



Efecto de *Chlorella* sp. biotipo 3 sobre los parámetros productivos y hematológicos en alevines de *Oncorhynchus mykiss*.

Albuja Segarra, Elizabeth Alexandra

Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura

Carrera de Ingeniería Agropecuaria

Trabajo de titulación, previo a la obtención del título de Ingeniera Agropecuaria

Ing. Ortiz Tirado, Juan Cristóbal PhD.








Agosto del 2021

Original

Document Information

Analyzed document	Tesis Albuja E. (urkund).docx (D111247866)
Submitted	8/13/2021 2:53:00 PM
Submitted by	Ortiz Tirado Juan Cristobal
Submitter email	jc.ortiz@espe.edu.ec
Similarity	7%
Analysis address	jc.ortiz.espe@analysis.urkund.com

Sources included in the report

W	URL: https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/8368/1/T-ESPE-IASA%20I-004600.pdf Fetched: 11/12/2019 8:19:20 PM	 4
SA	Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE / Tesis Alejandro Flores.docx Document Tesis Alejandro Flores.docx (D30383969) Submitted by: afflores2@espe.edu.ec Receiver: jcortiz.espe@analysis.urkund.com	 1
W	URL: http://181.65.200.104/bitstream/handle/UNCP/1845/Tesis%20Mache.pdf?sequence=1&isAllowed=y Fetched: 12/25/2020 12:16:00 AM	 3
W	URL: https://eprints.ucm.es/42985/1/T39053.pdf Fetched: 12/26/2020 9:44:25 PM	 1
SA	Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE / Urkund Masabanda (2).docx Document Urkund Masabanda (2).docx (D102439687) Submitted by: jc.ortiz@espe.edu.ec Receiver: jcortiz.espe@analysis.urkund.com	 2
SA	Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE / Gualichicomín-Urkund 1.docx Document Gualichicomín -Urkund 1.docx (D46204236) Submitted by: jc.ortiz@espe.edu.ec Receiver: jcortiz.espe@analysis.urkund.com	 11
SA	Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE / Trabajo de titulación Carol Crespo urkund.docx Document Trabajo de titulación Carol Crespo urkund.docx (D40418415) Submitted by: jotigrero@espe.edu.ec Receiver: jotigrero.espe@analysis.urkund.com	 1



Escanea el código QR para ver el documento original
JUAN
CRISTOBAL
ORTIZ TIRADO

Ing. Ortiz Tirado, Juan Cristobal PhD.

DIRECTOR



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

CERTIFICACIÓN

Certifico que el trabajo de titulación, "**Efecto de *Chlorella* sp. biotipo 3 sobre los parámetros productivos y hematológicos en alevines de *Oncorhynchus mykiss*.**" fue realizado por la señorita **Albuja Segarra, Elizabeth Alexandra** el cual ha sido revisado y analizado en su totalidad por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

Sangolquí, 18 de agosto del 2021



JUAN
CRISTOBAL
ORTIZ TIRADO

Ing. Ortiz Tirado, Juan Cristóbal PhD.

C. C: 1709998163



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

RESPONSABILIDAD DE AUTORÍA

Yo, **Albuja Segarra, Elizabeth Alexandra**, con cédula de ciudadanía n° 1725212235, declaró que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: **Efecto de *Chlorella* sp. biotipo 3 sobre los parámetros productivos y hematológicos en alevines de *Oncorhynchus mykiss*** es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 13 de agosto del 2021

Albuja Segarra, Elizabeth Alexandra

CC: 11725212235



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN

Yo **Albuja Segarra, Elizabeth Alexandra**, con cédula de ciudadanía n°1725212235, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: **Efecto de *Chlorella* sp. biotipo 3 sobre los parámetros productivos y hematológicos en alevines de *Oncorhynchus mykiss*** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi/nuestra responsabilidad.

