



CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

TESIS:

**EFFECTO DE LOS CAROTENOIDES Y LOS PROBIÓTICOS SOBRE LOS
PARÁMETROS DE DESEMPEÑO, HEMATOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS,
COLOR DEL FILETE, CAROTENOIDES TOTALES Y ESTRÉS TÉRMICO EN
LA TRUCHA ARCO IRIS (*Oncorhynchus mykiss*)**

QUE PRESENTA:

**Ingeniera Acuícola Zootecnista Especialista en Sanidad Animal
ADRIANA DEL ROSARIO RODRÍGUEZ RAMÍREZ
COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS VETERINARIAS**

TUTOR:

DR. JOSÉ LUIS ARREDONDO FIGUEROA

ASESORES:

DR. JOSÉ DE JESÚS LUNA RUIZ

DR. ONÉSIMO MORENO

Jesús María, Aguascalientes México, febrero 2016



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES

OFICIO NO. CCA-D-111500-061-16

DRA. GUADALUPE RUÍZ CUÉLLAR
DIRECTORA GENERAL DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
P R E S E N T E.

Por medio del presente me permito comunicarle a usted que la tesis titulada "Efecto de los carotenoides y los probióticos sobre los parámetros de desempeño, hematológicos, bioquímicos, color del filete, carotenoides totales y estrés térmico en la trucha arco iris (Oncorhynchus mykiss)", de la alumna ADRIANA DEL ROSARIO RODRÍGUEZ RAMÍREZ, egresada de la Maestría en Ciencias Agronómicas y Veterinarias, respeta las normas y lineamientos establecidos institucionalmente para su elaboración y su autor cuenta con el voto aprobatorio de su tutor y comité tutorial.

Sin más por el momento aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E

Jesús María, Aguascalientes., 19 de Febrero del 2016.
"Se Lumen Proferre"



M. en C. GABRIEL ERNESTO PALLÁS GUZMÁN
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

c.c.p. Jefa del Departamento del Control Escolar
c.c.p. Sección de Certificados y Títulos
c.c.p. Secretario Técnico
c.c.p. Estudiante
c.c.p. Archivo



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES

M. EN C. GABRIEL ERNESTO PALLAS GUZMÁN
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
P R E S E N T E.

Por este conducto tengo a bien informarle que **ADRIANA DEL ROSARIO RODRÍGUEZ RAMÍREZ** estudiante de la Maestría en Ciencias Agronómicas y Veterinarias ha cumplido de manera satisfactoria el proceso de redacción, revisión y correcciones de su tesis titulada **“Efecto de los carotenoides y los probióticos sobre los parámetros de desempeño, hematológicos, bioquímicos, color del filete, carotenoides totales y estrés térmico en la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*)”**.

Por lo anterior no tengo inconveniente en otorgar mi **VOTO APROBATORIO** para la impresión del documento y continuar con el proceso de titulación y programación del examen de grado.

A T E N T A M E N T E

Aguascalientes, Aguascalientes, México a 16 de febrero de 2016


Dr. José Luis Arredondo Figueroa
Tutor



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES

M. EN C. GABRIEL ERNESTO PALLAS GUZMÁN
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
P R E S E N T E.

Por este conducto tengo a bien informarle que **ADRIANA DEL ROSARIO RODRÍGUEZ RAMÍREZ** estudiante de la Maestría en Ciencias Agronómicas y Veterinarias ha cumplido de manera satisfactoria el proceso de redacción, revisión y correcciones de su tesis titulada **“Efecto de los carotenoides y los probióticos sobre los parámetros de desempeño, hematológicos, bioquímicos, color del filete, carotenoides totales y estrés térmico en la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*)”**.

Por lo anterior no tengo inconveniente en otorgar mi **VOTO APROBATORIO** para la impresión del documento y continuar con el proceso de titulación y programación del examen de grado.

ATENTAMENTE

Aguascalientes, Ags. a 16 de febrero de 2016

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'José de Jesús Luna Ruíz'.

Dr. José de Jesús Luna Ruíz
Integrante del Comité Tutorial



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES

M. EN C. GABRIEL ERNESTO PALLAS GUZMÁN
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
P R E S E N T E.

Por este conducto tengo a bien informarle que **ADRIANA DEL ROSARIO RODRÍGUEZ RAMÍREZ** estudiante de la Maestría en Ciencias Agronómicas y Veterinarias ha cumplido de manera satisfactoria el proceso de redacción, revisión y correcciones de su tesis titulada “**Efecto de los carotenoides y los probióticos sobre los parámetros de desempeño, hematológicos, bioquímicos, color del filete, carotenoides totales y estrés térmico en la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*)**”.

Por lo anterior no tengo inconveniente en otorgar mi **VOTO APROBATORIO** para la impresión del documento y continuar con el proceso de titulación y programación del examen de grado.

A T E N T A M E N T E

Aguascalientes, Ags. a 16 de febrero de 2016

A handwritten signature in blue ink, reading 'Onésimo Moreno Rico', enclosed in a blue oval.

Dr. Onésimo Moreno Rico
Integrante del Comité Tutorial

AGRADECIMIENTOS

A Dios por esta bendición y a mi Virgencita por su intercesión.

A los Doctores José de Jesús Luna Ruiz y José Luis Arredondo por su dedicación, paciencia, motivación, criterio y aliento. Me siento muy honrada por contar con ustedes.

Al CONACyT por la beca otorgada (CVU/Becario) No 592879/326329.

A los Centros de Ciencias Agropecuarias, Ciencias Básicas, al Departamento de Apoyo al Posgrado por el continuo acompañamiento hasta finalizar este estudio.

Al equipo de trabajo de la Unidad Experimental Acuícola del Centro de Ciencias Agropecuarias: Médico Veterinario Zootecnista Jorge Rocha e Ingeniero Agroindustrial Albert Moreno por el acompañamiento técnico para el desarrollo de esta investigación.

A mi esposo Oscar Javier Lara, mi hijo Daniel Lara Rodríguez y mi madre Isaura Ramírez Figueroa por dar el visto bueno a esta aventura en busca de un sueño. Mi título de Maestría. Gracias familia por el apoyo incondicional en todo este proceso.

A mis amigos y compañeros Francisco Guerra, Pamela Cárdenas, Martha Fuentes, Estrella Hernández y Alma Álvarez por ser mi familia en México.

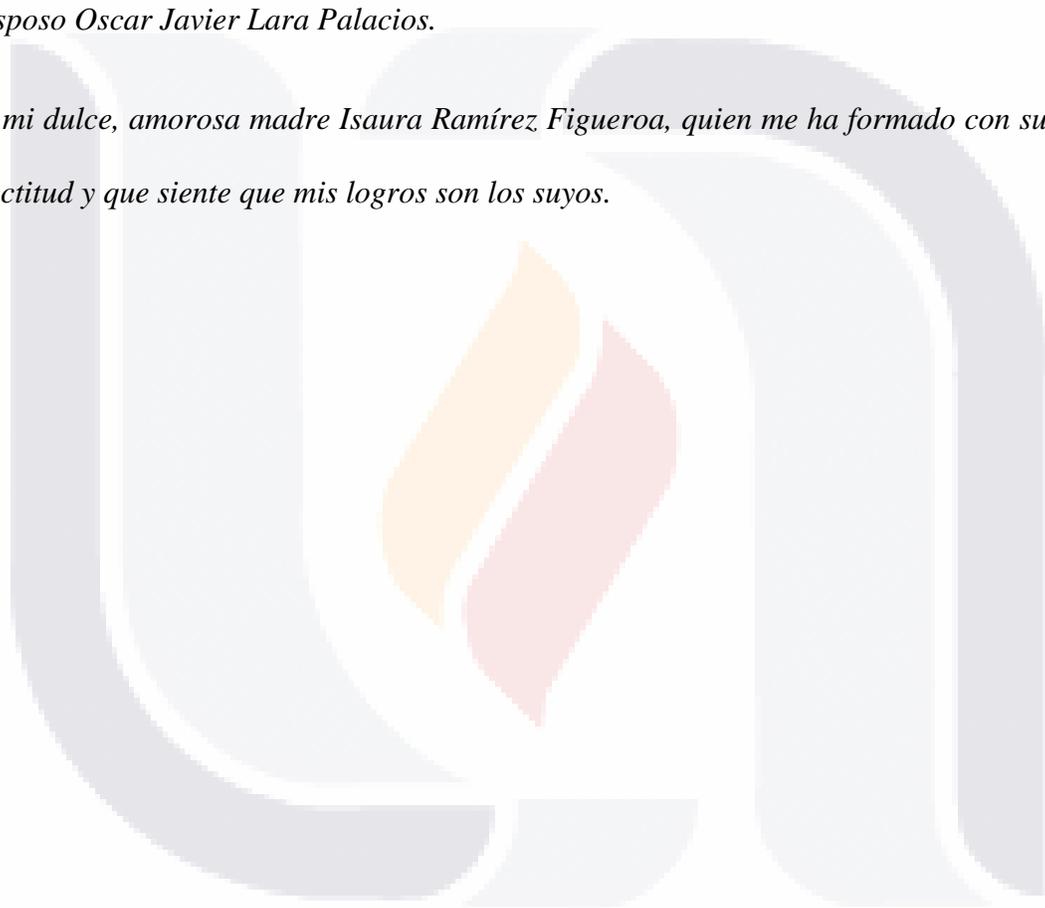
México. Muchas gracias. Por tu generosidad, cordialidad, amabilidad y por tu paz.

DEDICATORIA

Al milagro que Dios me ha podido dar. Mi hijo Daniel Alejandro Lara Rodríguez. Daniel por ti siempre brilla el sol todos días para mí.

A mi compañero de alegrías y de tristezas de luchas y guerras de derrotas y victorias. Mi Esposo Oscar Javier Lara Palacios.

A mi dulce, amorosa madre Isaura Ramírez Figueroa, quien me ha formado con su amor y rectitud y que siente que mis logros son los suyos.



INDICE GENERAL

No.	Contenido	Página
	INDICE GENERAL.	1
	ÍNDICE DE TABLAS.	4
	ÍNDICE DE FIGURAS.	6
	ACRÓNIMOS.	7
	RESUMEN.	10
	ABSTRACT.	12
1.	INTRODUCCION.	14
2.	ANTECEDENTES.	16
2.1	Situación actual de la acuicultura.	16
2.2	Biología de la especie.	18
2.2.1.	<i>Generalidades.</i>	18
2.2.2	<i>Clasificación taxonómica.</i>	19
2.2.3	<i>Hábitat.</i>	19
2.2.4	<i>Tiempo de cultivo.</i>	19
2.3	Desempeño del crecimiento.	20
2.4	El sistema inmune de los peces.	22
2.4.1	<i>Inmuno-nutrición.</i>	23
2.4.2	<i>Ictio-hematología.</i>	24
2.4.3	<i>Estudios relacionados con cuadros hemáticos y parámetros bioquímicos en la sangre en trucha arco iris.</i>	26
2.5	Los carotenoides.	31
2.5.1	<i>Naturaleza y estructura química de los carotenoides.</i>	31
2.5.2	<i>Propiedades antioxidantes.</i>	31
2.5.3	<i>Pigmentos carotenoides de Chile (Capsicum annum).</i>	34
2.5.4	<i>Tipos de pigmentos y propiedades.</i>	34
2.5.5	<i>Usos industriales del chile como pigmentante.</i>	34
2.5.6	<i>Investigaciones realizadas en salmónidos con carotenoides.</i>	35
2.6	Los probióticos.	40
2.6.1	<i>Generalidades.</i>	40
2.6.2	<i>Los probióticos en la acuicultura.</i>	40
2.6.3	<i>Efectos de los probióticos en la nutrición.</i>	41
2.6.4	<i>Los probióticos en los salmónidos.</i>	41
2.7	Estrés térmico.	44
2.7.1	<i>Algunas investigaciones referentes a estrés térmico en salmónidos.</i>	44
3	OBJETIVOS.	47
3.1	Objetivo general.	47
3.2	Objetivos específicos.	47
4	JUSTIFICACION.	48
5.	HIPOTESIS.	49

6	MATERIALES Y MÉTODOS.	50
6.1	Suministro de los peces.	50
6.2	Aclimatación.	50
6.3	Diseño experimental.	51
6.4	Análisis estadístico.	52
6.5	Descripción del sistema experimental.	54
6.6	Calidad del agua.	58
6.7	Preparación de las dietas experimentales y la alimentación.	61
6.7.1	<i>Obtención de la oleorresina no saponificada.</i>	61
6.7.2	<i>Estandarización de la técnica para la obtención de oleorresina no saponificada del Chile ancho <i>C. annuum</i>.</i>	62
6.7.3	<i>Extracción de oleorresina de Chile ancho <i>C. annuum</i>.</i>	63
6.7.4	<i>Preparación de dietas.</i>	65
6.7.5	<i>Programa de la alimentación.</i>	67
6.8	Evaluación del comportamiento de los parámetros del desempeño del crecimiento.	68
6.9	Contenido total de carotenoides en el filete de la trucha.	71
6.10	Evaluación cuantitativa del color del filete.	74
6.11	Evaluación de los parámetros hematológicos y bioquímicos en las dietas experimentales.	75
6.11.1	<i>Análisis hematológicos.</i>	76
6.11.2	<i>Hematocrito.</i>	77
6.11.3	<i>Análisis bioquímicos.</i>	78
6.12	Evaluación de la capacidad de respuesta de trucha fase de engorde ante las pruebas de desafío en las distintas dietas experimentales.	79
7.	RESULTADOS.	81
7.1	Pruebas de homocedasticidad de varianzas.	81
7.2	Parámetros del desempeño del crecimiento.	81
7.2.1	<i>Longitud total (LT, cm).</i>	82
7.2.2	<i>Peso total (PT, g).</i>	82
7.2.3	<i>Factor de condición K</i>	83
7.2.4	<i>Incremento de peso total (IPT, g).</i>	84
7.2.5	<i>Factor de conversión alimenticio (FCA).</i>	84
7.2.6	<i>Tasa específica de crecimiento.</i>	85
7.2.7	<i>Sobrevivencia.</i>	85
7.2.8	<i>Consolidado de los parámetros de desempeño del crecimiento.</i>	86
7.3	Comportamiento de los parámetros hematológicos.	86
7.3.1	<i>Hematocrito.</i>	88
7.3.2	<i>Eritrocitos.</i>	88
7.3.3	<i>Leucocitos.</i>	88
7.3.4	<i>Trombocitos.</i>	89
7.4	Comportamiento de los parámetros bioquímicos.	91
7.4.1	<i>Proteínas totales.</i>	92
7.4.2	<i>Aspartato aminotransferasa (AST).</i>	92

7.4.3	<i>Alanino aminotransferasa (ALT).</i>	93
7.4.4	<i>Albúmina.</i>	94
7.5	Parámetros de color y contenido total de carotenoides.	95
7.5.1	<i>Parámetros de color.</i>	95
7.5.1.1	<i>Luminosidad (L*).</i>	96
7.5.1.2	<i>Rojo (a*).</i>	96
7.5.1.3	<i>Amarillo (b*).</i>	96
7.5.1.4	<i>Croma (C*).</i>	99
7.5.1.5	<i>Tono (H^o*).</i>	99
7.5.1.6	<i>Análisis de correlación entre las cuatro variables de color.</i>	100
7.5.1.7	<i>Diferencia de color.</i>	101
7.5.2	<i>Contenido total de carotenoides (CTC).</i>	101
7.5.3	<i>Análisis de correlación entre las cuatro variables de color y contenido total de carotenoides.</i>	102
7.6	Prueba de desafío a estrés térmico.	105
7.6.1	<i>Tiempo.</i>	105
7.6.2	<i>Temperatura.</i>	105
8	DISCUSIÓN.	108
8.1	Parámetros del desempeño del crecimiento.	108
8.2	Parámetros hematológicos.	112
8.3	Parámetros bioquímicos.	117
8.4	Parámetros de color.	119
8.5	Contenido total de carotenoides.	123
8.6	Prueba de desafío térmico.	125
9	CONCLUSIONES.	127
10	BIBLIOGRAFIA.	129
	ANEXO A.	138

ÍNDICE DE TABLAS

No.	Contenido	Página
1	Unidad experimental y variables evaluadas y técnica de soporte.	52
2	Diseño factorial del experimento.	53
3	Promedio de los parámetros químicos registrados durante las siete semanas de experimentación.	61
4	Composición de las dietas experimentales.	65
5	Programa de alimentación durante el tiempo experimental.	69
6	Resultados del ANDEVA de los parámetros del desempeño del crecimiento.	81
7	Prueba de Tukey para la variable LT (cm).	82
8	Prueba de Tukey para la variable peso total (g).	83
9	Prueba de Tukey para la variable Factor de Condición.	83
10	Incremento de peso diario (IPD).	84
11	Factor de conversión alimenticio (FCA).	84
12	Tasa específica de crecimiento (TEC).	85
13	Porcentaje de sobrevivencia (%).	85
14	Resultados del ANDEVA de los parámetros del desempeño del crecimiento.	87
15	ANDEVA para los parámetros hematológicos.	87
16	Prueba de Tukey para la variable hematocrito.	88
17	Prueba de Tukey para la variable eritrocitos.	89
18	Prueba de Tukey para la variable leucocitos.	89
19	Prueba de Tukey para la variable trombocitos.	90
20	Consolidado de los parámetros hematológicos.	91
21	ANDEVA de los parámetros bioquímicos.	91
22	Prueba de Tukey para la variable proteínas totales.	92
23	Prueba de Tukey para la variable Aspartato aminotransferasa (AST).	93
24	Prueba de Tukey para la variable Alanino aminotransferasa (ALT).	94
25	Prueba de Tukey para la variable Albúmina.	95
26	Consolidado de los parametros bioquímicos.	95
27	Resultados del ANDEVA de la evaluación cuantitativa del color.	97
28	Prueba de Tukey para la variable Luminosidad (L*).	98
29	Prueba de Tukey para la variable rojo (a*).	98
30	Prueba de Tukey para la variable amarillo (b*).	99
31	Prueba de Tukey para la variable croma (C*).	100
32	Prueba de Tukey para la variable tono (H ⁰ *).	100
33	Análisis de correlación de Pearson entre las cuatro variables.	101
34	Diferencia de color.	101
35	Resultados del ANDEVA. Evaluación cuantitativa del contenido total de carotenoides en el filete (mg/kg).	102
36	Prueba de Tukey para la variable contenido total de carotenoides.	102
37	Análisis de correlación entre las cuatro variables y el contenido total de	103

	carotenoides.	
38	Concentrado de los parámetros de color y el contenido total de carotenoides, en los días cero y 45 del experimento.	104
39	ANDEVA para la variable tiempo en la prueba de desafío.	105
40	Prueba de Tukey para la variable tiempo en la prueba de desafío.	106
41	ANDEVA de la variable temperatura en la prueba de desafío.	106
42	Prueba de Tukey para la variable temperatura en la prueba de desafío.	107
43	Consolidado de la variable tiempo y temperatura ante la prueba de desafío.	107



ÍNDICE DE FIGURAS

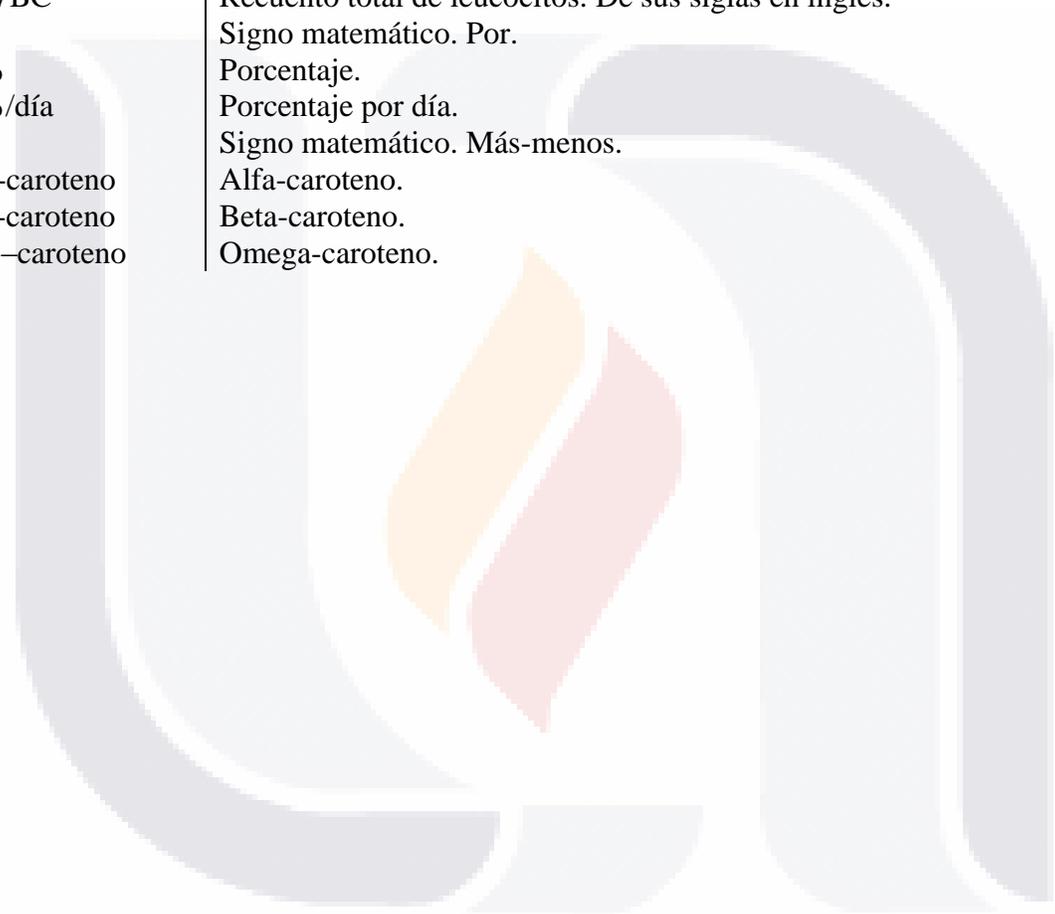
No.	Contenido	Página
1.	Trucha arco iris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>).	18
2.	Unidad Acuícola experimental del Centro de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Aguascalientes.	50
3.	Centro de Reproducción e Innovación Acuícola de Pucuat, Michoacán.	51
4.	Vista general del sistema experimental.	54
5.	Sistema de reservorio.	55
6.	Estanques experimentales.	55
7.	Sistema de recirculación semi-cerrado.	56
8.	Tubo de succión del sistema semi-cerrado de recirculación.	57
9.	Tubo de descarga del sistema semi-cerrado de recirculación.	57
10.	Aireación del sistema semi-cerrado de recirculación.	58
11.	Piedras aireadoras del sistema semi-cerrado de recirculación.	58
12.	Oxímetro YSI modelo 550A.	59
13.	Waterproof pHtest 20.	60
14.	Equipo multiparámetros fotométrico para acuicultura.	60
15.	Resultados de la cromatografía de capa fina de las cuatro técnicas.	62
16.	Equipo Soxhlet utilizado para la extracción de la oleorresina no saponificada.	63
17.	Filtro ubicado dentro del Soxhlet.	64
18.	Los tres productos obtenidos en el sistema Soxhlet.	64
19.	Incorporación de oleorresina al alimento balanceado por aspersión.	66
20.	Secado de las dietas experimentales.	66
21.	Empacado del alimento balanceado seco.	66
22.	Peso de los probióticos para ser adicionados al alimento balanceado.	67
23.	Disminución del nivel del agua en el estanque.	70
24.	Tina para albergar los peces antes del registro de peso y longitud total.	70
25.	Registro del peso total.	70
26.	Registro de longitud total.	71
27.	Peso de la muestra del filete de trucha.	72
28.	Adición de metanol y acetona proporción 1:1.	73
29.	Recuperación de la muestra en éter de petróleo.	73
30.	Lectura de la muestra a 450 nm de absorbancia.	74
31.	Analizador portátil de color muscular.	75
32.	Captura de los valores del color en tres partes del filete.	75
33.	Micropipeta para disolución de sangre en la solución de azul de metileno y suero fisiológico.	77
34.	Observación en la cámara Neubauer.	77
35.	Lectura del porcentaje de hematocrito.	78
36.	Estanque para la prueba de desafío térmico.	80
37.	Registro del momento de la muerte de la trucha arco iris.	80

ACRÓNIMOS

Sigla o Abreviatura	Significado
a*	Cromaticidad de los pigmentos rojos y verdes.
AB	Alimento basal.
AB + P	Alimento basal más probióticos.
AB+C	Alimento basal más oleorresina no saponificada de chile ancho <i>C. annuum</i> .
AB+C+P	Alimento basal más oleorresina no saponificada de chile ancho <i>C. annuum</i> más probióticos.
ADC	Coefficiente de digestibilidad aparente.
AL	Albúmina.
ALA	Ácido graso linolénico.
ALT	Alanino transferasa.
ANDEVA	Análisis de varianza.
AST	Aspartato amino transferasa.
b*	Cromaticidad de los pigmentos amarillos y azules.
C*	Croma.
°C	Grados centígrados.
CCA	Centro de Ciencias Agropecuarias.
cél/μL	Número de células por micro-litro.
CIE	Comisión Internacional de Iluminación.
cm	Centímetros.
cm ³	Centímetro cúbico.
CTC	Contenido total de carotenoides.
DHA	Ácidos grasos como el docosahexanoico.
DWBC	Recuento diferencial de Leucocitos. De sus siglas en inglés.
DPA	Ácido docosapentaenoico.
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético.
EE	Error estándar.
EPA	Eicosapentaenoico.
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.
Fc	Factor calculado.
FCA	Factor de conversión del alimento.
g/día	Gramos por día.
g/dL	Gramos por decilitro.
g/L	Gramos por litro.
g/semana	Gramos por semana.
GDLT	Ganancia diaria de longitud total.
GDP	Ganancia de peso diaria.
GL	Grados de libertad.

GP	Ganancia de peso.
GDPT	Ganancia diaria de peso total
H ^{o*}	Tono.
HD	Alta densidad.
Hp	Caballos de fuerza. De sus siglas en inglés
IgM	Inmunoglobulina M.
IPD	Incremento de peso diario.
IPT	Incremento de peso total.
K	Factor de condición.
kg	Kilogramo.
L	Litro.
L*	Luminosidad.
LA	Ácido linoleico.
LD	Baja densidad.
Ln	Logaritmo natural
LT	Longitud total.
M	Metro.
m ³	Metros cúbicos.
mm	Milímetros.
mm/día	Milímetros por día.
mg	Miligramos.
mg/ml	Miligramo por mililitro.
mg/ kg	Miligramo por kg.
min.	Minutos.
ml	Mililitro
ml/L	Mililitro por litro.
m.s.n.m.	Metros sobre el nivel del mar.
NAT	Nitrógeno amoniaco total.
N-NH ₃	Amoniaco.
N-NO ₂ ⁻	Nitritos.
N-NO ₃ ⁻	Nitratos.
Nm	Nanómetros.
P < 0.01	Diferencias estadísticas altamente significativas.
P < 0.05	Diferencias estadísticas significativas.
P > 0.05	Sin diferencias estadísticas significativas.
pH	Potencial de hidrógeno.
ppm	Partes por mil.
Psi	Libras por pulgada cuadrada.
PVC	Policloruro de vinilo.
PT	Peso total.
PT	Proteína total.
r ²	Correlación.
R.P.M	Revoluciones por minuto.
S	Sobrevivencia.
SHU	Unidades de calor Scoville.
t	Tonelada.

TEC	Tasa específica de crecimiento.
TIC	Tasa instantánea de crecimiento.
UAA	Universidad Autónoma de Aguascalientes.
UEA	Unidad Experimental Acuícola.
UFC	Unidades formadoras de colonias.
UI/L	Unidades internacionales por litro.
UPT	Unidades de Producción Trutícola.
USD	Moneda Dólar estadounidense.
v/v	Volumen sobre volumen.
WBC	Recuento total de leucocitos. De sus siglas en inglés.
x	Signo matemático. Por.
%	Porcentaje.
%/día	Porcentaje por día.
±	Signo matemático. Más-menos.
α-caroteno	Alfa-caroteno.
β-caroteno	Beta-caroteno.
γ-caroteno	Omega-caroteno.



RESUMEN

La acuicultura mundial se ha incrementado considerablemente en las últimas cinco décadas con una tasa anual de crecimiento superior al 3%. La mayor producción está representada por los peces de aguas continentales, que contribuyen con el 56.4% de la producción total. Entre ellos se encuentran los peces de la familia *Salmonidae* que incluyen al salmón y la trucha arco iris. A pesar de los avances científicos que se han logrado en el cultivo de este grupo de peces, aún existen aspectos que son poco conocidos, como el efecto producido por el estrés agudo causado por el incremento de la temperatura. El objetivo de la presente investigación fue evaluar, en juveniles de trucha arco iris *O. mykiss* el efecto de los pigmentos carotenoides y los probióticos adicionados a una dieta basal, sobre los parámetros de desempeño del crecimiento, hematológicos, bioquímicos, de color y contenido de carotenoides, así como la respuesta de la trucha alimentada con esas dietas, a pruebas de desafío de estrés por temperatura. El experimento fue realizado en cuatro estanques circulares de 3,500 L donde en cada uno se depositaron 24 juveniles de trucha arco iris. Se utilizó un diseño factorial 4x3, que consideró cuatro dietas experimentales y tres tiempos de muestreo: 0, 22 y 45 días. Las dietas fueron: AB con alimento basal de engorda para trucha arco iris; AB+P con dieta basal más 1 g de probióticos por kg de alimento; AB+C con dieta basal más 1 ml de oleorresina no saponificada de chile ancho (*C. annuum*) por kg de alimento; y AB+C+P con dieta basal más 1 g de probióticos y 1 ml de oleorresina por kg de alimento. El experimento duró 45 días y durante este tiempo se monitorearon los parámetros de la calidad del agua de manera diaria y semanal. Además, se evaluaron los parámetros de desempeño del crecimiento como la longitud total (LT), el peso total (PT), el factor de condición (K), el factor de conversión del alimento (FCA), la tasa específica de crecimiento (TEC) y el porcentaje de sobrevivencia (S). Los parámetros hematológicos medidos fueron el hematocrito, eritrocitos, leucocitos y trombocitos, mientras que en los bioquímicos fueron la proteína total, albumina, el aspartato aminotransferasa (AST) y la alaninotransferasa (ALT). Así mismo, a los cero y 45 días se midieron en el filete los parámetros de color CIE (L^* , a^* , b^* , C^* y H^{0*}). Finalmente, al término del experimento se efectuaron pruebas de desafío para determinar el tiempo de sobrevivencia de las truchas bajo estrés por temperatura. Todos los datos obtenidos fueron sometidos a pruebas de ANDEVA de dos vías y a pruebas *a posteriori* de Tukey HSD. También, se elaboraron análisis de correlación de Pearson para detectar las relaciones significativas entre los parámetros de color y la concentración de carotenoides en el filete de truchas alimentadas con las diferentes dietas. Los resultados del experimento indicaron que al suministrar pigmentos carotenoides y probióticos en la dieta, solos o combinados, presentaron un efecto positivo marcado sobre los factores de desempeño de la trucha arco iris. Las dietas con carotenoides y probióticos alcanzaron valores de FCA de 1.06 a 1.30; la TEC fue de 1.59 a 1.70%/día y la sobrevivencia fue de 90 a 100%. Los parámetros hematológicos y bioquímicos evaluados mostraron niveles óptimos de respuesta al suministrar los carotenoides y probióticos, incrementando en 27% los valores del hematocrito, en 44% los eritrocitos, en 42% los leucocitos, y en 14% los trombocitos. Los parámetros bioquímicos también mostraron un incremento al suministrar carotenoides y probióticos, donde las proteínas totales aumentaron en un 72% y la albúmina en 75%,

respectivamente. Los valores de AST en las cuatro dietas evaluadas no mostraron diferencias significativas. Los parámetros de color del filete presentaron valores similares a los reportados en otras investigaciones con suministro de pigmentos, lo que sugiere que es importante agregar al alimento balanceado de trucha arco iris 1 g de probióticos y 1 ml de oleoresina no saponificada de chile ancho. El contenido total de carotenoides en el filete de la trucha se incrementó hasta alcanzar valores de 5.33 mg/kg con AB+C y 5.10 mg/kg con AB+P+C, mientras que la dieta control AB fue de 1.3 mg/kg; la diferencia observada representa incrementos de 310 y 292% respectivamente. El color del filete producido con probióticos y carotenoides también mejoró significativamente con respecto a la dieta control, superándola en 273% y 280% respectivamente. Los pigmentos carotenoides naturales y probióticos confirieron mayor tolerancia y tiempo de sobrevivencia ante las pruebas de desafío por estrés térmico, superando en 96% y 84% el tiempo de sobrevivencia con respecto a la dieta control.

