mL), esta mezcla se incorporó de forma uniforme a un saco de 25 kg de alimento comercial (Cargill, México), con la ayuda de una revolvedora (CIPSA, modelo: ULTRAPMP94, motor: MPOWER 9HP, México). El prebiótico contiene: Manano-oligosacáridos 15 g/Kg, β -glucanos 15 g/Kg aluminosilicato de calcio, sodio hidratado, dióxido de silicio, levadura seca de *S. cerevisiae*, pared celular de levadura y aceite mineral. Fabricado por Prince agri products, INC (Subsidiaria de Phibro Animal Health Corporation) en Estados Unidos de América.

Dieta 2: Se realizó una mezcla homogénea de la S, con aceite vegetal, se usó una proporción de 1.5 g/Kg de la S y aceite vegetal (500 mL), esta mezcla se incorporó de forma uniforme a un saco de 25 kg de alimento comercial (Cargill, México), con la ayuda de una revolvedora (CIPSA, modelo: ULTRAPMP94, motor: MPOWER 9HP, México).

La saponina contiene: *Quillaja saponaria* y *Yucca schidigera*. Fabricado por Prince agri products, INC (Subsidiaria de Phibro Animal Health Corporation), en Estados Unidos de América.

Dieta 3: Se realizó una mezcla homogénea del AO, con aceite vegetal, se usó la proporción de 1 g/kg del AO y aceite vegetal (500 mL), esta mezcla se incorporó de forma uniforme a un saco de 25 kg de alimento comercial (Cargill, México), con la ayuda de una revolvedora (CIPSA, modelo: ULTRAPMP94, motor: MPOWER 9HP, México). El ácido orgánico contiene: Premezcla de ácidos orgánicos; ácido fumarico en la forma de su sal de magnesio, ácido propionico y sus sales de calcio; y ácido fórmico y sus sales de calcio. Fabricado por Prince agri products, INC (Subsidiaria de Phibro Animal Health Corporation), en Estados Unidos de América.

Dieta 4: Se usó el alimento comercial (Cargill, México), sin ningún aditivo, se le agregó aceite vegetal en la misma proporción que al resto de las dietas (500 mL), con ayuda de una revolvedora (CIPSA, modelo: ULTRAPMP94, motor: MPOWER 9HP, México).

*Cada dieta se realizó de acuerdo a la demanda de alimento, para cada uno de los tratamientos.



Figura 4. Preparación de alimento (revolvedora CIPSA).

6.5 Calidad de agua

Al principio y durante el bioensayo, la calidad del agua se monitoreó una vez a la semana con una sonda multiparamétrica (Yellow Spring Instruments YSI, EUA, modelo Professional Plus con cable Quatro), los parámetros evaluados: oxígeno

disuelto (OD), pH, sólidos disueltos totales (SDT), temperatura (T°), nitratos (NO₃) y amonio (NH₄).

6.6 Índices de desempeño productivo

Se registró el peso y longitud de los organismos, así como la mortalidad de los organismos a lo largo del experimento. Se realizó el análisis de relación peso-talla a través de una regresión lineal, se analizaron los índices de desempeño productivo: ganancia en peso (GP), tasa de crecimiento específico (TCE), factor de conversión alimenticio (FCA) y factor de condición Fultón (K), empleando las siguientes fórmulas:

$$\text{GP: } W_{T1} - W_{T0}$$

Dónde:

W_{T1} : Peso final

W_{T0} : Peso inicial

$$\text{TCE: } \ln (W_{T1} - W_{T0}) / T * 100$$

Dónde:

Ln: Logaritmo natural

W_{T1} : Peso final

W_{T0} : Peso inicial

T: Tiempo transcurrido

FCA: alimento administrado/ peso ganado

$$\text{Factor de condición Fulton: } K = 100 * W / L^3$$

Dónde:

K: Factor de condición Fulton

W: Peso húmedo del pez (g)

L: Longitud total del pez (cm), de acuerdo a (Froese, 2006).

6.7 Toma de muestra sanguínea

Se seleccionaron al azar 15 peces por tratamiento, para la toma de muestra sanguínea, se realizaron tres tomas a lo largo del experimento: inicio (día 0), medio

(día 45) y final (día 90). Los organismos fueron anestesiados con aceite de clavo por inmersión, siguiendo las normas éticas para la experimentación con seres vivos (Hrubec y Smith, 2000).

La toma de muestra sanguínea se realizó a través de una punción de la vena caudal con jeringas estériles de 3 mL, impregnadas con heparina de 1000 UI/mL el cual es un anticoagulante (4 mg/mL) (Fig. 5). Al inicio (día 0) se usaron catéteres de 25 G/ 16 mm, mientras que en la muestra media y final (día 45 y 90), se usaron catéteres de 21 G/ 32 mm. De cada organismo se obtuvo 1 mL de sangre, inmediatamente después de la toma, la aguja se retiró de la jeringa y las muestras de sangre se colocaron en tubos eppendorf, una hora después de la extracción se colocaron en hielo hasta completar su análisis (Campos-Mendoza, 2004).



Figura 5. Extracción muestra sanguínea.

6.8 Análisis de la muestra sanguínea

- Hematocrito (Hcto):

Para este parámetro se usó el medidor portátil de hemoglobina (Mission® Hb, EUA), siguiendo las especificaciones del fabricante. Colocando 10 µL de sangre en la tira reactiva (Mission® Hb, EUA), obteniendo el resultado en 15 segundos, el resultado se expresó en g/dL.

- Hemoglobina (Hg):

Para este parámetro se usó el medidor portátil de hemoglobina (Mission® Hb EUA) (Fig. 6), siguiendo las especificaciones del fabricante.

Colocando 10 µL de sangre en la tira reactiva (Mission® Hb EUA), obteniendo el resultado en 15 segundos, el resultado se expresó en L/L.



Figura 6. Toma de hemoglobina y hematocrito.

- Volumen corpuscular medio (VCM):

Para este parámetro se aplicó la siguiente formula (Buenaño 2010; Hahn-Von-Hessberg *et al.*2011; Villa, 2016):

$$\text{VCM (fL): } \frac{\text{Hcto L/L} \times 1000}{\text{CGR (células} \times 10^{12}/\text{L)}}$$

- Hemoglobina corpuscular media (HCM)

Para este parámetro se aplicó la siguiente fórmula (Hahn-Von-Hessberg *et al.*2011)

$$\text{HCM (pg): } \frac{\text{Hg (g/dL)} \times 10}{\text{CGR (10}^{12}/\text{L)}}$$

- Concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM):

Para este parámetro se aplicó la siguiente formula (Buenaño 2010; Hahn-Von-Hessberg *et al.*2011; Villa, 2016):

$$\text{CHCM (g/L): } \frac{\text{Hg (g/dL)}}{\text{Hcto (L/L)}}$$

- Conteo de eritrocitos (CGR) y leucocitos (CGB):

Para este parámetro se usó solución de Natt- Herricks para teñir las células sanguíneas, una pipeta hematológica de toma calibrada, cámara de Neubauer y microscopio trinocular (AmScope T690-PL, EE. UU.) (Fig. 7). Se tomaron 5 microlitros de sangre con la pipeta de toma, se usó la solución Natt y Herricks hasta llegar a una dilución 1:200 de sangre-solución. Posteriormente se mezcló durante un minuto y se depositó una gota en la cámara de Neubauer, extendiéndose por capilaridad, se dejó reposar durante tres minutos, para que las células se tiñeran y se observó al microscopio realizando el conteo (Conroy, 1998). El recuento de eritrocitos se hizo en el cuadro central de la cámara (solo se contaron cinco cuadros, los cuatro cuadros de la esquina y el cuadro central). El recuento de los leucocitos se realizó en los cuatro cuadros grandes de la cámara. El número de eritrocitos se expresó en células por $10^{12}/\text{L}$ y el número de leucocitos se expresó en células por $10^9/\text{L}$ (Buenaño 2010; Hahn-Von-Hessberg *et al.* 2011; Villa, 2016).



Figura 7. Cámara Neubauer, solución Natt-Herricks, pipeta de toma de glóbulos.

- Velocidad de sedimentación eritrocítica (VSE):

Se usó un tubo de microhematocrito se llenó a una altura de 5 cm y uno de los extremos se selló, se colocó en posición vertical por una hora a temperatura ambiente (Fig. 8). Con papel milimétrico se determinó el descenso de los eritrocitos

en la columna de sangre. El resultado fue expresado como VSE en mm/hora (Hahn-Von-Hessberg *et al.* 2011).

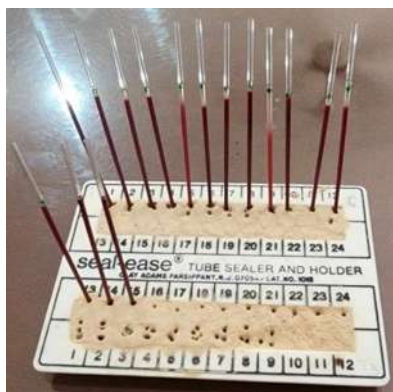


Fig. 8. Velocidad de sedimentación eritrocítica.

- Glucosa:

Se usó un glucómetro comercial (ACCU-CHEK INSTANT®) y tiras reactivas (ACCU-CHEK INSTANT®), el resultado se obtuvo en 15 segundos, mismo que se expresó mg/dL.

6.9 Toma de muestra histológica

Se seleccionaron al azar 4 peces por tratamiento para el análisis histológico, se tomaron tres muestras a lo largo del experimento: inicio (día 0), medio (día 45) y final (día 90). Los organismos se sacrificaron por medio de shock térmico, se diseccionaron para extraer el intestino (Fig. 9), el cual se enjuagó con agua destilada y se colocó en formol al 10 % durante 24 horas, posterior a esto se pasó a etanol al 70 %. Al final del experimento las muestras histológicas se enviaron al laboratorio de la facultad de Ciencias Marinas de la Universidad Autónoma de Baja California, unidad Ensenada Baja California, México, donde se realizaron los cortes histológicos, siguiendo la técnica descrita por Ross y Pawlina, 2009, para la tinción se utilizó la técnica de Hematoxilina-Eosina, los cortes fueron de 3 μ m de espesor; las laminillas obtenidas fueron enviadas de vuelta al laboratorio de Biología Acuática de la Facultad de Biología de la UMSNH, donde se realizó un análisis cualitativo de las muestras, los cortes se observaron con un microscopio trinocular (AmScope T690-PL, EE. UU.), buscando diferencias a nivel de intestino entre el grupo control y los alimentados con dietas adicionadas. Los cortes elegidos fueron fotografiados con cámara digital (AmScope FMA050 10 MP APTINA color CMOS, EE. UU.) y el programa IMAGEJ. Finalmente se realizó una descripción cualitativa de los cortes.



Figura 9. Extracción muestra histológica.

6.10 Análisis estadístico

Se realizaron pruebas no paramétricas (Kruskal-Wallis) para todos los análisis, ya que los mismos no contaban con normalidad estadística y para corroborar la diferencia estadística se realizaron pruebas post-hoc Kruskal-Wallis entre pares, con ayuda del programa estadístico JMP versión 11 y para la elaboración de las tablas y gráficas se usó el programa Excel Microsoft Office versión 2016. En el caso del análisis de histomorfometría intestinal se realizó de forma cualitativa así que no se usó ningún análisis estadístico.

7 Costo de la inclusión de aditivos en la dieta

La inclusión del producto en la dieta por separado, podría llevarse a cabo in situ (en la granja) o desde la casa de alimento, los costos en cada una de las opciones variarían. En la tabla 5 se explica la aproximación de los costos por tonelada de alimento. Un costal de PB alcanza para 4.16 t, el costal de S para 50 t y el costal de AO para 25 t.

Tabla 5. Aproximación de costos en la inclusión de los aditivos a dietas comerciales.

	Inclusión de productos in situ			
	Aceite Vegetal	Producto 1 (PB)	Producto 2 (S)	Producto 3 (AO)
Contenido	20 L	25 kg	25 kg	25 kg
Costo	\$1,489	\$3020.8	\$5286.4	\$3209.6
t de alimento	60 L	6 kg/t	1.5 Kg/t	1 kg/t
Costo	\$4,467	\$726.2	\$318.5	\$128.4
Costo total		\$5,193.15	\$4,785.46	\$4,595
	Inclusión de productos casa de alimento			
	Inclusión	Producto 1 (PB)	Producto 2 (S)	Producto 3 (AO)
Contenido	1 kg	25 kg	25 kg	25 kg
Costo	.80 c	\$3020.8	\$5286.4	\$3209.6
t de alimento	1 t	6 kg/t	1.5 Kg/t	1 kg/t
Costo	\$800	\$726.2	\$318.5	\$128.4
Costo total		\$1,526.15	\$1,044.61	\$446.84

(La estimación del costo de la inclusión de los aditivos es por saco de producto, en una tonelada de alimento. Los productos se encuentran tazados en dólares, al día 20/06/24 el dólar con valor de Mex\$18.42).

8 Resultados

8.1 Calidad de agua

El promedio de los parámetros de calidad de agua en la presa de Zicuirán, Mich. Se resume en la tabla 6, los valores de: presión atmosférica (739.7 mmHg), pH (7.9) y salinidad (0.31 ppt), se mantuvieron constantes durante los 90 días experimentales. Los parámetros de calidad de agua fueron adecuados para el cultivo de tilapia del Nilo.

Tabla 6. Promedio $\pm$ error estándar de los parámetros de calidad de agua.

CALIDAD DE AGUA																					
m		T°		O2 %			DO mg/L			Cond.			SDT		NH4+			NH3			
Sup.	30.2	±	0.4	97.9	±	19.9	6.9	±	1.3	720.6	±	11	426	±	4.4	1.0	±	1	0.108	±	0.2
1	30.1	±	0.4	79.9	±	5.6	5.7	±	0.4	719.0	±	11	426	±	4.4	0.9	±	1	0.108	±	0.2
2	30.0	±	0.4	75.5	±	6.5	5.6	±	0.4	718.0	±	11.1	426	±	4.4	1.0	±	1	0.1	±	0.2
3	29.9	±	0.5	74.1	±	6.9	5.3	±	0.5	716.8	±	11.4	426	±	4.4	1.0	±	1	0.095	±	0.1
4	29.6	±	0.5	55.2	±	5.7	3.9	±	0.4	715.2	±	12.3	426	±	4.4	1.1	±	1	0.083	±	0.1
5	29.2	±	0.4	25.6	±	8.3	1.7	±	0.6	710.8	±	12.2	426	±	4.4	1.0	±	1	0.07	±	0.2
6	28.8	±	0.3	14.4	±	6.9	1.1	±	0.5	702.6	±	11.7	428	±	4.8	1.1	±	1	0.068	±	0.1
7	28.4	±	0.3	10.5	±	4.6	0.9	±	0.5	693.4	±	11.9	424	±	5.6	1.0	±	1	0.055	±	0.2
8	28.0	±	0.3	6.8	±	3.9	0.4	±	0.2	686.0	±	11.4	423	±	5.4	1.0	±	1	0.058	±	0.1
9	27.9	±	0.1	2.5	±	0.4	0.2	±	0.03	688.8	±	4	424	±	1.5	0.2	±	0	0.017	±	0.1
10	27.6	±	0.1	2.3	±	0.4	0.2	±	0.03	681.3	±	3.7	423	±	2.4	0.3	±	0	0.02	±	0.1

8.2 Peso de los organismos

En el presente bioensayo se observó que la TN alimentada con la dieta adicionada con AO presentó el mayor incremento en peso vs el resto de los tratamientos (Fig. 10). Sin embargo, los datos no presentaron homocedasticidad ($p < 0.0001$), la prueba Kruskal-Wallis, evidenció diferencias significativas a los 45 días entre los tratamientos ($\chi^2 = 0.0027$), esto se corroboró con la prueba Post-Hoc Kruskal-Wallis entre pares, lo mismo ocurrió a los 90 días experimentales ($\chi^2 = 0.0001$).

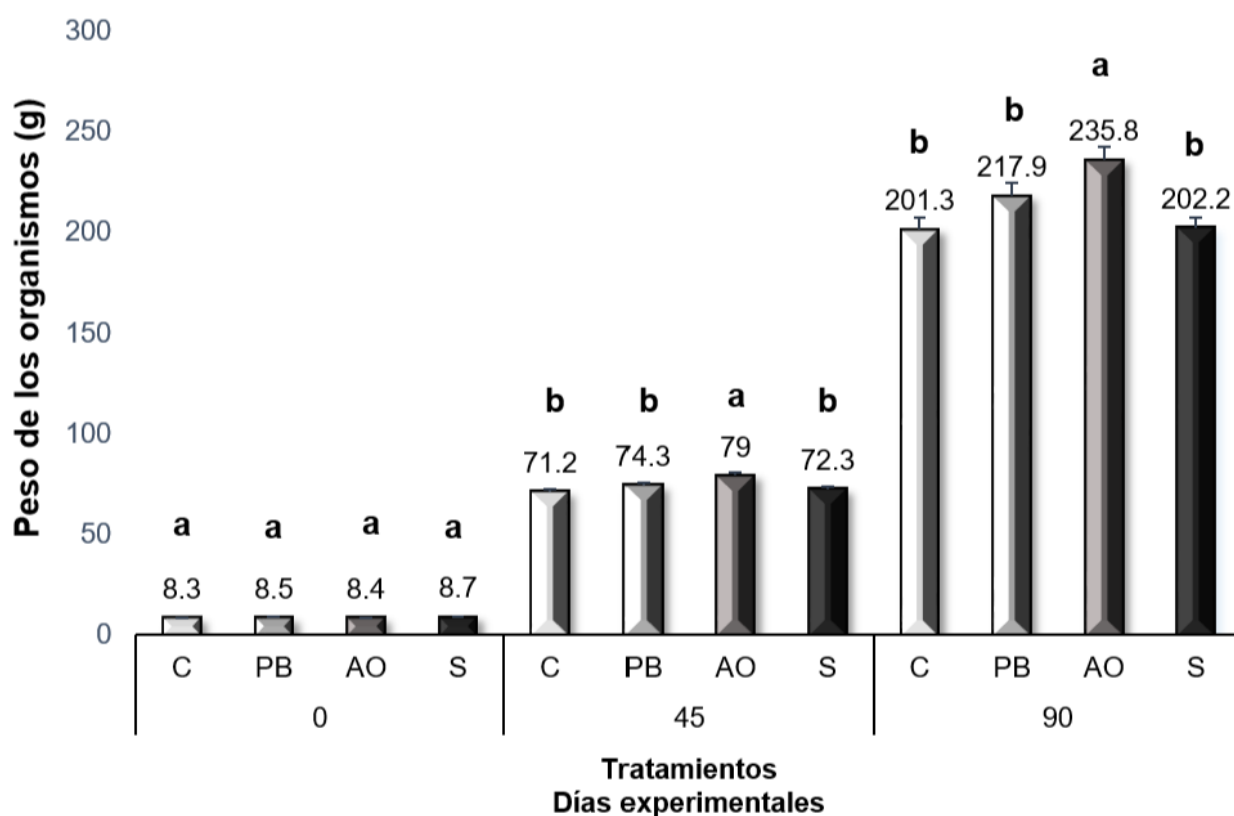


Figura 10. Peso promedio $\pm$ error estándar de la TN a los 0, 45 y 90 días de ser alimentadas con las dietas suplementadas; las letras evidencian diferencias estadísticas significativas entre tratamientos ($p < 0.05$).

8.3 Longitud de los organismos

La longitud de los organismos no presentó diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos en ningún de los muestreos (Fig. 11).