Sangolquí, 13 de agosto del 2021

Albuja Segarra, Elizabeth Alexandra

CC: 11725212235

Dedicatoria

A mis padres Marcelo Albuja y Azucena Segarra por estar siempre a mi lado, por su esfuerzo, su entusiasmo para seguir adelante, por sus consejos, enseñanzas, cariño y amor. Gracias al apoyo incondicional he logrado alcanzar una meta más en mi vida. Es un orgullo y privilegio ser su hija, los mejores padres los adoro.

A mis hermanas Verónica Albuja y Katherine Albuja por brindarme su tiempo, por acompañarme cada etapa de mi vida, por su apoyo y amor incondicional.

A mis abuelitos Luis Albuja e Ignacia Guamán por siempre velar por mi bienestar, por su apoyo, por sus consejos, por sus experiencias compartidas y sobre por su amor incondicional.

A mi tío Juan Albuja por su paciencia, por sus consejos, su apoyo, por las experiencias compartidas, por todos los momentos vividos, por su cariño y su amor incondicional que desde el cielo me cuida.

A mi tía Rocío Albuja por siempre estar mi vida, por todo su apoyo, su cariño y amor incondicional.

A mi novio Kevin Castro por su apoyo, por los momentos compartidos llenos de felicidad, cariño y amor incondicional.

Agradecimiento

A la Carrera de Ingeniería Agropecuaria IASA I de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, por los conocimientos aportados para mi formación profesional.

Al Ing. Juan Cristóbal Ortiz Tirado PhD, por brindarme su apoyo incondicional, paciencia y conocimientos recibidos para la culminación del trabajo de titulación.

A la Ing. Daysi Muñoz por su paciencia y enseñanzas compartidas.

A mis padres Marcelo Albuja y Azucena Segarra, gracias por todo su esfuerzo, apoyo, amor y buenos valores que forjaron mi camino. Ustedes son mi inspiración y motivación para culminar mi Carrera. Este logro es gracias a ustedes.

A mis hermanas Verónica Albuja y Katherine Albuja por cada momento compartido, por sus ocurrencias y cariño.

A mis abuelitos Luis Albuja e Ignacia Guamán gracias por todo el cariño brindado, por cada historia compartida, por cada momento compartido, por su apoyo incondicional.

A mis tíos Juan Albuja, Rocío Albuja, Rosa Albuja, gracias por cada momento compartido, por brindarme su apoyo y cariño. A mis primas Nila y Almudena, gracias por todos los buenos momentos pasados y su cariño.

A mi novio Kevin Castro, gracias por formar parte de mi vida, por ser mi amigo confidente, por brindarme un hombro para descansar. Gracias por ser mi motivación para culminar mis anhelos. Te amo.

Índice de contenidos

Carátula	1
Reporte Urkund.....	2
Certificación	3
Responsabilidad de autoría	4
Autorización de publicación	5
Dedicatoria	6
Agradecimiento.....	7
Índice de contenidos	8
Índice de tablas	12
Índice de figuras	14
Resumen.....	18
Abstract	19
Capítulo I	20
Introducción	20
Antecedentes	20
Justificación.....	21
Objetivos	22
<i>Objetivos generales</i>	22
<i>Objetivos específicos</i>	22
Hipótesis.....	23

Capítulo II	24
Revisión de literatura.....	24
Trucha arcoíris (<i>Onchorhynchus mykiss</i>).....	24
Entorno ambiental	25
<i>Etapas de cultivo de trucha arcoíris</i>	27
Huevo	27
Larvas.....	27
Dedino	27
Alevín	27
Juvenil.....	27
Adulto.....	27
Características de la etapa de alevinaje de <i>Onchorhynchus mykiss</i>	28
Microalgas	31
Sistema inmune	33
<i>Componentes del sistema inmunitario innato</i>	33
Barreras	33
Células efectoras.....	33
Proteínas efectoras circundantes	33
<i>Tipos de respuesta inmunitaria adaptativa</i>	34
Inmunidad humoral	34
Inmunidad celular.....	34
Estrés oxidativo	34