Palabras clave: *Carotenoides naturales, probióticos, cultivo de trucha arco iris, desempeño del crecimiento, parámetros hematológicos, parámetros bioquímicos, parámetros de color, concentración de carotenoides, desafío de temperatura.*

ABSTRACT

World aquaculture has increased considerably over the past five decades with an annual rate of over 3% growth. The freshwater fish contributed with 56.4% of the total production. Among them are the fish of the *Salmonidae* family including salmon and rainbow trout. Although some important scientific progress has been made in the cultivation of this group of fishes, there are still some unknown aspects, such as the acute effect of stress caused by temperature increase. The aim of this study was to evaluate, in juvenile rainbow trout *O. mykiss*, the effect of carotenoid pigments and probiotics added to a basal diet, on different response parameters including growth performance, hematological, biochemical, fillet color and carotenoid content, as well as survival time under stress by increased temperature. The experiment was conducted in four 3,500 L circular ponds with 24 juvenile rainbow trout per pond. We used a factorial 4x3 design, which considered four experimental diets and three sampling times: 0, 22 and 45 days. The diets were: AB basal diet for rainbow trout; AB+P basal diet plus 1 g of probiotics per kg of feed; AB+C with basal diet plus 1 ml of un-hydrolyzed oleoresin from Ancho chilli (*C. annuum*) per kg of feed; and AB+C+P basal diet plus 1 g probiotics and 1 ml of oleoresin per kg of feed. The experiment took 45 days and during this time the water quality parameters were monitored daily and weekly. In addition, growth performance parameters were evaluated such as total length (TL), total weight (TW), condition factor (K), feed conversion ratio (FCR), specific growth rate (SGR) and survival rate (S). The hematological parameters were hematocrit value, erythrocytes, leukocytes and thrombocytes, while biochemical parameters were total protein, albumin, aspartate aminotransferase (AST), and Alaninotransferasa (ALT). Also, at 0 and 45 days, CIE color parameters (L^* , a^* , b^* , C^* and H^{0*}) were measured in the fillet. Finally, at the end of the experiment, challenge tests were performed to determine the survival time of the trout under stress by increased temperature. All data were analyzed as a two-way ANOVA followed by *post hoc* HSD Tukey mean tests. Also, Pearson correlation analysis was performed to detect significant relationships between color parameters and the concentration of carotenoids in the fillet of trout fed with different diets. The results of the experiment indicated that supplying carotenoids and probiotics in the diet, alone or in combination, had a strong and positive impact on performance factors of rainbow trout. Diets with carotenoids and probiotics reached values of FCA from 1.06 to 1.30; SGR was 1.59 to 1.70% per day; survival was 90 to 100%. The hematological and biochemical parameters evaluated showed optimal levels of response to carotenoids and probiotics, with increases of 27% in hematocrit values, 44 % in erythrocytes, 42% in leukocytes, and 14 % in thrombocytes. Biochemical parameters also showed an increase by providing carotenoids and probiotics, where in the total protein increased by 72 % and the albumin by 75 %. AST values showed no significant differences among the four diets. Fillet color parameters were similar to those reported in other similar studies, suggesting that it is important to add 1 g of probiotics and 1 ml of oleoresin from chili to the rainbow trout diet. The total content of carotenoids in trout fillet increased up to 5.33 mg/kg with AB+C and 5.10 mg/kg with AB+P+C, whereas the AB control diet was 1.3 mg/kg; the observed difference representing increases of 310% and 292%, respectively. The fillet color of trout fed with probiotics and carotenoids also improved, surpassing the control diet by 273% and 280%, respectively.

Natural carotenoids and probiotics confer greater tolerance and survival time to the heat stress challenge, exceeding by 96% and 84% the survival time, compared to the control diet.

Key words: *natural carotenoids, probiotics, rainbow trout farming, growth performance, hematological and biochemical parameters, color parameters, carotenoid concentration, temperature challenge*



1. INTRODUCCION

La pesca y la acuicultura en el año 2011 suministraron en conjunto alrededor 154 millones de toneladas de producción. De este total 131 millones se destinaron al consumo humano. El suministro mundial de alimentos pesqueros ha aumentado considerablemente en las últimas cinco décadas, con una tasa anual promedio de crecimiento del 3.2% durante el periodo de 1961 a 2009, superando el índice de crecimiento de la población mundial que fue del 1.7% anual (FAO, 2012).

Los peces de aguas continentales dominan la producción acuícola mundial (56.4%, con 33.7 millones de toneladas), seguidos por los moluscos (23.6%, 14.2 millones de t), los crustáceos (9.6%, 5.7 millones de t), los peces diadromos (6.0%, 3.6 millones de t), los peces marinos (3.1%, 1.8 millones de t) y otros animales acuáticos (1.4%, 814,300 t). La razón de lo anterior está relacionado a que los peces y los productos pesqueros representan una fuente valiosa de proteínas y nutrientes esenciales para mantener una nutrición humana equilibrada y saludable. En 2009, el pescado representó el 16.6% del aporte de proteína animal de la población mundial y el 6.5% de todas las proteínas consumidas. El consumo mundial de peces comestibles *per cápita* aumentó de un promedio de 9.9 kg en la década de 1960 hasta 18.6 kg en el 2010 (FAO, 2012).

El principal objetivo de la acuicultura es lograr el aumento de peso de los organismos bajo condiciones de cultivo en el menor tiempo posible y con rentabilidad económica. Los requisitos previos para lograr esta meta, son cubrir satisfactoriamente las necesidades metabólicas del organismo, brindar condiciones ambientales óptimas y ofrecer una completa alimentación basada en los requerimientos nutricionales de la especie. Las necesidades metabólicas influyen directamente en los procesos fisiológicos y uno de los aspectos fundamentales es la temperatura del agua. Los peces son organismos poiquilotermos, que varían su temperatura corporal de acuerdo a la temperatura del medio en que viven, adaptándose a variaciones moderadas de temperatura, en un intervalo de tolerancia dependiente de cada especie en particular. Dichos niveles de adaptación

corresponden a un intervalo que va de los ocho a los 30°C para las especies explotadas comercialmente en el mundo. Las variaciones bruscas de temperatura (agudas) o temperaturas extremas por períodos prolongados (crónicas) generan estrés, disminuyen las defensas, reducen el apetito y pueden causar la muerte de los peces. La disminución en las defensas de los peces y la condición de estrés provocan enfermedades causadas por los agentes patógenos, ya que éstos se adaptan con mayor rapidez a los cambios de temperatura (Martínez y col., 2009).

La trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss*, se cultiva de forma intensiva desde los años cuarenta en regiones con disponibilidad de aguas frías. Por ello, la mayoría de los procesos de manejo nutricional, sanitario y profiláctico que afectan esta especie, son bien conocidos. No obstante, todavía existen aspectos desconocidos, e incluso, algunos otros que han cambiado con el tiempo a medida que la investigación científica ha ido progresando (Gijón y Zarza, 2006).

Uno de estos aspectos es el estrés agudo, que es causado en su mayoría por los cambios de la temperatura del agua, que puede provocar la muerte de un individuo, y el nivel letal lo determina la interacción con otros factores abióticos. Es conocido, por ejemplo, que las truchas son exigentes en cuanto a la cantidad de oxígeno disuelto en el agua, y a mayor temperatura menor es la disolución de éste gas, por lo tanto las temperaturas altas del agua son causa importante del estrés (Martínez y col., 2009).

Aunque en la actualidad se producen cantidades importantes de peces, la tasa de mortalidad a menudo es alta o variable, e igualmente el incremento de peso en promedio muchas veces no es el esperado. Esto demuestra que aún existen lagunas en los conocimientos relacionados a la nutrición y a las condiciones óptimas del cultivo (Valente y col., 2013).

2. ANTECEDENTES

2.1 Situación actual de la acuicultura.

La producción acuícola mundial ha seguido creciendo en el nuevo milenio, aunque más lentamente que en los decenios de 1980 y 1990. La acuicultura en el transcurso de medio siglo ha pasado de ser casi insignificante a equipararse con la pesca de captura. Este sector también ha evolucionado con una innovación tecnológica y la adaptación para satisfacer las necesidades cambiantes del medio ambiente. La producción acuícola mundial alcanzó otro nivel máximo sin precedentes en 2010, con 60 millones de toneladas (excluyendo las plantas acuáticas y los productos no alimentarios), con un valor total estimado de 119,000 millones de USD. En 2010, un tercio de la producción acuícola mundial de especies comestibles, se logró sin utilizar piensos y correspondió a la producción de bivalvos y carpas que se alimentan por mecanismos de filtración. Si se incluyen las plantas acuáticas y los productos no alimentarios, la producción acuícola mundial del 2010 ascendió a 79 millones de toneladas con valor de 125,000 millones de USD (FAO, 2012).

Actualmente, se cultivan unas 600 especies acuáticas en todo el mundo, utilizando aguas continentales, salobres y marinas y bajo diversos sistemas e instalaciones de cultivo y con diferentes grados de utilización de insumos y una mayor complejidad tecnológica. Así mismo, la acuicultura contribuye notablemente a la producción de la pesca de captura basada en el cultivo, en particular en las aguas continentales, gracias al material de repoblación producido en los viveros. Sin embargo, sigue habiendo un desequilibrio en todas las regiones respecto a la etapa de desarrollo y la distribución de la producción acuícola. Algunos países en desarrollo de Asia y el Pacífico, África Subsahariana y América del Sur han realizado progresos considerables en el desarrollo acuícola en los últimos años y se están convirtiendo en productores importantes en sus respectivas regiones. No obstante, sigue habiendo una gran disparidad entre los continentes y regiones geográficas, así como entre países de condiciones naturales similares de la misma región y, en muchos de los países menos adelantados, la acuicultura todavía puede contribuir de

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

forma significativa a la seguridad alimentaria. En 2010, la FAO registró 181 países y territorios con producción acuícola y nueve países y territorios no aportaron datos en ese año, pero se disponía de información sobre su producción de años anteriores. De estos 190 países y territorios, aproximadamente el 30%, incluidos algunos de los principales productores de Asia y Europa, no había facilitado estadísticas sobre la producción acuícola nacional.

De los 66.6 millones de toneladas de peces comestibles cultivados que se produjeron en 2012, dos tercios es decir 44.2 millones de toneladas correspondieron a peces de escama obtenidos en la acuicultura continental (38.6 millones de toneladas) y del cultivo marino (5.6 millones de toneladas). Aunque los peces de escama procedentes del cultivo marino representaron solo el 12.6% del volumen de la producción total, su valor alcanzó 23,500 millones de USD que representa el 26.9% del valor total de todas las especies de peces cultivados. Ello se debe a que los peces de escama procedentes del cultivo marino comprenden una gran parte de especies carnívoras, como el salmón del Atlántico, las truchas y los meros, cuyo valor unitario es superior al de la mayoría de peces de escama cultivados en agua dulce (FAO, 2014).

La acuicultura en México se ha convertido en una alternativa para contribuir con la seguridad alimentaria ante la sobreexplotación de las pesquerías y el aumento en el consumo de productos de origen acuático. Esta alternativa ha creado fuentes permanentes de empleo, contribuyendo al desarrollo regional y generando divisas (FAO, 2006-2010). El cultivo de trucha arco iris (*O. mykiss*) ha pasado de 929 t producidas en 1988 (SEMARNAP, 1998) a 9.757 t en 2013, así mismo para ese año, la trucha por su volumen se posesionó en el lugar dieciocho de la producción pesquera en México; sin embargo, por su valor que fue de 446,981 (miles de pesos), ocupó el sétimo lugar. La tasa media de crecimiento anual de la producción del 2003 al 2013 fue de 0.49 %. (CONAPESCA, 2013).

García y col. (2013), afirman que la consolidación de la producción trutícola como una actividad económica en México se inició a partir de 1995, época que el gobierno apoyó a las unidades de producción trutícolas para fortalecer el desarrollo sostenible y como

contingencia ante el ataque del virus de la Necrosis Pancreática Infecciosa (NPI) en la fase de cría. Por dicha razón el centro de abastecimiento de alevinos El Zarco fue cerrado. Desde ese momento el SENASICA ejerció un estricto control para la vigilancia e inspección ictiosanitaria en las importaciones de ovas, alevinos y demás actividades acuícolas y desde ese momento se crean los Comités de Sanidad Acuícola. Desde el año 2000 las nuevas UPT fueron establecidas bajo un esquema empresarial, con mejoras en las instalaciones, los servicios, y principalmente ante la escases de huevo se empezaron a establecer granjas con ciclo productivo completo, la actividad trutícola dejó de ser una actividad complementaria, convirtiéndose así en una actividad productiva integral, que involucra además del cultivo, las actividades eco-turísticas, y otras.

2.2 Biología de la especie.

2.2.1. Generalidades.

El nombre científico de la trucha arco iris es *Oncorhynchus mykiss*. Es un pez que pertenece al grupo de los salmónidos, originarios de América del Norte (Figura 1). El nombre de este pez deriva de la peculiar coloración que posee, misma que varía en función del medio, de la talla, del sexo, del tipo de alimentación, y del grado de maduración sexual (Cachafeiro, 2000).

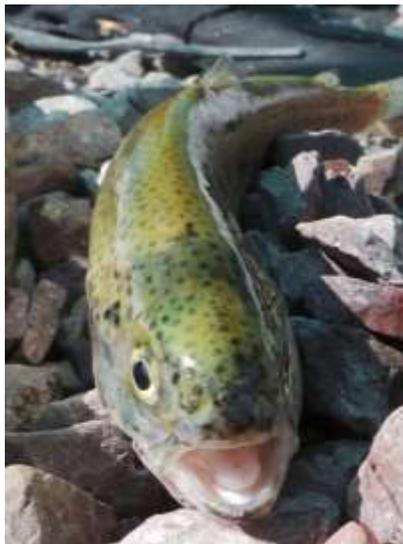


Figura 1. Trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*).

2.2.2 Clasificación taxonómica.

La clasificación taxonómica de la trucha arco iris de acuerdo con la FAO. (2005) es la siguiente:

Reino: Animal.

Phylum: Chordata.

Subphylum: Vertebrata.

Superclase: Pisces.

Clase: Osteichthyes.

Subclase: Actinopterygii.

Orden: Salmoniformes.

Familia: *Salmonidae*.

Género: *Oncorhynchus*

Especie: *mykiss*

Nombre científico: *Oncorhynchus mykiss*

Nombre común: Trucha arco iris

2.2.3 Hábitat.

La trucha es una especie apta para el cultivo en zonas frías y templadas. Debido a su comportamiento en la búsqueda continua de la corriente, su cultivo depende de un gran volumen de agua, que es importante para el óptimo crecimiento, así como de las condiciones fisicoquímicas especiales para su cultivo (Cachafeiro, 2000).

2.2.4 Tiempo de cultivo.

En buenas condiciones de cultivo su ciclo de producción de engorde es de 10 a 12 meses, cuando se alcanza un peso comercial de 350 a 450 g, dependiendo de la temperatura del agua, la variación de temperatura día versus noche, la densidad de siembra y las técnicas de manejo (FAO, 2005).

2.2 Desempeño del crecimiento.

El crecimiento es el proceso que conlleva al aumento fisiológico del tamaño del pez en función de la edad. Éste proceso está valorado por los parámetros de crecimiento, que están condicionados por diversos factores biológicos reguladores como son los factores endógenos o internos y exógenos o externos. Los factores endógenos son los genéticos o hereditarios, metabólicos y neuro-hormonales. Los factores exógenos son la alimentación y los factores ambientales (Diodatti, 2008).

Los parámetros de crecimiento, son indicadores de referencia para medir que tan eficiente y productivo puede ser un cultivo acuícola, ya que proporcionan información indirecta sobre el crecimiento, la madurez, la reproducción, la nutrición y por ende del estado de salud de las poblaciones, lo que permite efectuar estudios comparativos inter-poblacionales (Gulland, 1971).

Diodatti (2008), menciona que las ventajas de analizar los parámetros de desempeño son las siguientes: a) evalúan el desempeño general del cultivo; b) permiten llevar registros para dar seguimiento al cultivo, como también para posteriores comparaciones con otros ciclos en la granja; c) evalúan el desempeño de calidad de las crías adquiridas y d) califican la eficiencia del alimento suministrado a los peces.

A continuación se mencionan los principales parámetros de desempeño utilizados en la acuicultura:

a) Peso total (PT), ésta medida se expresa en g. A través de este parámetro es posible determinar el incremento que han tenido los peces en el transcurso de un periodo determinado de cultivo (Noeske y Spieler, 1984). Sirve como base para calcular el suministro de alimento, la ganancia diaria de peso, el índice de conversión, el factor de condición y la tasa específica de crecimiento (Ingle Mora y col., 2006; Yanar y col., 2007; Teimouri y col., 2013; Saez y col., 2014). Con esta medida es posible también calcular la

ganancia diaria de peso total (GDPT) a través de la fórmula: $GDP = \text{peso final del pez en g} / \text{total de días de cultivo}$.

b) Longitud total (LT), se mide en centímetros. Determina el incremento de longitud que han tenido los peces en un tiempo determinado. La medida se realiza desde la parte posterior de la mandíbula hasta el punto final de la aleta caudal. Éste parámetro sirve de base para determinar la ganancia diaria de longitud total (GDLT) y el factor de condición (Tukmechi y col., 2011). La GDLT se calcula mediante la fórmula: $GDLT = \text{longitud total final del pez en cm} / \text{total de días de cultivo}$.

c) Factor de condición de Fulton (K), se utiliza ampliamente en la investigación acuícola y pesquera como un índice de condición morfométrica y constituye una herramienta útil para examinar el crecimiento general de los peces (Le Cren, 1951; Da Costa y Gerson, 2003). La fórmula para su cálculo es: $K = P / L^3$, donde P es el peso total en g y L la longitud total en cm y tres es un exponencial. Entre dos peces de igual longitud, el mejor alimentado tendrá un valor de K mayor, lo que indica que se encuentra en mejores condiciones físicas (Tukmechi y col., 2011; Ramos y col., 2015).

d) Factor de conversión alimenticio (FCA). Es el parámetro que expresa la mayor o menor eficiencia del consumo del alimento y su transformación en carne. Cuando más bajo resulta el valor es mejor el comportamiento del lote (Abd El-Rhman y col., 2009; Yi y col., 2015; Ingle de la Mora, 2006). Este parámetro se calcula de la siguiente manera: $\text{Factor de conversión alimenticio (FCA)} = \text{consumo de alimento del pez} / \text{peso del pez}$.

e) Tasa específica de crecimiento (TEC), también se denomina como tasa instantánea de crecimiento (TIC) y es expresada en porcentaje por día (Ricker, 1979). La fórmula para calcularlo es: $TEC (\%/día) = \frac{\ln PF - \ln PI}{t_2 - t_1} \times 100$, donde: PF y PI es el peso total al inicio y al final del período experimental; t_1 y t_2 es el tiempo inicial y el tiempo final, o sea la duración en días y Ln es el logaritmo natural (Ingle de la Mora y col., 2006; Abd El-Rhman y col., 2009; Safari y col., 2015; Yi y col., 2015; Ramos y col., 2015).

f) Sobrevivencia (S). Se calcula a través de la diferencia entre el número inicial y el número final de peces y se expresa el valor en porcentaje (Bjerkeng, 2006; Balcázar y col., 2006; Abd El-Rhman y col., 2009; Ramos y col., 2015). Se calcula mediante la fórmula siguiente: Sobrevivencia (%) = número inicial de peces/número final de peces x 100.

2.4 El sistema inmune de los peces.

El sistema inmunológico protege a un organismo contra los factores externos ambientales y patológicos, también participa en el mantenimiento de las condiciones estables durante el desarrollo y el crecimiento, además, juega un papel activo ante las reacciones inflamatorias y el daño tisular (Brunt y col., 2008). El sistema inmune se divide en dos componentes que son reconocidos como inmunidad innata y adaptativa. El sistema innato es un sistema “antiguo” que se basa en el reconocimiento no específico de un agente patógeno, que provoca una reacción instantánea pero de corta duración. Este sistema es de primordial importancia en la defensa inmune de los peces y se divide generalmente en tres compartimentos: a) la barrera epitelial o mucosa, b) los mediadores solubles (por ejemplo, sistema complementarios, interferones y péptidos anti-microbianos) y c) los componentes celulares (por ejemplo células fagocíticas como los macrófagos y granulocitos) (Thomas y Woo, 2006). La barrera epitelial y de las mucosas de la piel, así como las branquias y el tracto digestivo son importantes en el pez, ya que están constantemente inmersos en medios que contienen agentes potencialmente dañinos (Staroscik y Nelson, 2008).

Las defensas humorales y celulares representan la primera respuesta del organismo ante un ataque de patógenos; sin embargo, un segundo encuentro con el mismo patógeno no generará una mejor respuesta de memoria (Whyte y col., 1990). En contraste, el brazo de adaptación se caracteriza por la actividad específica, que no es un rasgo hereditario pero que refleja la experiencia inmune de cada individuo. La respuesta del sistema inmune adaptativo es relativamente lenta al principio, pero es duradera y tiene un componente de memoria, por lo que puede dar respuestas más rápidas y mejores en un segundo encuentro. Las principales células efectoras son otro tipo de glóbulos blancos llamados linfocitos (Secombes, 2012). Durante la infección, la respuesta inmune innata que es por lo general de

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

corta duración, precede a la respuesta inmune adaptativa de larga duración (Olabuenaga, 2000). En los peces este período de retraso dura de 10 a 12 semanas, por lo que se debe tener en cuenta al considerar el control inmunológico profiláctico de las enfermedades de los peces (Thomas y Woo, 2006).

2.4.1 Inmuno-nutrición.

Tradicionalmente se han utilizado los antibióticos y las vacunas para combatir las enfermedades en las granjas de peces. Existe un concepto ampliamente aceptado que se basa en los regímenes de alimentación y nutrición que ayudan a mantener una óptima salud; sin embargo, la sostenibilidad de la disponibilidad de la harina y el aceite de pescado han provocado cambios en las formulaciones de los alimentos acuícolas, que exigen una mayor comprensión sobre el papel que juegan los ingredientes alternativos, aditivos, macro y micronutrientes. El balance óptimo de éstos nutrientes puede influir directa o indirectamente en la salud y en la función inmune de los peces (Vásquez, 2004).

En términos de los macro-nutrientes, las proteínas, los aminoácidos, los carbohidratos y los lípidos, así como los componentes de ácidos grasos, pueden impactar en el estado de salud del pez. Las proteínas dietéticas proporcionan los aminoácidos esenciales y no esenciales que juegan un papel fundamental en los mecanismos de defensa, ya que son necesarios para la síntesis de una matriz de proteínas que participan en las funciones inmunes. Las proteínas alternativas de origen vegetal aunque es una opción interesante, aún no han logrado optimizar una adecuada tasa de crecimiento y reforzar la función inmune. Los lípidos proporcionan energía y cumplen con los requisitos de los ácidos grasos esenciales de los animales; se sabe que varios ácidos grasos poli-insaturados o mono-insaturados están involucrados en diferentes funciones inmunes, ejerciendo su influencia a través de los cambios en la fluidez de la membrana, la síntesis de los eicosanoides, la formación de peróxidos de lípidos, la regulación de la expresión génica, la apoptosis, la alteración de la presentación de antígenos, o la modulación de la micro-biota intestinal (Olabuenaga, 2000).

Todos estos procesos y trayectorias, poseen funciones importantes en la inflamación y la resistencia a las enfermedades. Los micro-nutrientes también representan un componente

fundamental en la dieta de los peces; ya que contienen vitaminas (A, C y E), carotenoides (β -caroteno, α -caroteno y γ caroteno) y minerales (calcio, magnesio, hierro, cobre, zinc y selenio). Dado que muchos micro-nutrientes están involucrados en varios procesos biológicos, una ingesta inadecuada puede provocar efectos adversos en la salud de los peces (Vásquez, 2004).

2.4.2 Ictio-hematología.

La ictio-hematología puede ser definida, en términos generales, como una disciplina que estudia la sangre de los peces; no obstante, en términos prácticos, estudia las células sanguíneas desde el punto de vista morfológico, bioquímico y funcional, así como también los órganos hematopoyéticos, las enfermedades relacionadas con ellos y cualquier fenómeno o patología que se relacione con las células y sus órganos internos (Valenzuela y col., 2003).

La hematología y la bioquímica sanguínea, son herramientas válidas útiles en la determinación del estado de salud y el equilibrio metabólico en los peces, tanto en su vida silvestre como en los cultivos intensivos. La posibilidad de evaluación de estos parámetros, depende de la disponibilidad de valores de referencia considerados como normales de los diferentes componentes sanguíneos, que son indicadores del estado de salud de los peces en condiciones naturales, así como de los cambios que se suscitan en su hábitat (Padrós, 2005).

Los estudios sobre la hematología de peces, demuestran que las variaciones en las condiciones ambientales tales como la temperatura del agua, el pH, el oxígeno disuelto, entre otros, causan modificaciones fisiológicas en los niveles de algunos parámetros sanguíneos (Valenzuela y col., 2002). Además, se ha determinado que estos pueden estar también influenciados por numerosos factores como la especie, la edad, el fotoperiodo, el estado nutricional y la metodología usada para su determinación (Padrós, 2005).

Las variaciones de los parámetros hematológicos como el hematocrito, los leucocitos, los recuentos celulares y la concentración de hemoglobina, pueden ser utilizados como

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

indicadores de contaminación o bien como indicadores fisiológicos de disfunción orgánica ocasionada por el estrés (Valenzuela y col., 2003).

El estudio de las características sanguíneas puede además aportar información complementaria para el diagnóstico y pronóstico de las condiciones mórbidas en las poblaciones de peces; y también, para la identificación, diagnóstico y control del estrés y de las enfermedades, con la finalidad de mantener la adecuada salud de los peces (Tavares-Días y Mataquero, 2004).

Los peces viven en íntimo contacto con el medio acuático y por lo tanto sus indicadores hematológicos son útiles para la evaluación de los efectos estresantes. Por ejemplo, la anemia pueden ser indicativo de una gama de factores de estrés fisiológico, incluyendo el trauma, la ulceración cutánea, el parasitismo, la deficiencia nutricional, la septicemia viral y bacteriana, la ambiental, las toxinas bacterianas y la enfermedad renal o esplénica (Cárdenas y col., 2004).

El número de leucocitos en los peces, se ven afectados por el estrés, las enfermedades, los trastornos nutricionales y los factores extrínsecos e intrínsecos. Un efecto similar pasa con los eritrocitos. Los peces poseen los equivalentes funcionales de linfocitos T y células B de los vertebrados superiores en sus linfocitos, ya que estos demuestran respuestas inmunes humorales similares. Los trombocitos son células nucleadas en los peces. Sus formas varían con la etapa de madurez y el grado de actividad y pueden ser redondas, ovaladas, o en forma de huso. Los monocitos se producen en números bajos y parecen ser las células fagocíticas primarias en los peces (Hoeger, 2004).

La distribución y función de los granulocitos fueron revisadas exhaustivamente por Ainsworth en 1992. La función principal de los neutrófilos, que son los granulocitos predominante, es fagocitar, mientras que los eosinófilos tienen la función citotóxica y no parecen participar en la fagocitosis. Los basófilos se presentan sólo en raras ocasiones en los peces y su función aún no se ha establecido objetivamente. Una respuesta primaria de

estrés en casi todas las formas de estrés ambiental en los peces, es la secreción de cortisol por el tejido inter-renal (Wojtaszek y col., 2002).

La neutrofilia, también se observa en enfermedades inflamatorias asociadas con agentes infeccioso en la trucha arco iris (*O. mykiss*) y se presenta la trombocitopenia como resultado del estrés. El recuento de leucocitos diferenciales en los peces, es una técnica similar a la utilizada en los mamíferos, por lo tanto, pueden servir como un indicador de la salud del organismo. El recuento total de leucocitos (WBC por sus siglas en inglés) y el recuento diferencial de leucocitos (DWBC por sus siglas en inglés) son realizados manualmente utilizando un hemocitómetro y la tinción diferencial en frotis de sangre (Hoeger, 2004).

2.4.3 Estudios relacionados con cuadros hemáticos y parámetros bioquímicos en la sangre en trucha arco iris.

Leroy (1993), se dio a la tarea de recopilar bibliografía y publicaciones con respecto a los efectos de la contaminación química orgánica e inorgánica sobre los peces teleósteos, para obtener los valores óptimos de los parámetros bioquímicos y los niveles hormonales que sirvan de marco de referencia para posteriores estudios.

En realidad existe escasa información acerca de los estudios relacionados con los parámetros hemáticos y bioquímicos en la sangre de la trucha arco iris *O. mykiss*. Rehulka y Minarik (2003), investigaron la influencia de la astaxantina sintética en la tasa de crecimiento, el factor de condición y algunos índices sanguíneos en la trucha arco iris. Los resultados mostraron que los peces alimentados con una dieta que contiene 49.8 mg de astaxantina por kg de alimento, presentaron una ganancia relativa de peso total similar al testigo, no obstante, se observaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) con respecto al número de glóbulos rojos. Los peces alimentados con la dieta que contenía astaxantina sintética registraron una menor cantidad de triglicéridos ($P < 0.05$) y una menor cantidad de calcio en el plasma ($P < 0.01$).

Valenzuela y col. (2002), evaluaron los valores de hematocrito, la hemoglobina, el recuento de eritrocitos, el tamaño de los eritrocitos y la cantidad de hemoglobina por eritrocito en la trucha arco iris (*O. mykiss*) inducida a hipoxia progresiva en respirómetros estáticos. En la medida que pasaron los minutos la concentración del oxígeno disuelto dentro del respirómetro disminuyó por efecto del consumo del pez. Los resultados mostraron que existieron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos con respecto al control, a partir de los cinco y los 10 minutos con respecto al número de eritrocitos inmaduros o poli-cromatófilos y del hematocrito ($P < 0.05$). No obstante, la hemoglobina no mostró un aumento significativo, aún después de 30 minutos de exposición.

Rehulka y Minarik (2003), suplementaron dietas experimentales con lecitina al 1%. Los resultados mostraron que la lecitina estimula la eritropoyesis incrementando el número de eritrocitos, el hematocrito y la concentración de hemoglobina, comparado con el grupo control. También encontraron diferencias en los parámetros que miden el metabolismo de nitrógeno (proteína total, nitrógeno de urea en sangre, ácido úrico, creatinina) y el metabolismo mineral (fosfato inorgánico, calcio total), además, de la actividad de la enzima catalítica alanina aminotransferasa. Durante el periodo de la prueba no se manifestó ningún efecto adverso sobre la salud del pez. Los niveles de los parámetros hematológicos permanecieron dentro del intervalo de valores de referencia. La actividad catalítica de AST, ALT, LD, HD, así como los factores del índice hepatosomático permanecieron sin cambios. La suplementación de lecitina en la dieta no causó cambios clínicos en el estado de salud del pez, por el contrario se observaron buenos resultados que apoyaron las propiedades anti-oxidantes que mejoraron la capacidad de crecimiento.

Herrera y Valdivia en 2004, determinaron los valores de los parámetros bioquímicos en el salmón del Atlántico (*Salmo salar*) y en la trucha arco iris (*O. mykiss*). Las variables bioquímicas que se estudiaron fueron las proteínas totales, la albúmina, el colesterol, los triglicéridos, la urea, la creatinina, la alanina aminotransferasa (ALT), el aspartato aminotransferasa (AST), la fosfatasa alcalina, la creatinquinasa y la glutatión peroxidasa. Al comparar los resultados entre las dos especies de salmónidos se marcaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) en las siguientes variables: albúmina, AST,

creatinquinasa, creatinina, y triglicéridos. Los valores de creatinquinasa y AST variaron entre las granjas y entre las especies, debido al daño muscular durante la extracción de la muestra de sangre. Se concluye que los valores obtenidos son semejantes a los manejados en los salmónidos en condiciones de cultivo en la fase de engorda en el mar y ésta información es valiosa ya que constituye un antecedente sobre las variables bioquímicas de salmónidos cultivados en aguas continentales.

Bastardo y col. (2008), determinaron los parámetros hematológicos en la trucha arco iris masculinizada, después de suspender tres años el consumo de testosterona. Con los datos hematológicos obtenidos se estimaron los valores de referencia para las truchas masculinizadas y normales. Se encontró que la hemoglobina y el hematocrito del grupo masculinizado fueron significativamente mayores que el control, no así los eritrocitos. Las truchas masculinizadas presentaron una linfocitosis y una neutropenia mayor que el grupo control.