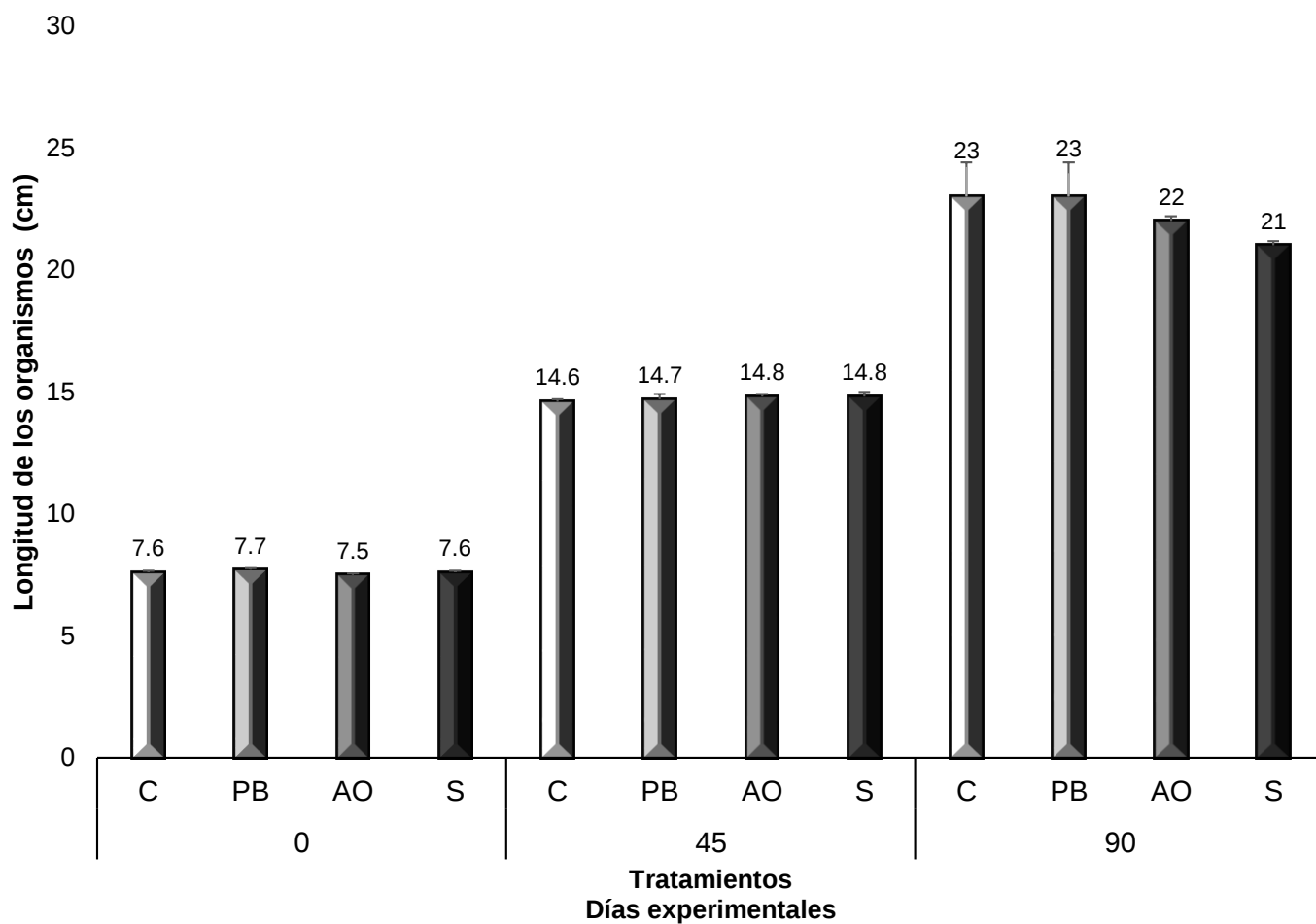


Figura 11. Longitud promedio $\pm$ error estándar de la TN a los 0, 45 y 90 días de ser alimentadas con las dietas suplementadas.

8.4 Relación peso-talla

Para la relación peso-talla se realizó un análisis de regresión, con línea de tendencia potencial, el cual fue el que presentó el mejor ajuste. Los tratamientos presentaron un crecimiento isométrico ($b=3$) a los 90 días experimentales. Control ($b=2.98$, $r^2=0.91$), PB ($b=3.06$, $r^2=0.93$), AO ($b=3.02$, $r^2=0.95$) y S ($b=3.05$, $r^2=0.94$) (el valor de b no es estadísticamente distinto de 3) (Fig. 12).

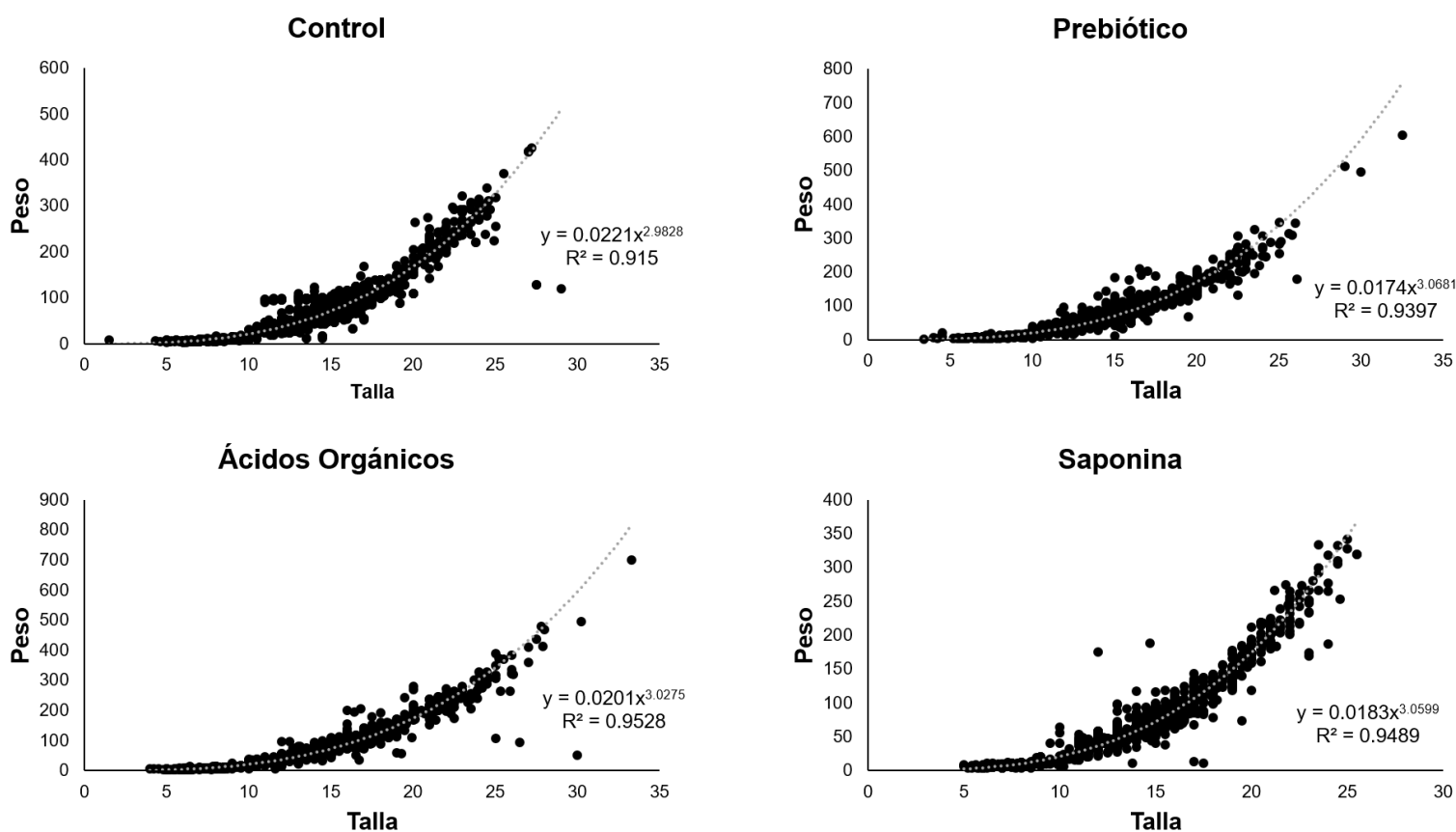


Figura 12. Relación peso-talla en la tilapia del Nilo a los 90 días experimentales, en el grupo control vs los tres tratamientos de dietas suplementadas.

8.5 Ganancia en peso (GP)

Los datos de GP (no homocedásticos $p < 0.0001$) mostraron diferencias estadísticas significativas al día 45 experimental (Kruskal-Wallis $j^2 = 0.0014$), lo cual se mantuvo a los 90 días experimentales ($j^2 = 0.0001$), la prueba Post-Hoc Kruskal-Wallis entre pares lo corroboró ($p < 0.05$) (Fig. 13).

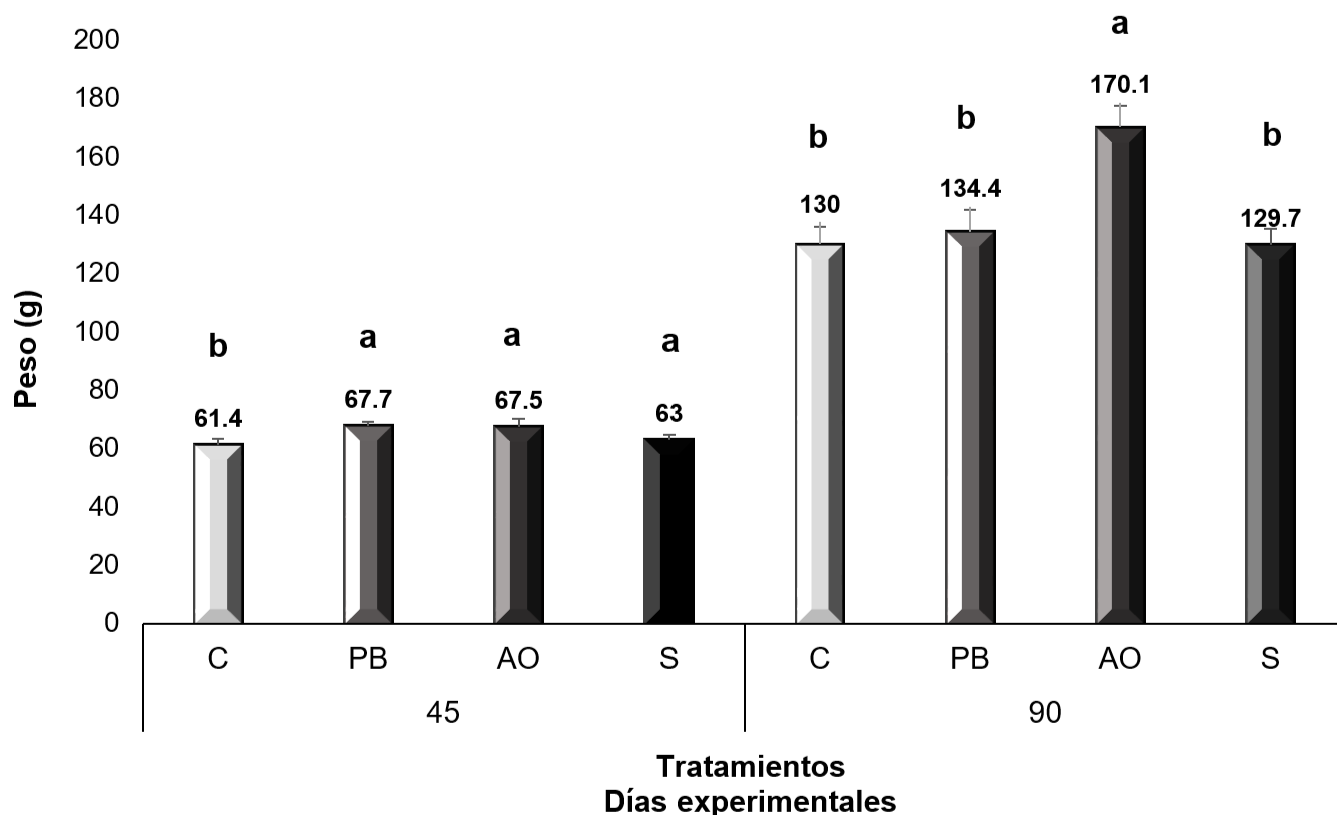


Figura 13. Ganancia en peso promedio $\pm$ error estándar de la TN a los 45 y 90 días de ser alimentadas con dietas suplementadas, las letras muestran diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$).

8.6 Tasa de crecimiento específico (TCE)

Los datos de la TCE (no homocedásticos $p < 0.0001$) mostraron diferencias estadísticas significativas al día 45 experimental (Kruskal-Wallis $j^2 = 0.0127$), de igual forma sucedió a los 90 días experimentales ($j^2 = 0.0001$), la prueba Post-Hoc Kruskal-Wallis entre pares lo corroboró ($p < 0.05$) (Fig. 14).

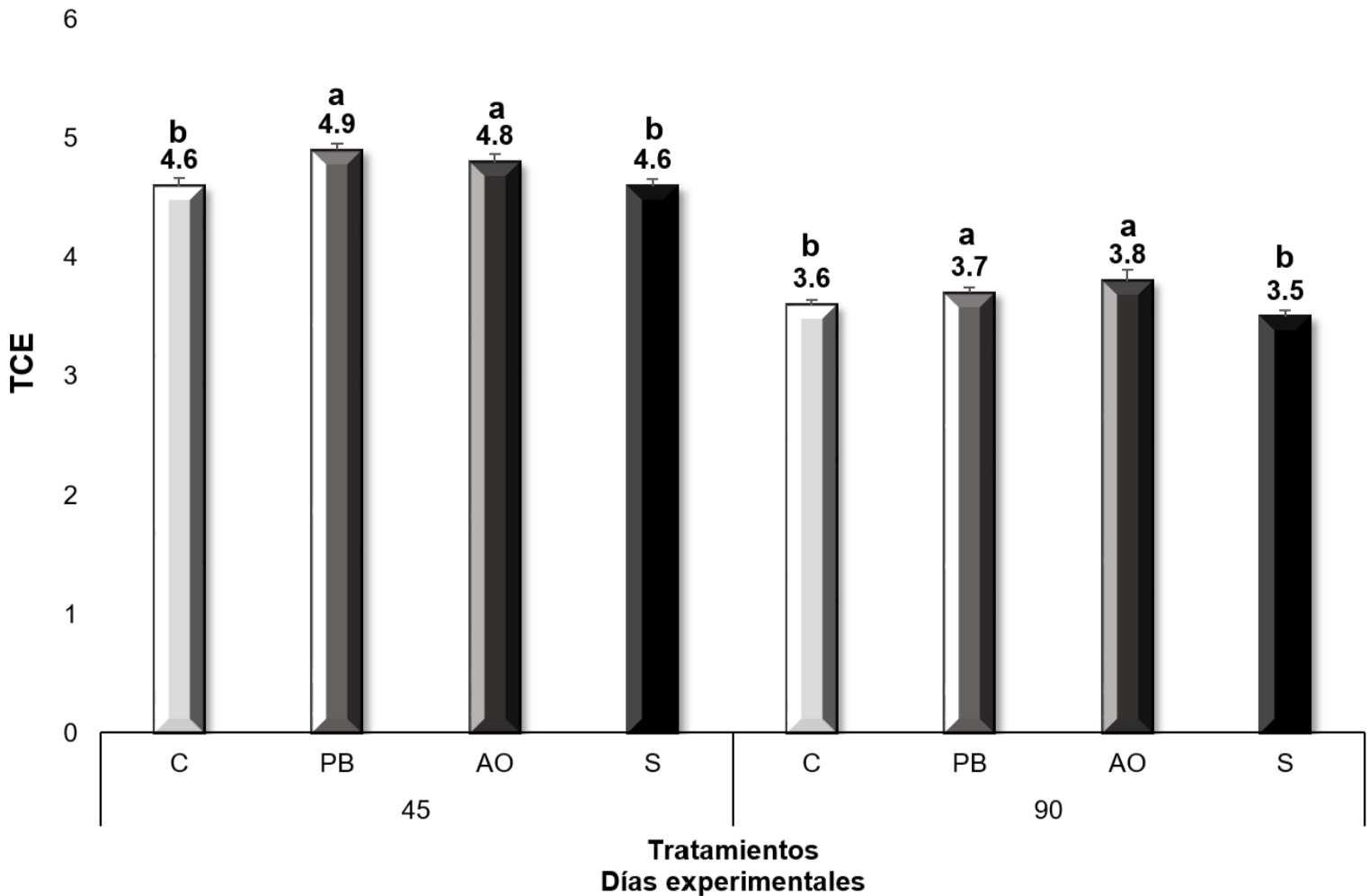


Figura 14. Tasa de crecimiento específico promedio $\pm$ error estándar de la TN a los 45 y 90 días de ser alimentadas con dietas suplementadas, las letras exhiben diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$).

8.7 Factor de conversión alimenticio (FCA)

Los datos para el FCA no presentaron homocedasticidad ($p < 0.0001$), al día 45 experimental se encontraron diferencias estadísticas significativas (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 0.0020$), de igual forma sucedió a los 90 días experimentales ($\chi^2 = 0.0001$), la prueba Post-Hoc Kruskal-Wallis entre pares lo verificó ($p < 0.05$) (Fig. 15).

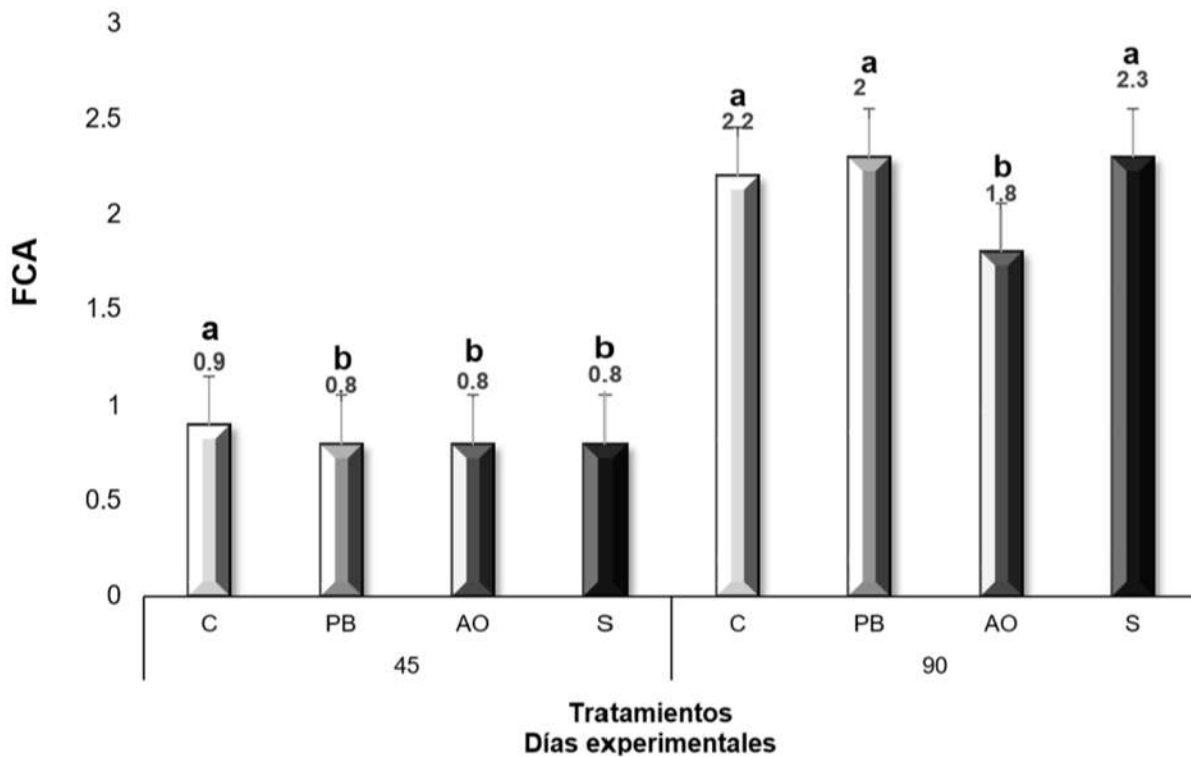


Figura 15. Factor de conversión alimenticia promedio $\pm$ error estándar de la TN a los 45 y 90 días de ser alimentadas con dietas suplementadas, las letras indican diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$).

8.8 Relación de Fulton

Los datos para la relación de Fulton carecieron de homocedasticidad ($p < 0.0001$), la prueba Kruskal Wallis mostró diferencias estadísticas significativas ($\chi^2 = 0.0002$), la prueba Post-Hoc Kruskal-Wallis entre pares lo corroboró ($p < 0.05$) (Fig. 16).