	10
Capítulo III	36
Metodología.....	36
Ubicación del lugar de investigación	36
Métodos	36
<i>Fase de laboratorio</i>	36
<i>Fase de campo.....</i>	40
Análisis de la información.....	46
Capítulo IV.....	47
Resultados y Discusión.....	47
Resultados	47
<i>Contenido de pigmentos fotosintéticos y proteínas</i>	47
<i>Variables morfométricas</i>	48
Masa corporal.....	48
Longitud parcial, longitud total y ancho total	50
<i>Parámetros productivos.....</i>	52
Ganancia de peso.....	52
Tasa de crecimiento específico, eficiencia alimentaria y factor de conversión alimenticia	55
Factor de conversión alimenticia	60
Índice de condición corporal	61
Tasa de mortalidad.....	63
<i>Variables hematológicas</i>	65

<i>Relación entre las variables morfo métricas, productivas y hematológicas.</i>	73
Discusión	75
<i>Contenido de pigmentos fotosintéticos y proteínas.</i>	75
<i>Parámetros morfométricos</i>	75
<i>Parámetros productivos</i>	77
<i>Perfil hematológico</i>	79
Capítulo V	84
Conclusiones y Recomendaciones	84
Conclusiones	84
Recomendaciones	85
Bibliografía	86

Índice de tablas

Tabla 1 <i>Parámetros fundamentales para el cultivo de trucha arcoíris</i>	26
Tabla 2 <i>Flujo de producción en alevinaje <i>Oncorhynchus mykiss</i></i>	28
Tabla 3 <i>Requerimientos nutritivos de trucha arcoíris en etapa de alevinaje</i>	29
Tabla 4 <i>Contenido de nutrientes de <i>Chlorella sp. biotipo 3</i></i>	47
Tabla 5 <i>Promedio \pm error estándar de la masa corporal de alevines de <i>Oncorhynchus mykiss</i> suplementados con 3 dietas a base de <i>Chlorella sp. biotipo 3</i> en 80 días</i>	48
Tabla 6 <i>Promedio \pm error estándar de longitud parcial, longitud total, ancho de alevines de <i>Oncorhynchus mykiss</i> suplementados con 3 dietas a base de <i>Chlorella sp. biotipo 3</i> en 80 días</i>	50
Tabla 7 <i>Promedio \pm error estándar de ganancia de peso de <i>Oncorhynchus mykiss</i> suplementados con 3 dietas a base de <i>Chlorella sp. biotipo 3</i> en 80 días</i>	53
Tabla 8 <i>Promedio \pm error estándar de ganancia de peso de <i>Oncorhynchus mykiss</i> suplementados con 3 dietas a base de <i>Chlorella sp. biotipo 3</i> en 80 días</i>	53
Tabla 9 <i>Promedio \pm error estándar de ganancia de peso de <i>Oncorhynchus mykiss</i> suplementados con 3 dietas a base de <i>Chlorella sp. biotipo 3</i> en 80 días</i>	54
Tabla 10 <i>Promedio \pm error estándar tasa de crecimiento específico y eficiencia alimentaria de <i>Oncorhynchus mykiss</i> suplementados con 3 dietas a base de <i>Chlorella sp. biotipo 3</i> en 80 días</i>	56
Tabla 11 <i>Promedio \pm error estándar tasa de crecimiento específico y eficiencia alimentaria de <i>Oncorhynchus mykiss</i> suplementados con 3 dietas a base de <i>Chlorella sp. biotipo 3</i> durante 80 días</i>	57