Buenaño (2008), estudió el hemograma de la trucha arco iris (*O. mykiss*) en tres etapas de cultivo en la cuenca alta de la provincia de Napo, en Ecuador. Elaboró hemogramas de juveniles, adultos y reproductores y de los dos sexos en el Centro de Investigaciones Acuícolas de Papallacta a 3,300 m.s.n.m. Los resultados muestran que el número de glóbulos rojos expresado no presentan diferencias estadísticamente significativas entre la interacción estadio-sexo.

Morgan y col. (2008), abordaron el efecto de la estacionalidad sobre los parámetros inmunológicos y hematológicos innatos normales de la trucha arco iris (*O. mykiss*). Evaluaron la actividad tanto de la lisozima en el plasma, como de los macrófagos renales. Igualmente valoraron los parámetros hematológicos (recuentos de glóbulos rojos y blancos). Al final del experimento se observó que existe una influencia estacional en la cantidad de glóbulos blancos y la actividad de la lisozima ($P < 0.05$). Los valores más altos se presentaron en el verano y los más bajos en invierno.

Talas y Gulhan (2009), registraron los parámetros bioquímicos y hematológicos en la sangre de organismos de trucha arco iris tratados con varias concentraciones de propóleos en un tiempo de 96 horas. Los valores del recuento de los leucocitos y los granulocitos totales aumentaron ($P < 0.05$) en los grupos tratados con propóleos. Los granulocitos disminuyeron ($P < 0.05$), al igual que los eritrocitos, hemoglobina y hematocrito en los peces expuestos a 0.02 y 0.03 g/L de propóleos. La investigación concluye que los efectos de las dosis dependen de la concentración final de propóleos en la sangre de los peces, y dependiendo de esa concentración, puede ser favorable o no. Con ello se abren nuevas perspectivas de investigación de las propiedades biológicas de los propóleos y su utilización en peces.

Awad y Austin (2010), alimentaron a la trucha arco iris con 1% de lupino, (*Lupinus perennis*), mango, (*Mangifera indica*), y ortiga, (*Urtica dioica*), durante 14 días. Los resultados mostraron reducciones en la mortalidad después de la prueba de desafío con *Aeromonas hydrophila*. El uso de lupino y mango incrementó el número de glóbulos rojos y glóbulos blancos en los peces. Así mismo, el efecto con relación al uso de la ortiga llevó a la obtención de los valores más altos de hematocrito y hemoglobina. El valor más alto del volumen corpuscular medio y la hemoglobina se encontró en los grupos control y los alimentados con ortiga.

Nya y Austin (2011), estudiaron el desarrollo y la duración de la protección inmune del ajo contra las infecciones de *Aeromonas hydrophila* en la trucha arco iris. Los factores fisiológicos, bioquímicos, inmunológicos, hematológicos y los índices de electrolitos fueron evaluados antes del reto con *A. hydrophila*. A los catorce días después del cese de la alimentación con el ajo, la tasa de mortalidad fue de 12%. En conclusión, el estudio afirmó que el efecto protector del ajo en la dieta se extiende 28 días más allá del período de su aplicación en la especie trucha arco iris.

Awad y col. (2013), evaluaron la eficiencia del aceite de la semilla del comino negro (*Nigella sativa*) y el extracto de ortiga (*Quercetina*) con respecto a la inmunidad de la trucha arco iris. Los parámetros inmunológicos evaluados incluyeron; a) lisozima, b) anti

proteasa, c) proteína total, d) actividad bactericida y e) inmunoglobulina M (IgM). La mejor respuesta se obtuvo en los grupos alimentados con 1% de extracto de quercetina de ortiga y 3% de aceite de semilla de comino con una significancia del $P < 0.05$, con relación a las variables proteína total, lisozima, anti-proteasas y actividad bactericida. Todos los grupos de los tratamientos registraron diferencias estadísticamente significativas en la variable IgM con relación al grupo control ($P < 0.05$). Por lo tanto, los resultados sugieren que mediante el uso de estos suplementos se brinda un aumento en la función inmune de la trucha arco iris.

Adel y col. (2015), estudiaron los efectos de la suplementación en dietas experimentales del extracto de menta (*Mentha piperita*) en trucha marrón (*Salmo trutta caspius*). Se registraron los parámetros hematológicos como el número de glóbulos blancos, el hematocrito y el contenido de hemoglobina, así como la actividad de la amilasa y el número de bacterias lácticas en el intestino en los peces. Las dietas suplementadas con extracto de menta presentaron diferencias estadísticamente significativas en el número de leucocitos en sangre. Mientras que no se observaron diferencias estadísticamente significativas en el número de monocitos en sangre y eosinófilos. El número de linfocitos se redujo en los peces alimentados con extracto de menta, respecto a los valores encontrados en el grupo control. Además, la suplementación con extracto de menta no tuvo ningún efecto significativo sobre los parámetros bioquímicos de la sangre. Los resultados recomiendan la suplementación del extracto de menta, ya que esta promueve un incremento en los parámetros del desempeño del crecimiento y aumentan los principales parámetros inmunes humorales de la trucha marrón.

Yeganeh y col. (2015), evaluaron los efectos de dietas que contenían diferentes porcentajes de harina de *Spirulina platensis* sobre los parámetros hematológicos y bioquímicos de la trucha arco iris. Los resultados mostraron que los niveles de eritrocitos, leucocitos, hemoglobina, el total de proteína y la albumina se incrementaron significativamente en los grupos suplementados con *S. platensis*. No se presentaron diferencias estadísticamente significativas con relación a los efectos del hematocrito, el colesterol, los triglicéridos y el lactato en la sangre. Los lípidos de alta densidad fueron más altos en el grupo donde se

suministró 10% de harina de *S. platensis* en comparación con las otras dietas. Mientras que los lípidos de baja densidad disminuyeron significativamente con el incremento de la harina en la dieta. El estudio demostró que la inclusión del 10% de harina de *S. platensis* en dietas para trucha arco iris es benéfica como un inmuno-estimulante.

2.5 Los carotenoides.

2.5.1 Naturaleza y estructura química de los carotenoides.

Los carotenoides son pigmentos solubles en grasas, también conocidos como lipocromos, y son uno de los grupos naturales más importantes y ampliamente distribuidos en la naturaleza. Los carotenoides son producidos vía una ruta isoprenoide compartida con diversos compuestos químicos tales como los ácidos grasos esenciales, esteroides, y vitaminas A, D, E y K. Los carotenoides se ubican entre los agentes pigmentantes más extendidos y estructuralmente diversos. Ellos tienen casi una distribución universal, y se encuentran en las bacterias y las algas más primitivas, hasta las plantas con flores altamente desarrolladas, y en mamíferos. Los carotenoides pueden ser generalmente divididos en dos grupos: los carotenoides hidrocarbonados altamente insaturados y el grupo que comprende a las xantofilas. Estos últimos son derivados oxigenados de carotenoides y contienen uno o más grupos oxigenados substituyendo sitios particulares en el anillo terminal (Meléndez y col., 2007).

2.5.2 Propiedades antioxidantes.

Meyers (2007), menciona que a pesar de que los carotenoides tienen una distribución universal y una abundancia extensa en una amplia variedad de animales acuáticos; éstos son sintetizados *de novo* solamente por las plantas y algunos microorganismos. Por lo tanto, los animales dependen del suplemento de carotenoides en una dieta exógena para abastecer sus requerimientos nutricionales metabólicos. En contraste con las plantas, la distribución cuantitativa y cualitativa de los carotenoides en organismos acuáticos es principalmente el resultado de los hábitos dietéticos de una especie específica, sus características de absorción, y de las actividades metabólicas de transformación. Los organismos a menudo demuestran un marcado grado de selectividad en la absorción específica de los carotenoides

o en la transformación metabólica de ellos. Los tipos de pigmentos absorbidos y las tasas específicas de absorción, pueden variar considerablemente entre familias o especies.

Torrissen y col. (2006), afirman que las propiedades antioxidantes de la astaxantina son importantes para el metabolismo. Las evidencias también sugieren que la astaxantina y otros carotenoides son importantes en la protección de la peroxidación de los lípidos de la membrana. Los niveles de vitaminas antioxidantes A, E, y C se incrementan en el salmón del Atlántico cuando es alimentado con una dieta suplementada con astaxantina, en comparación con peces alimentados con una dieta libre de astaxantina. El papel de los antioxidantes en las especies acuáticas es de importancia considerable en vista de los altos niveles de ácidos grasos poli-insaturados presentes en muchos peces. La actividad antioxidante de la astaxantina ha recibido considerable atención, especialmente debido a su correlación con la presencia de vitamina E. El alfa-tocoferol ha sido reconocida como un importante antioxidante lípido-soluble. El beta-caroteno es un eficiente secuestrador de oxígeno simple y es clasificado como un anti-oxidante preventivo. Las evidencias sugieren que el papel de los carotenoides en la captura de especies oxígeno activo es tan importante, como el papel que esos compuestos juegan como moléculas precursoras de provitamina A.

Bjerkeng (2006), comenta que en estudios realizados, se reporta que las características bioquímicas del hígado y de la sangre en la trucha arco iris (*O. mykiss*) mejoran cuando son alimentadas con una dieta suplementada con levadura roja (*Phaffia rhodozyma*) o astaxantina sintética. Datos basados sobre índices hepatosomáticos y transaminasa glutámico-oxaloacética del suero, también como la cantidad de peróxido lipídico en suero, demostraron que esos suplementos carotenoides favorecieron la salud de los peces con una mejor función del hígado y el incremento del nivel potencial defensivo contra el estrés oxidativo.

Torrissen y col., (2006), consideraron que entre los organismos la astaxantina es la xantofila más ampliamente distribuida, seguida por la luteína y la zeaxantina. Los estudios de estos pigmentos describen sus funciones como antioxidantes, promotores de la provitamina A e inductores inmunológicos, y juegan un papel importante en la reproducción, en los estadios

tempranos, o bien como un parte importante en la dieta de primera alimentación de los peces. Los estudios también refuerzan la importancia de la astaxantina en el metabolismo lipo-proteico y otros procesos fisiológicos. Además, de que está implicada en la formación de cadenas epóxicas, que actúan como reservas de oxígeno disuelto bajo condiciones anóxicas.

Meyers (2007), afirma que la ingestión de la vitamina A en la dieta mejora la inmunidad humoral, dado que los peces carecen de la capacidad de síntesis *de novo* de la vitamina A, por esto mismo, el requerimiento de vitamina A debe ser suministrado a través de la dieta. Esto puede ocurrir directamente por la adición de vitamina A en la dieta, o indirectamente a través del metabolismo de los carotenoides precursores como la astaxantina. Entre otros efectos importantes de los carotenoides, se menciona que tienen una alta afinidad secuestradora de radicales tóxicos de oxígeno, que resultan principalmente de la peroxidación de lípidos; pero que también, son generados durante el gasto respiratorio de los fagocitos. Esta propiedad ha conducido a considerar a la astaxantina como poseedora de actividad de "súper-vitamina E".

Si se compara el depósito de astaxantina y cantaxantina en la trucha arco iris (*O. mykiss*), la astaxantina es depositada más eficientemente en la carne de la trucha, principalmente debido a su absorción preferente en el tracto digestivo. Los reportes sobre transporte de la astaxantina en la sangre del salmón del Atlántico, han demostrado que está asociada con la fracción proteínica del plasma y que la albúmina es la mayor proteína de transporte de la astaxantina. Los investigadores han examinado como la astaxantina es absorbida, metabolizada y transportada a los tejidos y órganos blancos en los salmónidos. El carotenoide es reducido a zeaxantina y metabolizado a vitamina A. La absorción ocurre en el intestino donde el carotenoide es convertido a vitamina A, principalmente en la pared intestinal. La astaxantina es transportada en la sangre por las lipoproteínas, siendo el hígado el mayor órgano metabólico. En la madurez sexual, el compuesto es transferido de la carne a la piel y a las gónadas (Meyers, 2007).

La oxidación de los lípidos es considerada como peróxidos lipídicos que son especies de oxígeno reactivo que son descompuestos a otros radicales conteniendo oxígeno. Las especies de oxígeno reactivo atacan casi todos los componentes celulares como las proteínas, los lípidos y las membranas. Así, el mejoramiento del potencial defensivo de peces cultivados contra el estrés oxidativo es importante. Los carotenoides, junto con el tocoferol, han sido observados en la lipoproteína del suero de peces y se piensa que protegen a las lipoproteínas de la oxidación con otros antioxidantes circulantes (Meléndez y col., 2007).

*2.5.3 Pigmento carotenoides de Chile (*Capsicum annum*).*

Además del uso tradicional de los chiles secos por diferentes pueblos indígenas de México, actualmente se utilizan ampliamente en la industria de los cosméticos y los alimentos. El chile rojo en polvo contiene cantidades altas de capsantina y se emplea en la avicultura como alimento para gallinas con el propósito de obtener un intenso color amarillo en la yema de los huevos y en la piel de las aves (Jaramillo y col., 2010).

2.5.4 Tipos de pigmentos y propiedades.

En los chiles secos (*C. annum*) la capsantina es el principal carotenoide y representa hasta el 60% del peso total. Se encuentra en el chile junto con otros carotenoides como la capsorubina en los frutos rojos bien maduros y en el pimentón. La capsantina presenta propiedades antioxidantes, que ayuda al organismo a liberarse de los radicales libres y ejerce una función anti-cancerígena al inhibir el crecimiento de células cancerosas (Raju y col., 2010).

2.5.5 Usos industriales del chile como pigmentante.

De los chiles secos se obtiene la oleorresina, que se utiliza en la preparación de carnes frías y embutidos, así como en la industria farmacéutica para la producción de pigmentos colorantes para lápices labiales y polvos faciales, entre otros. La oleorresina es una mezcla más o menos fluida de resina y aceite esencial que se descompone en pigmentos carotenoides que son importantes, ya que brindan la coloración a los propios chiles. Su color, varía desde el amarillo pálido, pasando por anaranjado, hasta el rojo oscuro, y se

encuentra directamente relacionado con su estructura química. Los enlaces dobles de carbono-carbono interactúan entre sí en un proceso llamado conjugación. Mientras el número de enlaces dobles conjugados aumenta, la longitud de onda de la luz absorbida también lo hace, dando al compuesto una apariencia más rojiza. Cada vez más en la industria alimentaria se utiliza como colorante por sus propiedades surfactantes (FAO, 2006).

En general, los chiles picantes se pueden clasificar en dos grupos: a) frutos largos y carnosos que pertenecen a la variedad de *C. annuum*, b) frutos pequeños que pertenecen a la variedad de *C. minimum*. Están compuestos de un gran porcentaje de agua, en promedio un 74.3%. El contenido de proteína es de 2.3%, y el de los carbohidratos de 15.8%; otros de los componentes son las vitaminas y los minerales. En la actualidad, se utilizan diversas técnicas para la extracción de oleorresinas; la más reciente es la extracción con fluidos supercríticos, pero la más común es la extracción con solventes, tradicionalmente con hexano. Sin embargo, el calor y la luz favorecen la degradación de los carotenoides por isomerización o rompimiento de las moléculas que hace que se pierdan las propiedades nutricionales, farmacológicas y colorantes (Olivera, 2014).

2.5.6 Investigaciones realizadas en salmónidos con carotenoides.

Akhtar y col. (1999), alimentaron a la trucha arco iris *O. mykiss* con dietas suplementadas con cantaxantina, extracto de *C. annuum* y el acetato de α -tocoferol y encontraron que la cantaxantina se absorbió de manera más eficiente en la carne de la trucha arco iris que los carotenoides de *C. annuum*. Con el aumento de la pigmentación disminuyó la luminosidad (L^*) y se observó un aumento del color rojo (a^*) en el músculo. La cantaxantina produjo un color rojo-rosa más deseable. La deposición de α -tocoferol en el hígado y el músculo se incrementó con el aumento en la dieta del acetato de α -tocoferol.

White y col. (2003), estudiaron el grado de esterificación de los carotenoides y su influencia en la absorción de la astaxantina en la trucha arco iris (*O. mykiss*), para ello utilizaron organismos con peso menor a 200 g y evaluaron la absorción de la astaxantina de dietas suplementadas con astaxantina no esterificado; monoésteres y diésteres de astaxantina. En

el estudio no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$) con respecto a los coeficientes de digestibilidad aparente (ADC) entre las distintas fuentes de astaxantina. Sin embargo, el consumo de alimento, los niveles séricos máximos de astaxantina a las 32 h (1.0-1.6 mg/ml) fueron significativamente mayores ($P < 0.05$) en los peces alimentados con la astaxantina esterificada y los monoésteres de astaxantina, en comparación con los peces alimentados con la astaxantina diéster. También, reportaron que no hubo diferencia significativa ($P > 0.05$) con relación a las tasas de absorción de la astaxantina en el suero de la sangre entre las distintas fuentes de astaxantina. Los resultados sugieren que el grado de esterificación del carotenoides influye negativamente en los niveles séricos del pico de la astaxantina en la trucha arco iris.

Yanar y col. (2005), valoraron el efecto de varias fuentes de carotenoides en la pigmentación, en las propiedades sensoriales y la composición de ácidos grasos en la trucha arco iris (*O. mykiss*) utilizando truchas con un peso promedio de 120.51 ± 0.75 g. Las truchas fueron alimentadas con dietas que contenían 1.8% de flor de cempasúchil, 5% de chile y 70 mg de astaxantina por kg de alimento comercial como grupo control. El tiempo de experimentación fue de 60 días. Los resultados indicaron que la astaxantina comercial (Carofil rosa) proporcionó más acumulación de carotenoides ($P < 0.05$), seguido del chile y la flor de cempasúchil. Las fuentes de carotenoides en la dieta no afectaron significativamente la composición de ácidos grasos en el filete de la trucha.

Ingle de la Mora y col. (2006), evaluaron el efecto de extractos de chile rojo (*C. annuum*) en la pigmentación del músculo de la trucha arco iris (*O. mykiss*) en comparación con la astaxantina. Evaluaron cinco dietas experimentales con 161 truchas (150 ± 14 g), durante seis semanas. La tasa de alimentación fue del 3% de la biomasa diaria. Se determinó el crecimiento, la calidad del agua del sistema, el color del músculo, las diferencias de color, el contenido de carotenoides totales, el porcentaje de retención y la evaluación visual del color. Los resultados indicaron que los valores promedio de los parámetros de color presentaron diferencias estadísticamente significativas entre el filete fresco y el molido y aplanado. En el estudio afirman que es factible utilizar el extracto de chile rojo en una concentración de 120 mg/kg de alimento.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Vergara y col. (2007), evaluaron la eficiencia de pigmentación de la capsantina en el músculo de trucha arco iris (*O. mykiss*), en niveles de 0.8, 1.2 y 1.6 % en el alimento, comparando con 0.4% de Carofil rojo como tratamiento testigo. En el estudio se apreciaron visualmente el color del músculo con la escala colorimétrica Roche. Utilizaron truchas en la fase de ceba; los parámetros registrados fueron el peso total, la talla total y el consumo de alimento. Los resultados acerca del color del músculo de la trucha después de 45 días de evaluación mostraron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) en los niveles de capsantina, donde el mejor nivel es la dieta que contiene el 1.6%.

Hynes y col. (2008), en su estudio dan a conocer la eficiencia con que se utiliza la astaxantina del aceite de *Calanus* en la coloración de la carne del salmón del Atlántico (*Salmo salar*), en el estudio los salmones tenían un promedio de peso total de 309 g y se mantuvieron a 7.9°C alimentados con dietas de 20 a 60 mg de astaxantina por kg de alimento, derivada de una fuente sintética y de aceite de *Calanus* durante un periodo de 181 días. Además de evaluar el crecimiento y la alimentación, la carne de pescado fue sometida a análisis de color y determinación de la concentración de astaxantina a los 81 y 181 días. El crecimiento y rendimiento productivo no varió entre los grupos. Se observaron diferencias significativas en la cantidad de astaxantina en el músculo entre casi todos los grupos, tanto en el día 81 ($P < 0.05$) como en el día 181 ($P < 0.001$). El aceite de *Calanus* sirvió como una fuente de pigmentos en la dieta natural para el salmón cultivado, su nivel de inclusión fue de 60 mg de astaxantina por kg de alimentación, para lograr la coloración semejante a la preferida por el mercado.

Choubert (2010), en un bioensayo donde utilizó a la trucha arco iris con un peso inicial promedio de 160 g durante 42 días, incluyó dietas con astaxantina y cantaxantina. Estudió el color del músculo y la retención muscular de los carotenoides. En cuanto a la retención muscular de los carotenoides, se observó que a medida que el nivel de cantaxantina en la dieta aumenta, la retención de carotenoides totales en el músculo disminuye.

Amar y col. (2012), abordaron un estudio para conocer la resistencia de la trucha arco iris (*O. mykiss*) al virus de la Necrosis Hematopoyética Infecciosa (NHI) en una infección

experimental tras la ingestión de carotenoides naturales y sintéticos. En la investigación se suministraron 100 mg carotenoides por kg de la dieta base durante seis semanas. Las fuentes sintéticas ensayadas fueron: β -caroteno, astaxantina y cantaxantina, mientras que las fuentes naturales fueron: *Dunaliella salina*, *Phaffia rhodozyma*, *Tagetes erecta*, y *Capsicum annum*. En las variables de desempeño del crecimiento y alimentación, no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$). Posteriormente, los peces fueron desafiados ante una cepa del virus NHI, mediante inmersión en concentraciones de 2×10^3 y 2×10^4 diluidas en 50 ml de agua destilada. Se registró la mortalidad acumulada durante un período de 30 días en la que no se observó diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$) entre los tratamientos con la dosis viral alta. Sin embargo, a la dosis viral más baja, la mortalidad se redujo notablemente en aquellos peces alimentados con astaxantina (22%). Este grupo presentó el mayor porcentaje de sobrevivencia (58%), que fue significativamente diferente al control ($P < 0.05$). Este estudio puso de manifiesto la influencia de los carotenoides para mantener la salud del pez y su resistencia a las enfermedades.

Ornsrud y col. (2013), observaron que la vitamina A en dosis elevadas es un factor de riesgo de deformidades en los huesos, y la ingesta alimentaria de esta vitamina no debe exceder de 37 mg por kg de peso corporal.

Teimouri y col. (2013), evaluaron los efectos de las dietas que contenían 0, 2.5, 5, 7.5 y 10% de harina de *Spirulina platensis* y 50 mg de astaxantina sintética en la piel, filete y en el desempeño de crecimiento en la trucha arco iris (*O. mykiss*). La inclusión de 10% de *S. platensis* como fuente pigmento natural dio como resultado la deposición de carotenoides más alta en ambos tejidos. Igualmente para los valores de a^* (rojo) y b^* (amarillo) en el filete de pescado. Sin embargo, en la piel el valor más alto de pigmentación se encontró para los peces alimentados con la astaxantina sintética. Al aumentar en la dieta control los niveles de harina de *S. platensis* aumentó significativamente la luminosidad (L^*), el croma (C^*) y el tono (H^{o*}) tanto en la piel como en el filete, en comparación con la alimentación con otras dietas. Los resultados obtenidos demostraron que *S. platensis* puede introducirse

como una fuente de carotenoides naturales y como una alternativa para sustituir la astaxantina sintética en las dietas de trucha arco iris.

Saez y col. (2014), suministraron en dietas experimentales tres niveles de harina de gluten de maíz y un tratamiento testigo con astaxantina sintética. Evaluaron los parámetros de desempeño en el crecimiento y la pigmentación de filete. Los resultados mostraron que la inclusión de harina de gluten de maíz no presentó diferencias significativas ($P > 0.05$) y no afectó la ganancia de peso. La concentración de carotenoides mostró diferencias significativas ($P < 0.05$) a favor de astaxantina. Se demostró que la inclusión de harina de gluten de maíz puede afectar negativamente si excede los valores del 9%.

Safari y col. (2015), evaluaron los efectos de cinco niveles de harina de semilla de achiote sobre el contenido de carotenos en la sangre, color del filete y la estabilidad de los carotenos en 0, 7 y 14 días de refrigeración y 6 y 12 meses de congelación. Obtuvieron una relación significativa ($P < 0.05$) entre el peso final y la tasa específica de crecimiento. Los parámetros de color (L^* , a^* y b^*) presentaron igualmente diferencias significativas al correlacionarlos con la cantidad de carotenoides en la sangre. No se presentaron diferencias estadísticas significativas de la cantidad de carotenos y los tiempos de refrigeración (4°C). Si se presentaron diferencias significativas con relación a cantidad de carotenoides y tiempos de congelación. Los resultados obtenidos en esta investigación muestran que las dietas adicionadas con harina de semilla de achiote presentaron efectos positivos en la cantidad de carotenoides en sangre, color y estabilidad del filete de la trucha arco iris.

Valente y col. (2015), evaluaron los efectos de dos niveles de inclusión en las dietas de la harina de la macro alga *Gracilaria vermiculophylla* en trucha arco iris, sobre parámetros de desempeño y las características y composición química de filete (humedad, proteína, lípidos y vitamina E), atributos sensoriales y parámetros de color. Los peces alimentados con la harina de ésta alga presentaron más luminosidad (L^*), menos amarillamiento (b^*) y más enrojecimiento (a^*) que el tratamiento control. Los autores afirman que la inclusión de harina de la macro alga *G. vermiculophylla* en dietas para trucha arco iris hasta en un 5% se considera benéfico para incrementar el valor nutricional de la trucha.

2.6. Los probióticos.

2.6.1 Generalidades.

Brunt y col. (2008), afirman que el concepto original de probióticos fue formulado en referencia a los microorganismos vivos utilizados como suplementos alimenticios, que mejoran la salud del hombre o de los animales.

Los probióticos son capaces de antagonizar con los patógenos, colonizar el tracto gastrointestinal, e incrementar la resistencia del hospedero a las enfermedades. Los probióticos están relacionados con las aplicaciones de carácter nutricional y sanitarias (Farzanfar, 2006).

2.6.2 Los probióticos en la acuicultura.

Los probióticos se usan en las prácticas acuícolas desde hace mucho tiempo, pero en los últimos años se han convertido en una parte integral de las prácticas de cultivo para mejorar el crecimiento y la resistencia a enfermedades. El intervalo de los probióticos estudiados para el uso acuícola es más amplio que en el ámbito terrestre. Numerosos suplementos de probióticos, tanto mono-específicos como multi-específicos están disponibles comercialmente para su uso acuícola. Además de los beneficios nutricionales y sanitarios, ciertos probióticos al añadirse al agua, pueden desempeñar un papel importante en la descomposición de la materia orgánica, reducir los niveles de nitrógeno y fosfatos, así como controlar los niveles de amonio, nitritos y sulfuro de hidrógeno (Balcázar y col., 2006).

Un gran número de microorganismos han sido identificados como probióticos para las prácticas acuícolas, muchos de ellos, con diferentes modos de acción. Hay, sin embargo, algunos mecanismos de acción comunes en la mayoría de las cepas probióticas. Los probióticos ayudan a la conversión del alimento, promoviendo el aumento de peso y confieren protección frente a patógenos al competir por los lugares de adhesión, producir ácidos orgánicos y otros compuestos como antibióticos o lisozima, además de modular la respuesta inmune innata del pez (Farzanfar, 2006).

2.6.3 Efectos de los probióticos en la nutrición.

Durante las últimas décadas hay un interés en incrementar los niveles de lípidos insaturados en los peces cultivados. Se ha demostrado que la incorporación en la dieta de las células vivas de probióticos, incrementa los niveles de ácido linoleico en el hígado, respecto a aquellos individuos que reciben una dieta control o bien son alimentados con dietas suplementadas con células liofilizadas de los probióticos. Los ácidos grasos son fundamentales para la regulación del sistema inmune, así como para un correcto desarrollo. Estos resultados subrayan la necesidad de la utilización de células frescas de los probióticos en lugar de células liofilizadas para conseguir un mejor efecto (Balcázar y col., 2006).

Melgar y col. (2013), afirman que los probióticos se definen como un suplemento alimenticio compuesto de microorganismos vivos, que son capaces de mejorar el balance intestinal del huésped. Sin embargo, en los sistemas acuícolas la interacción entre la microbiota y el huésped, no se limita al tracto digestivo, por lo que hoy en día esta definición es más amplia, incluyendo además a cualquier preparado de microorganismos vivos o muertos que ejerzan efectos positivos sobre los animales o el medio en el que se cultivan. El uso de los probióticos en la acuicultura se ha incrementado en los últimos años debido a sus efectos benéficos, como el incremento de la tasa de crecimiento y la conversión del alimento, la disminución del crecimiento de microorganismos patógenos, la mejora del sistema inmune o bien el aumento de la tolerancia al estrés.

2.6.4 Los probióticos en los salmónidos.

Brunt y col. (2008), afirman que la formulación correcta de los probióticos es importante para asegurar un crecimiento óptimo y saludable, pero otros factores como la higiene en la granja y la prevención de enfermedades en general, también siguen siendo igualmente importantes para alcanzar el desarrollo deseado. La utilización de los probióticos demuestra que reduce las malformaciones en los peces. Las pruebas también indican un impacto positivo, por ejemplo, disminuye el riesgo de gastroenteritis, que produce alta mortalidad, que ha tenido su mayor brote en varios países europeos en los últimos años. Igualmente reduce el riesgo de deformidades también conocido como síndrome de compresión vertebral en los salmónidos. El síndrome de compresión vertebral es un importante

problema que conduce a reducir el bienestar del pez ya que provoca una alta mortalidad y pérdidas económicas. El autor también recomienda que con el fin de lograr mejores resultados los probióticos deban utilizarse desde la primera alimentación.

Balcázar y col. (2007), analizaron el efecto de las cepas de probióticos en la respuesta inmune celular y humoral de la trucha arco iris (*O. mykiss*) y su capacidad para prevenir la forunculosis. En una prueba de desafío, se administró por vía oral durante dos semanas en una proporción de 2×10^6 UFC en alimento balanceado comercial. Las cepas probióticas valoradas fueron *Lactococcus lactis ssp, Lactis* CLFP 100, *Leuconostoc mesenteroides* CLFP 196 y *Lactobacillus sakei* CLFP 202. Se incluyó también un tratamiento control, al que no se suministró probióticos. Se observó que la actividad fagocítica de los leucocitos fueron significativamente mayor en todos los grupos de probióticos al final de la segunda semana. Los peces fueron desafiados con *Aeromonas salmonicida*. Los peces suplementados con probióticos alcanzaron tasas de sobrevivencia que fueron desde 97.8 al 100%, mientras que la sobrevivencia fue de 65.6% en los peces no tratados con los probióticos. Estos resultados demuestran que la suplementación de probióticos para los peces puede reducir la gravedad de la forunculosis.

Gisbert y col. (2013), evaluaron los efectos de la suplementación alimenticia con los *Bacillus cereus vartoyoi* en trucha arco iris durante la fase de juvenil, en una proporción de 2×10^4 UFC/ g, durante 93 días a 13°C. Los resultados indicaron que la inclusión de los probióticos en la dieta promovieron el crecimiento, el cambió de la micro-flora intestinal, así como el aumento del número de células caliciformes y altura de las vellosidades, mientras que no afectó la actividad específica de las enzimas digestivas. Por lo tanto afirman los autores que, la inclusión de estos probióticos en dietas para la trucha arco iris puede ser beneficiosa en términos de producción.

Tukmechi y col. (2011), evaluaron tres dietas frente a una dieta control, Los tres suplementos nutricionales fueron: células enteras de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*), levadura enriquecida-HUFA y células de levadura tratadas con β -mercaptoetanol (2ME). Las variables a evaluar fueron la inmunidad, los parámetros de crecimiento y una prueba de

desafío bacteriano con *Yersinia ruckeri*. Los resultados mostraron que la administración de suplementos de levadura en todos los tratamientos, promovió significativamente el desempeño del crecimiento en comparación con el grupo control. Se observó que una dieta suplementada con levadura tratada con 2ME estimula el sistema inmune y el crecimiento de la trucha arco iris aumentando su resistencia contra *Y. ruckeri*.