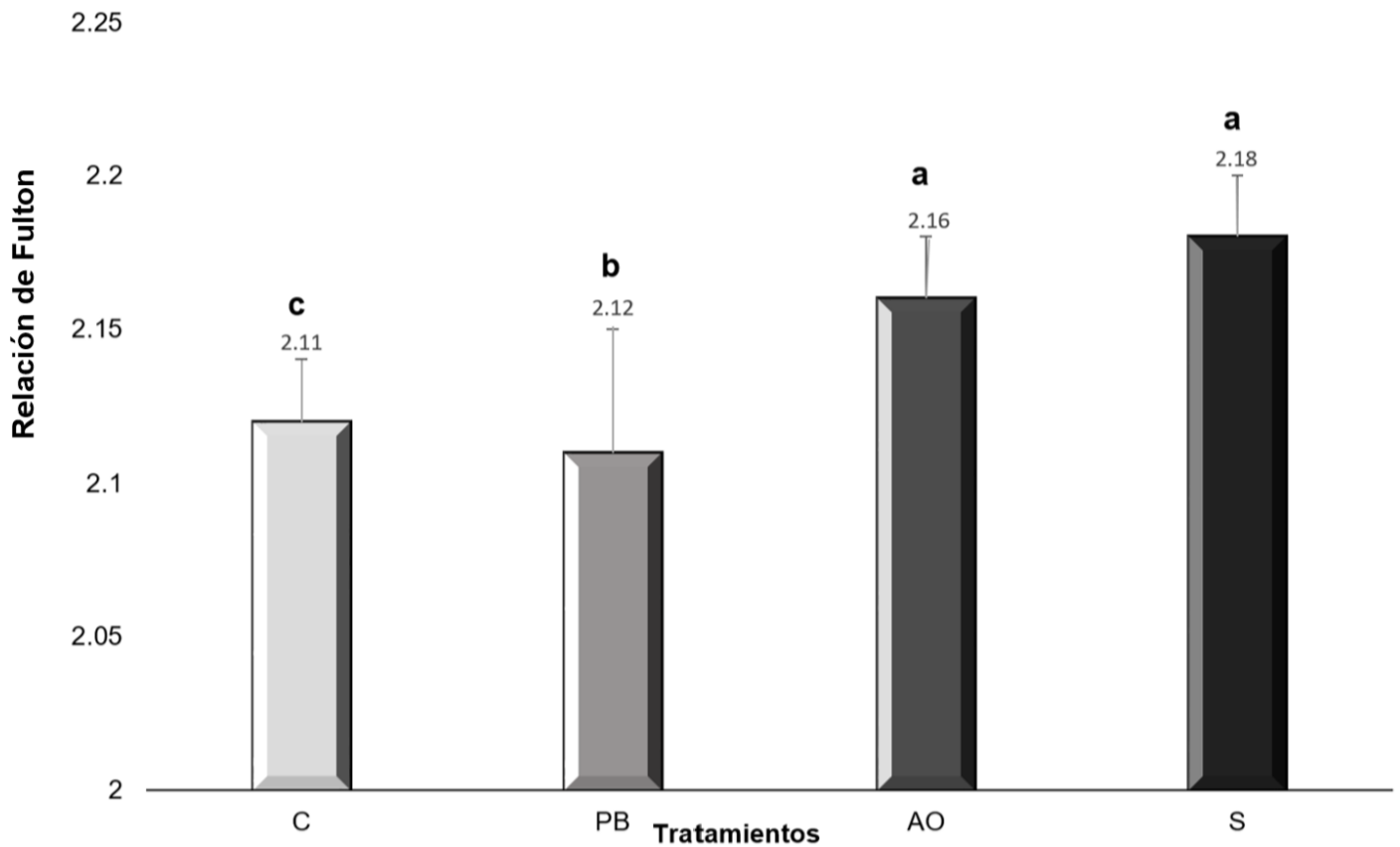


Figura 16. Relación de Fulton promedio $\pm$ error estándar de la TN a los 90 días de ser alimentadas con dietas suplementadas, las letras muestran diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos ($p < 0.05$).

8.9 Parámetros Hematológicos de la tilapia del Nilo

Los parámetros hematológicos de las crías de TN evaluados al inicio del experimento (Día 0), se encontraban dentro del intervalo de referencia adecuado para la especie, a excepción de los índices hematológicos HCM y CHCM (los cuales estuvieron por encima del valor de referencia) (Villa, 2016; Hrubec *et al.* 2000; Hahn-Von-Hesberg *et al.* 2011). A los 45 días experimentales, los índices hematológicos HCM y CHCM ya se registraron dentro del intervalo de referencia para la especie en la etapa de juvenil, sin embargo, se observaron diferencias estadísticas significativas (Kruskal-Wallis) entre los tratamientos para algunos de los PHE: Hg g/dL (Kruskal-Wallis ji^2 : 0.06), Hcto (Kruskal-Wallis ji^2 : 0.056) y VSE (Kruskal-Wallis ji^2 : 0.0001). La prueba Post-Hoc Kruskal-Wallis entre pares lo confirmó ($p < 0.05$). En cuanto al día 90 experimental, los juveniles de TN alimentados con las dietas suplementadas mostraron diferencias entre ellos y el control, pero sólo en la VSE (mm/Hr) (Kruskal-Wallis ji^2 : 0.0008) y glucosa (mg/dL) (Kruskal-Wallis ji^2 : 0.0023) ($p < 0.05$).

De acuerdo a los resultados obtenidos, se observa que los conteos de glóbulos rojos y blancos no presentan diferencias significativas entre tratamientos, en ningún momento experimental. Los organismos alimentados con la dieta suplementada con AO, a los 45 días experimentales mostraron un aumento significativo en el nivel de Hg y Hcto, en tanto que la VSE en este grupo y en los alimentados con la dieta adicionada con la S fueron significativamente más bajos. A los 90 días experimentales se puede observar que los grupos alimentados con dietas suplementadas con AO y el PB respectivamente, presentaron los niveles más altos de PHE. Se distingue como los organismos alimentados con las dietas suplementadas muestran un aumento en sus PHE en comparación al grupo control (Fig. 17 a Fig. 25).

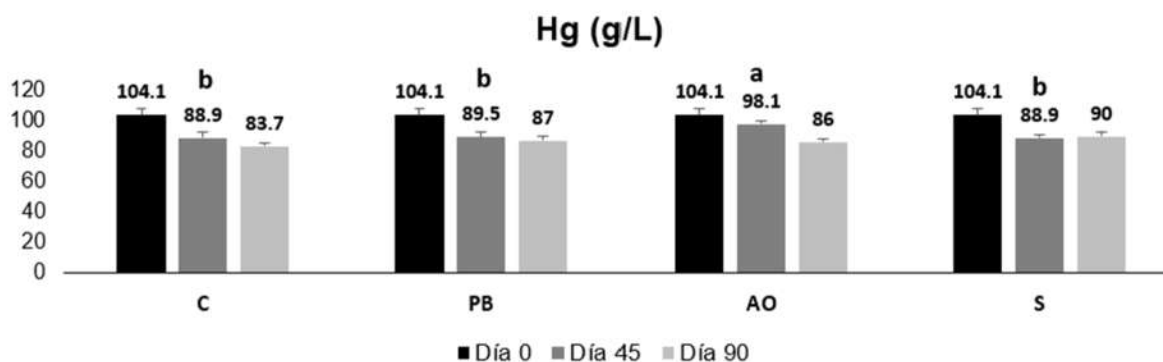


Figura 17. Hemoglobina (g/L) promedio $\pm$ error estándar de la tilapia del Nilo alimentada con dietas suplementadas y control a los 0, 45 y 90 días experimentales, las letras indican diferencias estadísticas entre los grupos ($p < 0.05$).

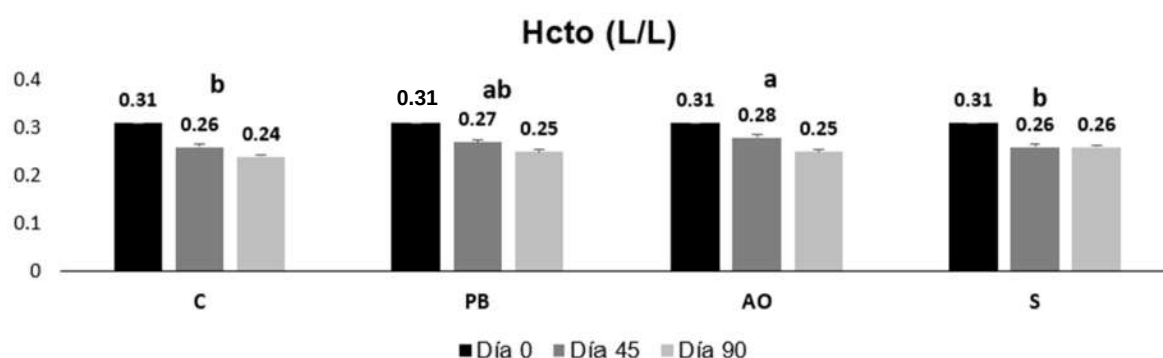


Figura 18. Hematocrito (L/L) promedio $\pm$ error estándar de la tilapia del Nilo alimentada con dietas suplementadas y control a los 0, 45 y 90 días experimentales, las letras indican diferencias estadísticas entre los grupos ($p < 0.05$).

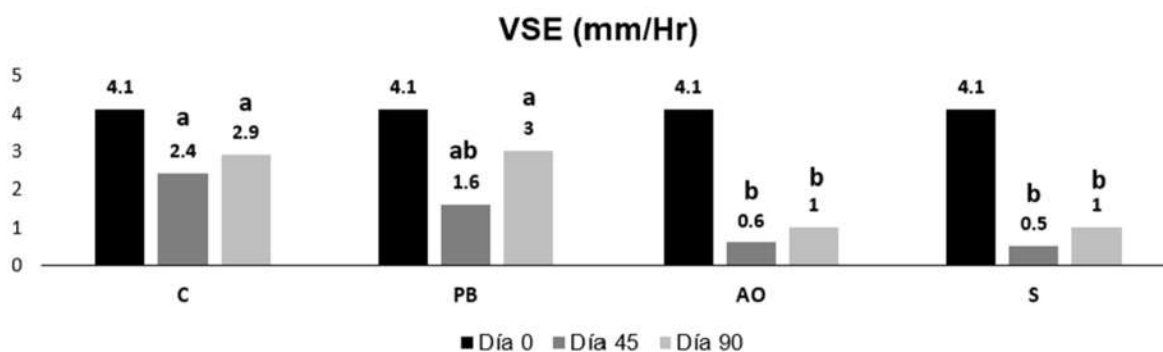


Figura 19. Velocidad de sedimentación (mm/Hr) promedio $\pm$ error estándar de la tilapia del Nilo alimentada con dietas suplementadas y control a los 0, 45 y 90 días experimentales, las letras indican diferencias estadísticas entre los grupos ($p < 0.05$).

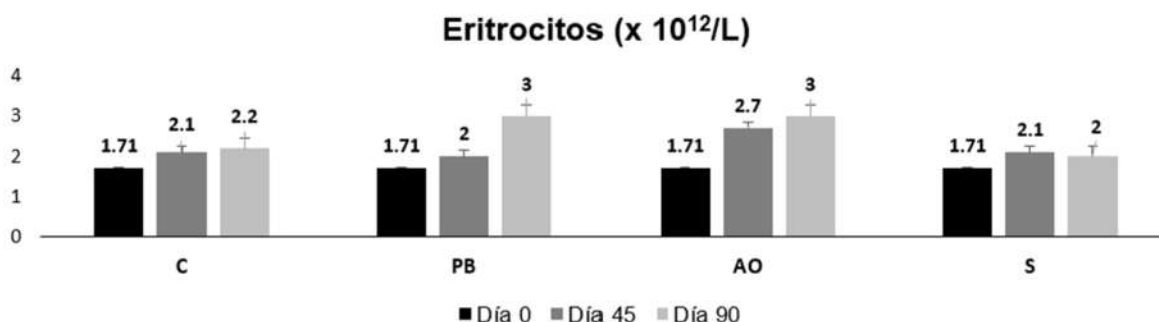


Figura 20. Conteo de eritrocitos ($\times 10^{12}/L$) promedio $\pm$ error estándar de la tilapia del Nilo alimentada con dietas suplementadas y control a los 0, 45 y 90 días experimentales, las letras indican diferencias estadísticas entre los grupos ($p < 0.05$).

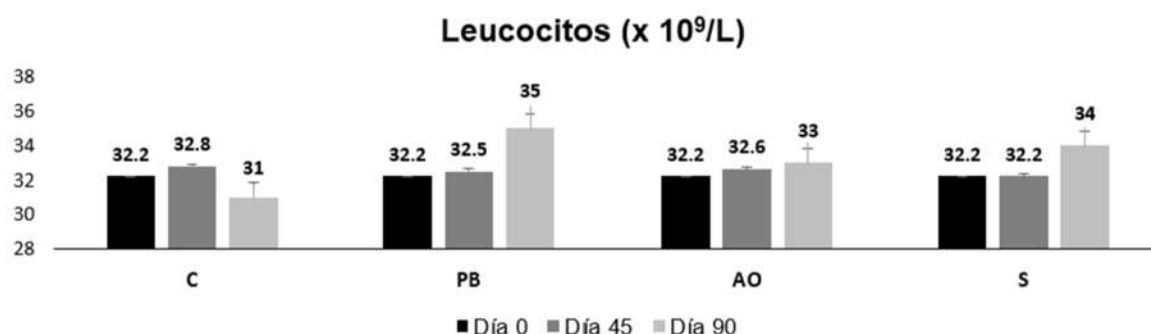


Figura 21. Conteo de leucocitos ($\times 10^9/L$) promedio $\pm$ error estándar de la tilapia del Nilo alimentada con dietas suplementadas y control a los 0, 45 y 90 días experimentales, las letras indican diferencias estadísticas entre los grupos ($p < 0.05$).

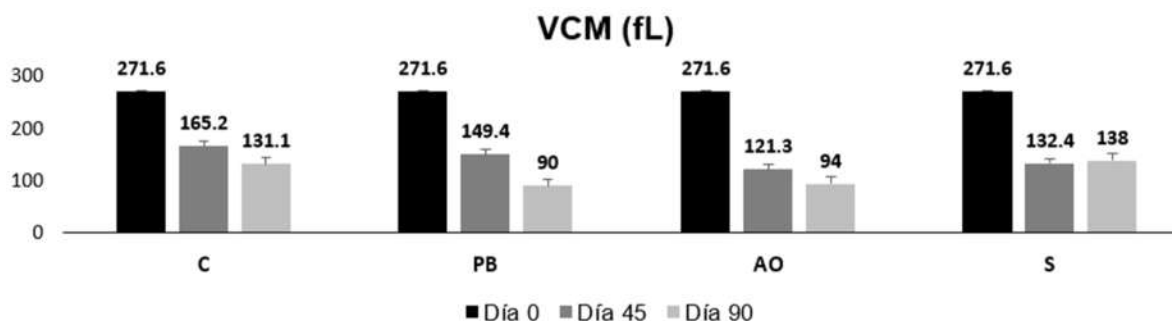


Figura 22. Volumen corpuscular medio (fL) promedio $\pm$ error estándar de la tilapia del Nilo alimentada con dietas suplementadas y control a los 0, 45 y 90 días experimentales, las letras indican diferencias estadísticas entre los grupos ($p < 0.05$).

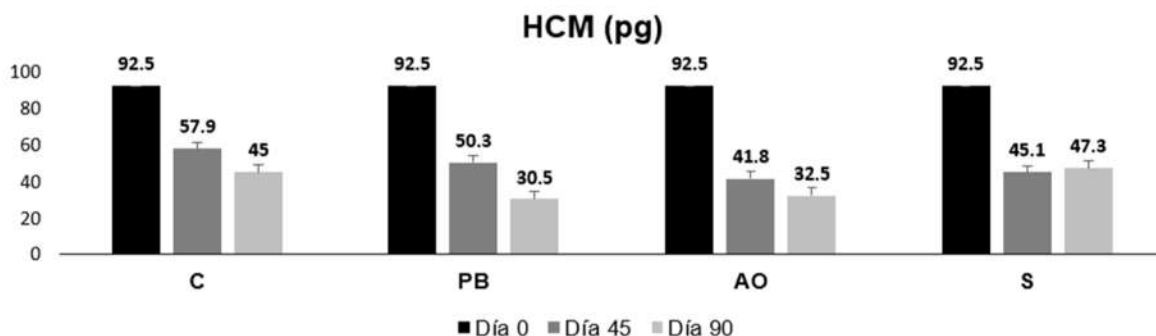


Figura 23. Hemoglobina corpuscular media (pg) promedio $\pm$ error estándar de la tilapia del Nilo alimentada con dietas suplementadas y control a los 0, 45 y 90 días experimentales, las letras indican diferencias estadísticas entre los grupos ($p < 0.05$).

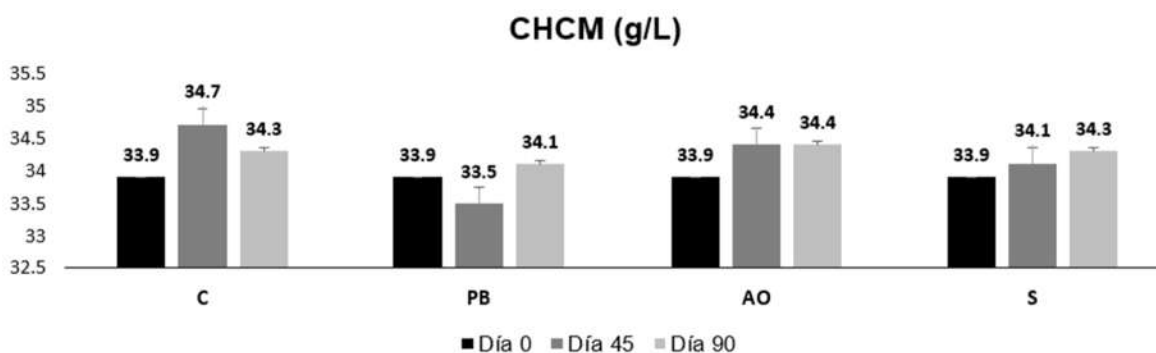


Figura 24. Concentración de hemoglobina corpuscular media (g/L) promedio $\pm$ error estándar de la tilapia del Nilo alimentada con dietas suplementadas y control a los 0, 45 y 90 días experimentales, las letras indican diferencias estadísticas entre los grupos ($p < 0.05$).

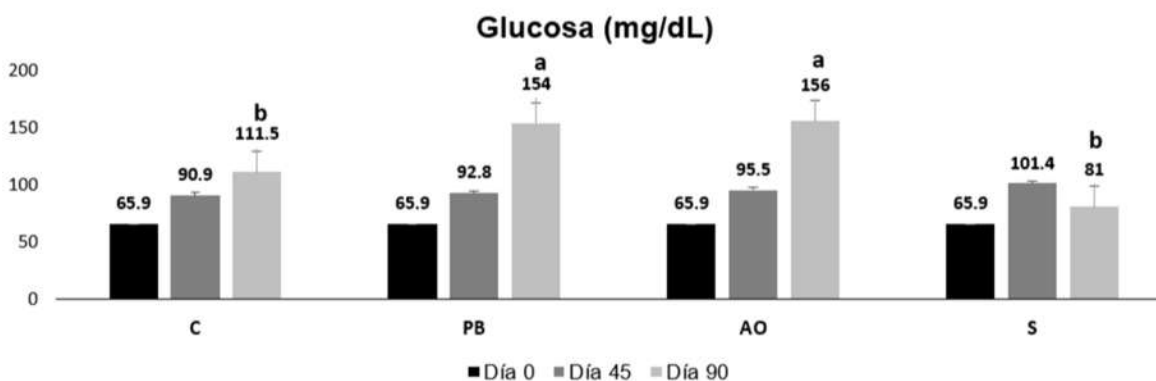


Figura 25. Glucosa (mg/dL) promedio $\pm$ error estándar de la tilapia del Nilo alimentada con dietas suplementadas y control a los 0, 45 y 90 días experimentales, las letras indican diferencias estadísticas entre los grupos ($p < 0.05$).

8.10 Histología de intestino de tilapia del Nilo

Control: En este grupo no se observan afectaciones en el intestino distal de los organismos alimentados con la dieta control, (lo que indica que el alimento proporcionado era adecuado para los organismos) en la Fig. 26 se observan fotomicrografías del intestino distal a los 0, 45 y 90 días experimentales, con los objetivos 5x y 100x.