Tabla 12 Promedio \pm error estándar tasa de crecimiento específico y eficiencia alimentaria de <i>Oncorhynchus mykiss</i> suplementados con 3 dietas a base de <i>Chlorella sp. biotipo 3</i> en 80 días	58
Tabla 13 Promedio \pm error estándar factor de conversión alimenticia <i>Oncorhynchus mykiss</i> suplementados con 3 dietas a base de <i>Chlorella sp. biotipo 3</i> en 80 días	60
Tabla 14 Promedio \pm error estándar índice de condición corporal <i>Oncorhynchus mykiss</i> suplementados con 3 dietas a base de <i>Chlorella sp. biotipo 3</i> en 80 días	62
Tabla 15 Promedio \pm error estándar del porcentaje de mortalidad de alevines de <i>Oncorhynchus mykiss</i> suplementados a los 80 días con 3 dietas a base de <i>Chlorella sp.</i>	64
Tabla 16 Promedio \pm error estándar de glucosa, albúmina, globulina, hematocrito, proteína total, conteo rojos, cortisol de alevines de <i>Oncorhynchus mykiss</i> suplementados a los 80 días con 3 dietas a base de <i>Chlorella sp.</i>	66
Tabla 17 Promedio \pm error estándar de conteo de glóbulos rojos y porcentaje de linfocitos, neutrófilos, monocitos, basófilos, eosinófilos de alevines de <i>Oncorhynchus mykiss</i> suplementados a los 80 días con 3 dietas a base de <i>Chlorella sp.</i>	69
Tabla 18 Coeficiente de correlación de Pearson para variables morfométricas.	73
Tabla 19 Coeficiente de correlación de Pearson para variables productivas	74
Tabla 20 Coeficiente de correlación de Pearson para variables hematológicas.....	74

Índice de figuras

Figura 1 <i>Morfología de <i>Oncorhynchus mykiss</i></i>	25
Figura 2 <i>Conteo celular de microalga</i>	37
Figura 3 <i>Cultivo de microalga <i>Chlorella sp.</i> biotipo 3</i>	37
Figura 4 <i>Biomasa de microalga de <i>Chlorella sp.</i> biotipo 3</i>	38
Figura 5 <i>Curva de calibración de proteína BSA</i>	38
Figura 6 <i>Área de experimentación del ensayo</i>	40
Figura 7 <i>Croquis experimental de fase campo</i>	41
Figura 8 <i>Alevines de <i>Oncorhynchus mykiss</i> suplementados con diferentes dosis de microalga. A) 10 g Kg-1 de <i>Chlorella sp.</i>, B) 5 g Kg-1 de <i>Chlorella sp.</i>, C) 0 g Kg-1 de <i>Chlorella sp.</i></i>	42
Figura 9 <i>Recuento eritrocitario y leucocitario de <i>Oncorhynchus mykiss</i></i>	44
Figura 10 <i>Identificación leucocitaria de <i>Oncorhynchus mykiss</i>. a) neutrófilo</i>	44
Figura 11 <i>Morfología de leucocitario</i>	45
Figura 12 <i>Microhematocrito de <i>Oncorhynchus mykiss</i></i>	45
Figura 13 <i>Promedio \pm error estándar del peso a través del tiempo de alevines de <i>Oncorhynchus mykiss</i> suplementados con 3 dietas a base de <i>Chlorella sp.</i> biotipo 3.</i>	49
Figura 14 <i>Promedio \pm error estándar de longitud total a través del tiempo de alevines de <i>Oncorhynchus mykiss</i> suplementados con 3 dietas a base de <i>Chlorella sp.</i> biotipo 3.</i>	49