Ramos y col. (2015), evaluaron el efecto de los probióticos comerciales sobre los parámetros de desempeño, la inmunidad innata y la morfología intestinal en la trucha arco iris (*O. mykiss*) en la fase juvenil. Midieron el crecimiento, la respuesta inmune (lisozima plasma, ACH50, peroxidasa), la composición corporal y la morfología del intestino. Los resultados demostraron que la dosis más baja de múltiples especies mejoró la tasa de crecimiento, mientras que dos tipos de probióticos mejoraron la tasa de conversión del alimento en comparación con el control. La actividad de la lisozima fue mayor en los peces alimentados con los probióticos en comparación con la dieta control. La longitud de las vellosidades, la integridad y el recuento de células caliciformes de una sección transversal del intestino anterior no fueron significativamente diferentes entre los tratamientos. Los resultados demostraron los beneficios en el rendimiento zootécnico y la respuesta humoral inmune utilizando los probióticos evaluados.

Sealey y col. (2015), formularon seis dietas de tipo comercial para trucha arco iris con 42% de proteína digestible y 20% de lípidos, suplementada con grano seco de levadura de destilería (GDDY) en una cantidad de 0, 6, 9, 12, 15, y 18% reemplazando todas las fuentes de proteínas dietéticas, excepto la harina de pescado. En un segundo ensayo, evaluaron cuatro dietas a base de proteína vegetal utilizando 0, 9, 12, y 15% de suplemento de GDDY. Los resultados demostraron que la tasa de inclusión de GDDY no afectó el crecimiento ni la conversión alimenticia. Con base en estos resultados los autores concluyeron que el grano seco de levadura de destilería se puede incluir en dietas de tipo comercial para la trucha arco iris hasta en un 18% y en dietas de origen vegetal hasta un 15%.

2.7 Estrés térmico.

La temperatura del agua es el factor ambiental más importante que está relacionado de manera estrecha con la tasa de crecimiento de los peces. El aumento de la temperatura durante el verano en las regiones donde se cultivan los salmónidos es un fenómeno que se está viviendo alrededor del mundo y por el momento se convierte en un nuevo reto para la producción. Una manera para evaluar el efecto de las altas temperaturas en los salmónidos es investigar acerca de los nutrientes más efectivos para prevenir el estrés y la muerte de éstos peces (Amin y col., 2014). Todos los peces son poiquiloterms y el incremento de la temperatura del agua causa un incremento exponencial en la tasa metabólica y la demanda de energía en el organismo (Barnes y col., 2011). Dado que los peces consumen alimento para satisfacer sus necesidades de energía, a temperaturas elevadas consumen mayor cantidad para satisfacer su demanda metabólica, hasta que llega a un punto en donde se inhibe el apetito (Jobling, 1997).

Cuando la temperatura aumenta de manera rápida, los peces incrementan su movilidad y ritmo respiratorio, posteriormente sobreviene la "pérdida de equilibrio" caracterizada por una arritmia respiratoria y la falta de coordinación motriz y a los pocos minutos mueren, este punto se reconoce cuando hay un cese total de los movimientos operculares. Cualquiera de éstos dos puntos, ya sea la pérdida de equilibrio o la muerte, pueden considerarse como el "máximo térmico crítico" (Gómez, 2014).

2.7.1 Algunas investigaciones referentes a estrés térmico en salmónidos.

Kieffer y col. (2009), diseñaron un experimento para examinar los efectos de diversos desafíos de temperatura, el consumo de oxígeno, la excreción del amoníaco y la utilización de las proteínas en juveniles de salmón del Atlántico *Salmo salar*. Los peces fueron aclimatados a 15 °C y, posteriormente, dos grupos fueron expuestos aguda y abruptamente, a 20 y 25 °C durante un período de 3 h, un tercer grupo de peces se expuso a un aumento gradual de la temperatura a partir de 15 hasta alcanzar los 20°C durante un período de 3 h. Los cambios a la temperatura aguda (15 a 20°C y 15 a 25°C) causaron de inmediato un aumento en las tasas de consumo de oxígeno disuelto. Por el contrario, cuando la

temperatura se incrementó gradualmente, las tasas de consumo de oxígeno y la excreción de amoníaco se alteraron sólo marginalmente. Cuando los peces fueron expuestos a temperaturas altas el uso de las proteínas en general, se mantuvieron en niveles de pre-exposición (15°C). Se observó un mayor uso de las proteínas en *S. salar* en los grupos de 15 a 20°C y de 15 a 25°C. Estos resultados indican que la magnitud y la tasa de cambio de la temperatura son importantes en la respuesta fisiológica de los salmónidos juveniles.

Kurt Gamperl y col. (2011), evaluaron la respuesta de la trucha arco iris para mantener el gasto cardiaco a altas temperaturas a través de aumentos en el ritmo cardiaco. Para la investigación utilizaron truchas machos y hembras y paulatinamente incrementaron un grado centígrado desde los 12 hasta llegar a los 24 °C. Luego se les inyectó con tres dosis de Zatebradina para reducir la frecuencia cardiaca. Este producto es un agente bradicardico que disminuye la frecuencia cardiaca en los peces sin tener efectos inotrópicos en el miocardio o influir en la resistencia vascular periférica. Los datos obtenidos demostraron que las truchas son capaces de mantener o incluso aumentar el ritmo cardiaco a altas temperaturas, lo que sugiere que el control cardiaco favorece un aumento de la frecuencia cardiaca ya que la temperatura sube y aumenta el gasto cardíaco, para poder satisfacer las demandas metabólicas de los peces. La temperatura máxima alcanzada en la prueba de desafío térmico en trucha arco iris fue de 24°C, a las 42 horas.

Keen y Gamperl (2012), desafiaron a la trucha arco iris a altas temperaturas restringiendo el aumento de temperatura dependiente de la frecuencia cardiaca mediante la inyección con Zatebradina en una cantidad de 1 mg/kg. Los investigadores trabajaron con hembras de 8 y 10 meses de edad. Al inicio del experimento aclimataron a los peces a 12°C y de allí fueron aumentando la temperatura paulatinamente a 15°C en una hora, luego en una hora más hasta llegar a 18°C y una hora más hasta llegar a 20°C. Posteriormente, el incremento por hora fue de 1°C hasta que los peces perdieron el equilibrio. La temperatura alcanzada por el grupo al que se inyectó Zatebradina fue de 22.6°C y no presentando diferencias estadísticas significativas ($P > 0.05$) con relación al grupo control.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Amin y col. (2014), evaluaron el efecto de dos temperatura con diferentes niveles de carbohidratos y lípidos en el crecimiento, la eficiencia de alimentación y la digestibilidad en la trucha de arroyo *Salvelinus fontinalis*. Los resultados mostraron que la tasa de crecimiento fue más alta en los peces donde la temperatura fue de 15°C. La reducción de aceite de pescado y la adición de carbonatos gelatinizados no afectó el crecimiento en ambas temperaturas. El coeficiente de digestibilidad de los nutrientes y la energía fueron altos en los grupos con temperaturas de 15°C. Al utilizar los carbohidratos gelatinizados en la dieta no se reportaron entre los tratamientos patologías, cambios en el hígado o anomalías intestinales.

Wijekoon y col. (2015), evaluaron el efecto del cambio de temperatura sobre la composición de ácidos grasos del músculo en juveniles de trucha arco iris. En la investigación sustituyeron completamente el aceite de pescado (aceite de arenque) por aceite de linaza y aceite de girasol. Se incrementó la temperatura de 10.0 a 18.0°C. El análisis de lípidos de la dieta control mostró que era rico en ácidos grasos como el docosahexaenoico (DHA, 22: 6ω3), eicosapentaenoico (EPA, 20: 5ω3) y ácido docosapentaenoico (DPA, 22: 5ω3). En contraste, el tratamiento con el aceite de linaza fue rico en ácido linolénico (ALA, 18: 3ω3) y el tratamiento con aceite de girasol en ácido linoleico (LA, 18: 2ω6). Tanto la dieta como la temperatura no tuvieron ningún efecto significativo sobre el crecimiento, pero si se observaron efectos significativos en la composición de los ácidos grasos del músculo. La proporción de ácidos grasos en la dieta control fue significativamente más alta que en el aceite de linaza y del girasol. La sustitución del aceite de linaza y el aceite de girasol tuvo una influencia negativa directa sobre el músculo, en relación con el ácido eicosapentaenoico que podría ser perjudicial para la salud de los peces, así como también en la calidad del producto final para el consumo humano.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general.

Evaluar el efecto de los carotenoides y probióticos durante la fase de engorde en la trucha arco iris, (*O. mykiss*), adicionados a una dieta basal sobre los parámetros del desempeño del crecimiento, hematológicos, bioquímicos, color del filete, carotenoides totales, así como la respuesta ante pruebas de desafío de estrés por temperatura alta.

3.2 Objetivos específicos.

3.2.1 Evaluar el efecto de los carotenoides, probióticos y la combinación de ambos en dietas experimentales sobre el comportamiento de los parámetros del desempeño del crecimiento.

3.2.2 Evaluar el efecto de los carotenoides, probióticos y la combinación de ambos en dietas experimentales sobre los parámetros hematológicos, bioquímicos, de color y contenido total de carotenoides en el filete de la trucha arco iris.

3.2.3 Evaluar el efecto de los carotenoides, probióticos y la combinación de ambos en dietas experimentales sobre la capacidad de respuesta de la trucha arco iris ante la prueba de desafío por temperatura.

4. JUSTIFICACION

En la actualidad la acuicultura se ha convertido en una de las actividades agropecuarias con mayor expansión y una elevada capacidad de desarrollo a nivel mundial. Una de las especies más representativas dentro de la acuicultura es la trucha arco iris, especie que aunque su origen proviene de Norte América, es cultivada en varias partes del mundo, en regiones con disponibilidad de agua fría. Esta especie ha cruzado fronteras para su comercialización tanto en el engorde, como en las ovas y los reproductores.

Junto con esta expansión el cultivo bajo sistemas intensivos y súper intensivos de la trucha, se ha observado un incremento exponencial del estrés ambiental. Uno de estos aspectos para tratar es el estrés agudo causado, en la mayoría de sus casos, por la elevada temperatura, que por sí misma puede provocar la muerte de un individuo, pero el nivel que la determina es dependiente de la interacción con otros factores. Es conocido, por ejemplo, que las truchas son exigentes en cuanto a los niveles oxígeno disuelto en el agua y que a mayor temperatura es menor la disolución de éste, por lo tanto, en aguas cálidas se agrega una causa de estrés.

En la actualidad la ciencia busca encontrar alternativas que permitan la resistencia de la especie ante factores medio ambientales como las temperaturas elevadas, con cuidado de mantener una producción saludable y ambientalmente sostenible.

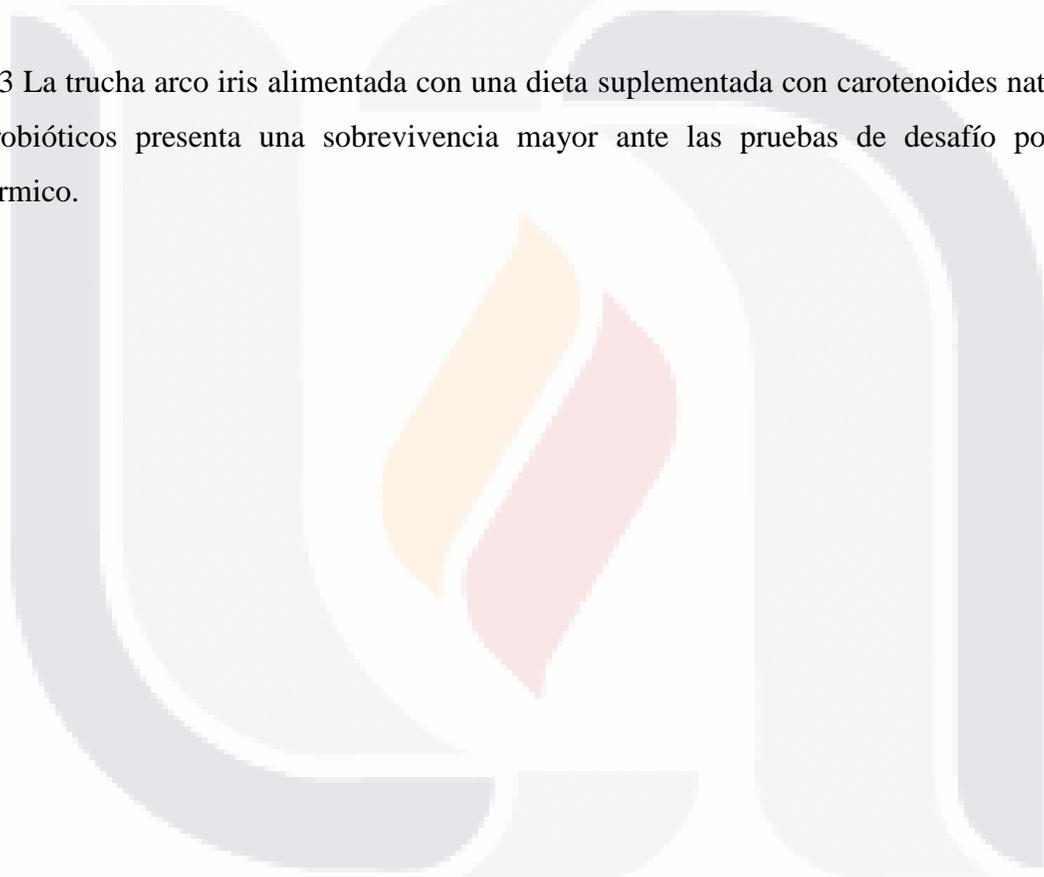
Una propuesta ante esta situación, es la utilización de carotenoides y probióticos, una alternativa que puede ser eficaz debido al incremento de la respuesta inmunitaria de la trucha arco iris. En este contexto, el presente trabajo de investigación está orientado a determinar y comparar los efectos que producen los carotenoides y los probióticos en los parámetros de crecimiento, hematológicos y bioquímicos de la sangre y así mismo evaluar la resistencia de la trucha arco iris ante el estrés agudo propiciado por las altas temperaturas.

5. HIPOTESIS

5.1 La trucha arco iris en su fase de engorde presenta un mejor desempeño en su crecimiento al suministrar una dieta suplementada con carotenoides naturales y probióticos.

5.2 Los parámetros bioquímicos y hematológicos de la trucha arco iris muestran niveles óptimos de respuesta a los carotenoides naturales y probióticos adicionados en la dieta.

5.3 La trucha arco iris alimentada con una dieta suplementada con carotenoides naturales y probióticos presenta una sobrevivencia mayor ante las pruebas de desafío por estrés térmico.



6. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se realizó en la Unidad Acuícola Experimental del Centro de Ciencias Agropecuarias (CCA) de la Universidad Autónoma de Aguascalientes (UAA), ubicado en el municipio de Jesús María, en el estado de Aguascalientes, México (Figura 2).



Figura 2. Unidad Acuícola experimental del Centro de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Aguascalientes.

6.1 Suministro de los peces.

Los organismos de trucha arco iris (*O. mykiss*) fueron obtenidos del Centro de Reproducción e Innovación Acuícola de Michoacán, ubicado en el municipio Pucato, del Estado de Michoacán (Figura 3). La población total de truchas fue de 96 organismos, que fueron transportados a la Unidad Experimental Acuícola (UEA) del Centro de Ciencias Agropecuarias, de la Universidad Autónoma de Aguascalientes.

6.2 Aclimatación.

Las truchas fueron aclimatadas en la UEA durante un mes, en un estanque circular de 3,500 L conectado a un sistema semi-cerrado de recirculación. Previo a la siembra de los peces, se agregó 2.5 g/L de sal de grano de salinas sin iodo en el estanque. Cada ocho días, se

renovó el agua y se revisaron a los organismos para detectar algún problema sanitario. Durante el proceso de aclimatación las truchas fueron alimentadas con una dieta de balanceado comercial marca Nutripec (Purina, México), con un contenido de 42% de proteína, 10% de grasa, 3.0% de fibra, 10.3% de cenizas y 22.7% de extracto libre de nitrógeno. El tamaño del pienso suministrado fue de 4.8 mm.



Figura 3. Centro de Reproducción e Innovación Acuícola de Pucuoato, Michoacán.

6.3 Diseño experimental.

Al finalizar el periodo de aclimatación las truchas fueron introducidas al sistema experimental que consistió en cuatro tratamientos conformados de la siguiente manera: a) tratamiento testigo (AB) con alimento balanceado; b) tratamiento AB+P, que incluyó alimento balanceado más probióticos; c) tratamiento AB+C, con alimento balanceado más extracto no saponificado de *C. annuum*; d) tratamiento AB+C+P, con alimento balanceado más extracto no saponificado de *C. annuum* más probióticos.

En la Tabla 1, se especifica la unidad experimental, las variables evaluadas y la técnica específica utilizada para medir cada variable.

Tabla 1. Unidad experimental y variables evaluadas y técnica de soporte.

Unidad experimental	Variables de respuesta	Variables	Bibliografía
Cuatro estanques (24 peces por estanque).	1. Desempeño del crecimiento.	a) Peso total (g). b) Longitud total (cm). c) Factor de conversión de alimento. d) Factor de condición. e) Color de filete. f) Concentración de carotenoides en filete.	Gulland, 1971 Noeske y Spieler, (1984). Mora de la Ingle y col. (2006). Lee y Lee, (2008).
	2. Parámetros hematológicos y bioquímicos	a) Eritrocitos. b) Leucocitos. c) Trombocitos. d) Proteína total. e) Albumina. f) AST g) ALT	Gendler, y Kaplan, (1984). Murray (1984).
	3. Capacidad de respuesta ante las pruebas de desafío en las dietas experimentales	a) Mortalidad. b) Tiempo.	En este trabajo.

AST = Aspartato aminotransferasa, ALT = Alanino transferasa.

6.4 Análisis estadístico.

Para evaluar los resultados de las variables del desempeño del crecimiento, los parámetros hematológicos, bioquímicos, de color y contenido total de carotenoides en el filete y el desafío de la temperatura, se aplicó un diseño de tipo factorial. La unidad experimental fue cada una de las truchas dentro de cada uno de los estanques (Tabla 2). Antes del análisis factorial se realizaron pruebas de homocedasticidad de varianza de los cuatro estanques, las variables hematocrito y sobrevivencia expresadas en porcentaje (%) se transformaron a

arco-seno para cumplir con el principio de normalidad de la muestra. Todos los análisis fueron realizados con el programa STATISTICA versión 7 (StatSoft, Chicago, EE.UU) y se utilizó el análisis de varianza (ANDEVA) de dos vías y la prueba *a posteriori* de Tukey HSD. También se analizaron las correlaciones de Pearson entre las variables de color y carotenoides totales. En todas las pruebas se consideró una significancia de $P < 0.05$.

Tabla 2. Diseño factorial del experimento.

Tiempos de muestreo	Tiempo 0	Tiempo 1	Tiempo 2
Días de cultivo.	0	22	45
Variables evaluadas.	No. de peces por tratamiento.		
Desempeño del crecimiento.	24	20	20
Coloración de filete y contenido total de carotenoides	4		4
Parámetros hematológicos y parámetros bioquímicos.	4		4
Prueba de desafío estrés térmico.			4

Los diseños factoriales por variable fueron los siguientes:

a) Desempeño del crecimiento. Se trabajó la muestra total de cada tratamiento y la toma de datos se hizo en tres tiempos a los 0, 22 y 45 días del experimento. Se registró el peso total en g y la longitud total en cm. El diseño factorial para las variables de crecimiento fue de 4 x 3. Cuatro tratamientos por tres tiempos.

b) Coloración de filete. Se tomaron como muestra el filete de cuatro individuos de cada tratamiento, los tiempos a evaluar fueron a los cero y 45 días. El color se midió de acuerdo con la escala de CIE (L^* , a^* , b^* , C^* y H^{0*}). El diseño factorial para la variable de coloración de filete fue de 4 x 2. Cuatro tratamientos por dos tiempos.

c) Contenido total de carotenoides (CTC). Se tomaron como muestra los filetes de cuatro individuos de cada tratamiento, los tiempos a evaluar fueron a los cero y 45 días. La medida de evaluación fue la concentración de CTC en miligramos de carotenoides por kg

de filete. El diseño factorial para la variable CTC totales fue de 4 x 2. Cuatro tratamientos por dos tiempos.

d) Parámetros hematológicos y bioquímicos. Se trabajó con cuatro individuos por cada tratamiento y la toma de datos fue en dos tiempos, a los cero y 45 días. El hematocrito se valoró como porcentaje, el número de eritrocitos, leucocitos y trombocitos, se determinó de acuerdo al número de células por microlitro (cél/ μ L). La proteína total y la globulina se determinaron en gramos por decilitro (g/dL). El aspartato aminotransferasa (AST) y la alanino transferasa (ALT), se reportaron en unidades internacionales por litro (UI/L). El diseño para estas variables fue factorial de 4 x 2. Cuatro tratamientos por dos tiempos.

e) Prueba de desafío con temperatura. Se realizó al final de experimento, se tomaron cuatro peces por cada tratamiento y se trasladaron al estanque de desafío, se registró el tiempo y la temperatura hasta la muerte de las truchas.

6.5 Descripción del sistema experimental.

El sistema experimental consistió de cuatro estanques circulares cubiertos de geomembrana de polietileno de alta densidad con un espesor de 0.75 mm, y una capacidad de 3,500 L cada uno (Figura 4).



Figura 4. Vista general del sistema experimental.

El agua que surtió a los estanques de cultivo provino de la red hidráulica que surte al CCA. Previamente, el agua fue almacenada en cuatro tanques rectangulares de geomembrana, con una capacidad total de 6,000 L (Figura 5). El agua fue tratada con anticloro (10 ml/L) y dejada reposar por 24 h. Posteriormente, fue enviada a los estanques de cultivo por medio de una manguera de 2 pulgadas de diámetro por 20 m de largo, conectada a una bomba sumergible de acero inoxidable marca SPERONI de 1 hp y con una capacidad de descarga de 1.25 pulgadas. La cantidad de agua depositada en cada estanque experimental fue de 2,500 litros (Figura 6).



Figura 5. Sistema de reservorio.



Figura 6. Estanques experimentales.

Una vez llenos los estanques de cultivo, se procedió a instalar el sistema de semi-recirculación en cada uno de los estanques de manera independiente. Este sistema para su funcionalidad estuvo conformado por los siguientes elementos (Figura 7).



Figura 7. Sistema de recirculación semi-cerrado.

- a) Una bomba marca Evans con motor eléctrico, con potencia de 0.50 hp, 1.25 pulgadas de diámetro de succión y un diámetro de descarga de una pulgada.
- b) Un tubo en PVC de 1 pulgada de diámetro, dimensiones (1.50 m x 0.80 m) que llevó el agua hacia la bomba. En la parte de contacto con el agua se colocó una válvula chek (pichancha). El espacio sumergible del tubo dentro del estanque fue de 10 cm (Figura 8).
- c) Un tubo en PVC con dimensiones (0.20 m x 1. 20 x 1.0 m) que llevó el agua desde la bomba hasta nuevamente al estanque, la terminación de esta tubo fue a manera de tubo Venturi o “pico de pato” que permitió una mayor ganancia de oxígeno disuelto en el agua. El caudal generado en este sistema en cada uno de los estanques fue de 60 litros por minuto (Figura 9).



Figura 8. Tubo de succión del sistema semi-cerrado de recirculación.



Figura 9. Tubo de descarga del sistema semi-cerrado de recirculación.

d) Adicionalmente se dispuso dos aireadores eléctricos, cada uno con una máxima presión de 7.2 psi marca Sweetwater modelo SL94A (Figura 10). Éstos equipos presentaron dos tomas de aire para cada estanque, que consistieron en mangueras que en su extremo disponían de piedras aireadoras para incrementar la generación de oxígeno dentro del estanque (Figura 11).



Figura 10. Aireación del sistema semi-cerrado de recirculación.



Figura 11. Piedras aireadoras del sistema semi-cerrado de recirculación.

En cada uno de los estanques experimentales se colocaron 24 truchas con un peso promedio de 196.0 ± 8.83 g, teniendo un total de 96 truchas para los cuatro estanques. El tiempo de experimentación fue de 45 días. La densidad de siembra para cada estanque fue de ocho peces por m^3 .

6.6 Calidad del agua.

Dos veces al día durante los 45 días que duró el tiempo experimental, en los estanques de cultivo se midió la concentración de oxígeno disuelto y la temperatura del agua con un oxímetro YSI 550A (Yellow Spring Instruments, Ohio, USA) (Figura 12), y semanalmente el pH mediante un equipo Waterproof pHtest 20 (Okaton Instrument, USA) (Figura 13). Además, el nitrógeno amoniacal total (NAT) y los nitratos (N-NO_3^-) con un equipo multiparámetros fotométrico para la acuicultura, marca Hanna modelo HI 83203 (Figura 14). También, la dureza total y alcalinidad total con las tiras reactivas de prueba sensibles SteriChek.

Los datos obtenidos se vaciaron en una hoja de cálculo Excel y el comportamiento de los parámetros físico-químicos registrados se encontró dentro de los intervalos normales para el manejo de trucha arco iris en su fase de engorde (FAO, 2005).



Figura 12. Oxímetro YSI modelo 550A.



Figura 13. Waterproof pHtest 20.



Figura 14. Equipo multiparámetros fotométrico para acuicultura.

Los niveles promedio del oxígeno disuelto en el agua en las horas de la mañana, fueron de 7.4 ± 0.51 mg/L y en la tarde de 8.5 ± 0.57 mg/L respectivamente. La temperatura promedio en el tiempo experimental fue de 14.7 ± 1.50 °C.

Por su parte el pH presentó un valor promedio de 8.9 ± 0.25 . Para el caso de los nitratos (N-NO_3^-) el valor promedio fue de 1.1 ± 0.64 mg/L que es menor al reportado como máximo permitido para el cultivo de la trucha arco iris que es de 20 mg/L. El nitrógeno amoniacal total (NAT) registró una media de 0.50 ± 0.28 mg/L, cantidad menor a la que puede tolerar la trucha arco iris que es 2 mg/L. El amoniaco (NH_3) registró un valor medio de 0.08 ± 0.07 mg/L que corresponde al valor límite de tolerancia para esta especie (FAO, 2005).

Con relación a la dureza total el agua utilizada en la experimentación se encontró dentro de los niveles óptimos que van de 70 a 500 mg/L. En este experimento la media fue de 120 mg/L que se ubica dentro de la categoría de aguas duras. La alcalinidad total registró un valor promedio de 174.04 ± 39.6 mg/L (Tabla 3).

Tabla 3. Promedio de los parámetros químicos registrados durante las siete semanas de experimentación.

Semanas	pH	Nitratos (N-NO ³⁻) (mg/L)	NAT (mg/L)	NH ₃ (mg/L)	Alcalinidad total (mg/L)	Dureza total (mg/L)
1	8.45	1.01	0.19	0.01	207.85	120.0
2	8.92	0.37	0.66	0.09	240.00	120.0
3	9.20	0.85	0.80	0.21	180.00	120.0
4	8.92	0.64	0.39	0.06	193.42	120.0
5	8.90	1.88	0.91	0.13	120.00	120.0
6	9.05	1.89	0.38	0.09	193.42	120.0
7	9.22	2.89	0.62	0.18	120.00	120.0
Media	8.95	1,11	0.50	0.08	174.04	120.0
DE	0.25	0.64	0.28	0.07	39.59	0.0

DE = Desviación estándar.

6.7 Preparación de las dietas experimentales y la alimentación.

6.7.1 Obtención de la oleorresina no saponificada.

Antes de iniciar el proceso para la obtención de la oleorresina, se determinó el grado de picor del chile. Para ello, se utilizó la técnica de cromatografía en capa fina descrita por Götz y col. (1980). La pungencia obtenida fue de 166,000 unidades de calor Scoville, SHU, medida que valora la cantidad de compuestos capsaicinoides (Collins, 1994). Según la escala de Scoville el chile rojo ancho se encuentra en los intervalos altos de picor y se ubica en la escala, en el nivel del chiltepín y piquín (Ritesh y col., 2000).

6.7.2 Estandarización de la técnica para la obtención de oleorresina no saponificada del Chile ancho *C. annuum*.

Para estandarizar la técnica más conveniente para la obtención de la oleorresina no saponificada, se ensayaron las siguientes técnicas: a) Golfish más solvente hexano (Nielsen, 2003); b) Centrifugación de acuerdo con Pearson (1993); c) Soxhlet más solvente etanol (Borges, 1997) y d) Soxhlet más solvente hexano (Borges, 1997).

Después de cada uno de los ensayos se descartó la técnica Golfish, debido a que el producto obtenido en un tiempo de cuatro horas presentó deterioro en la calidad de pigmento debido al alto grado de temperatura que alcanza el equipo. Con la técnica de centrifugación se obtuvo una buena calidad de pigmento pero se observó que en el filtro de materia seca decolorada queda gran excedente de pigmentos. De igual manera sucedió en la técnica de Soxhlet más solvente etanol. De tal manera que la última técnica fue la seleccionada por ser la más eficiente.

Para corroborar lo anteriormente expresado, cada una de las técnicas se evaluó de forma semi-cualitativa, utilizando para ello el método de cromatografía en capa fina (Figura 15).

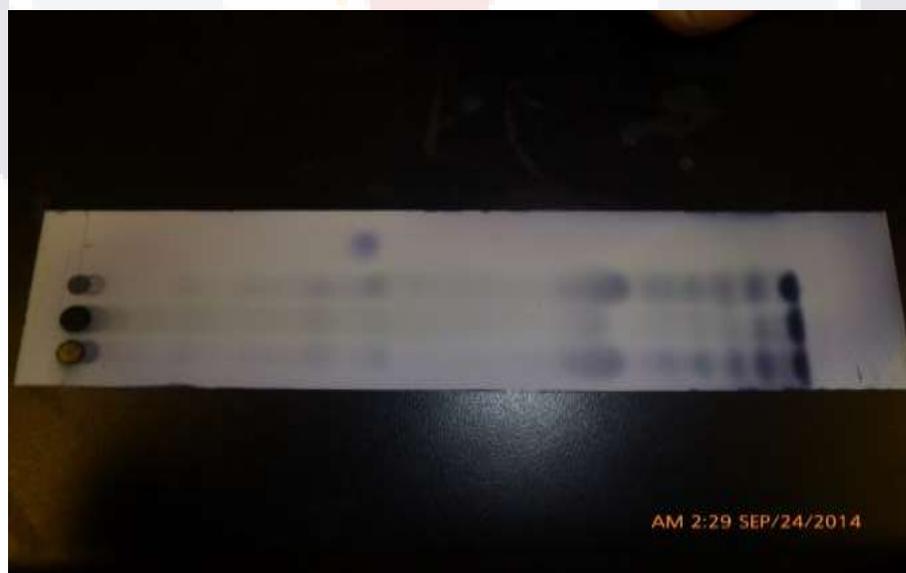


Figura 15. Resultados de la cromatografía de capa fina de las cuatro técnicas.

6.7.3 Extracción de oleorresina de Chile ancho *C. annuum*.

Para la obtención del pigmento se utilizó el equipo Soxhlet marca Novatech (Figura 16). El proceso realizado fue el siguiente: a) en el filtro ubicado dentro del Soxhlet (Figura 17), se depositó 18 g de la muestra deshidratada de *C. annuum*. b) la muestra se sometió a reflujo con 120 ml de hexano como solvente, hasta que el extracto saliera incoloro durante un periodo de tiempo de 16 horas y c) la muestra se expuso a la temperatura ambiente por 24 horas, hasta que el excedente de hexano se evaporó completamente. Por cada muestra, se obtuvieron 2.26 g de oleorresina no saponificada. Este proceso se realizó cuatro veces para obtener la cantidad requerida en la investigación que fue de nueve g.



Figura 16. Equipo Soxhlet utilizado para la extracción de la oleorresina no saponificada.



Figura 17. Filtro ubicado dentro del Soxhlet.

Al final del proceso la oleorresina no saponificada se ubicó en el matraz con el excedente de hexano, que posteriormente se evaporó en el medio ambiente y en la parte del Soxhlet, la capsaicina subió debido a sus propiedades volátiles, junto con la mayor cantidad de hexano trabajado (Figura 18). Al terminar el proceso se obtuvieron tres productos: la pulpa restante, la capsaicina y la oleorresina no saponificada (Figura 18).



Figura 18. Los tres productos obtenidos en el sistema Soxhlet.