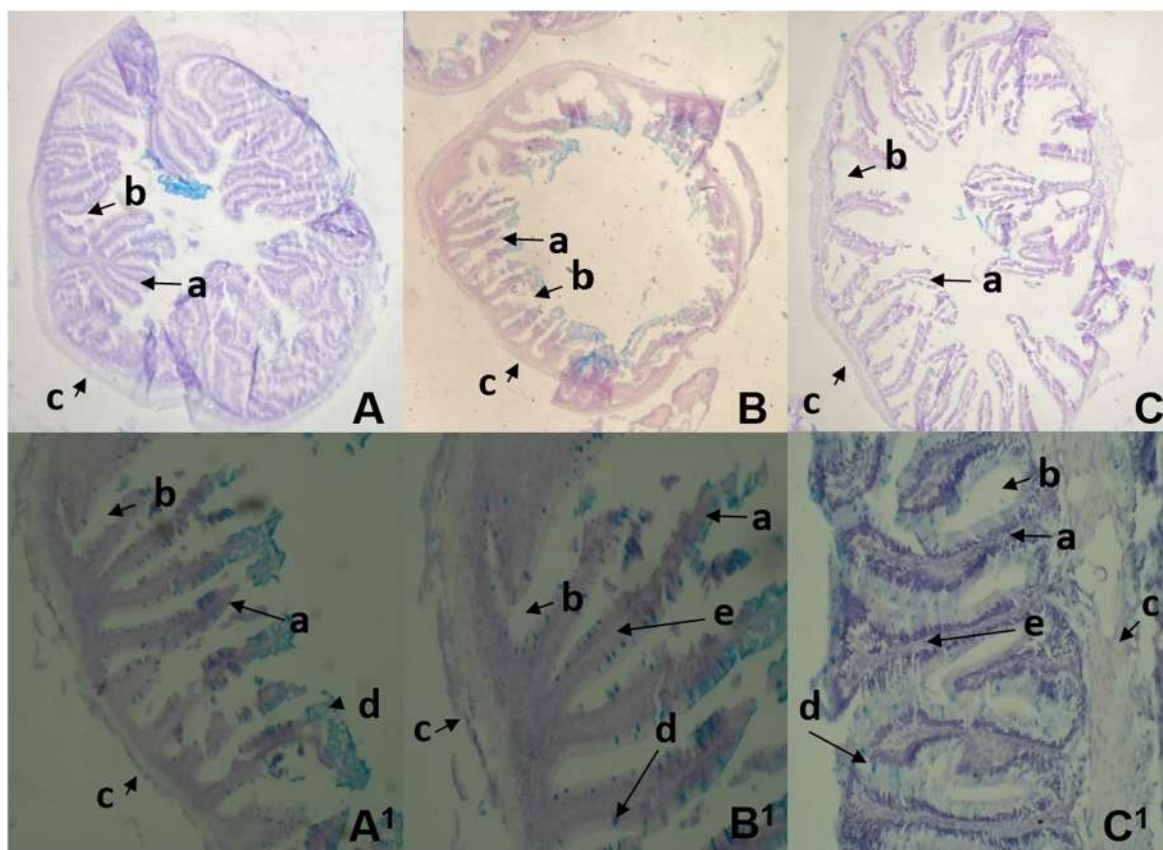


Figura 26. Fotomicrografías del intestino distal correspondiente al grupo control, a los 0, 45 y 90 días experimentales: **A** (0 días, 5x) **B** (45 días, 5x) **C** (90 días, 5x) **A¹** (0 días, 100x) **B¹** (45 días, 100x) **C¹** (90 días, 100x).

a) Vellosoidad intestinal, **b)** espacio entre vellosidades, **c)** capa muscular, **d)** células calciformes, **e)** lámina propia de la vellosoidad intestinal.

Prebiótico: Se percibió en los organismos un aumento en las vellosidades intestinales, así como de mucinas a los 45 días de ingesta de la dieta adicionada con el PB. Sin embargo, a los 90 días de ingesta de la misma, se observó menor cantidad de vellosidades intestinales, así como de mucinas en la Fig. 27 se observan fotomicrografías del intestino distal a los 0, 45 y 90 días experimentales, con los objetivos 5x y 100x.

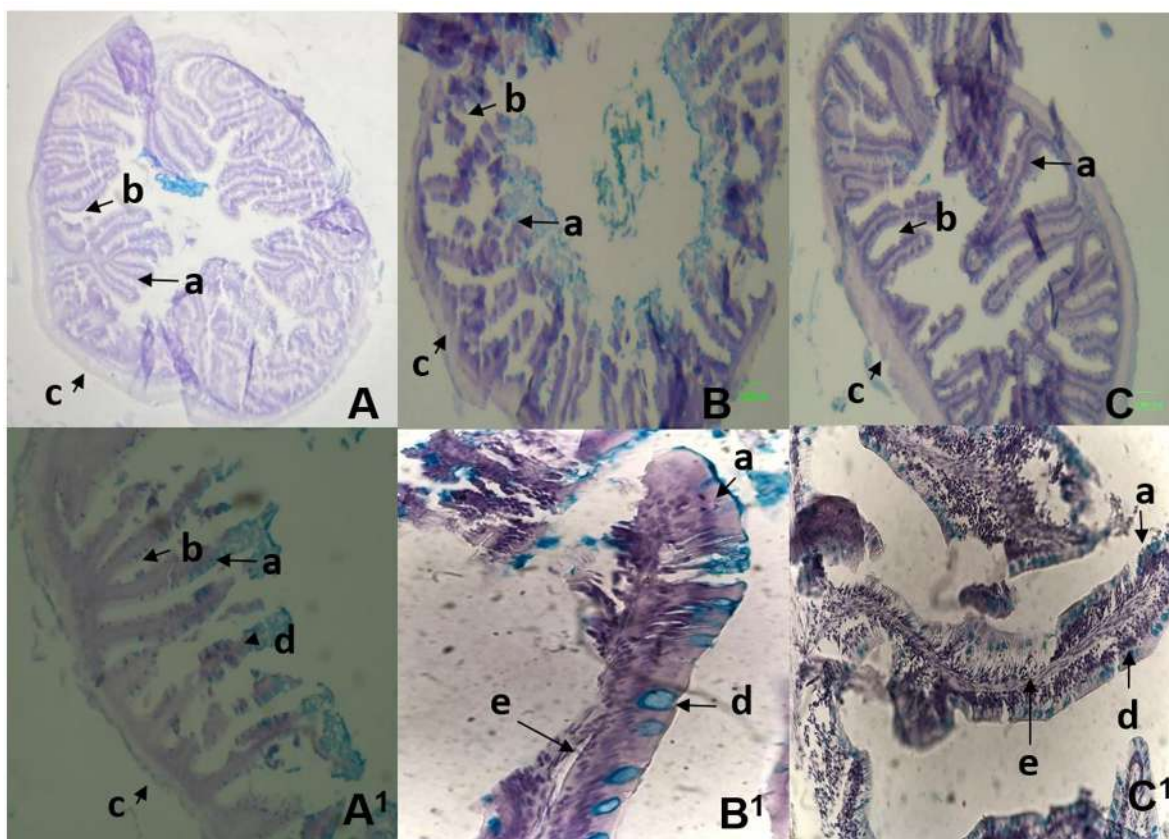


Figura 27. Fotomicrografías del intestino distal correspondiente al grupo alimentado con la dieta adicionada con el PB, a los 0, 45 y 90 días experimentales: **A** (0 días, 5x) **B** (45 días, 5x) **C** (90 días, 5x) **A¹** (0 días, 100x) **B¹** (45 días, 100x) **C¹** (90 días, 100x).

a) Vellosoidad intestinal, **b)** espacio entre vellosidades, **c)** capa muscular, **d)** células calciformes, **e)** lámina propia de la vellosoidad intestinal.

Ácido orgánico: Los organismos evidenciaron un incremento de mucinas ácidas y neutras a los 45 días de ingesta de la dieta adicionada con el AO, incremento que disminuyó a los 90 días de alimentación con la misma dieta. Por otro lado, no se presentó mayor número de vellosidades intestinales, en comparación con el grupo alimentado con el PB, en la Fig. 28 se observan fotomicrografías del intestino distal a los 0, 45 y 90 días experimentales, con los objetivos 5x y 100x.

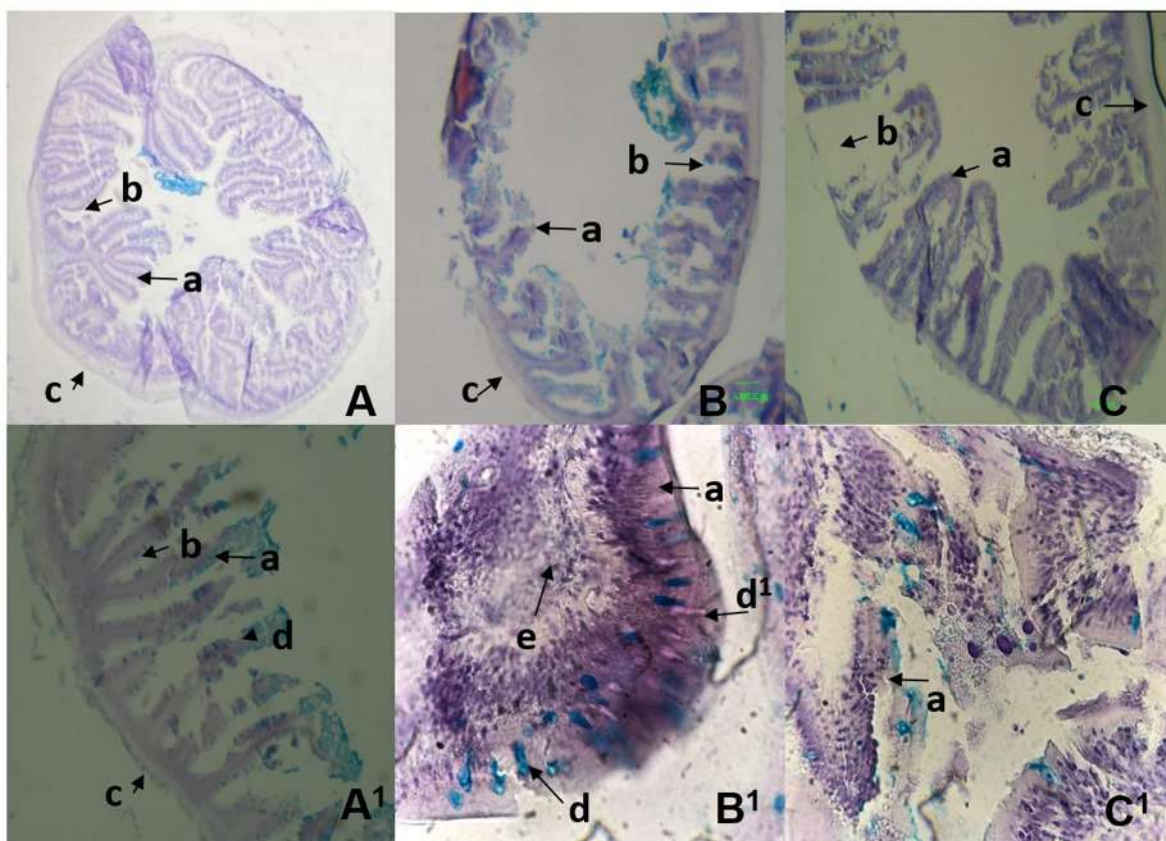


Figura 28. Fotomicrografías del intestino distal correspondiente al grupo alimentado con la dieta adicionada con el AO, a los 0, 45 y 90 días experimentales: **A** (0 días, 5x) **B** (45 días, 5x) **C** (90 días, 5x) **A¹** (0 días, 100x) **B¹** (45 días, 100x) **C¹** (90 días, 100x).

a) Vellosoidad intestinal, **b)** espacio entre vellosidades, **c)** capa muscular, **d)** células calciformes (mucina neutra), **d¹)** células calciformes (mucina ácida) **e)** lámina propia de la vellosoidad intestinal.

Saponinas: En este grupo se observó una proliferación de mastocitos (células de defensa en tejido) en el intestino distal a los 45 días de ingesta de la dieta adicionada con la S. No obstante, a los 90 días de ingesta con la misma dieta, los mastocitos ya no se encuentran y las vellosidades intestinales se presentan en menor cantidad en comparación con el grupo tratado con el PB, en la Fig. 29 se observan fotomicrográficas del intestino distal a los 0, 45 y 90 días experimentales, con los objetivos 5x y 100x.

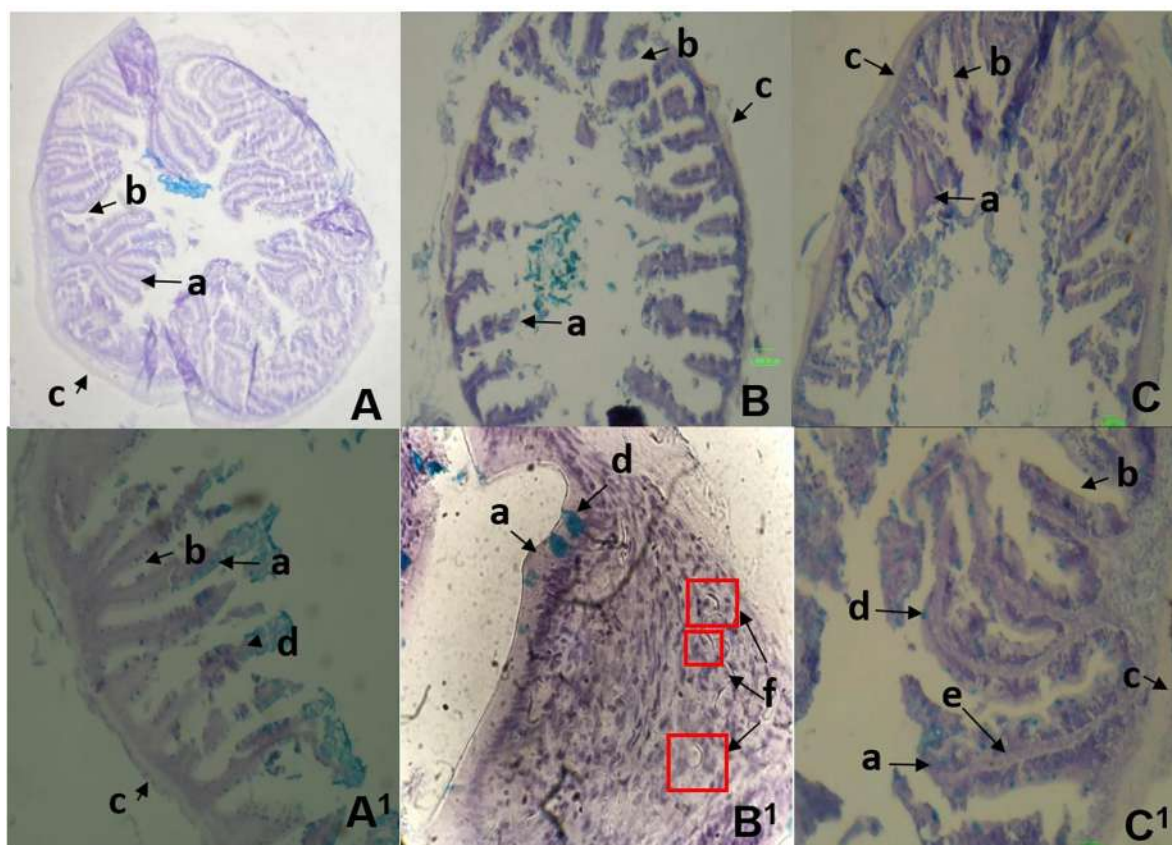


Figura 29. Fotomicrográficas del intestino distal correspondiente al grupo alimentado con la dieta adicionada con la S, a los 0, 45 y 90 días experimentales: **A** (0 días, 5x) **B** (45 días, 5x) **C** (90 días, 5x) **A¹** (0 días, 100x) **B¹** (45 días, 100x) **C¹** (90 días, 100x).

a) Vellosoidad intestinal, **b)** espacio entre vellosidades, **c)** capa muscular, **d)** células calciformes, **e)** lámina propia de la vellosoidad intestinal, **f)** mastocitos.

8.11 Mortalidad

La mortalidad experimental se registró diariamente a lo largo del bioensayo (90 días). Los datos obtenidos no presentaron homocedasticidad ($p < 0.0001$), la prueba Kruskal-Wallis no evidencio diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos (χ^2 : 0.6918). Sin embargo, se puede observar que el grupo control tuvo la mayor mortalidad en comparación a los grupos alimentados con las dietas suplementadas (Fig. 30).

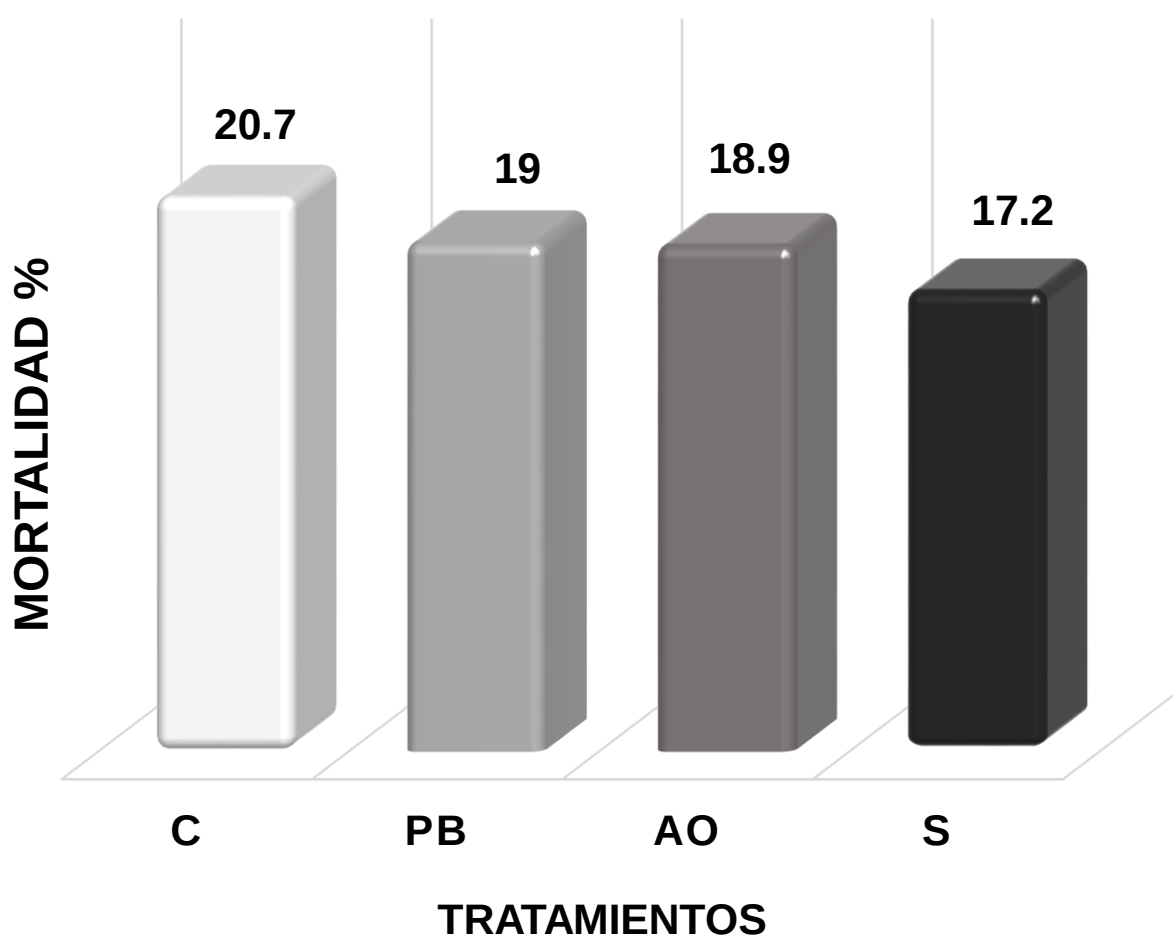


Figura 30. Porcentaje de mortalidad de la tilapia del Nilo, a los 90 días experimentales.

8.12 Pérdida de organismos en el experimento

Durante el bioensayo se notó que había una extracción de organismos no consentida por los responsables del experimento, suceso que se repitió en varios momentos. Por esta razón se realizó un conteo de todos los organismos por jaula a los 45 días experimentales (momento en que se realizó la segunda biometría). De tal forma que se recalculó el porcentaje de organismos por tratamiento, para que coincidiera su nueva n : (C= 2771, PB= 2492, AO= 1747, S=2541). El conteo de los organismos nos permitió percatarnos que el grupo con mayor pérdida ($p<0.05$) fue el grupo alimentado con la dieta suplementada con AO (inferimos que esto ocurrió debido a que este grupo presentaba los organismos más grandes) (Fig. 31). Este acontecimiento se repitió después de los 45 días y hasta el final del experimento, la nueva n experimental fue de: (C= 2117, PB= 1913, AO= 1173, S=2008), para este lapso experimental no hubo diferencias significativas entre los grupos (Fig. 32).