Figura 15 Promedio \pm error estándar de la variable ancho través del tiempo de alevines de <i>Oncorhynchus mykiss</i> suplementados con 3 dietas a base de <i>Chlorella</i> sp. biotipo 3.....	50
Figura 16 Promedio \pm error estándar de la ganancia de peso a través del tiempo de alevines de <i>Oncorhynchus mykiss</i> suplementados con 3 dietas a base de <i>Chlorella</i> sp. biotipo 3.....	55
Figura 17 Promedio \pm error estándar de tasa de crecimiento específico a través del tiempo de alevines de <i>Oncorhynchus mykiss</i> suplementados con 3 dietas a base de <i>Chlorella</i> sp biotipo 3.....	59
Figura 18 Promedio \pm error estándar de eficiencia alimentaria a través del tiempo de alevines de <i>Oncorhynchus mykiss</i> suplementados con 3 dietas a base de <i>Chlorella</i> sp biotipo 3.....	59
Figura 19 Promedio \pm error estándar del factor de conversión alimenticia a través del tiempo de alevines de <i>Oncorhynchus mykiss</i> suplementados con 3 dietas a base de <i>Chlorella</i> sp biotipo 3.....	61
Figura 20 Promedio \pm error estándar del índice de condición corporal a través del tiempo de alevines de <i>Oncorhynchus mykiss</i> suplementados con 3 dietas a base de <i>Chlorella</i> sp biotipo 3.....	63
Figura 21 Promedio \pm error estándar del porcentaje de mortalidad de alevines de <i>Oncorhynchus mykiss</i> suplementados con 3 dietas a base de <i>Chlorella</i> sp biotipo 3 a los 90 días.....	64
Figura 23 Promedio \pm error estándar de proteína total de alevines de <i>Oncorhynchus mykiss</i> suplementados con 3 dietas a base de <i>Chlorella</i> sp biotipo 3 a los 80 días	67

Figura 24 Promedio \pm error estándar de albúmina de alevines de <i>Oncorhynchus mykiss</i> suplementados con 3 dietas a base de <i>Chlorella sp</i> biotipo 3 a los 80 días	67
Figura 25 Promedio \pm error estándar de hematocrito de alevines de <i>Oncorhynchus mykiss</i> suplementados con 3 dietas a base de <i>Chlorella sp</i> biotipo 3 a los 80 días	68
Figura 26 Promedio \pm error estándar de cortisol de alevines de <i>Oncorhynchus mykiss</i> suplementados con 3 dietas a base de <i>Chlorella sp</i> biotipo 3 a los 80 días	68
Figura 27 Promedio \pm error estándar de conteo de glóbulos blancos de alevines de <i>Oncorhynchus mykiss</i> suplementados con 3 dietas a base de <i>Chlorella sp</i> biotipo 3 a los 80 días.....	70
Figura 28 Promedio \pm error estándar del porcentaje de linfocitos de <i>Oncorhynchus mykiss</i> suplementados con 3 dietas a base de <i>Chlorella sp</i> biotipo 3 a los 80 días.	70
Figura 29 Promedio \pm error estándar del porcentaje de neutrófilos de <i>Oncorhynchus mykiss</i> suplementados con 3 dietas a base de <i>Chlorella sp</i> biotipo 3 a los 80 días.	71
Figura 30 Promedio \pm error estándar del porcentaje de monocitos de <i>Oncorhynchus mykiss</i> suplementados con 3 dietas a base de <i>Chlorella sp</i> biotipo 3 a los 80 días	71
Figura 31 Promedio \pm error estándar del porcentaje de basófilos de <i>Oncorhynchus mykiss</i> suplementados con 3 dietas a base de <i>Chlorella sp</i> biotipo 3 a los 80 días.	72

Figura 32 Promedio \pm error estándar del porcentaje de eosinófilos de *Oncorhynchus*

mykiss suplementados con 3 dietas a base de *Chlorella* sp biotipo 3 a los

80 días 72

Resumen

Las microalgas del género *Chlorella* son empleados como alimentos naturales para mejorar la eficiencia productiva en peces. La aplicación de microalgas promueve la modernización industrial con influencia en el desarrollo de la acuicultura ecológica. El presente estudio evaluó los efectos de la suplementación de *Chlorella* sp. biotipo 3 sobre los parámetros morfo métricos, productivos y hematológicos en alevines de *Oncorhynchus mykiss*. Se utilizaron cuatrocientos cincuenta alevines ($4 \pm 0,5$ g) de *Oncorhynchus mykiss* distribuidos aleatoriamente en 9 estanques con una densidad de cincuenta alevines por estanque. Se valoraron tres tratamientos con tres repeticiones: tratamiento control 0 g Kg^{-1} *Chlorella* sp. y dos dosis de *Chlorella* sp. 5 y 10 g Kg^{-1} , durante 80 días. Mediante un análisis de tukey se determinó que la suplementación de *Chlorella* sp. biotipo 3 afectó significativamente la ganancia de peso, tasa de crecimiento específico, eficiencia alimenticia, índice de condición corporal, glóbulos rojos, hematocrito, leucocitos y número de linfocitos. La adición de *Chlorella* sp. biotipo 3 en la dieta de *Oncorhynchus mykiss* mejoró los parámetros morfo métricos, productivos y hematológicos, por lo que la suplementación de las dietas tendría efectos benéficos sobre el sistema inmunológico innato. De acuerdo a los resultados sugiere que el nivel óptimo de *Chlorella* sp. biotipo 3 en la dieta de *Oncorhynchus mykiss* es de 10 g Kg^{-1} .