6.7.4 Preparación de dietas.

El alimento base de las dietas utilizado en la presente investigación fue el balanceado comercial marca Purina para la trucha arco iris, que cumple con lo dispuesto por NRC (1993) (Tabla 4). Las dietas experimentales estuvieron preparadas de acuerdo con los siguientes pasos: a) el alimento balanceado se pesó en una balanza digital granataria marca Tulplus de precisión de 1 g a 2 kg, de acuerdo a la cantidad de alimento balanceado a preparar; b) la dieta testigo (AB) se elaboró exclusivamente con alimento balanceado, la dos (AB+P) se complementó con probióticos, la tres (AB+C) con oleorresina no saponificada y la cuatro (AB+P+C) con oleorresina y probióticos. La dosis de carotenos utilizados en cada dieta fue de 1 ml de oleorresina no saponificada por kg de alimento balanceado y para los probióticos el producto utilizado fue Rubinum® en una cantidad de 1 g por kg de alimento balanceado.

Tabla 4. Composición de las dietas experimentales.

Alimento balanceado	Valores en
Proteína	42.0
Grasa	15.0
Fibra	2.5
Ceniza	12.5
Humedad	12.0
Raciones	2 diarias
Porcentaje de alimentación	1.5 de biomasa
Caroteno	1cm ³ /kg de alimento
Probióticos	1g /kg de alimento

Para la incorporación del caroteno al alimento balanceado, se disolvió 1 ml de oleorresina en 125 cm³ de agua y se incorporó por aspersion en el alimento (Figura 19). Posteriormente, el alimento preparado se secó al ambiente por un periodo de 24 horas protegiéndolo de la luz con papel cartón (Figura 20). Finalmente, se empacó en recipientes plásticos nuevos protegidos de la luz solar (Figura 21).



Figura 19. Incorporación de oleoresina al alimento balanceado por aspersión.



Figura 20. Secado de las dietas experimentales.



Figura 21. Empacado del alimento balanceado seco.

La adición de los probióticos al alimento fue similar al de la oleorresina. Para este caso se pesó el alimento a suministrar, utilizando la báscula descrita anteriormente, se pesó también la cantidad de probióticos a incorporar en el alimento en una proporción de un gramo por kg de alimento balanceado (Figura 22). Terminada esta actividad, se prosiguió con la adición de los probióticos al alimento; para ello se disolvió un gramo de los probióticos en 125 cm³ de agua por cada kg de alimento. Posteriormente, se dejó secar a temperatura ambiente por 24 horas y finalmente el alimento fue empacado.

El alimento en el que se agregó los probióticos más la oleorresina, se disolvió 1 g de probióticos más un 1ml de oleorresina en 125 cm³ de agua por cada kg de alimento y el proceso fue similar al descrito anteriormente.

6.7.5 Programa de la alimentación.

El alimento se suministró de acuerdo a la biomasa semanal contenida en cada estanque. Para calcular el porcentaje de alimentación a suministrar, se tomaron muestras de tres peces por estanque, posteriormente se determinó el promedio y se multiplicó por el número existente de truchas en el estanque. Determinada la biomasa se suministró el alimento basado en el 1.5 de la misma. En la Tabla 5 se presenta la cantidad de alimento suministrado diario y semanal, de acuerdo al incremento de peso total individual ganado por semana.



Figura 22. Peso de los probióticos para ser adicionados al alimento balanceado.

6.8 Evaluación del comportamiento de los parámetros del desempeño del crecimiento.

En todos los tratamientos a los cero, 22 y 45 días del experimento, se registraron en forma individual el peso total (PT, g) y la longitud total (LT cm). Para el PT se utilizó una báscula granataria marca Tulplus con una precisión de 1g a 2 kg y para la valoración de la LT se utilizó un ictiómetro graduado de 0 a 32 cm.

Previo a realizar los biométricos, las truchas se dejaron de alimentar 24 horas. Posteriormente, se bajó el nivel de agua de cada uno de los estanques (Figura 23). Antes de realizar esta maniobra se dispuso una tina de plástico reforzada de 600 litros de capacidad, que fue llenada con agua de los mismos estanques para evitar el estrés. En la tina se colocó un aireador con el fin de garantizar una plena oxigenación en el medio y también se adicionó sal de grano, libre de yodo a razón de 0.5 g por cada litro de agua, como medida profiláctica y anestésica. Se monitorearon continuamente los niveles de oxígeno hasta terminar esta actividad (Figura 24). Los peces fueron pesados y medidos uno por uno (Figuras 25 y 26).

Tabla 5. Programa de alimentación durante el tiempo experimental.

Tratamientos	AB			AB+P			AB+C			AB+P+C				
	PT (g)	Alimento (g/día)	Alimento (g/semana)	PT (g)	Alimento (g/día)	Alimento (g/semana)	PT (g)	Alimento (g/día)	Alimento (g/semana)	PT (g)	Alimento (g/día)	Alimento (g/semana)		
0	191	57.2	400.6	190	57.0	401.0	196	58.0	404.0	193	57.0	402.0		
1	206	58.9	412.0	217	65.0	456.0	245	93.0	650.0	238	98.0	688.0		
2	215	61.1	428.0	230	85.0	592.9	271	97.0	682.0	285	105.0	737.0		
3	227	82.7	579.0	242	97.0	677.0	296	98.0	689.0	295	100.0	702.0		
4	284	110.7	775.0	290	113.0	793.0	341	102.0	716.0	330	103.0	721.0		
5	340	144.7	1,013.0	336	203.0	1,420.0	376	207.0	1,447.0	380	197.0	1,380.0		
6	358			390			411			414				
Total Alimento (g)			3,607.6	Total Alimento (g)			4,340.0	Total Alimento (g)			4,588.0	Total Alimento (g)		4,630.0



Figura 23. Disminución del nivel del agua en el estanque.



Figura 24. Tina para albergar los peces antes del registro de peso y longitud total.



Figura 25. Registro del peso total.



Figura 26. Registro de longitud total.

Los datos de peso total (PT) y longitud total (LT) fueron utilizados para el cálculo del factor conversión de alimento (FCA), la tasa específica de crecimiento (TEC) y el factor de condición (K), de acuerdo a Le Cren, (1951), Noeske y Spieler, (1984), Gulland, (1971), Da Costa y Gerson, (2003), Ingle Mora y col., (2006); Yanar y col., (2007), Teimouri y col., (2013) y Saez y col., (2014), utilizando las fórmulas siguientes:

- a) Factor de conversión del alimento: $FCA = \text{alimento seco total consumido (g)} / \text{biomasa total obtenida al final del experimento (g)}$.
- b) Tasa específica de crecimiento $TEC = \frac{\text{Logaritmo de peso final} - \text{logaritmo de peso inicial}}{\text{número de días}} \times 100$.
- c) Factor de condición: $K = \frac{\text{Peso del pez en (g)}}{\text{Longitud del pez}^3 \text{ (cm)}}$.

6.9 Contenido total de carotenoides en el filete de la trucha.

Los análisis se llevaron a cabo en el Laboratorio de Biotecnología de Centro de Ciencias Básicas de la UAA. Se tomaron cuatro truchas por cada tratamiento experimental. Se utilizó el método estandarizado por Lee y Lee (2008). En principio se pesó una muestra de 10 g del filete de trucha (Figura 27) y se colocó en una mezcla previa de 10 ml de acetona y

10 ml de metanol en una proporción 1:1 (v/v) (Figura 28). La mezcla se agitó continuamente por 30 minutos hasta obtener una completa aclaración del filete. El extracto fue reunido y mezclado con 20 ml de éter de petróleo en un embudo separador de 250 ml (Figura 29). Se adicionó agua destilada para permitir la separación de dos capas, la capa superior fue colectada en un balón donde se dejó evaporar a temperatura ambiente. Posteriormente, el residuo se colectó en 5 ml de éter de petróleo y se leyó la muestra a 450 nm de absorbancia en un espectrofotómetro marca Cintra 10Y (Figura 30).

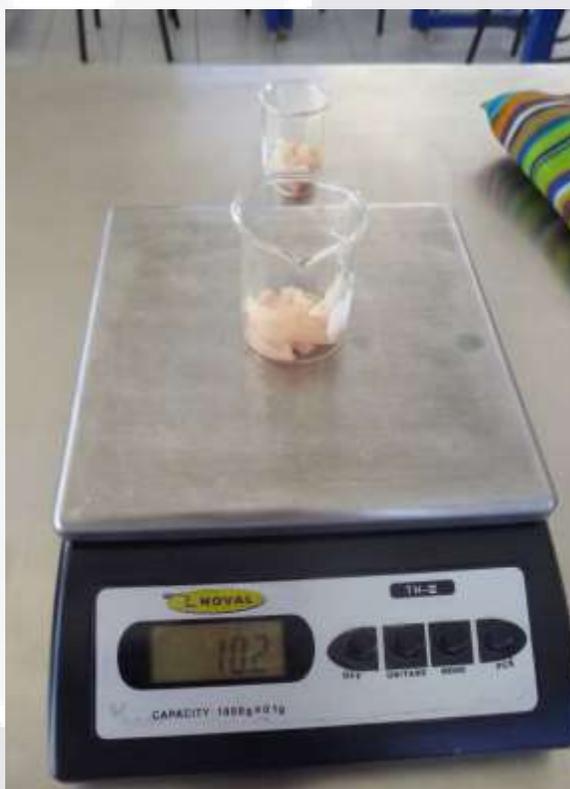


Figura 27. Peso de la muestra del filete de trucha.

La cantidad de carotenoides totales fue calculada utilizando el coeficiente de extinción $E_{1cm} = 2,500$ para carotenoides totales en éter de petróleo. Con los datos obtenidos en la lectura del espectrofotómetro se utilizó la siguiente fórmula para determinar la cantidad existente de carotenoides totales.

$$\text{mg/kg} = \frac{A \times \text{Volúmen final (ml)} \times 10^4}{(A \text{ 1 cm} - 1) \times \text{peso de la muestra (g)}}$$

Dónde :

A= Absorbancia a 450 nm.

Volumen final = volumen en mililitros de la solución antes de la lectura.

A 1 cm-1 = Coeficiente de absorción de b caroteno en éter de petróleo = 2.592.

Peso de la muestra en g.



Figura 28. Adición de metanol y acetona proporción 1:1.



Figura 29. Recuperación de la muestra en éter de petróleo.



Figura 30. Lectura de las muestra a 450 nm de absorbancia.

6.10 Evaluación cuantitativa del color del filete.

Para la evaluación cuantitativa del color del filete, se utilizó el analizador portátil de color por reflectancia de superficie marca Minolta Croma meter 11 modelo CR-200 (Figura 31). Este equipo basa su determinación en el tri-estímulo representado por los valores primarios de color. La información del espectro se representa en cinco componentes L^* , a^* , b^* , C^* y H^{0*} ; donde L^* es la luminosidad, a^* la cromaticidad de los pigmentos rojos y verdes, b^* dimensiona la cromaticidad de los pigmentos azules y amarillos, C^* la cromaticidad y H^{0*} el tono. La medición de los parámetros de color se realizó en tres sitios de la superficie del filete con tres repeticiones (Figura 32). Las diferencias de color se obtuvieron usando las coordenadas de color L^* , a^* y b^* (CIE, 1976) mediante la siguiente ecuación:

$$\Delta E^*_{ab} = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

Se utilizó como estándar los valores obtenidos en la dieta control, para posteriormente calcular la diferencia en color con relación al color obtenido en los diferentes tratamientos.



Figura 31. Analizador portátil de color muscular.



Figura 32. Captura de los valores del color en tres partes del filete.

6.11 Evaluación de los parámetros hematológicos y bioquímicos en las dietas experimentales.

A las 0 y 45 días se muestrearon cuatro truchas por cada estanque para estimar los parámetros hematológicos y bioquímicos. Las truchas fueron anestesiadas con esencia de clavo en una cantidad de 25 mg/L (Kanani, 2013). Las muestras de sangre de cada pez fueron colectadas por punción cardíaca, usando una jeringa de 3 ml. Con ella se extrajo 1.5

ml de sangre que se dividió en dos alícuotas; la primer alícuota fue usada para la determinación del cuadro hemático (hematocrito, eritrocitos, leucocitos y plaquetas), y la sangre fue depositada en tubos plásticos vacutainer de 2 ml de capacidad con sales de EDTA como anti-coagulante. La segunda alícuota sin EDTA, fue utilizada para medir los parámetros bioquímicos. En ambos casos los tubos fueron debidamente rotulados.

6.11.1. Análisis hematológicos.

Los análisis fueron realizados en el Laboratorio de Fisiología Animal del Centro de Ciencias Agropecuarias, de la UAA. El recuento de eritrocitos y leucocitos se efectuó por medio de una cámara Neubauer. Previamente, se preparó una solución azul de metileno y suero fisiológico en proporción 1:9 respectivamente. Para la disolución de la sangre y la solución anterior se utilizó la pipeta hematocimétrica (Figura 33). Los resultados obtenidos se expresaron en cél. $\times 10^6/\mu\text{L}$ para eritrocitos y cél. $\times 10^4/\mu\text{L}$ para leucocitos. Con un microscopio, utilizando un lente de 40X se leyeron los cinco cuadros (cuadros de las esquinas y cuadro central) del retículo central de la cámara de Neubauer para los glóbulos rojos y para los leucocitos se leyeron todos los cuadros del retículo central. Para el cálculo de trombocitos por μL , se consideró el número de trombocitos contados por la disolución para este caso 200 por 10. Para el recuento se empleó un contador hemático lote 04-4554-54-00001. El conteo se efectuó en la cámara de Neubauer (Figura 34).

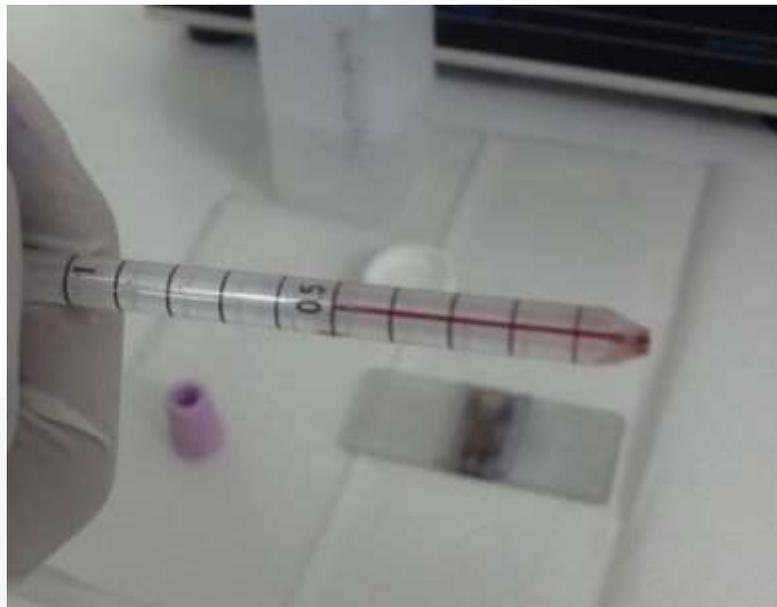


Figura 33. Micropipeta para disolución de sangre en la solución de azul de metileno y suero fisiológico.

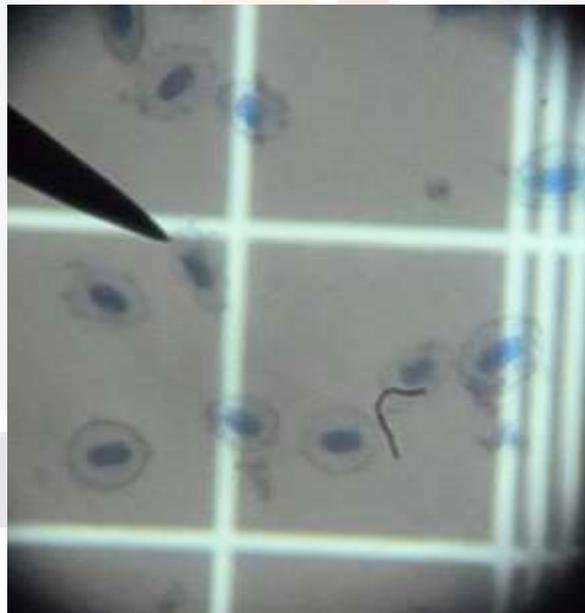


Figura 34. Observación en la cámara Neubauer.

6.11.2 *Hematocrito.*

Para la determinación del hematocrito se utilizaron tubos capilares. Una vez absorbida la sangre se llevaron a una micro-centrífuga para hematocrito, marca LW (Scientific Inc. modelo LWS-M24 de 12.000 R.P.M/8P.L.). El tiempo empleado en la centrifugación para la muestra en estudio fue de 3 minutos. Finalizado este tiempo, se retiraron los capilares y

utilizando el disco para hematocrito, se determinó la cantidad existente de este parámetro hematológico valorada en porcentaje (Figura 35).

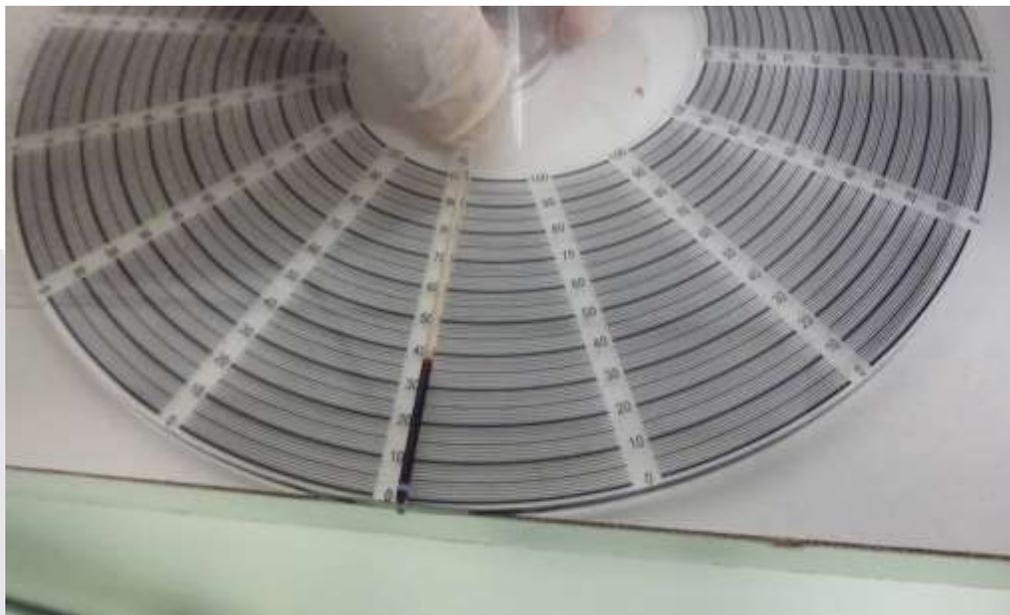


Figura 35. Lectura del porcentaje de hematocrito.

6.11.3 Análisis bioquímicos.

Se analizaron los siguientes parámetros: a) Proteínas totales (PT), basado en el método de Burtis y col., (1999) en medio alcalino. Se utilizó un kit comercial (PROTEIN TOTAL marca Spinreact. Ref.: 1001290; R: 2 x 50 ml., CAL: 1 x 2 ml.), siguiendo las indicaciones del inserto del proveedor. Las muestras una vez procesadas se analizaron en un espectrofotómetro (Marca Bayer modelo Analyzer Chemistry RA-50 hecho en Alemania) con una longitud de onda de 540 nm y los valores registrados se expresaron en g/dL; b) Albúmina (ALB), por el método de combinación de la albumina con el verde de bromocresol a un pH ligeramente ácido (Gendler y Kaplan, 1984). Para esta prueba se utilizó un kit comercial de Albumina (ALBUMIN marca Spinreact. Ref.: 1001020; R: 2 x 250 ml, CAL: 1 x 5 ml) y se siguieron las indicaciones del inserto del proveedor. Las muestras se analizaron con un espectrofotómetro (Marca Bayer modelo Analyzer Chemistry RA-50 hecho en Alemania) con una longitud de onda de 630 nm; los valores registrados fueron expresados en g/dL; c) La aspartato amino transferasa (AST) fue registrada por el principio que cataliza la transferencia reversible de un grupo amino del

aspartato al cetoglutarato con la formación de glutamato y oxaloacetato según el protocolo de Murray, (1984). Para esta valoración se utilizó un kit comercial para la determinación de aspartato aminotransferasa (AST/GOT marca Spinreact; Ref.: 1001161; 10 x 15 ml); se disolvió una tableta de R2 sustrato en 15 ml de R1 y se siguieron las indicaciones del inserto del proveedor. Las muestras se analizaron con un espectrofotómetro marca Bayer modelo Analyzer Chemistry RA-50 hecho en Alemania, a una longitud de onda de 340 nm y los valores registrados fueron expresados en U/L y d) La alanina aminotransferasa (ALT), fue registrada a partir del principio que cataliza la transferencia reversible de un grupo amino de la alanina al α -cetoglutarato con formación de glutamato y píruvato de acuerdo con la técnica propuesta por Murray, (1984). Se utilizó un kit comercial para la determinación de la alanina aminotransferasa (ALT/GPT marca Spinreact; Ref.: 1001171; 10 x 15 ml); se disolvió una tableta de R2 sustrato en 15 ml de R1 y se siguieron las indicaciones del inserto del proveedor. Las muestras se analizaron con un espectrofotómetro marca Bayer modelo Analyzer Chemistry RA-50 hecho en Alemania, a una longitud de onda de 340 nm y los valores registrados fueron expresados en U/L.

6.12 Evaluación de la capacidad de respuesta de trucha fase de engorde ante las pruebas de desafío en las distintas dietas experimentales.

A los 45 días del ensayo, cuatro peces de cada tratamiento incluyendo el control, se sometieron a una prueba de desafío térmico. Los peces fueron seleccionados al azar en cada tratamiento y fueron trasladados a un estanque de geomembrana y base de hierro, con dimensiones 0.5 m x 2.0 m x 0.80 de profundidad (Figura 36).

La temperatura inicial promedio fue de 24.5 °C y el contenido de oxígeno disuelto de 5 mg/L. La temperatura fue incrementada con la ayuda de tres termostatos automáticos de 200 watts marca BIOPRO. El monitoreo de la toma de temperatura y del oxígeno disuelto en el agua se realizó cada 15 minutos e igualmente, se registró el momento exacto en el que murió cada uno de los cuatro animales por tratamiento (Figura 37).



Figura 36. Estanque para la prueba de desafío térmico.



Figura 37. Registro del momento de la muerte de la trucha arco iris.

7. RESULTADOS

7.1 Pruebas de homocedasticidad de varianzas.

La prueba de varianzas de los cuatro estanques para cada variable y en cada fecha se realizó aplicando la prueba de Levene (1960). En general se cumple el supuesto de homogeneidad de varianzas para todas las variables de crecimiento, bioquímicas y hematológicas. Solo una variable, el hematocrito, no cumple con el supuesto de varianzas homogéneas (**Anexo A**). Por lo tanto, se procedió a analizar los datos de los cuatro estanques como un solo experimento aplicando la prueba de ANDEVA y las pruebas de comparación de medias de Tukey.

7.2 Parámetros del desempeño del crecimiento.

Los resultados del análisis de varianza (ANDEVA) de los parámetros de desempeño del crecimiento indicaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$), entre los tratamientos, los días (0 y 45) y la interacción tratamientos vs. días en las variables de peso total (PT g), longitud total (LT cm) y factor de condición (K) (Tabla 6).

Tabla 6. Resultados del ANDEVA de los parámetros del desempeño del crecimiento.

F.V	Longitud total (cm)				Peso total (g)			K		
	GL	CM	Fc	P	CM	Fc	P	CM	Fc	P
Tratamientos	3	33.2	34.5	0.000*	24795	64.16	0.000*	0.0107	1.54	0.205 NS
Días	2	849.5	883.2	0.000*	806972	2088.02	0.000*	0.1137	16.33	0.000*
Trat*Días	6	3.6	3.8	0.001*	6742	17.44	0.000*	0.0249	3.58	0.002*
Error	228	1			386			0.007		
Total	239									

FV =Fuentes de variación. GL = Grados de libertad. CM =Suma de Cuadrados medios.
 Fc =Factor calculado. P = Significancia. K = Factor de condición de Fulton.

Como existieron diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$) entre las medias de los tratamientos, días de cultivo y tratamiento vs. días, se realizó la prueba de comparación

múltiple Tukey de HDS a los 45 días en cada una de las variables que se presenta a continuación.

7.2.1 Longitud total (LT, cm).

Para la variable de LT, la prueba de Tukey indicó que el promedio de LT en los tratamientos experimentales se agrupó en tres valores de la media. Los tratamientos AB y AB+P formaron un grupo; AB+P y AB+P+C formaron otro y finalmente AB+P+C y AB + C otro (Tabla 7).

Tabla 7. Prueba de Tukey para la variable LT (cm).

Prueba de Tukey			
Variable: LT (cm); Día: 45; Alfa = 0.05			
Tratamiento	Promedio de la Longitud total (cm).	1	2 3
AB	31.50	a	
AB+P	32.29	a	b
AB+C+P	32.97		b c
AB+C	33.67		c

Medias precedidas de la misma letra no presentan diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$, Tukey).

A los 45 días de la experimentación, la LT de los peces de las dietas (AB y AB+P; 31.50 y 32.29 cm) fue superada por las dietas suplementadas con y carotenoides AB+P y AB+C+P (32.29 y 32.97 cm) y finalmente las dietas AB+C+P y AB+C (32.97 y 33.67) fueron las que alcanzaron una mayor LT.

7.2.2 Peso total (PT, g).

La prueba de Tukey para la variable de PT a los 45 días de la investigación, mostró la formación de dos grupos de los valores de la media. En el primer grupo apareció la dieta control AB y en el segundo las otras dietas. Existe un comportamiento similar entre los tratamientos evaluados pero si se presentan diferencias estadísticamente significativas en cuanto al tratamiento control (AB) (Tabla 8).

Tabla 8. Prueba de Tukey para la variable peso total (g).

Prueba de Tukey			
Peso Total (g); Día: 45; Alfa = 0.05			
Tratamiento	Promedio del peso total (g)	1	2
AB	358.4		b
AB+P	390.6	a	
AB+C+P	411.8	a	
AB+C	414.9	a	

Medias precedidas de la misma letra no tienen diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$, Tukey).

7.2.3 Factor de condición (K).

Los resultados de la prueba de Tukey indicaron que a los 45 días de experimentación las dietas experimentales no presentaron diferencias estadísticas significativas en el factor de condición ($P > 0.05$) (Tabla 9).

Tabla 9. Prueba de Tukey para la variable Factor de Condición.

Prueba de Tukey		
Factor de condición; Día: 45; Alfa = 0.05		
Tratamiento	Media	1
AB	1.15	a
AB+P	1.16	a
AB+C+P	1.16	a
AB+C	1.19	a

Medias precedidas de la misma letra no tienen diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$, Tukey).

7.2.4 Incremento de peso total (IPT, g).

Como se observa en la tabla 10, la mayor ganancia de peso total diario por tratamiento se obtuvo en el tratamiento experimental AB+P+C con 4.92 g/día, continuando con el tratamiento AB+C con 4.80 g/día y AB+P con 4.43 g/día, con diferencias estadísticamente significativas con relación al tratamiento control.

Tabla 10. Incremento de peso diario (IPD).

Parámetros	Tratamientos			
	AB	AB+P	AB+C	AB+P+C
Peso inicial (g).	190.9 ^a	191.3 ^a	195.7 ^a	193.4 ^a
Peso final (g).	358.4 ^b	390.6 ^a	411.8 ^a	414.9 ^a
Incremento de peso diario (g)	3.72 ^b	4.43 ^a	4.80 ^a	4.92 ^a

Medias precedidas de la misma letra dentro de cada renglón no tienen diferencias estadísticas significativas ($P > 0.05$, Tukey).

7.2.5 Factor de conversión alimenticio (FCA).

En la tabla 11 se muestra la cantidad total del alimento suministrado a cada uno de los tratamientos de acuerdo con la biomasa existente. El tratamiento control (AB) presentó diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos con un FCA de 1.44 lo que indicó que se necesitó una mayor cantidad de alimento para producir un kg de peso de carne. Los tratamientos AB+P, AB+C, y AB+P+C presentaron una respuesta superior al control, estas conversiones van desde 1.30 a 1.06.

Tabla 11. Factor de conversión alimenticio (FCA).

Parámetros	Tratamientos			
	AB	AB+P	AB+C	AB+P+C
Total de alimento suministrado (kg).	3.61	4.34	4.58	4.63
Ganancia de peso total (kg).	2.49 ^b	3.44 ^a	4.32 ^a	4.19 ^a
FCA	1.44 ^b	1.30 ^a	1.06 ^a	1.10 ^a

Medias precedidas de la misma letra dentro de cada renglón no tienen diferencias estadísticas significativas ($P > 0.05$, Tukey).

7.2.6 Tasa específica de crecimiento.

Todos los tratamientos presentaron una tasa específica de crecimiento superior al 1.4 %/día de ganancia peso, pero el tratamiento que respondió mejor a la dieta experimental suministrada fue el tratamiento AB+P+C que alcanzó un valor de 1.70 %/ día de ganancia de peso (Tabla 12).

Tabla 12. Tasa específica de crecimiento (TEC).

Parámetros	Tratamientos			
	AB	AB+P	AB+C	AB+P+C
Peso total inicial (g).	190.9 ^a	191.29 ^a	195.75 ^a	193.35 ^a
Peso total final (g).	358.4 ^b	390.59 ^a	411.83 ^a	414.93 ^a
TEC (g/día)	1.40 ^b	1.59 ^a	1.65 ^a	1.70 ^a

Medias precedidas de la misma letra dentro de cada renglón no tienen diferencias estadísticas significativas ($P > 0.05$, Tukey).

7.2.7 Sobrevivencia.

La mejor sobrevivencia fue obtenida en el tratamiento experimental AB+C con el 100% al finalizar el periodo de experimentación de 45 días. Por el contrario, los peces con menor sobrevivencia fueron los del tratamiento AB donde se registró una sobrevivencia final del 70%. Se registraron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) entre los tratamientos experimentales (Tabla 13).

Tabla 13. Porcentaje de sobrevivencia (%).

Parámetro	Tratamientos			
	AB	AB+P	AB+C	AB+P+C
Número inicial de peces.	20	20	20	20
Número final de peces.	14	17	20	18
Sobrevivencia (%)	70 ^c	85 ^b	100 ^c	90 ^b

Medias precedidas de la misma letra dentro de cada renglón no tienen diferencias estadísticas significativas ($P > 0.05$, Tukey).

7.2.8 Consolidado de los parámetros de desempeño del crecimiento.

El aporte de las dietas experimentales con carotenoides presentó el mejor desempeño del crecimiento, e igualmente se observó un sinergismo entre las dietas que incluyeron los carotenoides y los probióticos, donde la respuesta es estadísticamente similar al suplementar con solo carotenoides o bien carotenoides y probióticos (Tabla 14).

7.3 Comportamiento de los parámetros hematológicos.

El ANDEVA aplicado a las variables de los parámetros hematológicos, indicó que el hematocrito, los eritrocitos, los leucocitos y los trombocitos, presentaron diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$) entre las dietas experimentales, el tiempo y la relación tratamiento vs. tiempo (Tabla 15).

La prueba de Tukey de comparación de las medias arrojó los siguientes resultados para cada una de las variables evaluadas .

Tabla 14. Resultados del ANDEVA de los parámetros del desempeño del crecimiento.

Parámetros	Tratamientos			
	AB	AB+P	AB+C	AB+P+C
	Media ± EE	Media ± EE	Media ± EE	Media ± EE
Peso inicial (g).	190.9 ^a ± 1.4	191.3 ^a ± 1.37	195.7 ^a ± 1.6	193.3 ^a ± 1.8
Peso final (g).	358.4 ^b ± 4.98	390.6 ^a ± 4.73	411.8 ^a ± 3.86	414.93 ^a ± 11.05
Ganancia diaria de peso (g/día).	3.7 ^b	4.4 ^a	4.8 ^a	4.9 ^a
Longitud total inicial (cm).	25.58 ^a ± 0.13	26.12 ^a ± 0.16	26.33 ^a ± 0.17	26.25 ^a ± 0.18
Longitud total final (cm).	31.5 ^a ± 0.17	32.29 ^{ab} ± 0.19	33.68 ^{bc} ± 0.36	32.97 ^c ± 0.34
Ganancia diaria de longitud total (mm/día).	1.32 ^a	1.37 ^{ab}	1.63 ^{bc}	1.49 ^c
Factor de condición.	1.15 ^a ± 0.20	1.16 ^a ± 0.02	1.12 ^a ± 0.03	1.15 ^a ± 0.02
Factor de conversión alimenticia.	1.44 ^b	1.30 ^a	1.06 ^a	1.12 ^a
Tasa específica de crecimiento (%/día).	1.40 ^b	1.59 ^a	1.65 ^a	1.70 ^a
Sobrevivencia (%).	70 ^a	85 ^b	100 ^c	90 ^b

EE = Error estándar. Medias precedidas de la misma letra dentro de cada renglón no tienen diferencias estadísticas significativas ($P > 0.05$, Tukey).