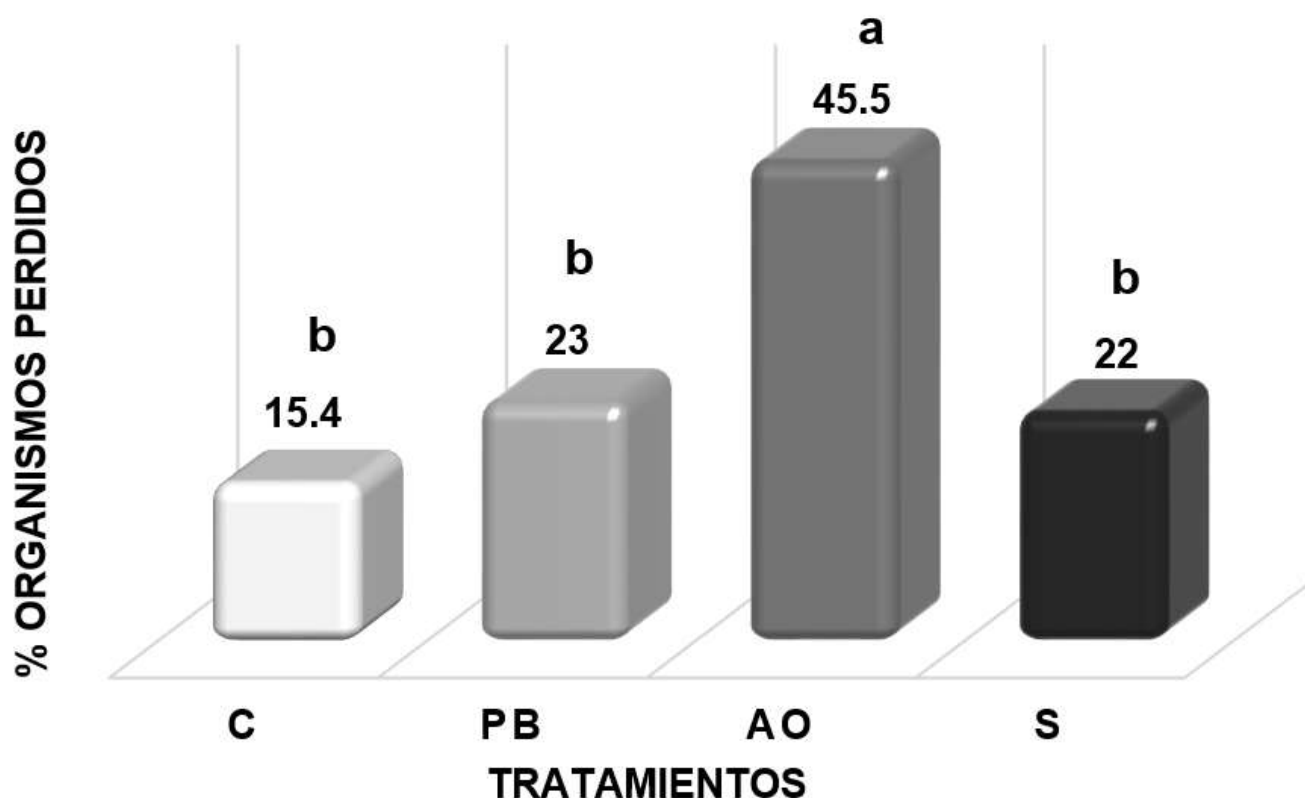


Figura 31. Porcentaje de pérdida de los organismos del bioensayo a los 45 días experimentales, las letras indican diferencia estadística ($p<0.05$).

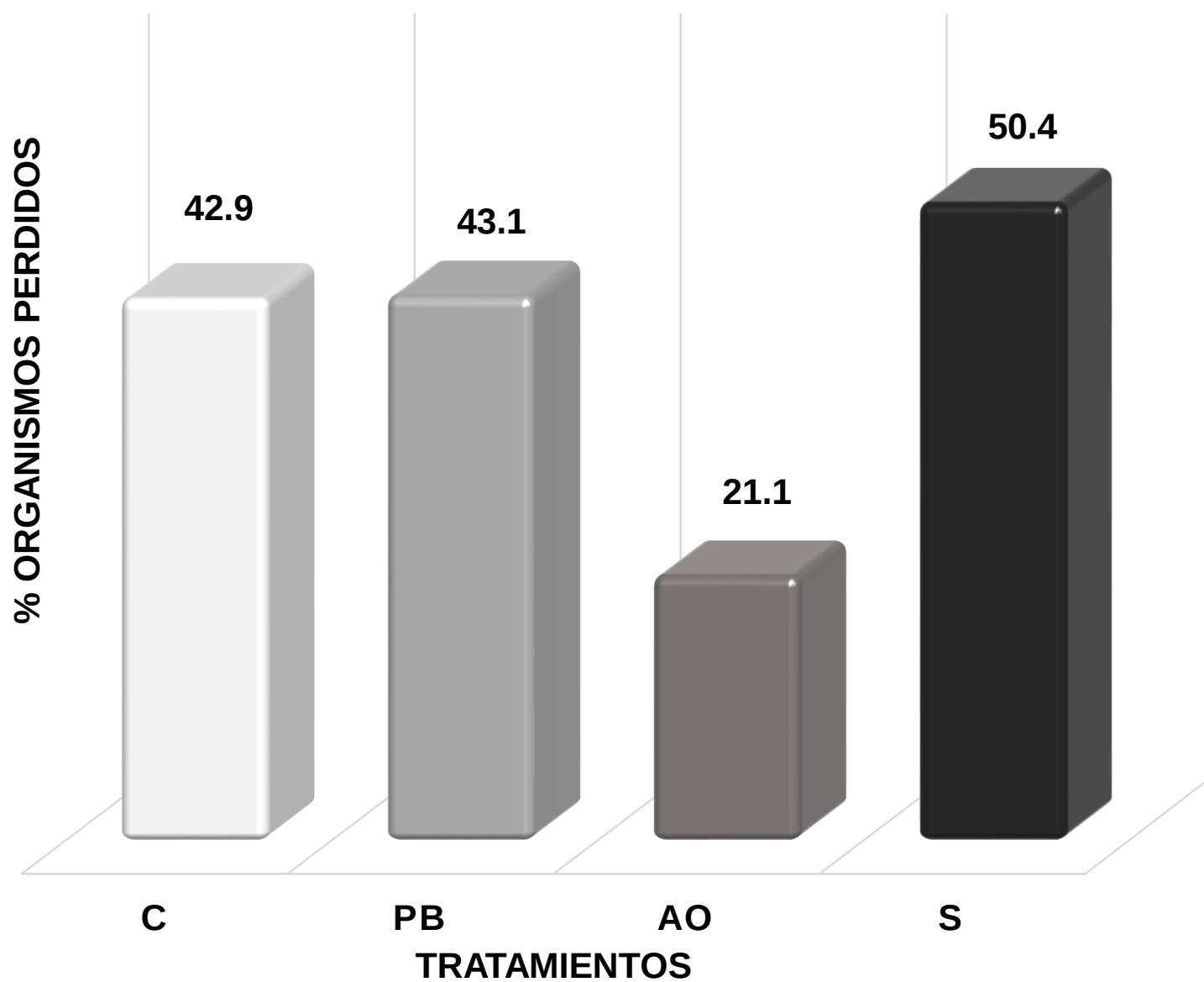


Figura 32. Porcentaje de perdida de los organismos del bioensayo a los 90 días experimentales.

8.13 Huracán Lidia

El huracán Lidia de categoría 2 en la escala de Saffir-Simpson, tocó tierra sobre Jalisco el día 10/oct/23, fecha que coincide con el día experimental 86 en el presente bioensayo. Este evento meteorológico propició lluvias torrenciales en Michoacán de 150 a 250 mm (Servicio Meteorológico Nacional, 2023), las cuales permanecieron en La Huacana, Michoacán hasta el día experimental 90. Esto provocó que la presa se llenará en casi su totalidad, la entrada de agua a la presa fue acompañada de bastante materia orgánica. Para este momento, sólo se contaba con un medidor de oxígeno, con el cual determinamos que el oxígeno disuelto disminuyó a 1 mg/L el día 90 experimental. Si bien ese día dejó de llover y los peces se encontraron boqueando en la superficie del agua (aún vivos todos), momento en el que se decidió tomar rápidamente muestras de sangre y de órganos para su posterior análisis; al día siguiente el resto de los organismos murieron y el oxígeno disuelto estaba en 0.7 mg/L. Se realizó la biometría final con la mortalidad de dos de las tres repeticiones ya que el proceso de descomposición en los organismos ya no nos permitió realizar la biometría en la tercera repetición de cada tratamiento. Se muestra la mortalidad ocasionada por el huracán (Fig.33).

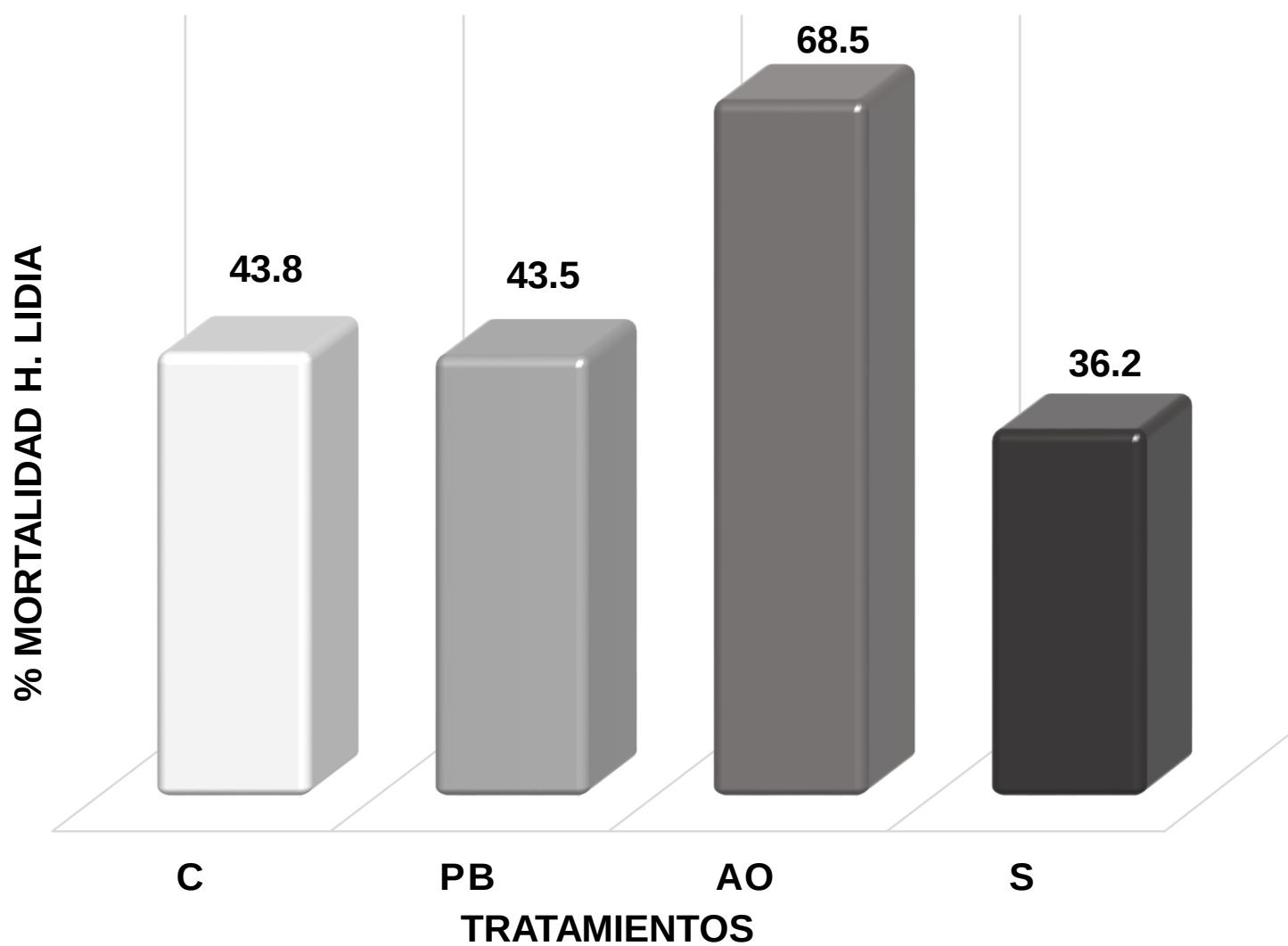


Figura 33. Porcentaje de mortalidad ocasionada por el huracán Lidia al final del bioensayo

8.14 Aprovechamiento económico del uso de dietas suplementadas

Las dietas suplementadas permiten que las tilapias cultivadas en un sistema semi-intensivo en jaulas flotantes, crezcan más en comparación con las tilapias alimentadas con la dieta control. Específicamente la dieta suplementada con AO que, además presenta un menor factor de conversión alimenticia (1.8) vs control (2.2). Lo que se ve reflejado en mayores ganancias por cosecha, el costo de la tilapia del Nilo por tonelada es de \$65,000 a pie de granja (Tabla 7).

Tabla 7. Aprovechamiento económico del uso de dietas suplementadas

	CONTROL	PB	AO	S
Costo tonelada de alimento	\$16,000. 00	\$17,526.15	\$16,446.84	\$17,044.61
FCA	2.2	2	1.8	2.3
Kg. Alim por Ton. Prod.	2200 kg	2300 kg	1800 kg	2300 kg
Costo alimento por Ton. Prod.	\$35,200	\$36,800	\$28,800	\$36,800
Porcentaje de mortalidad	20.7%	19%	18.9%	17.2%
Pérdida por mortalidad	\$13,445	\$12,350	\$12,285	\$11,180
Ganancia por Ton. Prod.	\$51,555	\$52,650	\$52,715	\$53,820
Cosechas anuales	2	3	3	2
Ganancia total anual	\$103,110	\$157,950	\$158,145	\$107,640

9. Discusión

Calidad de agua

Los organismos se mantuvieron a una profundidad de dos metros en las jaulas de cultivo, donde los parámetros fluctuaron dentro de los intervalos adecuados para el cultivo de tilapia durante el bioensayo. El O_2 mg/L se encontró en promedio a 5.6 ± 0.4 mg/L (concentración óptima, que favorece el crecimiento de los peces), la temperatura promedio 30 ± 0.4 °C, pH promedio 8 ± 0.1 , la concentración de amonio fue un poco alta con 1.0 mg/L, sin embargo, dentro del intervalo de tolerancia para el cultivo de tilapia (Baltazar y Palomino, 2004).

Peso

Al inicio del experimento las crías de TN presentaron pesos similares entre los tratamientos, al día 45 experimental el grupo tratado con la dieta suplementada con los AO mostró el mayor incremento en peso promedio (79 g), seguido del grupo alimentado con la dieta adicionada con el PB (74.3 g), mientras que el grupo control presentó el menor incremento en peso (71.2 g). Al día 90 experimental los organismos siguieron comportándose de igual forma, las tilapias alimentados con AO presentaron el mayor incremento en peso (235.8 g), mientras que el grupo control y el grupo alimentado con las S exhibieron el menor crecimiento en peso promedio (201.3 y 202.2 g) respectivamente.

Los resultados del presente trabajo son compatibles con lo encontrado en un experimento con TN alimentada con AO (ác. málico y ác. oxálico 1%) las cuales presentaron mayor aumento en peso (25.45 g) en comparación al grupo control (21.85 g) a los 90 días de alimentación (Agouz *et al.* 2015). Resultados similares se encontraron en juveniles alimentados durante 60 días con una mezcla de AO (ác. fórmico y ác. propiónico 2g/Kg) con un peso promedio de 44.14 g vs control con 36.63 g (Reda *et al.* 2016). Así mismo, en otro experimento con TN alimentada con dietas suplementadas AO (ác. benzoico 0.1%) evidenciaron un mayor crecimiento (56.96 g) vs control (44.1 g) a los 54 días de alimentación (Libanori *et al.* 2021).

Para el caso de las dietas suplementadas con PB, los resultados del presente trabajo también concuerdan con lo encontrado en la literatura, un ejemplo de esto es lo observado en juveniles de TN alimentados durante 63 días con el PB (quitosano 4 g/Kg) estos exhibieron mayor incremento en peso (39.46 g) que el control (36.98 g) (Cavalcante *et al.* 2020). Otro caso similar es el experimento con juveniles de TN alimentados con el PB comercial Fermos® durante 6 semanas, como resultado el grupo tratado con el PB al 1% obtuvo un peso promedio (39.8 g) en comparación al control (36.5 g) (Abdel Gayed *et al.* 2021).

Por otro lado, los resultados obtenidos en el presente estudio para la TN alimentada con la dieta adicionada con la S, no concuerdan con otras investigaciones, ya que la dieta suplementada con S no incrementó su peso significativamente comparativamente con el grupo control. En este bioensayo observamos que crece un poco más con un peso promedio (63 g y 129.7 vs 61.4 y 130 g del grupo control, a los 45 y 90 días de alimentación, respectivamente), pero no llega a ser estadísticamente significativo. Sin embargo, es en el caso de juveniles de TN alimentados con la S (*Quillaja saponaria* 300 mg/kg), durante 14 semanas que incrementaron su peso promedio (175.9 g) vs control (139.3 g) (Francis *et al.* 2001). Otro ejemplo de esto es la mezcla de S (*Quillaja saponaria* y *Yucca schidigera* 300 mg/Kg y 0.11 ml/m³) que permitieron que la TN alcanzara un peso promedio (58.8 g) vs control (48.4 g) al cabo de 60 días de alimentación (Abozeid *et al.* 2021).

Relación peso-talla

El análisis de relación peso-talla para los tratamientos mostró un crecimiento de tipo isométrico (indica que presentan un crecimiento proporcional entre peso y talla) al encontrarse el exponente *b* de dicha relación entre 2.5 y 3.5 (Santoyo *et al.* 2019), lo que concuerda con lo encontrado por García *et al.* (2012) y Alvarado *et al.* (2022).

Ganancia en peso (GP)

El mayor valor de GP a los 45 días experimentales lo presentaron los organismos tratados con AO y PB (67.5 y 67.7 g respectivamente) y el menor lo exhibió el grupo control (61.4 g). A los 90 días experimentales el grupo con mayor GP es el AO (170.1 g) y el tratamiento de las S presenta la menor GP (129.7 g). Esto concuerda con lo encontrado en TN alimentada con PB que presentan mayor GP vs control (Azevedo *et al.* 2016; Ali y El-Fecky 2019), así mismo para la TN tratada con dietas suplementadas con AO (Hassan *et al.* 2014; Chen *et al.* 2016). Por otro lado, lo encontrado en el presente trabajo discrepa con lo descubierto por (Hossain *et al.* 2004; Elkaradawy *et al.* 2021) quienes observaron una mayor GP en la TN alimentada con S, aunque, si coincide con lo encontrado por Angeles *et al.* (2017) donde la tilapia alimentada con la S mostró una menor GP vs control.

Tasa de crecimiento específico (TCE)

La TCE difirió entre los tratamientos, los organismos alimentados con las dietas suplementadas con PB y AO son los que provocaron una mayor TCE (4.9 y 4.8 % respectivamente) en comparación al control y al grupo tratado con la S con

una TCE de 4.6 % para ambos grupos a los 45 días experimentales. A los 90 días experimentales el grupo control y el tratamiento de la S presentaron la menor TCE (3.6 y 3.5 % respectivamente), en comparación a los tratamientos de AO y PB (3.8 y 3.7 % respectivamente). Esto concuerda con lo encontrado en TN alimentada con dietas suplementadas con PB donde presentaron una mayor TCE en comparación al control por Ali y El-Fecky (2019); El-latif *et al.* (2015) y Abdel-Gayed *et al.* (2021), de igual forma ocurrió para la TN alimentada con AO por Wing-Keong *et al.* (2009); Kim *et al.* (2019) y, para el caso del grupo tratado con la S lo reportado por Silva *et al.* (2020); Alvarado *et al.* (2022) concuerda con el presente trabajo, donde la S presenta una menor TCE en comparación al control, pero discrepa con lo encontrado por Barragán *et al.* (2017), donde el grupo alimentado con la S presenta una mayor TCE vs control.

Factor de conversión alimenticia (FCA)

A los 45 días experimentales encontramos un FCA inferior a 1, no obstante, a los 90 días experimentales los tratamientos control, PB y S presentaron un FCA mayor a 2 (2.2 control y 2.3 PB y S). La tilapia del Nilo, puede presentar un FCA de 1: 0.8 a 1:1.5 dependiendo el estadio de desarrollo, el tipo de alimentación y de una evaluación de biomasa cada 15 o 30 días para el ajuste del alimento (Baltazar y Palomino, 2004). En este experimento sólo se realizaron dos biometrías (día 45 y 90 experimental), esto fue con el objetivo de estresar lo menos posible a los organismos y obtener un buen análisis sanguíneo, motivo por el cual el reajuste del alimento quizás no fue el más preciso y por ende se obtuvo un FCA más alto. Aun así, los organismos alimentados con el tratamiento de AO obtuvieron el mejor FCA con 1.8.

Relación de Fulton (K)

En el presente bioensayo se encontraron niveles de K superiores a 1 para todos los tratamientos, lo que indica que los juveniles de tilapia gozaban de una condición de robustez, esto se interpreta como un bienestar general y vigorosidad en los peces (Granado, 1996 y Froose, 2006).

Parámetros hematológicos de la tilapia del Nilo (PHE)

La ictiohematología es útil para evaluar la calidad de las dietas proporcionadas y diagnosticar enfermedades (Hari *et al.* 2004). Los PHE de la TN alimentada con las dietas suplementadas con PB, AO y S en este estudio presentan niveles más altos en comparación al grupo control.

- Tilapia del Nilo alimentada con la dieta suplementada con prebióticos

A los 45 días de alimentación con la dieta adicionada con PB, los organismos presentaron un aumento en los niveles de: Hg (89.5 g/L), Hcto (0.27 L/L) y glucosa (92.8 mg/dL) vs control: Hg (88.9 g/L), Hcto (0.26 L/L) y glucosa (90.9 mg/dL). Esto concuerda con lo reportado por Cavalcante *et al.* (2020) donde la TN alimentada con el PB quitosano presentó un aumento en Hg (118.8 g/L), Hcto (0.32 L/L) vs control: Hg (95.5 g/L), Hcto (0.31 L/L). Algo similar ocurrió en lo publicado por Ahmad *et al.* (2015) quien alimentó TN con β -glucanos y observó un aumento en: Hg (77.5 g/L), Hcto (0.21 L/L) y glucosa (39.43 mg/dL) vs control: Hg (46.3 g/L), Hcto (0.13 L/L) y glucosa (21.9 mg/dL). Este aumento podría deberse a la suplementación de la dieta con el PB, ya que el β -glucano posee receptores específicos en las células fagocíticas (heterófilos y monocitos) y la unión del prebiótico con estas células aumenta su capacidad fagocítica para engullir bacterias (Merrefield *et al.* 2010).

Para el caso del VSE (1.6 mm/Hr), VCM (149.4 fL), HCM (50.3 pg), CHCM (33.5 g/L) fueron inferiores al control: VSE (2.4 mm/Hr), VCM (165.2 fL), HCM (57.9 pg), CHCM (34.7 g/L). Lo anterior fue similar a lo reportado por Munni *et al.* (2023) que en la TN alimentada con el PB midió un VCM (172.18 fL), HCM (35.74 pg) y CHCM (24.13 g/L) vs control: (176.7 fL), HCM (37.87 pg) y CHCM (21.49 g/L). A los 90 días experimentales se notó una leve baja en los organismos alimentados con el PB en su Hg (87 g/L) y Hcto (0.25 L/L), pero no llegó a ser significativa en comparación al día 45 experimental. Inferimos que esto ocurrió por el estrés generado por el huracán, sin embargo, se mantienen dentro del intervalo adecuado para la especie y aun así, mantienen un nivel un poco más alto que el control Hg (83.7 g/L) y Hcto (0.24 L/L), sin llegar a ser estadísticamente distintos.

- Tilapia del Nilo alimentada con la dieta suplementada con ácidos orgánicos

En nuestros resultados, los AO fueron suplemento que evidenció los mayores niveles de PHE en la TN vs el resto de tratamientos. A los 45 días experimentales mostró: Hg (98.1 g/L), Hcto (0.28 L/L), glucosa (95.5 mg/dL), estadísticamente mayores vs control: Hg (88.9 g/L), Hcto (0.26 L/L) y glucosa (90.9 mg/dL). Al igual que en las otras dietas a los 90 días presentaron una baja en sus niveles de PHE: Hg (86 g/L), Hcto (0.25 L/L) (sin salir del intervalo de referencia adecuado para la especie) y aún más alto en comparación al control Hg (83.7 g/dL), Hcto (0.24 L/L), sin llegar a ser estadísticamente distinto. Nuestros resultados concuerdan con el estudio de Reda *et al.* (2016), quienes en el grupo control registraron un nivel inferior de Hg (38.4 g/L) vs dieta con AO al 2% (Hg: 54 g/L), aunque con el Hcto no había diferencia estadística entre los grupos, ellos sí obtuvieron diferencias significativas entre los conteos de glóbulos blancos y rojos, mientras que en el presente trabajo

los conteos de glóbulos entre los tratamientos fueron similares]]. Por otro lado, El-Sayed *et al.* (2018), no encontraron diferencias en los PHE de las tilapias alimentadas con AO y el grupo control, no obstante, lo publicado por Hassaan *et al.* (2014) concuerda con lo que se observa en el presente trabajo, los PHE de la TN alimentada con AO, son significativamente más altos Hg (105.5 g/L), Hcto (0.20 L/L) vs control Hg (76 g/L), Hcto (0.17 L/L). El incremento en los PHE de la tilapia alimentada con dietas suplementadas con AO, podría deberse a la liberación de nutrientes de los ingredientes del alimento, mediante la suplementación con los AO (Reda *et al.* 2016); el aumento de la Hg y Hcto de la TN alimentada con AO sugiere un efecto positivo en la salud de estos peces (Soltan *et al.* 2017). En este grupo también se pudo observar que la velocidad de sedimentación eritrocitaria fue más baja en comparación al control y al prebiótico, y comportándose estadísticamente de forma similar con el grupo de la saponina. Las variaciones en este parámetro se presentan por aparición e intensidad de enfermedades, así como de lesiones e infecciones (Hahn-Von-Hessberg *et al.* 2011), al presentar una VSE más baja en este grupo, podría hacer referencia a que eran peces más sanos y/o con menos lesiones. Sin embargo, todos los grupos presentan una VSE dentro del intervalo de referencia para la especie (Hahn-Von-Hessberg *et al.* 2011).

- Tilapia del Nilo alimentada con la dieta suplementada con saponinas

De las tres dietas suplementadas, los organismos alimentados con la dieta adicionada con S son los que se comportan de forma más parecida a los organismos del grupo control. A los 45 días experimentales ambos grupos presentan Hg (88.9 g/L) y Hcto (0.26 L/L), la glucosa es más alta en el grupo de las S (101.4 mg/dL) vs control (90.9 mg/dL), no obstante, no es estadísticamente distinto; al igual ocurre a los 90 días experimentales los PHE de los individuos alimentados con la S no son estadísticamente distintos al control, aunque si ligeramente mayores. Lo que concuerda con lo reportado por Gültepe *et al.* (2014) para TN alimentada con dietas suplementadas con S, donde los niveles de Hg (63.3 g/L), Hcto (0.29 L/L) y glucosa (112.5 mg/dL), las cuales no difieren estadísticamente del control Hg (62.4 g/L), Hcto (0.31 L/L) y glucosa (93.03 mg/dL); se observan resultados similares en el estudio de Abozeid *et al.* (2021) con TN alimentada con dietas adicionadas con S, donde sus PHE (Hg: 81 g/L, Hcto: 0.24 L/L, CGR: $1.15 \times 10^6 /\mu\text{L}$ y CGB: $24.6 \times 10^3/\text{mm}^3$) no son significativamente distintos al control (Hg: 84.5 g/L, Hcto: 0.25 L/L, CGR: $1.39 \times 10^6 /\mu\text{L}$ y CGB: $25.7 \times 10^3/\text{mm}^3$). Otro estudio con dietas suplementadas con S para la TN arrojó resultados de PHE inferiores (Hg: 66.3 g/L y Hcto: 0.26 L/L) en comparación al control (Hg: 77 g/L y Hcto: 0.33), para el conteo de glóbulos no hubo diferencia entre los tratamientos (Mohamed, 2011).

- Muestreo final de sangre

Hacia el final del experimento se presentó un evento hidrometeorológico (huracán Lidia), el cual propicio una disminución del oxígeno disuelto a 1 mg/L el día 90 experimental, mismo día que se tomó la muestra sanguínea final. Sin embargo, se puede observar que los niveles de Hg (Control: 83.7 g/L, PB: 87 g/L, AO 86 g/L, S: 90 g/L), Hcto (Control: 0.24 L/L, PB: 0.27 L/L, AO: 0.25 L/L y S: 0.26 L/L) y HCM (Control: 45 pg, PB: 30.5 pg, AO: 32.5 pg y S: 47.3 pg) (sin diferencias estadísticas entre grupos) de las tilapias para este momento experimental se encuentran dentro de los valores normales de referencia para la especie (Hahn-Von-Hessberg *et al.* 2011). Un estudio realizado con trucha (*Oncorhynchus mykiss*) expuesta a condiciones de hipoxia, midió sus PHE y encontraron que en la trucha expuesta a 2 mg O₂/L durante 30 minutos, la concentración de HCM disminuyó y el número de eritrocitos y Hcto aumentó en comparación al control, así mismo observaron que en respuesta al estrés hipóxico, las truchas disminuyeron el consumo de oxígeno (Valenzuela *et al.* 2002).

Los estresores ambientales como es el oxígeno, pueden suprimir las funciones inmunes de los peces si es que el estrés es crónico, un estrés agudo o trauma pueden mantener o mejorar los componentes celulares y humorales de las defensas innatas del organismo (Tort, 2011). Por otro lado, la variabilidad del oxígeno disuelto en agua que puede resultar en niveles de hipoxia, ocasionado por distintos factores ambientales y/o antropogénicos, hace que los peces dispongan de estrategias adaptativas que les permiten ajustes homeostáticos (Valenzuela *et al.* 2002). El mantenimiento homeostático de los peces ante la reducción del oxígeno produce tres tipos de respuesta: 1) inmediata que se desarrolla de minutos a horas produciendo ajustes a nivel fisiológico (frecuencia cardíaca y tasa de ventilación), 2) intermedia se desarrolla de horas a días produciendo una respuesta compleja a nivel celular, específicamente ajustes en los parámetros hematológicos relacionados con la captación y distribución del oxígeno (Hg, Hcto y HCM), 3) si las condiciones de hipoxia persisten se verifica una respuesta a largo plazo ajustando los procesos de homeostasis respiratoria, su alimentación y reproducción (Powers, 1980). Razón por la cual en el presente estudio no se nota un cambio en los PHE de los peces muestreados al día 90 experimental, ya que inferimos que las tilapias activaron su respuesta inmediata al estrés hipóxico.

Histología del intestino distal de la tilapia del Nilo

El estudio histológico del intestino de la tilapia del Nilo, permite comprender la respuesta fisiológica de la ingesta de las dietas adicionadas con PB,

AO y S, en el presente estudio se observaron diferentes respuestas entre tratamientos.

- Tilapia del Nilo alimentada con la dieta control

El grupo control no evidenció afectaciones a nivel de intestino distal, ni ninguna malformación lo que indica que el alimento suministrado era óptimo para los organismos.

- Tilapia del Nilo alimentada con la dieta suplementada con prebiótico

A los 45 días de alimentación con la dieta adicionada con el PB, los organismos exhibieron un incremento en las vellosidades intestinales, en comparación a los organismos tratados con las otras dietas, este fue el tratamiento que presentó el mayor número de vellosidades intestinales, esto indica que la dieta suplementada con el PB, permite a los organismos una mayor asimilación de nutrientes al aumentar las vellosidades y con esto la superficie de absorción (Macari y Gónzales, 2002; Guyton y Hall, 2011); este grupo también exhibió aumento en la cantidad de mucinas intestinales (glicoproteínas) las cuales facilitan el paso del bolo alimenticio (Cornejo, 2017). Sin embargo, a los 90 días de alimentación se observa una menor cantidad de vellosidades intestinales y de mucinas en comparación a los 45 días experimentales.

- Tilapia del Nilo alimentada con la dieta suplementada con ácidos orgánicos

A los 45 días de alimentación con la dieta adicionada con el AO, se observó un incremento en las mucinas neutras, las cuales están relacionadas con la neutralización del pH y con la protección de la mucosa estomacal e intestinal (Lynch *et al.*, 1972). En este momento experimental, también se observó el incremento de mucinas ácidas en los organismos, estas mucinas ácidas desempeñan un papel de protección y lubricación en el intestino (Sakata y Engelhardt, 1981), dichas mucinas también forman parte del sistema de defensa de las mucosas presentes en el tracto digestivo (Corfield *et al.*, 2001), lo que indica que esta dieta permite a los organismos una buena absorción de nutrientes y mejora el paso del bolo alimenticio. Por otro lado, a los 90 días de alimentación, se observa una disminución de estas mucinas en el intestino distal de la tilapia del Nilo.

- Tilapia del Nilo alimentada con la dieta suplementada con las saponinas

A los 45 días de alimentación con la dieta adicionada con la S, los organismos mostraron un aumento evidente de mastocitos (células de defensa) en el tejido intestinal, la función de estas células se encuentra relacionada con el sistema inmunitario, su número suele aumentar en procesos de inflamación (Bischoff, 2007; Molderings, 2010). No obstante, de acuerdo con el estudio histológico los organismos no presentaban evidencia de inflamación, lo que parece indicar que la dieta suplementada con las saponinas promueve el sistema inmune

de la tilapia del Nilo. Por otra parte, a los 90 días de alimentación ya no se encuentran mastocitos en el intestino distal de los organismos alimentados con esta dieta.

Mortalidad

En el presente experimento el porcentaje de mortalidad experimental, no presentó diferencias estadísticas entre los tratamientos. Sin embargo, el grupo control, presentó el mayor porcentaje de mortalidad con 20.7 %, los grupos alimentados con el PB y el AO se comportan de forma similar con 19 % y 18.9% respectivamente, mientras que la saponina presenta el menor porcentaje de mortalidad con 17.2%.

Mortalidad ocasionada por el huracán

Debido a este evento hidrometeorológico, en la zona de cultivo (La Huacana, Mich.), estuvo nublado durante una semana, esto afecta la tasa de fotosíntesis del fitoplancton ya que depende en gran medida de la cantidad de luz e influye en la concentración de oxígeno disuelto en agua (Boyd, 2017); por otro lado, este fenómeno desató lluvias torrenciales que generaron aumento en los cauces de los ríos y con esto el arrastre de sedimentos y materia orgánica que al descomponerse hacen uso del oxígeno presente en agua y liberan amoníaco (Roldan y Ramírez, 2008), esto generó la caída de oxígeno disuelto en la presa (Chapman, 1996), este factor aunado con la cantidad de sólidos disueltos en agua generaron que los peces se enfrentaran a un reto de estrés y para el día 91 experimental murieran por anoxia al enfrentarse a una concentración de oxígeno disuelto de 0.7 mg/L .

De acuerdo con lo encontrado en el análisis histológico de los organismos, el huracán Lidia, no tuvo incidencia en el rendimiento de las dietas.

10. Conclusión

La inclusión de productos como prebióticos, ácidos orgánicos y saponinas a la dieta resulta beneficioso para el crecimiento y bienestar general de la tilapia del Nilo. Esto lo corroboran los resultados obtenidos por el análisis de índices productivos, parámetros hematológicos y el análisis histológico del intestino distal de la tilapia del Nilo cultivada en un sistema de producción en jaulas flotantes. De acuerdo con lo obtenido, todos los productos incluidos en la dieta generan beneficios en la salud y crecimiento de la tilapia del Nilo. El mejor producto de suplementación dietética es el ácido orgánico, el cual los ayuda a crecer más, a presentar el menor factor de conversión alimenticia y muestra los mejores niveles en los parámetros hematológicos, así como un aumento de mucinas ácidas y neutras en el intestino distal de la tilapia del Nilo, seguido del prebiótico, el cual genera un aumento de las vellosidades intestinales y con esto una mejor absorción de los nutrientes, también exhibe un aumento en las mucinas neutras, por otra lado, la saponina los ayuda a generar células de defensa esto puede ser de ayuda en procesos de enfermedad o previo a la vacunación de los organismos. La inclusión en la dieta de cualquiera de estos productos traería ventajas económicas en los cultivos de la tilapia del Nilo.

11. Recomendaciones

- Hacer la inclusión de aditivos (prebióticos, ácidos orgánicos y saponinas) en la dieta de la tilapia del Nilo sólo durante 45 días, después de esto las ventajas que proveen, se pierden.
- Se recomienda la inclusión prebióticos y ácidos orgánicos en la dieta, para un mayor crecimiento y mejor desempeño de los organismos de cultivo, lo que permitirá incrementar las cosechas anuales.
- Si se llevará a cabo un proceso de vacunación o si los organismos presentan síntomas de enfermedad, se recomienda alimentarlos con una dieta adicionada con saponinas, ya que esta dieta promueve la proliferación de células de defensa en los organismos.
- Realizar un análisis bromatológico de las dietas para tilapia del Nilo, suplementadas con aditivos nutricionales.
- Evaluar el efecto de la inclusión de aditivos nutricionales, en las características organolépticas de la carne de la tilapia del Nilo.

12. Referencias

- Abdel Gayed**, M., Abbass, A., Shehabeldin, M., y Elabd, H. (2021). Fermos® prebiotic dietary supplementation enhances immune, antioxidative responses and growth performance of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Benha Veterinary Medical Journal*, 40(1), 135-140. <https://doi.org/10.21608/bvmj.2021.61282.1335>
- Abozeid**, A. M., Abdel-Rahim, M. M., Abouelenien, F., Elkaradawy, A., y Mohamed, R. A. (2021). *Quillaja saponaria* and/or *Yucca schidigera* ameliorate water quality, growth performance, blood health, intestine and gills histomorphology of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture Research*, 52(12), 6117-6131. <https://doi.org/10.1111/are.15474>
- Abu-Elala**, N. M., Younis, N. A., AbuBakr, H. O., Ragaa, N. M., Borges, L. L. y Bonato, M. A. (2018). Efficacy of dietary yeast cell wall supplementation on the nutrition and immune response of Nile tilapia. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 44(4), 333-341. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2018.11.001>
- Agouz**, H. M., Soltan, M. A., y Meshrf, R. N. (2015). Effect of some organic acids and organic salt blends on growth performance and feed utilization of Nile tilapia, (*Oreochromis niloticus*). *Egyptian Journal of Nutrition and Feeds*, 18(2 Special), 443-450. <https://doi.org/10.21608/ejnf.2015.104519>
- Ahmad**, M. H., El-Mousallamy, A., Zein, N., Abd El-Naby, A. S., y Mohamed, S. Z. (2015). Evaluation of prebiotic as natural additives on growth performance and blood biochemistry for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Applied Sciences*, 5(2), 526-533.
- Ali**, B. A., y El-Feky, A. (2019). Enhancing growth performance and feed utilization using prebiotics in commercial diets of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. *Egyptian Journal of Nutrition and Feeds*, 22(1), 219-225. <https://doi.org/10.21608/ejnf.2019.76355>
- Alvarado**, C. K. L., Orben, J. J. J., Cevallos, G. C. T., Noboa, A. R. T., y Riofrío, G. B. P. (2022). Eficiencia de una dieta con base en harina de lenteja (*Lens culinaris*), en el crecimiento de alevines de tilapia. *AquaTechnica: Revista Iberoamericana de Acuicultura*, 4(1), 40-52. <https://doi.org/10.33936/at.v4i1.4458>
- Alves Jesus**, G. F., Owatari, M. S., Pereira, S. A., Silva, B. C., Syracuse, N. M., Lopes, G. R. y Martins, M. L. (2021). Effects of sodium butyrate and *Lippia origanoides* essential oil blend on growth, intestinal microbiota, histology, and haemato-immunological response of Nile tilapia. *Fish & Shellfish Immunology*, 117, 62-69. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.07.008>

- Angeles Jr.**, I. P., Gallego, L. M., Navarro, M. A. M., y Chien, Y. H. (2017). Dietary effects of *Quillaja saponaria* and *Yucca schidigera* extract on rearing performance of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. And its antioxidant capacity and metabolic response following hypoxic stress. *International Journal of Agricultural Technology*, 13(7.3), 2249-2266. <http://www.ijat-aatsea.com>
- Aranda**, T. E. (2011). El hemograma como instrumento diagnóstico básico en pediatría. *Revista de la Sociedad Boliviana de Pediatría*, 50(2), 139-146. <http://www.scielo.org.bo/pdf/rbp/v50n2/a09.pdf>
- Astiasarán**, A. I., Lasheras A. B., Ariño P. A. H. y Martínez H. J. A. (2003). Alimentos y nutrición en la práctica sanitaria. Primera Edición. Díaz de Santos. Madrid, España. (Pág. 66) ISBN: 84- 7978-568-3
- Azevedo**, R. V. D., Fosse Filho, J. C., Pereira, S. L., Cardoso, L. D., Andrade, D. R. D., y Vidal Júnior, M. V. (2016). Dietary mannan oligosaccharide and *Bacillus subtilis* in diets for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 38, 347-353. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v38i4.31360>
- Azevedo**, R.V., Fosse Filho, J.C., Cardoso, L.D., Mattos, D.C., Junior, V., Vázquez, M. y Andrade, D.R. (2015). Evaluación económica de prebióticos, probióticos y simbióticos en juveniles de tilapia del Nilo. *Revista Ciencias Agronómicas*, 46 (1), 72-79. http://old.scielo.br/scielo.php?pid=S1806-66902015000100072&script=sci_arttext
- Baltazar**, G. P. M., y Palomino R. A. R. (2004). Manual de cultivo de tilapia “programa de transferencia de tecnología en acuicultura para pescadores artesanales y comunidades campesinas”. 1-115.
- Barragán**, A., Zanazzi, N., Gorosito, A., Cecchi, F., Prario, M., Imeroni, J., y Mallo, J. (2017). Utilización de harinas vegetales para el desarrollo de dietas de pre-engorde y engorde de Tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*). *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 18(9), 1-15. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63653009025>
- Bbole**, I., Mumba, C., Mupenda, N. y Kefi, A. S. (2016). Analysis of growth performance and haematological parameters of *Oreochromis niloticus* fed on a varying diet of *Moringa oleifera* Lam. leaf meal as an additive protein source. *International Journal of Fisheries and Aquaculture*, 8 (11), 105-111. <https://doi.org/10.5897/IJFA2016.0570>
- Bischoff**, S. C. (2007). Role of mast cells in allergic and non-allergic immune responses: comparison of human and murine data. *Nature Reviews Immunology*, 7(2), 93-104.