Tabla 15. ANDEVA para los parámetros hematológicos.

FV	Hematocrito (%)				Eritrocitos (cel. x 10 ⁶ /μL)			Leucocitos (cel. x 10 ⁴ /μL)			Trombocitos (cél. /μL).		
	GL	CM	Fc	S	CM	Fc	P	CM	Fc	P	CM	Fc	S
Tratamiento	3	43.58	11.0	0.00*	0.132	30.07	0.00*	0.508	5.67	0.00*	1.106.67	5.39	0.00*
Tiempo (días)	1	105.1	26.6	0.00*	129.20	293.4	0.00*	0.661	7.38	0.01*	9.245.00	45.0	0.00*
Trat.*Tiempo	3	17.71	4.47	0.01*	0.106	24.13	0.00*	0.314	3.51	0.03*	2.075.00	10.1	0.00*
Error	24	3.96			0.004			0.089			2.054.17		
Total	31												

FV =Fuentes de variación. GL = Grados de libertad. CM =Suma de Cuadrados medios. Fc =Factor calculado. S = Significancia.

7.3.1 Hematocrito.

Como se observa en la tabla 16, a los 45 días de la experimentación el porcentaje de hematocrito de los peces de la dieta control (3.25%) fue superada por las dietas suplementadas con probióticos y carotenoides, por lo tanto el suministro de carotenoides (AB+C: 3.92%) o combinado con (AB+C+P: 4.12%) incrementó el porcentaje del hematocrito en las truchas en la fase de engorde, con una diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$).

Tabla 16. Prueba de Tukey para la variable hematocrito.

Prueba de Tukey.					
Hematocrito (%); Días: 0 y 45; Alfa = 0.05					
Tratamiento	Días	Media	1	2	3
AB	45	3.25	a		
AB	0	3.25	a		
AB+P	0	3.35	a		
AB+C+P	0	3.42	a		
AB+C	0	3.45	a		
AB+P	45	3.62	a	b	
AB+C	45	3.92		b	c
AB+C+P	45	4.12			c

Medias precedidas de la misma letra no tienen diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$, Tukey).

7.3.2 Eritrocitos.

La cantidad de eritrocitos se incrementó con el transcurso de los días y sobre todo cuando se adicionó a la dieta carotenoides, pero el efecto fue mayor al incluir dentro de la misma dieta carotenoides y probióticos con una diferencia significativa ($P < 0.05$) (Tabla 17).

7.3.3 Leucocitos.

El efecto fue notorio en las dietas en donde se suministró carotenoides (AB+C) o carotenoides y probiotico (AB+C+P). A los 45 días se observó un incremento del número de leucocitos con una diferencia significativa ($P < 0.05$) (Tabla 18).

7.3.4 Trombocitos.

A los 45 días el número de trombocitos se incrementó en la dieta que incluyó carotenoides y probióticos (AB+C+P), con diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) con respecto a los otros tratamientos (Tabla 19).

Tabla 17. Prueba de Tukey para la variable eritrocitos.

Prueba de Tukey				
Eritrocitos ($\times 10^6$ cél./ μ L); Día: 0 y 45; Alfa = 0.05				
Trat	Tiempo (días)	Media	1	2 3 4 5
AB+C	0	1.00	a	
AB	0	1.11	a	b
AB+P	0	1.12	a	b
AB+C+P	0	1.17	a	b
AB	45	1.24		b
AB+P	45	1.42		c
AB+C	45	1.62		d
AB+C+P	45	1.79		e

Medias precedidas de la misma letra no tienen diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$, Tukey).

Tabla 18. Prueba de Tukey para la variable leucocitos.

Prueba de Tukey				
Leucocitos ($\times 10^4$ cél./ μ L); Días: 0 y 45; Alfa = 0.05				
Tratamiento	Tiempo (Días)	Media	1	2
AB	0	2.25	a	
AB	45	2.33	a	
AB+P	0	2.38	a	
AB+P	45	2.40	a	
AB+C+P	0	2.43	a	
AB+C	0	2.48	a	
AB+C	45	2.65	a	b
AB+C+P	45	3.30		b

Medias precedidas de la misma letra no tienen diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$, Tukey).

Tabla 19. Prueba de Tukey para la variable trombocitos.

Prueba de Tukey			
Trombocitos (cél/μL); Días:0 y 45 ; Alfa = 0.050			
Tratamiento	Tiempo (días)	Media	1 2
AB+C+P	0	11,775	a
AB+P	0	11,950	a
AB	0	12,750	a
AB+C	0	12,150	a
AB	45	12,575	a
AB+P	45	12,600	a
AB+C	45	12,700	a
AB+C+P	45	14,375	b

Medias precedidas de la misma letra no tienen diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$, Tukey).

El ANDEVA mostró que los parámetros hematológicos evaluados, indican el aporte positivo de los carotenoides para el buen desempeño de la dieta experimental tal como se muestra en la tabla 20.

Tabla 20. Consolidado de los parámetros hematológicos.

Parámetros	Tratamientos			
	AB	AB+P	AB+C	AB+P+C
	Media ± EE	Media ± EE	Media ± EE	Media ± EE
Hematocrito (%).	32.5 ^a ± 1.44	36.25 ^{ab} ± 0.47	39.25 ^{bc} ± 0.94	41.25 ^c ± 1.11
Eritrocitos (x10 ⁶ cél./μL).	1.24 ± 0.036 ^b	1.41 ^c ± 0.02	1.62 ^d ± 0.01	1.79 ^e ± 0.03
Leucocitos (x10 ⁴ cél./μL).	2.32 ^a ± 0.08	2.4 ^a ± 0.40	2.65 ^{ab} ± 0.03	3.30 ^b ± 0.06
Trombocitos (cél./ μL).	12,575.0 ^a ± 62.91	12,600.0 ^a ± 40.82	12,700.0 ^a ± 40.82	14,375.0 ^b ± 75

EE = Error estándar. Medias precedidas de la misma letra dentro de cada renglón no tienen diferencias estadísticas significativas ($P > 0.05$, Tukey).

7.4 Comportamiento de los parámetros bioquímicos.

El ANDEVA para las variables de los parámetros bioquímicos: proteína, AST, ALT y albumina (AL), señaló diferencias estadísticamente significativas entre las dietas a excepción de la variable AST que no presentó diferencias estadísticamente significativas (Tabla 21).

Tabla 21. ANDEVA de los parámetros bioquímicos.

	Proteína g/Dl				AST U/L			ALT U/L			ALBUMINA g/dl			
	FV	GL	CM	Fc	S	CM	Fc	P	CM	Fc	P	CM	Fc	S
Tratamientos		3	19.72	25.34	0.00*	2,315.5	0.3506	0.78	233.71	40.22	0.018*	0.49115	64.150	0.002*
Tiempo (días)		1	62.13	79.84	0.00*	11,400.5	17.264	0.20	364.50	62.73	0.019*	132.031	172.449	0.000*
Trat*Tiempo (días)		3	16.25	20.88	0.00*	3,637.7	0.5509	0.65	260.25	44.79	0.012*	0.31365	40.966	0.017*
Error		24	0.08			6,603.6			58.10			0.07656		
Total		31												

FV =Fuentes de variación. GL = Grados de libertad. CM =Suma de Cuadrados medios. Fc =Factor calculado. S = Significancia.

La comparación de las medias múltiples utilizando la prueba de Tukey, arrojó los siguientes resultados para cada una de las variables evaluadas.

7.4.1 *Proteínas totales.*

A los 45 días la cantidad de proteína total en la sangre se incrementó al suministrar en la dieta carotenoides y probióticos (AB+C+P) con una diferencia significativa ($P < 0.05$) (Tabla 22).

7.4.2 *Aspartato aminotransferasa (AST).*

Según el análisis de la comparación múltiple de Tukey, no se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre las dietas con respecto a la variable AST. La cantidad de AST es similar en todas las dietas durante el tiempo experimental (Tabla 23).

Tabla 22. Prueba de Tukey para la variable proteínas totales.

Prueba de Tukey				
Proteínas totales (g/dL); Días: 0 y 45; Alfa = 0.05				
Tratamientos	Tiempo (días)	Media	1	2 3 4
AB	45	3.10	a	
AB	0	3.17	a	
AB+C+P	0	3.27	a	b
AB+P	0	3.30	a	b
AB+C	0	3.42	a	b
AB+P	45	3.87	b	c
AB+C	45	4.37		c
AB+C+P	45	5.35		d

Medias precedidas de la misma letra no tienen diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$, Tukey).

Tabla 23. Prueba de Tukey para la variable Aspartato aminotransferasa (AST).

Prueba de Tukey			
Variable AST (U/L); Días: 0 y 45; Alfa = 0.05			
Tratamiento	Tiempo (días)	Media	1
AB+C+P	45	114.75	a
AB+C	45	148.00	a
AB	0	164.75	a
AB+C	0	168.25	a
AB+P	45	170.50	a
AB	45	174.00	a
AB+C+P	0	205.50	a
AB+P	0	219.75	a

Medias precedidas de la misma letra no tienen diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$, Tukey).

7.4.3 Alanino aminotransferasa (ALT).

En la tabla 24 se muestran las diferencias estadísticas significativas entre las medias de la variable ALT. A los 45 días del experimento el tratamiento que presentó la menor cantidad de esta enzima fue (AB+C+P).

Tabla 24. Prueba de Tukey para la variable Alanino aminotransferasa (ALT).

Prueba de Tukey				
Variable ALT (U/L); Día: 0 y 45; Alfa = 0.05				
Tratamiento	Tiempo (días)	Media	1	2 3
AB+C+P	45	1.18	a	
AB+C	45	1.33	a	b
AB+C	0	2.28	a	b c
AB+P	0	2.78	a	b c
AB	0	2.83	a	b c
AB+P	45	2.95	a	b c
AB	45	3.08		b c
AB+C+P	0	3.35		c

Medias precedidas de la misma letra no tienen diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$, Tukey).

7.4.4 Albúmina.

A los 45 días la cantidad de albumina se incrementó en las dietas AB+C+P y AB + C, con diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) con respecto a las otras dietas experimentales (Tabla 25).

El consolidado de parámetros bioquímicos se presenta en la tabla 26.

Tabla 25. Prueba de Tukey para la variable Albúmina.

Prueba de Tukey			
Albúmina (g/dL); Días: 0 y 45; Alfa = 0.05			
Tratamiento	Tiempo (días)	Media	1 2
AB	0	1.15	a
AB+C	0	1.20	a
AB	45	1.28	a
AB+C+P	0	1.35	a
AB+P	0	1.35	a
AB+P	45	1.40	a
AB+C	45	1.75	a b
AB+C+P	45	2.25	b

Medias precedidas de la misma letra no tienen diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$, Tukey).

Tabla 26. Consolidado de los parámetros bioquímicos.

Parámetros	Tratamientos			
	AB	AB+P	AB+C	AB+P+C
	Media ± EE	Media ± EE	Media ± EE	Media ± EE
Proteína (g/dL).	3.10 ^a ± 0.10	3.87 ^{bc} ± 0.14	4.37 ^c ± 0.23	5.35 ^d ± 0.125
AST (U/L).	174.0 ^a ± 36.71	170.50 ^a ± 56.06	148.00 ^a ± 18.76	114.75 ^a ± 24.13
ALT (U/L).	30.75 ^{bc} ± 2.93	29.5 ^{abc} ± 4.66	13.25 ^{ab} ± 2.95	11.75 ^a ± 2.01
Albúmina (g/dL).	1.28 ^a ± 0.04	1.40 ^a ± 0.04	1.75 ^{ab} ± 0.11	2.25 ^b ± 0.06

EE = Error estándar. Medias precedidas de la misma letra dentro de cada renglón no tienen diferencias estadísticas significativas ($P > 0.05$, Tukey).

7.5 Parámetros de color y contenido total de carotenoides.

7.5.1 Parámetros de color.

Los resultados del análisis de varianza (ANDEVA) de la evaluación cuantitativa del color señalan que se presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$), entre los tratamientos, los días y la interacción de las dos variables (tratamientos y días), en las variables cromaticidad color rojo (a^*), cromaticidad color amarillo (b^*), tono (H^{0*}) y

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

croma (C^*). Por el contrario la variable luminosidad (L^*) no presentó diferencias estadísticamente significativas con respecto a los tratamientos experimentales (Tabla 27).

Como existieron diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$) entre las medias de los tratamientos, días de cultivo y tratamiento vs días, se realizó la prueba de comparación múltiple Tukey a los 45 días, en cada una de las variables que se presenta a continuación.

7.5.1.1 Luminosidad (L^*)

Para la variable Luminosidad, la prueba de Tukey indicó que el promedio de L no presentó diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos (Tabla 28).

7.5.1.2 Rojo (a^*).

La prueba de Tukey para la variable (a^*) a los 45 días de la investigación, mostró la formación de dos grupos de los valores de la media. En el primer grupo apareció la dieta AB y AB+P, en el segundo AB+C y AB+C+P (Tabla 29).

7.5.1.3 Amarillo (b^*).

La prueba de Tukey para la variable (b^*) a los 45 días de la investigación, mostró la formación de dos grupos de los valores de la media. En el primer grupo apareció la dieta AB y AB+P, en el segundo AB+C y AB+C+P (Tabla 30).

Tabla 27. Resultados del ANDEVA de la evaluación cuantitativa del color.

Variables	Luminosidad (L*)				Rojo (a*)			Amarillo (b*)			Tono (H ⁰ *)			Croma (C*)		
	GL	CM	Fc	S	CM	Fc	S	CM	Fc	S	CM	Fc	S	CM	Fc	S
Tratamientos	3	10.67	1.45	0.2523	49.09	33.83	0.000	3.24	14.43	0.000	45.706	44.043	0.000	509.05	22.651	0.000
Días	1	8.74	1.19	0.2861	224.94	155.03	0.000	17.42	77.61	0.000	193.803	186.750	0.000	1710.69	76.121	0.000
Trat*días	3	2.42	0.33	0.8043	64.30	44.31	0.000	2.45	10.93	0.000	48.176	46.423	0.000	576.74	25.663	0.000
Error	24	7.34			1.45			0.22			1.038			22.47		0.2246
Total	31															

FV =Fuentes de variación. GL = Grados de libertad. CM =Suma de Cuadrados medios. Fc =Factor calculado. S = Significancia.

Tabla 28. Prueba de Tukey para la variable Luminosidad (L*).

Prueba de Tukey. Variable Luminosidad (L*)		
Día: 45 ; Alfa = 0.05		
Tratamiento	Media	1
AB	58.10	a
AB+P	55.50	a
AB+C+P	55.09	a
AB+C	54.65	a

Medias precedidas de la misma letra no tienen diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$, Tukey).

Tabla 29. Prueba de Tukey para la variable rojo (a*).

Prueba de Tukey. Variable Rojo (a*)			
Día: 45 ; Alfa = 0.05			
Tratamiento	Media	1	2
AB	2.76	a	
AB+P	3.11	a	
AB+C+P	12.27		b
AB+C	11.93		b

Medias precedidas de la misma letra no tienen diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$, Tukey).

Tabla 30. Prueba de Tukey para la variable amarillo (b*).

Prueba de Tukey. Variable Amarillo (b*).			
Día: 45; Alfa = 0.05			
Tratamiento	Media	1	2
AB	4.54	a	
AB+P	4.69	a	
AB+C+P	6.84		b
AB+C	6.44		b

Medias precedidas de la misma letra no tienen diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$, Tukey).

7.5.1.4 *Croma (C*)*.

La prueba de Tukey para la variable (C*) a los 45 días de la investigación, mostró la formación de dos grupos de los valores de la media. En el primer grupo apareció la dieta control AB y AB+P, en el segundo las dietas AB+C+P y AB+C (Tabla 31).

7.5.1.5 *Tono (H^o*)*.

La prueba de Tukey para la variable tono a los 45 días de la investigación, mostró la formación de dos grupos de los valores de la media. En el primer grupo apareció la dieta AB y AB+P, en el segundo AB+C y AB+C+P (Tabla 32).

Tabla 31. Prueba de Tukey para la variable croma (C*).

Prueba de Tukey. Variable croma (C*)			
Día: 45; Alfa = 0.05			
Tratamiento	Media	1	2
AB	5.32	a	
AB+P	5.66	a	
AB+C+P	13.61		b
AB+C	14.10		b

Medias precedidas de la misma letra no tienen diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$, Tukey).

Tabla 32. Prueba de Tukey para la variable tono (H^{0*}).

Prueba de Tukey. Variable Tono			
Día: 45; Alfa = 0.05			
Tratamiento	Media	1	2
AB	59.55	a	
AB+P	56.60	a	
AB+C+P	30.66		b
AB+C	29.08		b

Medias precedidas de la misma letra no tienen diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$, Tukey).

7.5.1.6 Análisis de correlación entre las cuatro variables de color.

Se presentó una correlación positiva estrecha entre las variables a* con b* y C*, de igual manera la variable b* presentó una correlación positiva con las variables a* y C*. Además, se registró una correlación negativa entre la variable H^{0*} con las variables b*, a* y C*. Los resultados demostraron los filetes de la trucha arco iris a los 45 días de la experimentación presentaron una coloración amarilla-rojiza en los tratamientos AB+C+P y AB+C (Tabla 33).

7.5.1.7 Diferencia de color.

La diferencia más alta en el cambio de color se presentó al comparar el control con el tratamiento AB+P+C (Tabla 34).

Tabla 33 Análisis de correlación de Pearson entre las cuatro variables.

p = nivel de significancia **.

	L*	(a*)	(b*)	(C*)	(H^{0*})
(L*)	1.00	0.0391	-0.0519	0.0459	0.0450
	p= ---	p=0.832	p=0.778	p=0.803	p=0.807
(a*)	0.0391	1.00	0.8615**	0.9938**	-0.9656
	p=0.832	p= ---	p=0.000	p=0.00	p=0.00
(b*)	-0.0519	0.8615**	1.00	0.9036**	-0.8007
	p=0.778	p=0.000	p= ---	p=0.000	p=0.000
C*	0.0459	0.9938**	0.9036**	1.00	-0.9551
	p=0.803	p=0.00	p=0.00	p= ---	p=0.00
H^{0*}	0.0450	-0.9656	-0.8007	-0.9551	1.00
	p=0.807	p=0.00	p=0.000	p=0.000	p= ---

Tabla 34. Diferencia de color.

Diferencia de color ΔE		Tratamientos			
		AB	AB+P	AB+C	AB+P+C
Tiempo	45 días	2.59 ^a	0.79 ^a	9.68 ^b	9.9 ^b

Medias precedidas de la misma letra no tienen diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$, Tukey).

7.5.2 Contenido total de carotenoides (CTC).

Los resultados del análisis de varianza (ANDEVA) con respecto a la valoración de carotenos en filete señaló que se presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$), entre los tratamientos, los días y la interacción de las dos variables (Tabla 35).

La prueba de Tukey para la variable de carotenoides totales en el filete a los 45 días de la investigación, mostró dos grupos en los valores de la media. En el primer grupo apareció la dieta control AB y AB+P, en el segundo las dietas AB+C+P y AB+C (Tabla 36).

Tabla 35. Resultados del ANDEVA. Evaluación cuantitativa del contenido total de carotenoides en el filete (mg/kg).

Variables	GL	CM	Fc	P
Tratamientos	3	9.1822	53.2135	0.000**
Días	1	41.9819	243.2974	0.000**
Trat*Días	3	9.6105	55.6955	0.000**
Error	24	0.1726		
Total	31			

GL = grados de libertad; CM = Cuadrado Medio. Fc =Factor calculado
P = nivel de significancia.

Tabla 36. Prueba de Tukey para la variable contenido total de carotenoides.

Día: 45; Alfa = 0.05			
Tratamiento	Media	1	2
AB	1.30	a	
AB+P	1.70	a	
AB+C+P	5.33		b
AB+C	5.10		b

Medias precedidas de la misma letra no tienen diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$, Tukey).

7.5.3 Análisis de correlación entre las cuatro variables de color y contenido total de carotenoides.

Se presentó una correlación positiva entre la variable de carotenoides totales en los filetes con relación a las variables (a*), (b*) y (H^{0*}). Se observó una correlación negativa entre la variable C* y la variable de concentración total de carotenoides. A los 45 días de experimentación se registró una marcada relación entre la coloración roja (a*) amarilla (b*) y la concentración total de carotenoides en las dietas AB+C+P y AB+C (Tabla 37).

Las dietas experimentales adicionadas con carotenoides presentaron una mejor apariencia en el color del filete, evidenciado tanto por la valoración de color por la prueba CIELAB como por la cuantificación de carotenoides totales en el filete (Tabla 38).

Tabla 37 Análisis de correlación entre las cuatro variables y el contenido total de carotenoides.

p = nivel de significancia **.

	(L*)	(a*)	(b*)	CT(mg/kg)	H°*	C*
(L*)	1.00	0.0391	-0.0519	-0.0861	0.0459	0.0450
	p= ---	p=0.832	p=0.778	p=0.639	p=0.803	p=.807
(a*)	0.0391	1.00	0.8615	0.9363**	0.9938	-0.9656
	p=0.832	p= ---	p=0.000	p=0.000	p=0.00	p=0.00
(b*)	-0.0519	0.8615	1.0000	0.9134**	0.9036	-0.8007
	p=0.778	p=0.000	p= ---	p=0.000	p=0.000	p=0.000
CT (mg/kg)	-0.0861	0.9363**	0.9134**	1.0000	0.9451**	-0.9091
	p=0.639	p=0.000	p=0.000	p= ---	p=0.000	p=0.000
H°*	0.0459	0.9938	0.9036	0.9451**	1.0000	-0.9551
	p=0.803	p=0.00	p=0.000	p=0.00	p= ---	p=0.00
C*	0.0450	-0.9656	-0.8007	-0.9091	-0.9551	1.00
	p=0.807	p=0.00	p=0.000	p=0.00	p=0.00	p= ---

Tabla 38. Concentrado de los parámetros de color y el contenido total de carotenoides, en los días cero y 45 del experimento.

Parámetros	Días	Tratamientos											
		AB			AB+P			AB+C			AB+P+C		
		Media	±	EE									
(L*)	0	55.56 ^a	±	0.620	55.60 ^a	±	1.469	53.77 ^a	±	0.324	54.22 ^a	±	0.812
	45	58.10 ^a	±	0.224	55.50 ^a	±	1.978	54.65 ^a	±	2.070	55.09 ^a	±	1.760
(a*)	0	2.690 ^a	±	0.288	2.34 ^a	±	0.227	2.48 ^a	±	0.158	1.36 ^a	±	0.272
	45	2.76 ^a	±	0.031	3.12 ^a	±	0.308	11.93 ^b	±	1.200	12.27 ^b	±	1.063
(b*)	0	4.02 ^a	±	0.303	4.11 ^a	±	0.330	4.41 ^a	±	0.245	4.08 ^a	±	0.297
	45	4.54 ^a	±	0.064	4.69 ^a	±	0.117	6.44 ^b	±	0.103	6.84 ^b	±	0.266
(H ⁰ *)	0	56.31 ^a	±	1.963	60.27 ^a	±	1.873	60.47 ^a	±	2.603	57.32 ^a	±	1.265
	45	59.55 ^a	±	0.733	56.60 ^a	±	3.074	29.08 ^b	±	3.105	30.66 ^b	±	3.093
(C*)	0	4.85 ^a	±	0.380	4.74 ^a	±	0.117	5.07 ^a	±	0.995	4.34 ^a	±	0.846
	45	5.32 ^a	±	0.367	5.66 ^a	±	0.187	13.6 ^b	±	0.191	14.15 ^b	±	0.846
CT (mg/kg)	0	1.08 ^a	±	0.038	1.07 ^a	±	0.041	1.05 ^a	±	0.137	1.02 ^a	±	0.049
	45	1.28 ^a	±	0.241	1.67 ^a	±	0.370	5.10 ^b	±	0.230	5.33 ^b	±	0.267

EE = Error estándar; CT = Carotenoides totales.

A los 45 días, los valores de L* en todos los tratamientos fueron similares. Las variables de color a*, b* y C*, incrementaron sus valores en el tiempo presentando diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$). Este comportamiento fue similar tanto en la dieta con carotenoides como en la de carotenoides más probióticos. Por el contrario la variable tono (H⁰*) decreció en el tiempo. Al realizar la comparación de cambio de color del filete en los tratamientos desde el día cero al 45, se observó una mejor respuesta en los tratamientos donde se incorporó carotenoides al igual que en la combinación de carotenoides más probióticos.

7.6 Prueba de desafío a estrés térmico.

7.6.1 Tiempo.

El ANDEVA del tiempo en que tardaron en morir las truchas expuestas al desafío de la temperatura, presentó una diferencia significativa ($P < 0.05$) entre las medias de los tratamientos experimentales (Tabla 39).

Tabla 39 ANDEVA para la variable tiempo en la prueba de desafío.

FV	GL	CM	Fc	S
Dieta	3	15987.2	21.671	0.000*
Error	12	737.7		
Total	15			

FV = Variables, GL = Grados de libertad;
 CM = Suma de cuadrados medios.
 Fc = Factor calculado S = significancia.

Los resultados del ANDEVA para la prueba de desafío en tiempo indicaron que el tiempo promedio para la dieta control (AB) fue de 140.5 min y para la dieta AB+P de 191 min, tiempos estadísticamente ($P < 0.05$), diferentes en comparación con las dietas AB+C y AB+P+C, que fue de 276.75 y 260.50 min respectivamente, siendo las truchas alimentadas con estas dietas las que presentaron un tiempo más largo de sobrevivencia (Tabla 40).

7.6.2 Temperatura.

El ANDEVA para las variable del punto de temperatura de muerte de las truchas indicó una diferencia altamente significativa ($P < 0.05$) entre las medias de los tratamientos (Tabla 41).

Tabla 40. Prueba de Tukey para la variable tiempo en la prueba de desafío.

Prueba de Tukey				
Variable tiempo (min); Día: 45; Alfa = 0.05				
Dieta	Media	1	2	
AB	140.50	a		
AB+P	191.00	a		
AB+P+C	260.50		b	
AB+C	276.75		b	

Medias precedidas de la misma letra no tienen diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$, Tukey).

Tabla 41. ANDEVA de la variable temperatura en la prueba de desafío.

Factor temperatura en la prueba de desafío.				
FV	GL	CM	Fc	S
Intercepto	1	10866.20	447419.6	0.00*
Dieta	3	0.32	13.0	0.00*
Error	12	0.02		
Total	15			

FV =Fuentes de variación. GL = Grados de libertad. CM =Suma de Cuadrados medios.Fc =Factor calculado. S = Significancia.

Los resultados de la prueba de Tuckey indicaron que las truchas de la dieta experimental AB resistieron hasta una temperatura máxima de 25.7°C, valor menor al registrado en los otros tratamientos con diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) (Tabla 30). Esto demostró que las truchas alimentadas con carotenoides y probióticos resistieron temperaturas más elevadas (Tabla 42).

Tabla 42. Prueba de Tukey para la variable temperatura en la prueba de desafío.

Prueba de Tukey			
Variable temperatura (°C); Día 45; Alfa = 0.05			
Dieta	Media	1	2
AB	25.7		b
AB+P	26.1	a	
AB+P+C	26.2	a	
AB+C	26.3	a	

Medias precedidas de la misma letra no tienen diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$).

El consolidado del tiempo en el que las truchas sobrevivieron ante la prueba de estrés de temperatura en cada uno de los tratamientos se presenta en la tabla 43.

Tabla 43. Consolidado de la variable tiempo y temperatura ante la prueba de desafío.

Desafío	Tratamientos			
	AB	AB+P	AB+C	AB+P+C
	Media ± EE	Media ± EE	Media ± EE	Media ± EE
Tiempo (min).	140.50 ^a ± 15.71	191.00 ^a ± 7.90	276.75 ^b ± 18.08	260.50 ^b ± 10.05
Temperatura (°C)	25.7 ^a ± 0.08	26.1 ^b ± 0.02	26.3 ^b ± 0.10	26.23 ^b ± 0.08

EE = Error estándar. Medias precedidas de la misma letra dentro de cada renglón no tienen diferencias estadísticas significativas ($P > 0.05$, Tukey).

8. DISCUSIÓN

8.1 Parámetros del desempeño del crecimiento.

La evaluación de los parámetros del desempeño del crecimiento en la acuicultura es importante, ya que permite valorar los efectos de los diferentes componentes en las dietas experimentales y contrastar éstos valores con otros experimentos similares, sobre todo cuando se incluyen aditivos y sustitutos de proteínas y lípidos. Los resultados de estos parámetros permiten conocer el efecto de los componentes nutritivos y recomendar fuentes alternas para lograr una mejor producción y una mayor rentabilidad. No obstante, es difícil su comparación cuando las condiciones experimentales son diferentes tal como la talla del pez, las condiciones de cultivo, la alimentación y nutrición y la calidad del agua, ya que no existe una medida estándar en los experimentos, y éstos muchas veces se llevan a cabo en diferentes tipos instalaciones, densidades y calidad del agua.

Existe suficiente información referente a la evaluación de los parámetros de desempeño del crecimiento en la trucha arco iris (*O. mykiss*) bajo distintas condiciones experimentales. La mayoría de los indicadores son difíciles de comparar entre experimentos, pero no así en un mismo experimento, así por ejemplo, al comparar la ganancia de peso (GP) en cada uno de los tratamientos abordados en el presente estudio, éste varió de 203.8 a 214.5% en un periodo de 45 días. Ingle Mora y col. (2006), registraron resultados positivos con la GP al incluir la oleorresina no saponificado de chile *C. annuum* en una proporción de 120 mg/kg en una dieta basal, obteniendo un valor de 128%. Por su parte Yanar y col., (2007), adicionaron a la dieta basal harina de chile *C. annuum* y flor de cempasúchil como fuentes naturales de carotenoides y obtuvieron un incremento de GP de 197.8%. A su vez Tukmechi y col. (2011), suplementaron dietas experimentales con la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y en este caso la GP varió de 164.4 a 174.9%.

En otras investigaciones se observó una GP mayor como por ejemplo Akhtar y col. (1999), que alimentaron ejemplares de trucha arco iris con dietas suplementadas con cantaxantina

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

sintética, oleorresina de chile *C. annuum* y α tocoferol y obtuvieron un valor de GP de 325%. La mayor ganancia de peso se observó en la dieta experimental adicionada con la oleorresina no saponificada de chile. Teimouri y col. (2013), evaluaron los efectos en dietas experimentales con distintas proporciones de *Spirulina platensis* y un testigo con 50 mg de astaxantina sintética. En este caso la mayor GP fue de 230.7% y se obtuvo en la dieta donde se utilizó harina de *S. platensis* como agente pigmentante natural. Saez y col. (2014), no registraron diferencias estadísticamente significativas en un experimento donde utilizaron diferentes niveles de astaxantina sintética en la dieta y la GP alcanzó en promedio 226.7%. A su vez Ramos y col. (2015), evaluaron los probióticos adicionados a una dieta basal con dos grupos; uno que incluyó múltiples especies de bacterias como *Bacillus* spp., *Pediococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Lactobacillus* spp. y otro con *Pediococcus acidilactici* contra una dieta testigo no suplementada y encontraron que la GP fluctuó entre 514.57 y 545.9%.

Los resultados antes mencionados muestran la dificultad de comparar éste parámetro entre diferentes experimentos, ya que las condiciones experimentales en cada caso fueron diferentes, y se utilizaron truchas en diferentes etapas de desarrollo y diferentes aditivos en las dietas experimentales. No obstante, ésta información permiten tener una idea general de la variación de este indicador y compararlo. Desde el punto de vista práctico, para las condiciones en que se realizó el presente experimento se puede afirmar que la trucha arco iris respondió adecuadamente a las dietas utilizadas y a las condiciones de cultivo, lo que se reflejó en buen incremento del peso total, siendo las dietas AB + C y AB + P +C donde se incluyó la oleorresina no saponificada de chile ancho donde se obtuvieron los mejores resultados coincidiendo con lo reportado por Akhtar y col. (1999).