- Bittencourt**, N. D. L. R., Molinari, L. M., de Oliveira, D., de Abreu Filho, B. A. y Dias Filho, B. P. (2003). Haematological and biochemical values for Nile tilapia *Oreochromis niloticus* cultured in semi-intensive system. *Hemoglobin (g/dl)*, 10(3.09), 6-58.
- Boyd**, C. E. (2017). El fitoplancton y su impacto en la calidad de agua. *Global Seafood Alliance*, 1-5. <https://www.globalseafood.org/advocate/el-fitoplancton-y-su-impacto-en-la-calidad-del-agua/>
- Buenano**, M. V. (2010). Hemograma de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) en tres etapas de producción en la cuenca alta de la provincia del Napo, Ecuador. *Boletín Técnico, Serie Zoológica*, 9 (6). <https://journal.espe.edu.ec/ojs/index.php/revista-serie-zoologica/article/view/1426>
- Campbell**, T. W. (2012). Hematology of Fish. En: Thrall Mary Anna, Glade Weiser, Robin W. Allison, Terry W. Campbell (2° Edición). *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Wiley-Blackwell, A John Wiley & Sons, Inc. Published. USA. 298-312.
- Campbell**, T. y Murru, F. (1990) An introduction to fish hematology. *The compendium-Small Animal*, 12: 525-533.
- Campos**, M. C., Chiste B. M., Takeshita N. A., Jonsson C. M., Ferracini V. I. y Hisano H. (2020). Acute Toxicity and Risk Assessment of Florfenicol for Nile Tilapia Larvae. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 105 (5), 721-727. <https://doi.org/10.1007/s00128-020-03013-6>
- Campos-Mendoza** Antonio. 2004. Regulatory Mechanisms Associated with Egg Production and Egg Activation in *Oreochromis niloticus*. Tesis de Doctorado. Institute of Aquaculture, University of Stirling, Stirling, Scotland U.K. 245 pp.
- Cani**, P.D. y Everard A. (2016). Talking microbes: When gut bacteria interact with diet and host organs. *Molecular nutrition & food research*, 60(1), 58-66. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201500406>
- Castro**, M. y Rodríguez F. (2005). Levaduras: probióticos y prebióticos que mejoran la producción animal. *Revista Corpoica*. 6 (1), 26- 28. <https://www.redalyc.org/pdf/4499/449945018004.pdf>
- Cavalcante**, R. B., Telli, G. S., Tachibana, L., de Carla Dias, D., Oshiro, E., Natori, M. M., Ferreira da Silva W., y Ranzani-Paiva, M. J. (2020). Probiotics, Prebiotics and Synbiotics for Nile tilapia: Growth performance and protection against *Aeromonas hydrophila* infection. *Aquaculture Reports*, 17, 100343. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100343>

- Chapman, D.** 1996. Water quality assessments: A guide to the use of biota, sediments and water in environmental monitoring. E& FN Spon, Londres, Inglaterra. 626.
- Cheeke, P. R.** (1996). Biological effects of feed and forage saponins and their impacts on animal production. *Saponins used in food and agriculture*, 377-385.
[DOI: 10.1007/978-1-4613-0413-5_32](https://doi.org/10.1007/978-1-4613-0413-5_32)
- Chen, Y. J., Luo, L., Zhang, G. Z., Li, Z., Bai, F. J., Shi, Y. Q., y Yang, H. S.** (2016). Effect of dietary L-malic acid supplementation on growth, feed utilization and digestive function of juvenile GIFT tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). *Journal of Applied Ichthyology*, 32(6), 1118-1123.
- Clauss, T. M., Dove, A. D. y Arnold, J. E.** (2008). Hematologic disorders of fish. *Veterinary clinics of North America: Exotic animal practice*, 11(3), 445-462.
<https://doi.org/10.1016/j.cvex.2008.03.007>
- CONANP.** (2014). Reserva de la biosfera Zicuirán-Infiernillo. México. 1-270.
https://www.conanp.gob.mx/datos_abiertos/DGCD/122.pdf
- Conroy, D. A.** (1998). Manual de métodos y técnicas de laboratorio de uso común en la hematología pisciaria. Departamento de Biología, Microbiología y Bacteriología. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Santa. Venezuela. 25p.
- Conroy, D. y Conroy, G.** (2007). Atlas Básico de las Células Sanguíneas Normales y Anormales en Tilapias Cultivadas. Patterson Peddie Consulting Ltd.
- Corfield, A. P., Carroll, D., Myerscough, N., & Probert, C. S.** (2001). Mucins in the gastrointestinal tract in health and disease. *Front Biosci*, 6(3), d1321-1357.
- Cornejo, D. G. J.** (2017). Respuesta morfológica intestinal en tilapia roja (*Oreochromis sp.*) alimentada con pellets enriquecidos con probióticos y prebióticos (Doctoral dissertation).
<https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/59664>
- Correa-Negrete, J. C., Garrido-Correa, A. A., Prieto-Guevara, M. J., Atencio-García, V. J. y Pardo-Carrasco, S. C.** (2009). Caracterización de células sanguíneas y parámetros hematológicos en blanquillo *Sorubim cuspicaudus*. *Zootecnia Trop.*, 27 (4), 393-405.
https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-72692009000400005
- Corzo, N., Alonso J. L., Azpiroz F., Calvo M. A., Cirici M., Leis R., Lombo F., Mateos-Aparicio I., Plou F. J., Ruas-Madiedo P., Rúperez P., Redondo-Cuenca A., Sanz M. L. y Clemente A.** (2015). Prebióticos; concepto, propiedades y efectos

- beneficiosos. *Nutr. Hosp.* 15 (31), 99-118.
<https://www.redalyc.org/pdf/3092/309238517015.pdf>
- Cota, G. L. A.** (2011). Efecto de prebióticos y microorganismos con potencial probiótico en el crecimiento y supervivencia de la tilapia *Oreochromis niloticus* cultivada en condiciones experimentales. *Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional, Unidad Sinaloa*. 1-81. <http://tesis.ipn.mx/handle/123456789/13110>
- Davidson, P. M., Taylor, T. M. y Schmidt, S. E.** (2012). Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. *Food microbiology: fundamentals and frontiers*, 765-801. <https://doi.org/10.1128/9781555818463.ch30>
- Del Rio-Zaragoza, O. B.** (2004). Efecto del estrés térmico sobre los parámetros sanguíneos de la tilapia *Oreochromis mossambicus* (Peters, 1852) (Pisces: Cichlidae). Tesis de maestría. Centro de Investigación Científica y Educación Superior de Ensenada. Ensenada, B.C. 142.
- Desbois, A. P., Garza M., Eltholth M., Hegazi Y. M., Mateus A., Adams A., Little D. C., Hog E., Mohan C. V., Ali S. E. y Brunton L. A.** (2021). Systems-thinking approach to identify and assess feasibility of potential interventions to reduce antibiotic use in tilapia farming in Egypt. *Aquaculture*. (540). 735-736. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2021.736735](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736735)
- Dotta, G., Ledic-Neto, J., Gonçalves, E. L. T., Brum, A., Maraschin, M., y Martins, M. L.** (2015). Acute inflammation and hematological response in Nile tilapia fed supplemented diet with natural extracts of propolis and *Aloe barbadensis*. *Brazilian Journal of Biology*, 75, 491-496. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.02413>
- Ebrahimi, M., Daeman, N. H., Chong, C. M., Karami, A., Kumar, V., Hoseinifar, S. H., y Romano, N.** (2017). Comparing the effects of different dietary organic acids on the growth, intestinal short-chain fatty acids, and liver histopathology of red hybrid tilapia (*Oreochromis* sp.) and potential use of these as preservatives. *Fish physiology and biochemistry*, 43 (4), 1195-1207. <https://doi.org/10.1007/s10695-017-0365-0>
- Elkaradawy, A., Abdel-Rahim, M. M., Albalawi, A. E., Althobaiti, N. A., Abozeid, A. M., y Mohamed, R. A.** (2021). Synergistic effects of the soapbark tree, *Quillaja saponaria* and Vitamin E on water quality, growth performance, blood health, gills and intestine histomorphology of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* fingerlings. *Aquaculture Reports*, 20, 100733. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100733>
- El-latif, A., Ashraf, M., El-Gawad, A., y Emam, M.** (2015). Effect of dietary fructooligosaccharide supplementation on feed utilization and growth

- performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. *Egyptian Journal for Aquaculture*, 5(3), 1-16. <https://doi.org/10.21608/eja.2019.46730>
- El-Sayed, A. F. M.** (2019). *Tilapia culture*. Primera edición. Academic Press. Cambridge. (140 pp). ISBN-13: 978-0-85199-014-9
- El-Sayed, A., T., El-Sayed, A. M., Eissa, M. A. R., y Hanafi, H. M.** (2018). Effects of dietary Biogen and sodium butyrate on hematological parameters, immune response, and histological characteristics of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. *Aquaculture international*, 26, 139-150. <https://doi.org/10.1007/s10499-017-0205-3>
- Faggio, C., Casella, S., Arfuso, F., Marafioti, S., Piccione, G. y Fazio, F.** (2013). Effect of storage time on hematological parameters in mullet, *Mugil cephalus*. *Cell Biochemistry and Function*, 31(5), 412-416. <https://doi.org/10.1002/cbf.2915>
- Fänge, R.** (1992). Fish Blood Cells. In *Fish physiology*. Academic Press. (12) 1-54.
- FAO.** (2022). Latest issue: The State of World Fisheries and Aquaculture. Towards Blue Transformation. Roma, 2022. 1-266. <https://www.fao.org/3/cc0461en/cc0461en.pdf>
- FAO.** (2009). *Oreochromis niloticus*. In Cultured aquatic species fact sheets. Text by Rakocy, J. E. Edited and compiled by Valerio Crespi and Michael New. CD-ROM (multilingual). https://www.fao.org/fishery/docs/DOCUMENT/aquaculture/CulturedSpecies/file/es/es_niletilapia.htm
- FAO.** (2011). Manual básico de sanidad piscícola. Ministerio de agricultura y ganadería-Viceministerio de ganadería. 1-52. <https://www.fao.org/3/as830s/as830s.pdf>
- FAO.** (2012). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2012. Roma. <https://www.fao.org/3/i2727s/i2727s00.htm>
- FAO.** (2017). Outbreaks of Tilapia lake virus (TiLV) threaten the livelihoods and food security of millions of people dependent on tilapia farming. GIEWS Special Alert N° 338-Global. <https://www.fao.org/3/i7326e/i7326e.pdf>
- FAO.** (2020). Las exportaciones de tilapia se ven muy afectadas por la COVID-19. Globefish. Information and analysis on markets and trade of fisheries and aquaculture products. <https://www.fao.org/in-action/globefish/marketreports/resource-detail/es/c/1365183/>

- FAO.** (2021). TILAPIA AQUACULTURE IN MEXICO: ASSESSMENT WITH A FOCUS ON SOCIAL AND ECONOMIC PERFORMANCE. Roma. 1- 80. <https://www.fao.org/3/cb3290en/cb3290en.pdf>
- FAO.** (2021). Tilapia sector growth to resume after shaking off pandemic effects. Globefish. Information and analysis on markets and trade of fisheries and aquaculture products. <https://www.fao.org/in-action/globefish/market-reports/resource-detail/en/c/1416636/>
- Fazio, F.** (2019). Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: a review. *Aquaculture*, 500, 237-242. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.10.030>
- Fazio, F., Piccione, G., Arfuso, F. y Faggio, C.** (2015). Peripheral blood and head kidney haematopoietic tissue response to experimental blood loss in mullet (*Mugil cephalus*). *Marine Biology Research*, 11(2), 197-202. <https://doi.org/10.1080/17451000.2014.898850>
- Fenwick, G. R., Price, K. R., Tsukamoto, C. y Okubo, K.** (1991). Saponins. In: J.P.F. D'Mello, C.M. Duffus, and J.H. Duffus, Eds. Toxic Substances in Crop Plants. *The Royal Society of Chemistry, Cambridge*, 285–327.
- Fernández, A. B., De Blas, I., y Ruiz, I.** (2016). El sistema inmune de los teleósteos (I): Células y órganos. *Revista AquaTIC*, (16). <http://revistaaquatic.com/ojs/index.php/aquatic/article/view/170>
- Francis, G., Makkar, H. P. S. y Becker, K.** (2001). Effects of *Quillaja saponins* on growth, metabolism, egg production and muscle cholesterol in individually reared Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 129 (2), 105-114. [https://doi.org/10.1016/S1532-0456\(01\)00189-2](https://doi.org/10.1016/S1532-0456(01)00189-2)
- Francis, G., Makkar, H. P. y Becker, K.** (2001). Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*, 199 (3-4), 197-227. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00526-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00526-9)
- Francis, G., Makkar, H. P. y Becker, K.** (2002). Dietary supplementation with a *Quillaja saponin* mixture improves growth performance and metabolic efficiency in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquaculture*, 203(3-4), 311-320. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00628-7](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00628-7)
- Francis, G., Makkar, H. P. y Becker, K.** (2005). *Quillaja saponins*—a natural growth promoter for fish. *Animal feed science and technology*, 121(1-2), 147-157. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.02.015>

- Fransen, F., Sahasrabudhe N. M., Elderman M., Bosveld M., El Aidy S., Hugenholtz F., ... y De Vos P.** (2017). $\beta 2 \rightarrow 1$ -fructans modulate the immune system in vivo in a microbiota-dependent and-independent fashion. *Frontiers in immunology*, 8, 154. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00154>
- Frøese, R.** (2006). Cube law, condition factor and weight-length relationships: history, meta-analysis and recommendations. *Journal of applied ichthyology*, 22(4), 241-253. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2006.00805.x>
- Frøese, R.** (2006). Cube law, condition factor and weight-length relationships: history, meta-analysis and recommendations. *Journal applied ichthyology*, 22 (4), 241-253. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2006.00805.x>
- Gabriel, N. N., Qiang, J., He, J., Ma, X. Y., Kpundeh, M. D. y Xu, P.** (2015). Dietary *Aloe vera* supplementation on growth performance, some haemato-biochemical parameters and disease resistance against *Streptococcus iniae* in tilapia (GIFT). *Fish & Shellfish Immunology*, 44 (2), 504-514. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.03.002>
- García, A., Tume, J., y Juárez, V.** (2012). Determinación de los parámetros de crecimiento de la Tilapia Nilótica (*Oreochromis niloticus*) en un estanque revestido con geomembrana y abastecido con agua de subsuelo. *Ciencia y desarrollo*, 15(2), 47-55. <http://dx.doi.org/10.21503/CienciayDesarrollo.2012.v15i2.05>
- Giannenas, I., Skoufos, J., Giannakopoulos, C., Wiemann, M., Gortzi, O., Lalas, S., y Kyriazakis, I.** (2011). Effects of essential oils on milk production, milk composition, and rumen microbiota in Chios dairy ewes. *Journal of Dairy Science*, 94(11), 5569-5577. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-4096>
- Goda, A. M. S.** (2008). Effect of dietary Ginseng herb (Ginsana® G115) supplementation on growth, feed utilization, and hematological indices of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), fingerlings. *World Aquaculture Society*, 39 (2), 205-214. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2008.00153.x>
- Góngora, C. M.** (1998). Mecanismos de resistencia bacteriana ante la medicina actual. *McGraw-Hill, España*, 1- 456.
- Granado, C.** (1996). Ecología de peces. Secretariado de Publicaciones de la Universidad de Sevilla. Sevilla, España. 353.
- Grau, A., Crespo, S., Sarasquete, M. C., y De Canales, M. G.** (1992). The digestive tract of the amberjack *Seriola dumerili*, Risso: a light and scanning electron microscope study. *Journal of Fish Biology*, 41(2), 287-303. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1992.tb02658.x>

- Grisdale-Helland, B.**, Helland S. J. y Gatlin III D. M. (2008). The effects of dietary supplementation with mannanoligosaccharide, fructooligosaccharide or galactooligosaccharide on the growth and feed utilization of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 283 (1-4) 163-167. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.07.012>
- Güçlü-Üstündağ, Ö.** y Mazza, G. (2007). Saponins: properties, applications and processing. *Critical reviews in food science and nutrition*, 47 (3), 231-258. <https://doi.org/10.1080/10408390600698197>
- Gültepe, N.**, Acar, Ü., Kesbiç, O. S., Yılmaz, S., Yıldırım, Ö. y Türker, A. (2014). Effects of dietary *Tribulus terrestris* extract supplementation on growth, feed utilization, hematological, immunological, and biochemical variables of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*. 1-8. <http://hdl.handle.net/10524/49098>
- Guyton, A. C.**, Hall, J. E., y Moreno, M. J. (2011). *Tratado de fisiología médica* (Vol. 4). Rio de Janeiro: Interamericana.
- Hahn-Von-Hessberg, C. M.**, Grajales-Quintero, A. y Gutiérrez-Jaramillo, A. V. (2011). Parámetros hematológicos de Tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1757) con peso entre 250 g y 350 g, en el Centro Experimental Piscícola de la Universidad de Caldas. *Vet. Zootec.*, 5 (1), 47-61. <https://revistasoj.s.ucaldas.edu.co/index.php/vetzootec/article/view/4500>
- Hari, B. B. M.**, Kurup, J. T., Varghese, J. W., Schrama, y Verdegem M. C. J. (2004). Effects of carbohydrate addition on production in extensive shrimp culture systems. *Aquaculture* 241:179–194. [doi:10.1016/j.aquaculture.2004.07.002](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.07.002).
- Hassaan, M. S.**, Mohammady, E. Y., Adnan, A. M., Abd Elnabi, H. E., Ayman, M. F., Soltan, M. A. y El-Haroun, E. R. (2020). Effect of dietary protease at different levels of malic acid on growth, digestive enzymes and haemato-immunological responses of Nile tilapia, fed fish meal free diets. *Aquaculture*, 522,735124. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735124>
- Hassaan, M. S.**, Wafa, M. A., Soltan, M. A., Goda, A. S., y Mogheth, N. M. A. (2014). Effect of dietary organic salts on growth, nutrient digestibility, mineral absorption and some biochemical indices of Nile tilapia. *Oreochromis niloticus*, 29, 47-55. [DOI: 10.5829/idosi.wasj.2014.29.01.81237](https://doi.org/10.5829/idosi.wasj.2014.29.01.81237)
- Hassaan, M. S.**, Wafa, M. A., Soltan, M. A., Goda, A. S., y Mogheth, N. M. A. (2014). Effect of dietary organic salts on growth, nutrient digestibility, mineral absorption and some biochemical indices of Nile tilapia. *Oreochromis niloticus*, 29, 47-55. [DOI: 10.5829/idosi.wasj.2014.29.01.81237](https://doi.org/10.5829/idosi.wasj.2014.29.01.81237)
- Hine, P.M.** (1992) The granulocytes of fish. *Fish Shellfish Immunol.* (2) 79-88.

- Hisano, H., Silva, M. D. P., Barros, M. M., y Pezzato, L. E. (2006).** Levedura íntegra e derivados do seu processamento em rações para tilápia do Nilo: aspectos hematológicos e histológicos. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 28(4), 311-318. <https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v28i4.161>
- Hooper, L. V., Littman, D. R. y Macpherson, A. J. (2012).** *Interactions Between the Microbiota and the Immune System*. *Science*, 336 (6086), 1268-1273. [DOI:10.1126/science.1223490](https://doi.org/10.1126/science.1223490)
- Hoseinifar, S. H., Mirvaghefi A., Amoozegar M. A., Merrifield D. L. y Ringo E. (2015).** In vitro selection of a synbiotic and in vivo evaluation on intestinal microbiota, performance and physiological response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings. *Aquaculture Nutrition*, 23 (1), 111-118. <https://doi.org/10.1111/anu.12373>
- Hossain, M. A., Tarafder, A. R., Kader, M. A., y Becker, K. (2004).** Evaluation of growth enhancing effect of saponin in Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Journal of the Bangladesh Agricultural University*, 2(452-2018-3738), 125-133.
- Hostettmann, K., Marston, A. (1995).** Saponins. University Press, Cambridge, 548 pp.
- Hrubec, T. C. y Smith, S. A. (2010).** Hematology of fishes. En: Douglas J. W. y K. J. Wardrop (6° Edición). *Veterinary Hematology*. Editorial WILEY-BLACKWELL. USA. 994-1003.
- Hrubec, T. C., Cardinale J. L. y Smith S. A. (2000).** Hematology and Plasma Chemistry Reference Intervals for Cultured Tilapia (*Oreochromis hybrid*). *Veterinary Clinical Pathology*, 29 (1): 7-12. DOI: [10.1111/j.1939-165x.2000.tb00389.x](https://doi.org/10.1111/j.1939-165x.2000.tb00389.x)
- Jamalzadeh, H. R. y Ghomi, M. R. (2009).** Hematological parameters of Caspian salmon *Salmo trutta caspius* associated with age and season. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 42(1), 81-87. <https://doi.org/10.1080/10236240902771226>
- Junqueira, L. C. y Carneiro, J. (1985).** Histologia básica. In basic histology. 512-512. <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-256238>
- Kim, K. T. N., Huynh, S. T., Sendão, J., Nguyen, T. H., Roem, A. J., Verreth, J. A., y Schrama, J. W. (2019).** Environmental conditions alter the effect of organic acid salts on digestibility and intestinal morphology in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture Nutrition*, 25(1), 134-144. <https://doi.org/10.1111/anu.12837>

- Kluge, H., Broz, J., y Eder, K.** (2004). Untersuchungen zum Einfluss von Benzoesäure als Futterzusatz auf Leistungsparameter, Nährstoffverdaulichkeit, Bilanz, Mikroflora und Parameter des mikrobiellen Stoffwechsels im Verdauungstrakt von Absetzferkeln. *Tagung für Schweine und Geflügelernährung Halle (Saale) Germany*, 42, 45.
- Lacaille-Dubois, M. A. y Wagner, H.** (2000). Bioactive saponins from plants: an update. *Studies in natural products chemistry*, 21, 633-687. [https://doi.org/10.1016/S1572-5995\(00\)80015-0](https://doi.org/10.1016/S1572-5995(00)80015-0)
- Libanori, M. C. M., Santos, G. G., Pereira, S. A., Lopes, G. R., Owatari, M. S., Soligo, T. A., Yamashita, E., Pereira, U. P., Martins, M. L. y Mouriño, J. L. P.** (2021). Dietary supplementation with benzoic organic acid improves the growth performance and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) after challenge with *Streptococcus agalactiae* (Group B). *Aquaculture*, 545, 737204. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737204>
- Lim, C., Lückstädt, C., Webster, C. D., & Kesius, P.** (2015). Organic acids and their salts. *Dietary nutrients, additives, and fish health*. Wiley-Blackwell, Hoboken, NJ, USA, 305-320. <https://doi.org/10.1002/9781119005568.ch15>
- Lima de Araújo, E. R., Luz B. A. L., Massatoshi I. C., Dias D. C., Rosa S. F., Almeida M. H., Tachibana L.** (2017). Prebiótico, probiótico y simbiótico en la dieta postlarvas de tilapia del Nilo durante la fase de intervención sexual. *Aquaculture Internacional*, 26 (1), 1-13. DOI: [10.1007/s10499-017-0201-7](https://doi.org/10.1007/s10499-017-0201-7)
- Liranzo, A. D. D. S., Ciarlini, P. C., Moraes, G., Camargo, A. L. S., y Romagosa, E.** (2013). Mannanoligosaccharide (mos) and β -glucan (β -glu) in dietary supplementation for Nile tilapia juveniles kept in cages. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 112-125. [http://www.panamjas.org/pdf_artigos/PANAMJAS_8\(2\)_112-125.pdf](http://www.panamjas.org/pdf_artigos/PANAMJAS_8(2)_112-125.pdf)
- Lynch, M. J., Raphael, S. S., Mellor, L. D., Spare, P. D., y Inwood, J. H.** (1972). Tinción de los cortes. *Métodos de Laboratorio*, 1145-1154.
- Magill, S. H. y Sayer, M. D. J.** (2004). Abundance of juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*) in the shallow rocky subtidal and the relationship to winter seawater temperature. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 84(2), 439-442. <https://doi.org/10.1017/S0025315404009415h>
- Mahdavi, M., Hajimoradloo, A. y Ghorbani, R.** (2013). Effect of *Aloe vera* extract on growth parameters of common carp (*Cyprinus carpio*). *World Journal of Medical Sciences*, 9 (1), 55-60. DOI: [10.5829/idosi.wjms.2013.9.1.75128](https://doi.org/10.5829/idosi.wjms.2013.9.1.75128)
- Marroquín, A. E.** (2018). Efecto de la inclusión de ingredientes no tradicionales en la alimentación de la tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) sobre parámetros

hematológicos y bioquímica sanguínea. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina y Zootecnia. Universidad de Guatemala. 72.

- Merrifield**, D. L., Harper, G. M., Dimitroglou, A., Ringø, E., y Davies, S. J. (2010). Possible influence of probiotic adhesion to intestinal mucosa on the activity and morphology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) enterocytes. *Aquaculture research*, 41(8), 1268-1272. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02397.x>
- Miller**, D.F. (1987) Acidified poultry diets and their implications for the poultry industry. Biotechnology in The Feed Industry Alltech. *Technical Publication*. Kentucky, 199-207
- Mohamed**, A. (2011). Variation in hematological parameters of Nile Tilapia *Oreochromis niloticus* fed graded levels of saponin. *Annals of Agricultural Science (Cairo)*, 56(1), 27-38.
- Monteiro**, S. H., García F., Gozi K. S., Romera D. M., Francisco J. G., Moura-Andrade G. C., y Tornisielo V. L. (2016). Relationship between antibiotic residues and occurrence of resistant bacteria in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in cage-farm. *Environmental Science and Health, part B*. 51 (12), 817-823. DOI: [10.1080/03601234.2016.1208457](https://doi.org/10.1080/03601234.2016.1208457)
- Munni**, M. J., Akther, K. R., Ahmed, S., Hossain, M. A., y Roy, N. C. (2023). Effects of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics as an Alternative to Antibiotics on Growth and Blood Profile of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture Research*. <https://doi.org/10.1155/2023/2798279>
- Nawaz**, A., Javaid B. A., Irshad S., Hoseinifar H. S. y Xiong H. (2018). The functionality of prebiotics as immunostimulant: Evidences from trials on terrestrial and aquatic animals. *Fish and Shellfish Immunology*, 76, 272-278. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.03.004>
- Neuls**, L., de Souza, V. J., Romão, S., Bitencourt, T. B., Ramos, C. J. R., Parra, J. E. G., y Cazarolli, L. H. (2021). Immunomodulatory effects of *Yarrowia lipolytica* as a food additive in the diet of Nile tilapia. *Fish y Shellfish Immunology*, 119, 272-279. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.10.011>
- Neuwinger**, H. D. (1994). Fish poisoning plants in Africa. *Botanica Acta*, 107(4), 263-270. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.1994.tb00795.x>
- Nikoskelainen**, S., Ouwehand A. C., Bylund G., Salminen S. y Lilius E. M. (2003). Immune enhancement in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by potential probiotic bacteria (*Lactobacillus rhamnosus*). *Fish Shellfish Immunology*, 15 (5), 443-452. DOI: [10.1016/s1050-4648\(03\)00023-8](https://doi.org/10.1016/s1050-4648(03)00023-8)

- Oakenfull**, D., y Sidhu, G.S. (1989). Saponins. En: Cheeke, P. R., Ed., *Toxicants of Plant Origin*, Vol II Glycosides. CRC Pres, Inc. Boca Raton, Florida, 97–141.
- Oda**, K., Matsuda, H., Murakami, T., Katayama, S., Ohgitani, T. y Yoshikawa M. (2000) Actividades adyuvantes y hemolíticas de 47 saponinas derivadas de plantas medicinales y alimenticias. *Química Biológica*, 381, 67–74
- Olabeuena**, S. E. (2000). Sistema inmune en peces. *Gayana (Concepción)*, 64(2), 205-215. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-65382000000200010>
- Olveira**, F. G. y González-Molero I. (2007). Probióticos y Prebióticos en la práctica clínica. *Rev. Nutrición hospitalaria*, 22 (2), 26-34. <https://scielo.isciii.es/pdf/nh/v22s2/fisiologia4.pdf>
- Pabón**, R. M. L. (2004). Bioquímica ruminal. Primera Edición. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. (Pág. 6). ISBN 958 – 701 -464-2
- Paschoal**, R. P., Campana E. H., Corrêa L. L., Montezzi L. F., Barrueto L. R., Silva I. R., y Picão R.C. (2017) Concentración y variedad de productores de carbapenemasas en aguas costeras recreativas que muestran distintos niveles de contaminación. *Agentes antimicrobianos Chemother*, 61,1–6. <https://doi.org/10.1128/AAC.01963-17>
- Penagos**, G., Barato, P., e Iregui, C. (2009). Sistema inmune y vacunación de peces. *Acta Biológica Colombiana*, 14(1), 3-24. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/24135>
- Powell**, M. D., Wright, G. M., y Burka, J. F. (1991). Degranulation of eosinophilic granule cells induced by capsaicin and substance P in the intestine of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Cell and Tissue Research*, 266(3), 469-474. <https://doi.org/10.1007/BF00318587>
- Powers**, D. A. (1980). Molecular ecology of teleost fish hemoglobins: Strategies for adapting to changing environments. *Amer. Zool.* 20:139-162.
- Ranzani-Paiva**, M. J. T., Rodrigues, E. L., Veiga, M. L., Eiras, A. C. y Campos, B. E. S. (2003). Differential leucocyte counts in "dourado", *Salminus maxillosus* Valenciennes, 1840, from the Mogi-Guaçu River, Pirassununga, SP. *Brazilian Journal of Biology*, 63, 517-525. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842003000300018>
- Reda**, R. M., Mahmoud, R., Selim, K. M. y El-Araby, I. E. (2016). Effects of dietary acidifiers on growth, hematology, immune response and disease resistance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Fish & shellfish immunology*, 50, 255-262. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.01.040>

- Roberfroid, M. B.** (2005). Introducing inulin- type fructans. *British Journal of Nutrition*, 93 (S1), 13-25. DOI: [10.1079/bjn20041350](https://doi.org/10.1079/bjn20041350)
- Rodríguez, O. A.** (2017). Probióticos en la producción piscícola. *Tesis en Biotecnología Agraria. UNAD.* 1-35. <https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/13466/1075539267.pdf?seq>
- Roldan, P. G., y Ramírez, R. J. J.** (2008). Fundamentos de limnología neotropical. 2ª edición. Edit. Universidad de Antioquia. Colombia. 5-7 (94).
- Ross, M. H., y Pawlina, W.** (2009). *Histología: Texto y Atlas*. Ed. Médica Panamericana.
- Rubio-Godoy, M.** (2010). Inmunología de los peces óseos: Revisión. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 1(1), 47-57. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11242010000100004
- Saavedra, Martínez, M. A.** (2006). Manejo del cultivo de tilapia. *USAID*. 1-24. http://repositorio.uca.edu.ni/2554/1/2006_manejo_del_cultivo_de_tilapia.pdf
- Sado, R. Y., Bicudo, Á. J. D. A., y Cyrino, J. E. P.** (2008). Feeding dietary mannan oligosaccharides to juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, has no effect on hematological parameters and showed decreased feed consumption. *Journal of the world Aquaculture Society*, 39(6), 821-826. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2008.00219.x>
- Santoyo, F., Mariscal, J., Gómez, C., y Gutiérrez, H.** (2019). Relaciones talla-peso y factor de condición de la tilapia *Oreochromis niloticus* en cinco cuerpos de agua del estado de Jalisco, México. *CIBA Revista Iberoamericana de Las Ciencias Biológicas y Agropecuarias*, 8(16), 82–105. <https://doi.org/https://doi.org/10.23913/ciba.v8i16.92>
- Sarasquete, C., Gisbert, E., Ribeiro, L., Vieira, L., y Dinis, M. T.** (2001). Glyconjugates in epidermal, branchial and digestive mucous cells and gastric glands of gilthead sea bream, *Sparus aurata*, *Senegal sole*, *Solea senegalensis* and *Siberian sturgeon*, *Acipenser baeri* development. *European journal of histochemistry*, 45(3), 267-78. <https://doi.org/10.4081/1637>
- Satheeshkumar, P., Ananthan, G., Senthilkumar, D., Khan, A. B. y Jeevanantham, K.** (2012). Comparative investigation on haematological and biochemical studies on wild marine teleost fishes from Vellar estuary, southeast coast of India. *Comparative Clinical Pathology*, 21(3), 275-281. <https://doi.org/10.1007/s00580-010-1091-5>

- Silva, M.**, da Silva, F., Dos Santos, M., Cavalcante, J., Yuji, R., y de Almeida, Á. (2020). Heat-treated bean (*Phaseolus vulgaris*) residue meal as an alternative protein source in pelleted diets for Nile tilapia fingerlings: growth, body composition, and physical characteristics of diets. *Tropical Animal Health and Production*, 52(5), 2443–2450. <https://doi.org/10.1007/s11250-020-02266-x>
- Solomon, S. G.**, Ugonna, B. O., Olufeagba, S. O. y Okomoda, V. T. (2017). Hematology and gonad histology of *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) fed *Carica papaya* seed meal. *Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology*, 21 (1), 8-15. <https://doi.org/10.14210/bjast.v21n1.9871>
- Soltan, M. A.**, Hassaan, M. S., y Meshrf, R. N. (2017). Response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to diet acidification: Effect on growth performance and feed utilization. *Journal of applied aquaculture*, 29(3-4), 207-219. <http://dx.doi.org/10.1080/10454438.2017.1357063>
- Song, S. K.**, Beck B. R., Kim D., Park J., Kim J., Kim H. D. y Ringo E. (2014). Prebiotics as immunostimulants in aquaculture: A review. *Fish & Shellfish Immunology*, 40 (1), 40-48. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsi.2014.06.016>
- Sparg, S.G.**, Light, M.E., y Van Staden, J. (2004). Biological activities and distribution of plant saponins. *Ethnopharmacol*, 94 219–243. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.05.016>
- Tava, A.**, y Avato, P. (2006). Chemical and biological activity of triterpene saponins from *Medicago* species. *Natural Product Communications*, 1 (12)1159-1180. <https://doi.org/10.1177%2F1934578X0600101217>
- Tavares-Dias, M.** y Moraes, F.R., (2004). Hematologia de peixes teleósteos. Ribeirão Preto, Villimpress Complexo Gráfico.
- Tavares-Dias, M.** y Oliveira, S. R. (2009). A review of the blood coagulation system of fish. *Revista Brasileira de Biociências*, 7(2).
- Tort, L.** (2011). Stress and immune modulation in fish. *Developmental & Comparative Immunology*, 35(12), 1366-1375. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2011.07.002>
- Turcios, A. E.**, & Papenbrock, J. (2014). Sustainable treatment of aquaculture effluents—what can we learn from the past for the future?. *Sustainability*, 6 (2), 836-856. <https://doi.org/10.3390/su6020836>
- Valenzuela, A.**, Alveal, K., & Tarifeño, E. (2002). Respuestas hematológicas de truchas (*Ocorhynchus mykiss* walbaum 1792) a estrés hipoxico agudo: serie roja. *Gayana (Concepción)*, 66(2), 255-261. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-65382002000200024>

- Valenzuela, A., Alveal, K., y Tarifeño, E.,** (2002). Respuestas hematológicas de truchas (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792) a estrés hipoxico agudo: serie roja. *Gayana* 66 (2), 255-261. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-65382002000200024>
- Van Dyk, J.C., Pieterse, G.M.,** (2008). A histo-morphological study of the testis of the sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*) as reference for future toxicological assessments. *Journal of Applied Ichthyology*, 24 (4), 415–422. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2008.01127.x>
- Vázquez, G. R. y Guerrero, G. A.** (2007). Characterization of blood cells and hematological parameters in *Cichlasoma dimerus* (Teleostei, Perciformes). *Tissue and cell*, 39(3), 151-160. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2007.02.004>
- Villa, V. I. M.** (2016). Parámetros hematológicos de la tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1757) bajo diferentes condiciones de cultivo. Tesis de Maestría. Facultad de Biología. U.M.S.N.H. 150.
- Vivanco, F. E.** (2021). Regulación de antibióticos en la acuicultura casos de Unión Europea, Noruega y Estados Unidos del Norte. *Rev. Biblioteca del Congreso Nacional de Chile* N° SUP: 130847. <https://atp.bcn.cl>
- Vogt, L., Meyer, D., Pullens G., Faas M., Smelt M., Venema K., Ramasamy U., Schols H. A. y De Vos P.** (2015). Immunological Properties of Inulin-Type Fructans. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(3), 414–436. DOI: [10.1080/10408398.2012.656772](https://doi.org/10.1080/10408398.2012.656772)
- Wang, Z. W., Gu, M. Y. y Li, G. Z.** (2005). Surface properties of gleditsia saponin and synergisms of its binary system. *Disper. Sci. Technol.* 26, 341– 347. <https://doi.org/10.1081/DIS-200049604>
- Wing- Keong, N.G., Koh, C. B., Sudesh, K., y Siti-Zahrah, A.** (2009). Effects of dietary organic acids on growth, nutrient digestibility and gut microflora of red hybrid tilapia, *Oreochromis* sp., and subsequent survival during a challenge test with *Streptococcus agalactiae*. *Aquaculture research*, 40(13), 1490-1500.
- Witeska, M., Lugowska, K. y Kondera, E.** (2016). Reference values of hematological parameters for juvenile *Cyprinus carpio*. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol*, 36(4), 169-180.
- Xie, S., Zhang, L., & Wang, D.** (2003). Effects of several organic acids on the feeding behavior of *Tilapia nilotica*. *Journal of Applied Ichthyology*, 19 (4), 255-257. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0426.2003.00451.x>

- Yasutake**, W. T. y **Wales**, J. H. (1983). Microscopic anatomy of salmonids: an atlas (150). US Department of the Interior, Fish and Wildlife Services.
- Yuji-Sado**, R., **Raulino-Domanski**, F., **Freitas**, P. F. D. y **Baioco-Sales**, F. (2015). Crecimiento, estado inmunológico y morfología intestinal de la tilapia del Nilo alimentadas con prebióticos (Mananoligosacáridos-MOS) en la dieta. *Latin american journal of aquatic research*, 43(5), 944-952. <http://dx.doi.org/10.3856/vol43-issue5-fulltext-14>
- Zapata**, A., **Diez**, B., **Cejalvo**, T., **Gutierrez-de Frias**, C. y **Cortés**, A. (2006). Ontogeny of the immune system of fish. *Fish y shellfish immunology*, 20(2), 126-136. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2004.09.005>
- Zhou**, Q. C., **Buentello**, J. A. y **Gatlin III**, D. M. (2010). Effects of dietary prebiotics on growth performance, immune response and intestinal morphology of red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Aquaculture*, 309 (1-4), 253-257. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.09.003>