Los resultados de la longitud total (LT) obtenidos en este trabajo fueron superiores a los reportados por Tukmechi y col. (2011), que incorporaron carotenoides naturales en dietas experimentales en el cultivo de la trucha arco iris. El promedio de LT inicial fue de 14.9 cm y el final de 16.9 cm con un promedio del incremento de longitud diaria de 0.6 mm. Los autores indican que el aumento en LT fue debido a la presencia de los carotenoides lo que implica que su incorporación en el alimento balanceado contribuye a disminuir el tiempo en

que alcanzan su talla comercial, con lo que es posible disminuir el tiempo de cosecha y los costos de producción. Esta investigación coincidió con los resultados obtenidos en el presente experimento, ya que la trucha arco iris alimentada con las dietas adicionadas con oleorresina no saponificada de chile *C. annuum* alcanzaron una mayor LT final y su ganancia diaria de LT fluctuó entre 1.32 y 1.63 mm.

El factor de condición (K) en esta investigación no presentó diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$) entre los diferentes tratamientos. Resultados similares fueron reportados por Tukmechi y col. (2011), quienes reportaron que K es un buen indicador del estado de salud de los organismos ya que expresa la relación volumétrica en función del peso (Gulland, 1971). El factor de conversión alimenticia (FCA) se estima que también fue bueno ya que no rebasó el valor de 1.44 pero fue superior al registrado por Ramos y col. (2015), que obtuvieron un FCA de 0.92 a 0.94 al adicionar probióticos mono y multi-específicos en la dieta. Por otro lado Safari y col. (2015), registraron un FCA de 1.03 y 1.08 al utilizar 200 y 250 g de harina de achiote por kg de alimento en la dieta basal. Abd El-Rhman y col. (2009), al adicionar *Micrococcus luteus* en las dietas obtuvieron una FCA de 1.6 e Ingle de la Mora y col. (2006), reportaron un FCA de 1.5 al adicionar como suplemento oleorresina no saponificada de *C. annuum*, que fue similar al obtenido en esta investigación.

Desde el punto de vista económico un valor bajo de FCA significa que el organismo consume menos alimento y su respuesta de crecimiento es mayor, ya que aprovecha mejor los nutrimentos disponibles en el alimento. La respuesta de este indicador en las dietas donde se incluyó carotenoides y probióticos indicó que la trucha arco iris presentó una mejor respuesta fisiológica a estos aditivos ya que los carotenoides son antioxidante, promotores de la provitamina A e inductores inmunológicos, y juegan un papel importante en la dieta de los peces. También se ha encontrado una relación entre los carotenoides y el metabolismo lipo-proteico y otros procesos fisiológicos. Adicionalmente, los probióticos mejoran el apetito y esto da lugar a un mayor crecimiento y un bajo FCA, y ayudan a la desintoxicación de los compuestos perjudiciales presentes en la dieta (Torrissen y col., 2006

y Abd El-Rhman y col., 2009), de ahí la importancia que tienen estos aditivos al ser incorporados en los alimentos balanceados de los salmónidos.

La tasa específica de crecimiento (TEC) es un indicador que si se puede comparar entre distintos experimentos, ya que representa el incremento de peso en porcentaje por día (%/día). El valor registrado en este experimento varió de 1.40 a 1.70%/día. Estos valores son superiores a los reportados por Safari y col. (2015) quienes al incrementar los niveles de harina de achiote en la dieta basal de 200 a 250 mg/kg de alimento, registraron una TEC de 1.50 a 1.56%/día. Tukmechi y col. (2011), al adicionar a la dieta células enteras de levadura de cerveza (*S. cerevicae*) obtuvieron un valor de TEC de 1.46%/día. Ramos y col. (2015), obtuvieron valores desde 0.61 a 3.44 %/día al utilizar probióticos multi-específicos e Ingle de la Mora y col. (2006), registraron una TEC de 1.6 %/día al adicionar 120 mg de oleorresina de chile por kg en la dieta basal.

Al igual que en los otros indicadores de desempeño la adición de probióticos y pigmentos carotenoides brindaron una respuesta positiva en el crecimiento, semejante al uso del achiote, la levadura de cerveza y la oleorresina no saponificada de chile. Las truchas respondieron al suministro de los inmuno-estimulantes procedentes de la oleorresina de chile y de los probióticos, lo que permitió una mejora en la digestibilidad de los nutrientes lo que se vio reflejado en la TEC, tal como lo mencionan Tukmechi y col. (2011).

La tasa de sobrevivencia (S) reportadas en esta investigación para la dieta experimental en donde se incluyeron los pigmentos carotenoides fue de 100%, seguida por la dieta adicionada con probióticos y carotenoides con un 90%. Los resultados fueron semejantes a los reportados por Abd El-Rhman y col. (2009), quienes encontraron una S del 100% al adicionar *Micrococcus luteus* a la dieta basal. La sobrevivencia también fue superior a lo reportada por Tukmechi y col. (2011), en dietas adicionadas con células de levadura de cerveza donde la máxima S fue del 66.6% y Ramos y col., (2015), con una S máxima del 94% al adicionar probióticos multi-específicos en la dieta. Los carotenoides en particular proporcionan una mayor resistencia a los peces, ya que su consumo constante mejora la función del hígado e incrementa el potencial defensivo contra las condiciones adversas del

entorno y los probióticos mejoran el crecimiento y la resistencia a ataques bacterianos (Balcázar y col., 2006 y Bjerkg, 2006).

Los resultados obtenidos en la presente investigación, constituyen el primer reporte en donde se incluyen en las dietas experimentales los carotenoides y los probióticos. La respuesta positiva en los parámetros de desempeño del crecimiento se atribuyen a las características de ambos aditivos, ya que actúan como inmuno-estimulantes, antioxidantes, brindan una alta palatabilidad, estimulan el apetito, mejoran la nutrición por la producción de vitaminas, ayudan a la desintoxicación de compuestos perjudiciales en la dieta, y la descomposición de los componentes indigeribles. Otro factor clave, que intervino en la buena respuesta a los parámetros de desempeño fue la calidad de los juveniles de trucha, ya que procedieron de la granja trutícola Ovapiscis, empresa Española que ocupa el primer lugar en la producción de huevo oculado en Europa y que vendió los huevos oculados al Centro Trutícola de Pucuateo en Michoacán. Esta es la primera importación de esta línea genética que reporta buenos índices de FCA y TEC, además de una buena adaptabilidad al medio. Otra característica es que este lote puede mantener un buen crecimiento a temperaturas que fluctúan entre 6 y 22°C. Los resultados de los indicadores de crecimiento obtenidos en esta investigación validan que esta línea tiene un buen potencial de cultivo en las condiciones de México.

8.2 Parámetros hematológicos.

El hematocrito normalmente es utilizado como un indicador general del estado de salud de los peces (Yeganeh y col., 2015). En el presente estudio las dietas evaluadas presentaron diferencias estadísticamente significativas con respecto al tratamiento control, y la dieta que presentó una respuesta superior fue la que se adicionó con pigmentos carotenoides de chile ancho y probióticos donde el valor del hematocrito alcanzó 41.25%. De acuerdo con Leroy (1993) éste valor se puede considerar normal, ya que considera un intervalo para la trucha arco iris de 32 y 59%. No obstante, Tukmechi y col. (2011) evaluaron tres dietas frente a una dieta control, utilizando como suplementos nutricionales células enteras de la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*), levadura enriquecida con ácidos grasos altamente

poliinsaturados (AGAP) y células de levadura tratadas con beta-mercapto-etanol, no registraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y los valores de hematocrito oscilaron entre 63.2 y 66.2%. Rehulka y Minarik (2003), encontraron que la lecitina incrementó el hematocrito en la trucha arco iris y reportaron valores del 30.4 a 50.2%.

Por otra parte Nya y Austin (2011), quienes investigaron el efecto del ajo como inmunoestimulante en la trucha arco iris y la duración de la protección inmune contra la infección de *Aeromonas hydrophila* reportaron que el porcentaje del hematocrito fue de 30.5% en la dieta donde se incluyó 0.5 g de ajo en 100 g de alimento. Talas y Gulhan (2009), registraron el hematocrito en la sangre de la trucha arco iris tratados con diferentes niveles de propóleos como inmuno-estimulante. Los resultados obtenidos indicaron que a medida que aumentó la cantidad de propóleos disminuyó el porcentaje de hematocrito pasando de 33.9 a 26.1%.

Adel y col. (2015), estudiaron los efectos de la suplementación en la dieta del extracto de menta (*Mentha piperita*) en la trucha marrón (*Salmo trutta caspius*) y registraron que la suplementación de 2 y 3% de extracto de menta mostró una mejor respuesta en cuanto al porcentaje de hematocrito registrando valores de 33.15 y 33.34%. Finalmente, Yeganeh y col. (2015), evaluaron los efectos de *Spirulina platensis* sobre el hematocrito. Los valores no presentaron diferencias estadísticamente significativas con relación a los grupos suplementados con *S. platensis*, observándose que los valores oscilaron entre 40.44 y 41.11%.

Todos los valores de hematocrito antes mencionados caen dentro de los niveles considerados como óptimos, sin embargo, algunos aditivos agregados a las dietas experimentales indicaron que tienen la función de aumentar los valores del hematocrito. Se estima que el uso tanto de la oleoresina no saponificada y de los probióticos utilizados en el presente experimento incrementó el valor del hematocrito en relación con el testigo, razón por la que se recomienda su utilización en las dietas balanceadas de la trucha arco iris.

La combinación de los carotenoides y probióticos como aditivos en la dieta basal conllevó también a que se incrementara el número de eritrocitos. A los 45 días los tratamientos experimentales presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) con respecto al control, pero el tratamiento con carotenoides y probióticos señaló una respuesta superior con $1.79 \times 10^6 \text{cél}/\mu\text{L}$. La sangre se considera un reflector fisiopatológico de todo el cuerpo y los parámetros hematológicos son un buen indicador de la salud de los peces ya que serán más resistentes ante cualquier tipo de anomalía (Tewary y Patra, 2011). Los eritrocitos son indicadores del estado oxidativo, porque es uno de los sitios de mayor producción de radicales libres (Babak y col., 2012). Los carotenoides por su parte son antioxidantes naturales, por lo que pueden prevenir la degeneración de los eritrocitos. La adición de pigmentos carotenoides en la dieta facilitan el transporte del oxígeno en la sangre y por lo tanto mejora el bienestar de los peces (Talpur y Ikhwanuddin, 2012). Considerando que los carotenoides actúan como inmuno-estimulantes se han llevado a cabo estudios para examinar la habilidad de diferentes aditivos para mejorar el desempeño de los peces. Algunos estudios que se citan a continuación muestran resultados cercanos a los obtenidos en esta investigación. Las posibles diferencias estadísticamente que se presentan son debidas a las condiciones particulares en donde se realizó el experimento (Hoseinifar y col., 2011).

Nya y Austin (2011), estudiaron el desarrollo y la duración de la protección inmune de la trucha arco iris contra las infecciones de *Aeromonas hydrophila*, utilizando el extracto del ajo. A los 28 días de alimentación en la dieta donde se suplementó 1g de ajo/100 g de alimento, la cantidad de eritrocitos alcanzó un valor de $6.7 \times 10^6 \text{cél}/\mu\text{L}$. Yeganeh y col. (2015) evaluaron los efectos de la micro alga *S. platensis* sobre los eritrocitos. Los niveles se incrementaron significativamente en los grupos suplementados con el 10% de *S. platensis*, con un valor de $2.73 \times 10^6 \text{cél}/\mu\text{L}$. Talas y Gulhan (2009), registraron el número de los eritrocitos en la sangre de la trucha arco iris adicionando 0.01, 0.02 y 0.03 g/L de propóleos como inmuno-estimulante. Los resultados obtenidos mostraron que a medida que aumentó la cantidad de propóleos disminuyó la cantidad de eritrocitos de 1.4 a $1.0 \times 10^6 \text{cél}/\mu\text{L}$.

Awad y Austin (2010), evaluaron el efecto de lupino (*Lupinus perennis*), mango, (*Mangifera indica*) y ortiga, (*Urtica dioica*) sobre el número de eritrocitos en la sangre de la trucha arco iris. Los resultados variaron en las dietas experimentales desde 1.2 a 1.6×10^6 cél/ μ L. Rehulka y Minarik (2003), suplementaron con lecitina al 1.0%. La lecitina tendió a estimular la eritropoyesis que se manifestó en un número superior de eritrocitos comparado con el grupo control. Su incremento fue de 0.77 a 1.42×10^6 cél/ μ L. Adel y col. (2015), estudiaron los efectos de la suplementación en dieta con extracto de menta *Mentha piperita* en la trucha marrón *Salmo trutta caspius* y encontraron que las diferentes proporciones de suplementaciones no presentaron diferencias estadísticas significativas sobre la variable eritrocitos. Los valores reportados para esta variable en este estudio fueron desde 1.03 hasta 1.16×10^6 cél/ μ L.

Los valores promedio de los eritrocitos mencionados anteriormente, se encuentra por debajo del valor máximo obtenido en la presente investigación, lo que significa que la adición de pigmentos carotenoides derivados del chile ancho y los probióticos tienen un efecto eritropoyético en las truchas incrementando el número de eritrocitos, aunque hay que considerar que el número de eritrocitos en la sangre suele variar de acuerdo a la altitud en donde se desarrolla el cultivo que en este caso fue a los 2,000 metros sobre el nivel del mar.

Los glóbulos blancos o leucocitos son la primera línea de defensa del organismo contra los agentes infecciosos causados por factores microbianos y químicos (Talpur y Ikhwanuddin, 2012). Un incremento en el conteo de glóbulos blancos muestra una mayor respuesta inmune-estimuladora. En el presente experimento la dieta con carotenoides reportó una respuesta superior con un valor de 3.30×10^4 cél/ μ L. Al respecto Awad y Austin (2010), evaluaron el efecto de lupino, (*Lupinus perennis*), mango, (*Mangifera indica*) y la ortiga, (*Urtica dioica*) sobre la cantidad de leucocitos en la sangre de la trucha. Los resultados obtenidos fluctuaron desde 4.5 hasta 12.5×10^4 cél/ μ L, los peces de las dietas donde se suministró como aditivo lupino y mango presentaron el mayor número de leucocitos.

Tukmechi y col. (2011), trabajaron con trucha arco iris, en un tiempo de experimentación de 30 días, y evaluaron tres dietas frente a una dieta control, Los tres suplementos

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

nutricionales fueron la células enteras de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*), la levadura enriquecida con ácidos grasos altamente poliinsaturados (AGAP) y las células de levadura tratadas con beta-mercapto-etanol (2ME). La mejor respuesta para el número de leucocitos se obtuvo en el tratamiento con la suplementación de células de levadura tratadas con beta-mercapto-etanol (2ME) donde se obtuvo un valor de 4.13×10^4 cél/ μ L. Yeganeh y col. (2015), evaluaron los efectos de *Spirulina platensis* sobre los leucocitos, y encontraron que los niveles de leucocitos se incrementaron significativamente en los grupos suplementados con esta micro alga y se registraron niveles de 10.3×10^3 cél/ μ L.

En otras investigaciones donde han valorado el número de leucocitos en la sangre de la trucha arco iris, manejan otras unidades de medida, lo que no permite hacer una comparación con los resultados obtenidos en este experimento. Así por ejemplo, Adel y col. (2015) estudiaron los efectos de la suplementación en la dieta del extracto de menta (*Mentha piperita*) en la trucha marrón (*Salmo trutta caspius*) y encontraron que la suplementación con 3% de extracto de menta presentó una mejor respuesta en cuanto al número de leucocitos con relación a los demás tratamientos experimentales con $13.14 \times 10^3/\text{mm}^3$. Talas y Gulhan (2009), registraron los leucocitos en la sangre de trucha arco iris, tratados con diferentes niveles de propóleos como inmuno-estimulante en las dietas, y observaron que a medida que aumentó la cantidad de propóleos, aumentó la cantidad de leucocitos pasando de 7.2 a 9.5 $\text{mm}^3/10^3$. Afirman los autores que los propóleos adicionados a las dietas pueden aumentar la cantidad de leucocitos. Nya y Austin (2011), estudiaron el efecto del ajo como un inmuno-estimulante en la trucha arco iris como protección inmune contra las infecciones de *Aeromonas hydrophila*, y encontraron que el tratamiento en donde se suplementó 1g de ajo/100 g de alimento presentó la mayor cantidad de leucocitos con 430.0×10^3 . No obstante, que se reportan unidades diferentes a las registradas en esta investigación, los aditivos antes mencionados funcionaron incrementando las defensas de los Salmónidos estudiados.

Los trombocitos son las células encargadas de la coagulación sanguínea y su principal función es mantener la homeostasis (Valenzuela y col., 2003). En la presente investigación el número de trombocitos se incrementó en la dieta donde se incluyeron los carotenoides y

los probióticos obteniendo un valor de 14.375 cél./ μ L. Tavares-Días y Mataquero (2004), afirman que el número de los trombocitos de los peces teleósteos de aguas continentales varían de 870 a 100.800 cél/ μ L, por lo que los valores registrados en el experimento se consideran normales.

8.3 Parámetros bioquímicos.

La proteína total es considerado como un indicador de salud, estrés y bienestar del pez (Yeganeh y col., 2015). En el presente estudio, la proteína total en la sangre se incrementó al suministrar en la dieta carotenoides y probióticos. El valor máximo registrados fue de 5.35 g/dL. Este valor se encuentra en el intervalo de valores normales reportados para la trucha arco iris que varía de 2 a 10 g/dL (Leroy, 1993). Awad y Austin (2010), encontraron una variación de 5.6 a 6.5 g/dL. La dieta con suplemento de mango presentó más proteína total que los demás tratamientos experimentales. Yeganeh y col. (2015), al evaluar los efectos de la *S. platensis* sobre los niveles de proteína total en sangre en trucha arco iris encontraron un valor de 3 g/dL. Talas y Gulhan (2009), registraron la proteína total en la sangre de la trucha arco iris, tratados con diferentes niveles de propóleos. Reportaron que al aumentar el nivel de propóleos aumentó también la proteína total. Una proporción máxima de 0.02 g/L de propóleos incrementó los valores de proteína total. Los valores registrados para esta variable variaron de 2.6 a 2.7 g/dL.

Awad y col. (2013), evaluaron la eficiencia del aceite de la semilla del comino negro (*Nigella sativa*) y extracto de ortiga (*Quercetina* spp.) con respecto a la inmunidad de la trucha arco iris. Los resultados con relación al valor de la proteína total mostró que la mejor respuesta se la obtuvo en los grupos alimentados con 1% de extracto de ortiga y 3% de aceite de semilla de comino con un valor de 5.22 y 5.58 g/dL respectivamente. Adel y col. (2015), al agregar en la dieta el extracto de menta (*Mentha piperita*) en trucha marrón (*Salmo trutta caspius*), reportaron que con el 3% de extracto de menta, se presentó una mejor respuesta de la proteína total con relación a los otros tratamientos experimentales. La cantidad reportada en este caso fue de 3.64 g/dL. Los resultados del presente estudio

señalaron que el uso de pigmentos carotenoides y probióticos como aditivos en las dietas de trucha arco iris incrementaron el valor de la proteína total aumentando así su estado de salud y bienestar.

El Aspartato Aminotransferasa (AST) y la Alanino Aminotransferasa (ALT) son enzimas claves que permiten detectar el comportamiento de los aminoácidos y otros metabolitos intermedios en el hígado, el músculo y las branquias. Conforme aumentan los altos valores del AST y la ALT se incrementan los aminoácidos transformados o metabolizados en el gasto del tejido tisular. Esta característica los convierte en buenos indicador del funcionamiento del hígado (Ozaki, 1978; Yamamoto, 1981) o bien de los daños ocasionados en el hígado (Oda, 1990).

En la presente investigación no se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre las dietas con respecto a la variable AST. La cantidad de AST fue igual en todas las dietas experimentales. Durante el tiempo experimental los valores reportados para este estudio variaron de 114.75 a 174.0 U/L. Leroy (1993), reportó que los valores normales de AST en la trucha arco iris fluctuaron entre 100 y 440 U/L, por lo que los valores registrados en el experimento se consideran normales.

Talas y Gulhan (2009) registraron una variación del AST en la sangre de trucha arco iris que fue de 470.6 a 312.5 U/L y encontraron que a medida que aumentó la cantidad de propóleos disminuyó la cantidad del AST. Adel y col. (2015) estudiaron los efectos de la suplementación en la dieta del extracto de menta (*Mentha piperita*) en la trucha marrón (*S. trutta caspius*) y encontraron que no hubo variación del AST, alcanzando valores de 235.2 a 264.8 U/L. Adel y col. (2015), al suministrar el extracto de menta (*Mentha piperita*) en la trucha marrón reportaron que no hubo una variación de la ALT con valores de 18.48 a 18.94 U/L y Leroy (1993) reportó valores de ALT para la trucha arco iris hasta de 136 U/L. En este trabajo se encontró que las dietas experimentales donde se incluyeron los pigmentos carotenoides y los probióticos presentaron los valores más bajos con 11.75 y 13.25 U/L, lo que demostró que el metabolismo de los aminoácidos en el tejido tisular disminuye por la acción de éstos aditivos.

La albumina es necesaria para el sostenimiento del proceso osmótico, mantenimiento, sanidad y sistema inmune y actúa además como portadora del plasma (Nya y col., 2009). En la presente investigación la cantidad de albumina se incrementó en la dieta donde se adicionaron carotenoides y carotenoides más probióticos, los valores fueron de 1.75 y 2.25 g/dL respectivamente. Leroy (1993) reportó valores normales de albumina para la especie trucha arco iris entre 1.48 y 2.43 g/dL. Yeganeh y col., (2015) al evaluar los efectos de la *S. platensis* sobre la albumina de la sangre de la trucha arco iris encontraron que al suministrar *S. platensis* al 7.5%, el contenido de la albumina alcanzó 1.8 g/dL, que fue el mayor.

8.4 Parámetros de color.

En la presente investigación no se observó una diferencia significativa ($P < 0.05$) en el parámetro de color L^* (luminosidad) entre los tratamientos experimentales y sus valores se mantuvieron entre 53.77 y 55.60 al inicio del experimento y de 54.65 a 58.10 al final del experimento a los 45 días. Ingle de la Mora y col. (2006), encontraron valores similares a los obtenidos en esta investigación con 51.6 a 54.7. La L^* permaneció constante en las dietas suplementadas con la oleoresina de chile ancho, aunque si se incrementó en el tratamiento en donde incorporó la astaxantina sintética en una cantidad de 80 mg/kg.

Valente y col. (2015), al incluir el 5 y 10% de la alga *Gracilaria vermiculophylla* en dietas experimentales para la trucha arco iris en un periodo de 91 días, valoraron la L^* sobre el filete cocinado a 150°C por 5 minutos y obtuvieron un valor de 82.8. Teimouri y col. (2013), registraron que la luminosidad disminuyó a medida que se aumentó la cantidad de harina de *S. platensis* en la dieta. Los valores de luminosidad oscilaron entre 33.1 para la dieta control y 25.5 para la dieta que contenía el 10% de harina de *S. platensis*.

Sealey y col. (2015), encontró que el valor más alto de luminosidad en el filete de la trucha arco iris fue en los organismos sometidos a una dieta proteica de origen vegetal y suplementada con 15% de granos secos de levadura de destiladora (GDDY). En este caso el valor de L^* fue de 48.9. Safary y col. (2015), al agregar a una dieta basal para trucha arco iris, harina de semilla de achiote, observaron que existió una relación entre la

luminosidad y la cantidad de carotenos presentes en la sangre ($r^2 = 0.84$). La luminosidad aumentó a medida que se elevaron los niveles de harina de semilla de achiote, y asimismo, se incrementó la cantidad de carotenoides en la sangre.

Hynes y col. (2009), identificaron la eficiencia de los carotenoides, particularmente la astaxantina contenida en el aceite de *Calanus* con relación a la luminosidad del filete del salmón del Atlántico (*Salmo salar*) y encontraron que el tratamiento con astaxantina sintética (60 mg/kg) presentó diferencias estadísticamente significativas. El valor obtenido para esta variable fue de 45.8.

Los valores de pigmentos rojos (a^*) en el presente estudio presentaron diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$) presentando los valores más altos en las dietas suplementadas con carotenoides y carotenoides más probióticos con 11.93 y 12.27 respectivamente al término del experimento. Teimouri y col. (2013), reportaron en dietas experimentales donde se adicionó el 10% de harina de *S. platensis*, una tonalidad más rojiza, obteniendo un valor de 14.3. Safary y col. (2015) suplementaron la dieta basal para trucha arco iris con harina de semilla de achiote y observaron una relación entre los pigmentos a^* y la cantidad de carotenoides presente en la sangre ($r^2=0.81$). El valor máximo fue de 14.0. Ingle de la Mora y col. (2006), obtuvieron valores de cromaticidad en los pigmentos rojos (a^*) de 6.6, al utilizar 120 mg/kg de oleorresina no saponificada del chile *C. annuum*. Hynes y col. (2009), identificaron la eficiencia de los carotenoides particularmente la astaxantina contenida en el aceite de *Calanus* con relación a la colorimetría del pigmento a^* en el filete del salmón del Atlántico (*Salmo salar*), registrando un valor de 5.5 para el tratamiento con astaxantina sintética (60 mg/kg) y observando diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) con relación a las dietas con la inclusión del aceite de *Calanus*. Valente y col., (2015) al incluir el 10% de la alga *Gracilaria vermiculophylla* en la dieta para trucha arco iris y valorar la cromaticidad roja sobre el filete cocinado a 150°C por 5 minutos obtuvieron un valor de 1.1. Sealey y col. (2015), valoraron el color de filete de trucha arco iris y fue la dieta proteica de origen vegetal y suplementada con 15% de grano seco de levadura de destiladora (GDDY), la que alcanzó el mayor valor de a^* con 0.28.

Los máximos valores de los pigmentos amarillos (b^*) en el filete de la trucha arco iris valorada en este estudio a los 45 días de cultivo, lo alcanzaron las dietas donde se adicionaron carotenoides y carotenoides más probióticos con 6.44 y 6.84 respectivamente. Ingle de la Mora y col. (2006) obtuvieron valores de cromaticidad para el amarillo de 18.6 en el tratamiento con 120 mg/kg de oleorresina no saponificada del chile. Teimouri y col. (2013), reportaron que la trucha iris alimentada con 7.5 de harina de *S. platensis* presentaron un valor de 15.8.

Safary y col. (2015), utilizando la harina de semilla de achiote encontraron una relación entre el parámetro de color b^* y la cantidad de carotenoides presentes en la sangre ($r^2=0.75$). El valor máximo registrado fue de 19.0 que se incrementó al adicionar una mayor cantidad de harina de semilla de achiote y asimismo, aumentó la cantidad de carotenoides en sangre.

Valente y col. (2015) al incluir del 5 al 10% de harina de la macro alga *Gracilaria vermiculophylla* en la dieta para trucha arco iris y valorar la cromaticidad amarilla sobre el filete cocinado a 150°C por 5 minutos obtuvieron valores de b^* que variaron de 14.7 a 15.1. La coloración característica del filete al incluir el alga fue de un color naranja-oscuro. Hynes y col. (2009), identificaron la eficiencia de los carotenoides particularmente la astaxantina, contenida en el aceite de *Calanus* con relación a colorimetría de b^* en el filete del salmón del Atlántico (*Salmo salar*) obteniendo un valor de 17.0 para el tratamiento con astaxantina sintética (60 mg/kg).

Sealey y col. (2015), afirman que la mejor respuesta de la valoración del color de filete en la trucha arco iris fue en la dieta que incluyó proteína de origen vegetal, suplementada con 15% de grano seco de levadura de destiladora (GDDY) alcanzando un valor de cromaticidad de b^* de 5.9.

De acuerdo con CIE (1976) la combinación de matices de los colores amarillo, naranja y rojo alrededor del círculo cromático, genera lo que se conoce como el tono (H^0). Al comparar los resultados obtenidos al iniciar y finalizar la experimentación, se observó una

reducción de este valor a los 45 días en los tratamientos donde se suministraron carotenoides. Ingle de la Mora y col. (2006), mencionaron que los valores del tono se incrementaron semana a semana en todos los tratamientos, pero los mayores de 72.5 fueron reportados en las dietas que contenían 80 y 120 mg/kg de oleorresina de Chile. Hynes y col. (2009), identificaron la eficiencia de los carotenoides, contenidos en el aceite de *Calanus* y la relación del tono del filete del salmón del Atlántico (*Salmo salar*). El valor obtenido fue de 72.3 para el tratamiento con astaxantina sintética con 60 mg/kg de alimento y en la dieta con aceite de *Calanus* con 60 mg/kg de alimento, y el tono reportado fue de 78.9. En ambos casos los valores fueron superiores a los encontrados en el presente experimento. Valores similares a los registrados en este estudio fueron reportados por Akhtar y col. (1999), quienes encontraron que el tono disminuyó gradualmente hasta el final del período de alimentación en los tratamientos donde se incorporaron carotenoides a la dieta. Teimouri y col. (2013), encontraron que la trucha arco iris alimentada con diferentes proporciones de harina *S. platensis* disminuyen su tonicidad a medida que se incrementa la proporción de la harina.

La variable croma (C*) registrada en los tratamientos en donde se incluyeron carotenoides y carotenoides más probióticos, presentó una más alta concentración al transcurrir los 45 días con 13.6 y 14.15 respectivamente con respecto a la muestra inicial que fue de 4.34 a 5.07. El croma es el resultado de la combinación de los pigmentos rojos a* y los amarillos b*. Ingle de la Mora y col. (2006), reportaron valores de croma que se incrementaron durante todo el tiempo experimental, el valor más alto que registraron fue de 19.7 para la dieta que contenía 120 mg/kg de oleorresina no saponificada de Chile. Por otra parte Teimouri y col. (2013), encontraron que a medida que se aumentó el nivel de harina de *S. platensis* disminuyó el valor del croma hasta alcanzar un valor de 46.0.

En contraste Akhtar y col. (1999), reportaron que un incremento en el croma es causado por un aumento en la pigmentación. Valente y col. (2015), al incluir el 5 y 10% de harina del alga *Gracilaria vermiculophylla* en la dieta para trucha arco iris y valorar el croma sobre el filete cocinado a 150°C por 5 minutos obtuvieron valores de 14.7 y 15.1.

Hynes y col. (2009), identificaron la eficiencia de los carotenoides, particularmente la astaxantina contenida en el aceite de *Calanus* con relación al croma del filete del salmón del Atlántico (*Salmo salar*). El valor reportado fue de 17.9 para el tratamiento con astaxantina sintética de 60 mg/kg y 13.2, para la dieta con inclusión de aceite de *Calanus* con 60 mg/kg.

La medida de diferenciación de color Δ , es un indicador complementario de la biodisponibilidad de los carotenoides (Teimouri y col., 2013). Al comparar los resultados obtenidos en los tratamientos experimentales a los 45 días con respecto al control, la diferenciación es notoria en los tratamientos donde se adicionó el extracto no saponificado de chile ancho. Los valores en este caso fueron de 9.7 y 9.9 respectivamente y son superiores a los reportados por Ingle de la Mora y col. (2006) quienes encontraron diferencias estadísticamente de color entre 2.08 a 7.01, para las dietas que contenían 80 y 120 mg/kg de oleorresina no saponificada de chile. Sealey y col. (2015), hallaron diferencias estadísticamente de color en el filete de la trucha arco iris alimentado con grano seco de levadura de destiladora con valores de 1.2 a 1.7. Teimouri y col. (2013) mencionó que la medida de la diferenciación del color del filete de la trucha arco iris indica la disponibilidad del pigmento que es el resultado de la retención de los pigmentos, que así mismo expresan la eficiencia de transformación de los carotenoides en el músculo. En este sentido la diferencia de color entre los tratamientos evaluados en esta investigación fueron mayores a las reportadas por otros autores, lo que significa la importancia del aporte de la oleorresina no saponificada de chile ancho sobre la pigmentación del filete de la trucha.

8.5 Contenido total de carotenoides.

El contenido total de carotenoides en el filete de las truchas del experimento, fue mayor en los tratamientos suplementados con extracto no saponificado de chile ancho con valores de 5.10 y 5.33 mg/kg, que se encuentran por encima de los niveles mínimos requeridos para una coloración adecuada del filete en los salmónidos que son de 4 mg/kg. Torrissen y col. (1989). En el experimento se observó una alta relación positiva entre la cantidad de carotenoides en el filete de la trucha y los parámetros de color, de tal manera que la

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

correlación para el color rojo (a^*) fue de $r^2 = 0.93$, para el amarillo (b^*) de $r^2 = 0.91$, y el tono ($H^{\circ*}$) de $r^2 = 0.94$. Por otra parte, se presentó una alta relación negativa con la croma (C^*). La coloración rojo- amarillenta-anaranjada indicó la presencia de carotenoides en el filete de la trucha. Teimouri y col. (2013) mencionaron que el grado de coloración es un buen indicador de la presencia y la concentración de carotenoides en el filete de la trucha arco iris. El tono define la concentración de los colores amarillo y rojo que entre más agudo forme el ángulo, mayor concentración tendrá, lo que explica la disminución de los valores con respecto a la muestra inicial e igualmente con las dietas que no incluían pigmentos carotenoides.

Safary y col. (2015), suplementaron la dieta basal para truchas con harina de semilla de achiote 200 mg/kg de alimento en un periodo de 126 días y reportaron un valor de 7.89 mg/kg de carotenoides en el filete. Valente y col. (2015), al incluir el 5 y 10% de harina del alga *Gracilaria vermiculophylla* sobre la dieta para trucha arco iris y valorar los carotenoides totales sobre el filete, obtuvieron 0.8 y 0.9 mg/100 g respectivamente. Pham y col. (2014), reportan que para el extracto de paprika de *C. annuum* (100 mg/kg de alimento), la cantidad de carotenoides fue de 1.04 mg/kg.

Los siguientes autores reportaron valores similares al presente estudio. Yanar y col. (2007), adicionaron a la dieta basal 5 de harina de *C. annuum* y 1.8 de flor de cempasúchil como fuente de carotenoides. Los valores de carotenoides totales obtenidos fueron de 5.27 y 4.75 mg/kg respectivamente. Teimouri y col. (2013), evaluaron los efectos de las dietas que contenían 0, 2.5, 5.0, 7.5 y 10.0% de harina de *Spirulina platensis*, y 50 mg de astaxantina sıntetica en el filete trucha arco iris. La mejor respuesta fue la suplementación con 10% de harina de *S. platensis* con una cantidad de carotenoides totales de 4.0 mg/kg. Los niveles de carotenoides totales reportados en el presente experimento mostraron que la oleorresina no saponificada del chile ancho en una concentración de 1 ml/kg de alimento es suficiente para marcar el color del filete de la trucha arco iris. Tal vez sera conveniente valorar otras concentraciones para ubicar el valor óptimo que se requiere.

8.6 Prueba de desafío térmico.

Al efectuar la prueba de desafío térmico los peces que resistieron a las temperaturas de 26.30 y 26.23°C fueron los del tratamiento suplementado con carotenoides y carotenoides más probióticos. El tiempo máximo alcanzado hasta el punto de muerte fue de 276.75 y 260.50 minutos respectivamente, superando al tratamiento control, que resistió una temperatura máxima de 25.7°C con un punto de muerte de 140.50 minutos. Estos resultados confirman que la adición de carotenoides y la combinación de estos con los probióticos actuaron como inmuno nutrientes que hicieron que la trucha arco iris fuera más resistentes a las condiciones adversas de temperatura.

Amin y col. (2014), evaluaron la eficiencia de la alimentación y la digestibilidad en la trucha de arroyo, con relación al efecto de la temperatura en dietas experimentales con distintos niveles de carbohidratos y lípidos gelatinizados. Los resultados demostraron la eficiencia de la alimentación y la digestibilidad de la trucha de arroyo alimentada con las dietas gelatinizadas a temperaturas superiores a los intervalos normales. El tratamiento con 15°C presentó una respuesta superior, sin comprometer la función del hígado y del intestino. Keen y Gamperl (2012), desafiaron a la trucha arco iris a altas temperaturas restringiendo el aumento de temperatura dependiente de la frecuencia cardiaca mediante la inyección con Zatebradina en una cantidad de 1mg/kg. La temperatura a la que llegaron los peces del grupo control fue de 23.7°C y el tratamiento con Zatebradina llegó 22.6°C en un tiempo promedio de 5 horas. Kurt Gamperl y col. (2011), determinaron que la trucha arco iris es capaz de mantener el gasto cardiaco a altas temperaturas a través de aumentos en el ritmo cardiaco, utilizando Zatebradina. La temperatura máxima alcanzada en la prueba de desafío térmico de la trucha arco iris fue de 24 °C, a las 42 horas.

Wijekoon y col. (2015), evaluaron el efecto del cambio de temperatura en juveniles de la trucha arco iris sobre la composición de ácidos grasos del músculo. En la investigación sustituyeron completamente el aceite de pescado (aceite de arenque) por aceite de linaza, y aceite de girasol. En la prueba de desafío aumentaron la temperatura de 10.0 a 18.0°C; cada grado de temperatura fue aumentado en un intervalo de uno a dos días. La dieta y la

temperatura no tuvieron ningún efecto significativo sobre el crecimiento pero si se observaron efectos sobre la composición de ácidos grasos del músculo.

Kieffer y col. (2009), diseñaron un experimento para examinar los efectos de diversos desafíos de temperatura, el consumo de oxígeno, la excreción del amoníaco y la utilización de las proteínas en juveniles de salmón del Atlántico *Salmo salar*. Los peces fueron aclimatados a 15 °C y, posteriormente, dos grupos fueron expuestos aguda y abruptamente, a 20 y 25 °C durante un período de 3 h, un tercer grupo de peces se expuso a un aumento gradual de la temperatura a partir de 15 hasta alcanzar los 20°C durante un período de 3 h. Los cambios a la temperatura aguda (15 a 20°C y 15 a 25°C) causaron de inmediato un aumento en las tasas de consumo de oxígeno disuelto. Por el contrario, cuando la temperatura se incrementó gradualmente, las tasas de consumo de oxígeno y la excreción de amoníaco se alteraron sólo marginalmente.

9. CONCLUSIONES

1. Los parámetros de crecimiento evaluados indicaron que la trucha respondió adecuadamente a las condiciones de cultivo, ya que el peso total, la longitud total, la ganancia de peso, así como el factor de condición, el factor de conversión alimenticia, la tasa específica de crecimiento y la sobrevivencia, se encontraron dentro de los valores reportados en la literatura como normales en cualquier cultivo. Al suministrar los pigmentos carotenoides del Chile Ancho y los probióticos, además de la combinación de ambos en la dieta basal, éstos presentaron un efecto marcado sobre los factores de desempeño, ya que permitieron alcanzar un FCA de 1.06 a 1.30; una TEC de 1.59 a 1.70 %/día y una sobrevivencia del 90 al 100%.
2. Los parámetros hematológicos y bioquímicos evaluados en la trucha arco iris, mostraron niveles óptimos de respuesta al suministrar en la dieta carotenoides y probióticos, incrementando los valores del hematocrito al 27%, los eritrocitos al 44%, los leucocitos al 42% y los trombocitos al 14%. Los valores observados en los diferentes tratamientos, se ubicaron en los niveles considerados como normales para la especie en estudio. Los parámetros bioquímicos también mostraron un incremento al suministrar carotenoides y probióticos, incluyendo proteínas totales (72%) y albúmina (75%). Los valores de AST no presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0.05$) en los tratamientos.
3. Los parámetros de color evaluados en el presente experimento, presentaron valores similares a los reportados en otras investigaciones al adicionar extracto no saponificados de chile ancho *C. annuum* y probióticos. Esto sugiere, que es conveniente agregar al alimento balanceado de la trucha arco iris 1g de probióticos y 1mL de oleorresina no saponificada de chile por kg de alimento, debido a los beneficios inmuno-nutricionales y nutraceúticos que promueven un mejor estado de salud, funcionando como promotores del crecimiento en aquellas zonas donde la temperatura del agua se eleva más allá del intervalo óptimo de la especie.

4. Al adicionar pigmentos carotenoides del chile ancho *C. annuum* a las dietas experimentales, el contenido total de carotenoides en el filete de la trucha se incrementó hasta alcanzar valores de 5.33 y 5.10 mg/kg, mientras que la dieta control fue de 1.3 mg/kg. lo que representó el 310 y 292% respectivamente. Estos valores son superiores al mínimo de 4.0 mg/kg considerado como normal para lograr un color rosado en la trucha arco iris. Las diferencias de color con respecto a la dieta control fueron altas, alcanzando valores de 273 y 280% más respectivamente.

5. La trucha arco iris alimentada con una dieta experimental conteniendo pigmentos carotenoides naturales y probióticos presentó un mayor tiempo de sobrevivencia ante las pruebas de desafío por estrés térmico, superando en 96 y 84% el tiempo de sobrevivencia con respecto a la dieta control. Lo que refuerza el papel de los aditivos utilizados en el presente experimento.

10. BIBLIOGRAFIA

- Adel, M., Safari, R., Pourgholam, R., Zorriehzahra, J., & Esteban, M. Á. (2015). Dietary peppermint (*Mentha piperita*) extracts promote growth performance and increase the main humoral immune parameters (both at mucosal and systemic level) of Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius* Kessler, 1877). *Fish & Shellfish Immunology*. doi.org/10.1016/j.fsi.2015.10.005
- Abd El-Rhman, A. M., Khattab, Y. A. E., & Shalaby, A. M. E. (2009). *Micrococcus luteus* and *Pseudomonas* species as probiotics for promoting the growth performance and health of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Fish & Shellfish Immunology*. 27 (2): 175–80.
- Ainsworth, A. J. (1992). Fish granulocytes morphology, distribution and function. *Annual Review. of Fish Diseases*. 2: 123-148.
- Akhtar, P., Gray, J. I., Cooper, T. H., Garling, D. L., & Booren, A. M. (1999). Dietary Pigmentation and Deposition of α -Tocopherol and Carotenoids in Rainbow Trout Muscle and Liver Tissue. *Journal of Food Science*. 64 (2): 234–239.
- Amar E. C., Kiron, V., Akutsu, T., Satoh, S., Watanabe, T. (2012). Resistance of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* to infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV) experimental infection following ingestion of natural and synthetic carotenoids. *Aquaculture*. 330: 148-155.
- Amin, M. N., Barnes, R. K., & Adams, L. R. (2014). Effect of temperature and varying level of carbohydrate and lipid on growth, feed efficiency and nutrient digestibility of brook trout, *Salvelinus fontinalis* (Mitchill, 1814). *Animal Food Science and Technology*. 193: 111–123.
- Awad, E., & Austin, B. (2010). Use of lupin, *Lupinus perennis* , mango, *Mangifera indica* , and stinging nettle, *Urtica dioica*, as feed additives to prevent *Aeromonas hydrophila* infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases*. 33(5): 413–420.
- Awad, E., Austin, D., & Lyndon, A. R. (2013). Effect of black cumin seed oil (*Nigella sativa*) and nettle extract (*Quercetin*) on enhancement of immunity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture*. 388-391: 193–197.
- Barnes, R., King, H., & Carter, C. G. (2011). Hypoxia tolerance and oxygen regulation in Atlantic salmon, *Salmo salar* from a Tasmanian population. *Aquaculture*. 318 (3-4): 397–401.

- Borges, P., Pino, J. A. y Fernández, N. (1997). Obtención de oleorresina de pimentón dulce. *Alimentaria*. 286: 59-60.
- Bastardo, H., Yépez, J. y Rodríguez, E. (2008). Parámetros hematológicos en trucha arco iris bajo tratamiento hormonal para reversión de sexo. *Zootecnia Tropical*. 21 (1): 27-41.
- Balcázar, J. L., Blas, I., Ruiz, D. & Cunningham, D. (2006). The rol of probiotics in aquaculture. *Veterinary Microbiology*. 114 (3): 173-186.
- Balcázar, J. L., De Blas, I., Ruiz-Zarzuela, I., Vendrell, D., Gironés, O. & Muzquiz, J. L. (2007). Enhancement of the immune response and protection induced by probiotic lactic acid bacteria against furunculosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. 51: 185–193.
- Bjerkeng, B. (2006). Carotenoid pigmentation of salmonid fishes. *Aquaculture Research*. 7: 71-89.
- Brunt, J., Hansen, R., Jamieson, D. J. & Austin, B. (2008). Proteomic analysis of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) serum after administration of probiotics in diets. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 121 (3-4): 199–205.
- Buenaño, M. (2008). Hemograma de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) en tres etapas de producción en la cuenca alta de la provincia del Napo, Ecuador. Facultad de Biología Marina. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Boletín Técnico 9, Serie Zoológica. 6: 1-14.
- Burtis, C. A & Ashwood, E. R. (1999), Test textbook of clinical chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders: 1840, 1841, 1844, 1845; 1799; 1834-5.
- Cachafeiro, B. M. (2000). La trucha. Cría industrial. Ed Paraninfo S.A. Madrid: 503 p.
- Cárdenas, W., Dankert J. R. and Jenkins, J. A. (2004). Flow cytometric analysis of crayfish haemocytes activated by lipopolysaccharides. *Fish and Shellfish Immunology*, 17: 223-233.
- Collins, Margaret. (1994). Measuring chilli pungency, NMSU Guide H-237, New Mexico State University, 50 p.
- CONAPESCA. (2013). Anuario estadístico de acuicultura y pesca .Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca-SAGARPA, México, 299 p.
- Choubertt, G. (2010) Response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to varying dietary astaxanthin/canthaxanthin ratio: colour and carotenoid retention of the muscle. *Aquaculture Nutrition*. 16: 528–535.

- CIE, (1976). Official Recommendations on Uniform Colour Space, Colour Difference Equations and Metric Colour Terms. Suppl. No. 2 to CIE Publication No.15, Colorimetry. Commission International de l' Eclairage, Paris.
- Da Costa, M. R. & F. Gerson A. (2003): Length, weight relationship and condition factor of *Micropogonias furnieri* (Desmarest) (Perciformes, Sciaenidae) in the Sepetiba Bay, Rio de Janeiro State, Brazil. *Revista Brasileira de Zoología*. 20 (4): 685-690.
- Diodatti, F., Tadeu, R., Freato, T., Perez, P. & Solis, L. (2008). Measurements in the Yield of Body Component in Nile of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) *Anales de Veterinaria de Murcia*. 24: 45-55.
- FAO. (2005). Programa de información de especies acuáticas. *Oncorhynchus mykiss*. Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO. Roma.
- FAO. (2006). *Capsicum annum*. Ficha Técnica. Productos frescos y procesados. FAO-IICA: 80 p.
- FAO. (2006). El Estado mundial de la pesca y acuicultura. Departamento de la Pesca y la Acuicultura de la FAO. Roma: 198 p.
- FAO. (2010). El Estado mundial de la pesca y acuicultura. Departamento de la Pesca y la Acuicultura de la FAO. Roma: 242 p.
- FAO. (2012). El Estado mundial de la pesca y acuicultura. Departamento de la Pesca y la Acuicultura de la FAO. Roma: 251 p.
- FAO. (2014). El Estado mundial de la pesca y acuicultura. Departamento de la pesca y la acuicultura de la FAO. Roma: 274 p.
- Farzanfar, A. (2006). The use of probiotics in shrimp aquaculture. *Immunology Medical Microbial*, 48 (2): 149-158.
- García, D., Gallego, I., Espinoza, A., García, A. & Arriaga, C. (2013) Desarrollo de la producción de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) en el centro de México. *Revista Científica de la Sociedad Española de Acuicultura*. 38: 46-56.
- Gendler, S. & Kaplan, A. 1984. γ -GT Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton: 1120-1123, 1268-1273 y 1425.
- Gijón, D., & Zarza, C. (2006). Enfermedades Emergentes en el Cultivo de la Trucha Arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*). *Nutreco España*. 11: 1-24.
- Gisbert, E., Castillo, M., Skalli A., Andree K.B., Badiola I. (2013) *Bacillus cereus* var. *toyoi* promotes growth, affects the histological organization and microbiota of the

- intestinal mucosa in rainbow trout fingerlings. *Journal of Animal Science*. 91 (6): 2766-74.
- Gómez, S. (2014). Máximo térmico crítico en peces argentinos de agua dulce. *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales*. 16(2): 123-127.
- Götz, W., Sachs, A. & Wimmer, H. (1980) *Thin-Layer Chromatography*. Gustav Fisher. Verlag. Germany: 114 p.
- Gulland, J. A., 1971 *Manual de métodos para la evaluación de las poblaciones de peces*. Zaragoza, España, Editorial Acribia, por FAO, 164 p.
- Herrera, A. y Valdivia, F. (2004). Perfil metabólico de Salmon Atlántico *Salmo salar* y Trucha arcoíris *Oncorhynchus mykiss* de tres pisciculturas en fase de agua dulce en el sur de Chile. Tesis de la Facultad de Ciencias Veterinarias. Instituto de Patología Animal. Universidad Austral de Chile. 40 p.
- Hoeger, B., Koellner, B., Kotterba, G., Van den Heuvel, M.R., Hitzfeld, B. & Dietrich, D.R. (2004). Influence of chronic exposure to treated sewage effluent on the distribution of white blood cell populations in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) spleen. *Toxicological Sciences*. 82: 97-105.
- Hynes, N., Egeland, E. S., Koppe, W., Baardsen, G., & Kiron, V. (2009). *Calanus* oil as a natural source for flesh pigmentation in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture Nutrition*. 15 (2): 202–208.
- Ingle de la Mora, G., Arredondo-Figueroa, J. L., Ponce-Palafox, J. T., Barriga-Soca, I. delos A. & Vernon-Carter, J. E. (2006). Comparison of red chilli (*Capsicum annuum*) oleoresin and astaxanthin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillet pigmentation. *Aquaculture*. 258 (1-4): 487–495.
- Jaramillo, M., Flores, L., García, R., & Welti, J. (2010) Mexican Pickled Jalapeño Pepper. In *Handbook of Fruit and Vegetable Flavors*. Ed Science Technology System, USA: 49 p.
- Jobling, M. (1997). Temperature and growth: modulation of growth rate via temperature change. In: *Seminar Series-Society for Experimental Biology*. 61: 225-254.
- Kanani, H. G., Soltani, M., & Mirzargar, S. S. (2013). Effect of tricainemethanesulfonate (MS222), clove oil and electro-anesthesia on respiratory burst activity in whole blood and serum alternative complement response in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), during the narcosis stage. *Fish & Shellfish Immunology*. 34(2): 692–6.
- Keen, A. N., & Gamperl, A. K. (2012). Blood oxygenation and cardiorespiratory function in steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) challenged with an acute temperature

increase and zatebradine-induced bradycardia. *Journal of Thermal Biology*. 37 (3): 201–210.

Kieffer, J. D., & Wakefield, A. M. (2009). Oxygen consumption, ammonia excretion and protein use in response to thermal changes in juvenile Atlantic salmon *Salmo salar*. *Journal of Fish Biology*. 74 (3): 591–603.

Kurt Gamperl, A., Swafford, B. L. & Rodnick, K. J. (2011). Elevated temperature, per se, does not limit the ability of rainbow trout to increase stroke volume. *Journal of Thermal Biology*. 36 (1): 7–14.

Le Cren E. D., (1951). The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in the perch (*Perca fluviatilis*). *Animal Ecology*. 20: 201-19.

Lee, C. R. & Lee, S. M., (2008). Effect of dietary supplementation of pigment sources on pigmentation of the round tailed paradise fish *Macropodus chinensis* and the pale chub *Zacco platypus*. *Aquaculture*. 21: 213–217.

Leroy, C. F. (1993). Effects of chemical contaminants on blood chemistry of teleost fish: A bibliography and synopsis of selected effects. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 12 (2): 337–375.

Levene, H. (1960). *Contributions to Probability and Statistics: Essays in Honor of Harold Hotelling*. Editors: Ingram Olkin, Harold Hotelling, et al. Stanford University Press: pp. 278-292.

Martínez, M., Martínez, L. & Enríquez, R. (2009). Cortisol and Glucose: Reliable indicators of fish stress? *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*. 4 (2): 158-178.

Meléndez, A., Vicario, I. & Heredia, F. (2007). Pigmentos carotenoides: consideraciones estructurales y fisicoquímicas. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 57 (2): 109-117.

Melgar, V. C., Barba, M. E., Álvarez, G. C., Tovilla, H. C & Sánchez J. A. (2013). Microorganisms effect with probiotic potential in water quality and growth of the shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Tropical Biology*. 61 (Suppl. 3): 1215-1228.

Meyers, S. P. (2007). Role of Carotenoid Astaxanthin in Nutrition aquatic species. *Journal of the World Aquaculture Society*. 18. (Suppl. 2): 125–126.

Morgan, A. K., Thompson, D., Auchinachie, N. & Migaud, H. (2008). The effect of seasonality on normal hematological and innate immune parameters of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Fish & Shellfish Immunology*. 25 (6): 791–799.

- Murray, R. (1984). Alanine aminotransferase. In: Kaplan, A. and Peace Al., Clinical Chemistry. The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton: pp. 1088-1090, 1112-1116.
- Nielsen, S. (2003). Food analysis laboratory manual. Kluwer academic/plenum publishers, New York: 88 p.
- Nya, E. J. & Austin, B. (2009). Use of dietary ginger, *Zingiber officinale* Roscoe, as an immunostimulant to control *Aeromonas hydrophila* infections in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Fish Diseases. 32: 971–977.
- Nya, E. J., & Austin, B. (2011). Development of immunity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) to *Aeromonas hydrophila* after the dietary application of garlic. Fish & Shellfish Immunology. 30 (3): 845–50.
- Noeske, T. A., Spieler, R. E. (1984). Circadian feeding time effects growth of fish. Transactions of the American Fisheries Society. 113: 540–544.
- NRC. National Research Council. (1993). Nutrient requirements of fish. Washington: National Academy Press: 114 p.
- Oda, T., (1990). In: Oda, T. (Ed.), The Biology of Liver. University of Tokyo Press, Tokyo: pp. 26– 31.
- Olivera, M. (2014). Manual de producción de chile en invernadero Tesis. Universidad Autónoma de Querétaro. Facultad de Ingeniería. Especialidad de Ingeniería de Invernaderos: 113.
- Olabuenaga, S. (2000). Fish immune system. Gayana. 64 (2): 205-215.
- Ornsrud, R., Lock, E.J., Waagbo, R., Krossoy, C. & Fjelldal, P.-G. (2013), Establishing an upper level of intake for vitamin A in Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.). Aquaculture Nutrition. 19: 651–664.
- Ozaki, H. (1978). In: Itaxawa, Y., Hanyu, I. & Hibiya, K. (Eds.). Diagnosis of fish health by blood analysis. Respiration and Circulation of Fish. 24: 5.
- Padrós, F. (2005). Manual de técnicas básicas de diagnóstico patológico en peces. Servicio de Diagnóstico Patológico en Peces. Facultad de Veterinaria. Universidad Autónoma de Barcelona: España: 62 p.
- Pearson, D. (1993). Técnicas de laboratorio para el análisis de alimentos; Acribia, S.A. España: pp. 73-75.
- Pham, M. A., Byun, H. -G., Kim, K.-D. & Lee, S.-M. (2014). Effects of dietary carotenoid source and level on growth, skin pigmentation, antioxidant activity and chemical

composition of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*. 431: 65–72.

- Ramos, M. A., Gonçalves, J. F. M., Batista, S., Costas, B., Pires, M. A., Rema, P., & Ozório, R. O. A. (2015). Growth, immune responses and intestinal morphology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) supplemented with commercial probiotics. *Fish & Shellfish Immunology*. 45(1): 19–26.
- Raju, P., Chauhan, O. & Bawa, A.(2010) Chili Flavor. In: Handbook of Fruit and Vegetable Flavors. Science Technology System. USA: p. 41.
- Rehulka, J. & Minarik, B. (2003). Effect of lecithin on the haematological and condition indices of the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*, 34 (8): 617–627.
- Ricker, W. (1979). Growth rates and models. In: W. Hoar, D. Randall, J. Brett. *Fish Physiology. Bioenergetics and Growth*. Academic Press. USA. 8: pp. 677-743.
- Ritesh, R., Dangi, S. & Malhotra, R. (2000). The hottest chilli variety in India. *Current Science*. 79:2.
- Saez, P. J., Abdel-Aal, E.-S. M., & Bureau, D. P. (2014). Feeding increasing levels of corn gluten meal induces suboptimal muscle pigmentation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Research*. 1-12.
- Safari, O. & Mehraban Sang Atash, M. (2015). The effects of dietary supplement of annatto (*Bixa orellana*) seed meal on blood carotenoid content and fillet color stability in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. 437: 275–281.
- SEMARNAP. (1998). Anuario Estadístico de Pesca. Secretaria de Medio Ambiente, Recursos Naturales y de Pesca. México: 235 p.
- Sealey, W. M., O'Neill, T. J., Peach, J. T., Gaylord, T. G., Barrows, F. T. & Block, S. S. (2015). Refining Inclusion Levels of Grain Distiller's Dried Yeast in Commercial-type and Plant-based Diets for Juvenile Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of the World Aquaculture Society*. 46 (4): 434–444.
- Secombes, C. J. & Ellis, A. E. (2012) *The Immunology of Teleosts*. In *Fish Pathology*. Fourth Edition (ed R. J. Roberts). Wiley-Blackwell, Oxford, UK.
- Staroscik, A. M., & Nelson, D. R. (2008). The influence of salmon surface mucus on the growth of *Flavobacterium columnare*. *Journal of Fish Diseases*. 31 (1): 59–69.
- Tavares-Días, M. & Mataqueiro, M.I. (2004). Características hematológicas, bioquímicas e biométricas de *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (*Osteichthyes: Characidae*) en cultivo intensivo. *Acta Scientia* 26 (2): 157-162.

- Talas, Z. S. & Gulhan, M. F. (2009). Effects of various propolis concentrations on biochemical and hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 72 (7): 1994–8.
- Teimouri, M., Amirkolaie, A. K. & Yeganeh, S. (2013). The effects of *Spirulina platensis* meal as a feed supplement on growth performance and pigmentation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. 396-399: 14–19.
- Tewary, A. & Patra, B.C. (2011). Oral administration of baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) acts as a growth promoter and immunomodulator in *Labeo rohita* (Ham.). *Aquaculture Research Development*. 2 (1): 1–7.
- Thomas, P. T. & Woo, P. T. K. (1990). *In vivo* and *in vitro* cell-mediated immune responses of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), against *Cryptobia salmositica* Katz, 1951 (Sarcomastigophora: Kinetoplastida). *Journal of Fish Diseases*. 13: 423–433.
- Torrissen, O. J., Hardy, R. W. & Shearer, K. D. (1989). Pigmentation of Salmonids carotenoids deposition and metabolism. *Aquatic Sciences*. 1: 209–225.
- Tukmechi, A., Rahmati Andani, H. R., Manaffar, R. & Sheikhzadeh, N. (2011). Dietary administration of beta-mercapto-ethanol treated *Saccharomyces cerevisiae* enhanced the growth, innate immune response and disease resistance of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Fish & Shellfish Immunology*. 30(3): 923–8.
- Valente, L. M. P., Moutou, K. A., Engrola, S. & Lan, J. (2013). What determines growth potential and juvenile quality of farmed fish species? *Aquaculture*. 5 (Suppl. 2): 168-193.
- Valente, L. M. P., Rema, P., Ferraro, V., Pintado, M., Sousa-Pinto, I., Cunha, L. M. & Araújo, M. (2015). Iodine enrichment of rainbow trout flesh by dietary supplementation with the red seaweed *Gracilaria vermiculophylla*. *Aquaculture*. 446: 132–139.
- Valenzuela, A., Alveal, K. & Tarifeño, E. (2002). Respuesta hematológica de truchas (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792) a estrés hipóxico agudo: serie roja. *Gayana*. 66 (2): 255–261.
- Valenzuela A., C. Oyarzún & V. Silva. (2003). Células sanguíneas de *Schroederichthys chilensis* (Guichenot 1848) (Elasmobranchii, Scyliorhinidae): Serie blanca. *Gayana*. 67 (1): 130–137.
- Vásquez, W. T. (2004). Principios de nutrición aplicada al cultivo de peces. Universidad de los Llanos. Instituto de Acuicultura: 71 p.

- Vergara, V., Galecio, F. & Gómez, C. (2007). Evaluación de capsantina en la pigmentación de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) Tesis. Área Acuicultura. Universidad Agraria La Molina, Perú, 115 p.
- Wijekoon, M. P. A., Parrish, C. C. & Mansour, A. (2015). Effect of dietary substitution of fish oil with flaxseed or sunflower oil on muscle fatty acid composition in juvenile steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) reared at varying temperatures. *Aquaculture*. 447: 108–115.
- Whyte, S. K., Chappell, L. H. & Secombes, C. J. (1990), Protection of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Richardson), against *Diplostomum spathaceum* (Digenea): the role of specific antibody and activated macrophages. *Journal of Fish Diseases*. 13: 281–291.
- White, D. A., Page, G. I., Swaile, J., Moody, A. J. & Davies, S. J. (2002). Effect of esterification on the absorption of astaxanthin in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*. 33 (5): 343–350.
- Wojtaszek, J., Dziewulska-Szwajkowska, D., Lozinska-Gabska, M., Adamowicz, A. & Dzugaj, A. (2002). Hematological effects of high dose of cortisol on the carp (*Cyprinus carpio* L.): Cortisol effect on the carp blood. *General and Comparative Endocrinology*. 125: 176-183.
- Yamamoto, Y. (1981). Determination of toxicity by biochemical method. In: Egami, N. (Ed.), *Fishes as Laboratory Animals*. Soft Science. Tokyo. Chapter 4.
- Yanar, Y., Büyükçapar, H., Yanar, M., & Göcer, M. (2007). Effect of carotenoids from red pepper and marigold flower on pigmentation, sensory properties and fatty acid composition of rainbow trout. *Food Chemistry*. 100 (1): 326–330.
- Yeganeh, S., Teimouri, M., & Amirkolaie, A. K. (2015). Dietary effects of *Spirulina platensis* on hematological and serum biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Research in Veterinary Science*. 101: 84–88.

ANEXO A

PRUEBAS DE HOMOCEASTICIDAD DE VARIANZA

Tabla 1. Prueba de homogeneidad de varianza de Levene para las variables peso y longitud total a los cero días.
Efectos significativos ($P < 0.05$).

Variable	S
Longitud Total (cm)	0.110802 ns
Peso (g)	0.699355 ns
K	0.848409 ns

S= Significancia; K= Factor de condición.

Tabla 2. Prueba de homogeneidad de varianza de Levene para las variables peso y longitud total a los 22 días.
Efectos significativos ($P < 0.05$).

Variable	S
Longitud Total (cm)	0.980675 ns
Peso (g)	0.000001 **
K	0.302256 ns

S= Significancia; K= Factor de condición.

Tabla 3. Prueba de homogeneidad de varianza Levene para las variables peso y longitud total a los 45 días.
Efectos significativos ($P < 0.05$).

Variable	S
Longitud Total (cm)	0.000122 **
Peso (g)	0.000000 **
K	0.060979 ns

S= Significancia; K= Factor de condición.

Tabla 4. Prueba de homogeneidad de varianza de Levene para las variables Hematológicas y Bioquímicas a los cero días. Efectos significativos ($P < 0.05$).

Variable	S
Hematocrito (%)	0.000059 **
Proteínas totales (g/dL)	0.179624 ns
AST (U/L)	0.323344 ns
ALT (U/L)	0.157282 ns
Albúmina (g/dL)	0.554636 ns
Albúmina (g/dL)	0.192902 ns
Leucocitos ($\times 10^4$ cél./ μ L)	0.173551 ns
Trombocitos (cél/ μ L);	0.166288 ns

S= Significancia.

Tabla 5. Prueba de homogeneidad de varianza de Levene para las variables Hematológicas y Bioquímicas a los 45 días. Efectos significativos ($P < 0.05$).

Variable	S
Hematocrito (%)	0.000059 **
Proteínas totales (g/dL)	0.031125 *
AST (U/L)	0.220779 ns
ALT (U/L)	0.315926 ns
Albúmina (g/dL)	0.433610 ns
Albúmina (g/dL)	0.178445 ns
Leucocitos ($\times 10^4$ cél./ μ L)	0.555882 ns
Trombocitos (cél/ μ L);	0.178838 ns

S=Significancia.

Tabla 6. Prueba de homogeneidad de varianza de Levene para las variables carotenoides y de color a los 45 días. Efectos significativos ($P < 0.05$).

Variable	S
Rojo (a*)	0.000000 **
Amarillo (b*)	0.000020 **
Croma (C*)	0.000000 **
Tono (H°*)	0.000001 **
Luminosidad (L*)	0.322967 ns
Carotenoides en el filete (mg/kg)	0.000000 **

S=Significancia.

Tabla 7. Prueba de homogeneidad de varianza de Levene para las variables de desafío a los 45 días. Efectos significativos ($P < 0.05$).

Variable	S
Tiempo (min)	0.403456 ns
Temperatura Media C	0.276706 ns

S=Significancia.