Palabras clave: *Truchas Arcoíris, Microalgas, Inmunidad, Suplementación Alimenticia, Acuicultura*

Abstract

Microalgae of the genus *Chlorella* are used as natural foods to improve production efficiency in fish. The application of microalgae promotes industrial modernization with influence on the development of ecological aquaculture. The present study evaluated the effects of *Chlorella* sp. biotype 3 on morpho-metric, productive and hematological parameters in *Oncorhynchus mykiss* fingerlings. Four hundred and fifty fingerlings (4 ± 0.5 g) of *Oncorhynchus mykiss* were used randomly distributed in 9 ponds with a density of fifty fingerlings per pond. Three treatments with three repetitions were evaluated: control treatment 0 g Kg^{-1} *Chlorella* sp. and two doses of *Chlorella* sp. 5 and 10 g Kg^{-1} , for 80 days. Through a tukey analysis it was determined that the supplementation of *Chlorella* sp. Biotype 3 significantly affected weight gain, specific growth rate, feeding efficiency, body condition index, red blood cells, hematocrit, leukocytes, and lymphocyte numbers. The addition of *Chlorella* sp. biotype 3 in the *Oncorhynchus mykiss* diet improved the morphometric, productive and hematological parameters, therefore the supplementation of the diets should have beneficial effects on the innate immune system. According to the results, it suggests that the optimal level of *Chlorella* sp. biotype 3 in the diet of *Oncorhynchus mykiss* is 10 g Kg^{-1} .

Keywords: *Rainbow Trout, Microalgae, Immunity, Nutritional Supplementation, Aquaculture*

Capítulo I

Introducción

Antecedentes

La acuicultura es una industria de producción de alimentos de rápido crecimiento y contribuye de manera significativa a la seguridad alimentaria en el mundo (Valenti et al., 2018). En Ecuador la acuicultura impulsa la economía del país, en donde, la pesca y la acuicultura en 2018 representó más del 5% del PIB (Banco Central del Ecuador, 2019). En la actualidad en la producción de la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) existe una reducción significativa del rendimiento y calidad del animal (Smith, 2019). Esto se debe a la falta de conocimientos de nuevas tecnologías acuícolas, manejo inadecuado de los peces, cambio climático y enfermedades que causan pérdidas económicas (Bouwmeester et al., 2020; Saraiva et al., 2019). Para aumentar el crecimiento y controlar las enfermedades, los piscicultores se han visto en la necesidad de utilizar antimicrobianos, incrementando los costos de producción (Ibrahim et al., 2020; Indranil & Bandyopadhyay, 2020).

El uso excesivo de antimicrobianos ocasiona efectos perjudiciales en los ecosistemas acuáticos, medio ambientales y en la salud humana como animal (Santos & Ramos, 2018). Además el uso excesivo de antimicrobianos ocasiona deficiencia en el sistema de defensa ante el estrés. Esto se debe a que no existe la adecuada absorción de antioxidantes y síntesis de enzimas que destruyan a las especies reactivas de oxígeno (ROS) ocasionando estrés oxidativo, daño tisular y disminución de globulina, lo que facilita la presencia de enfermedades infecciosas (Costa & Val, 2020). El cambio climático modifica los sistemas de producción acuícola lo que representa una amenaza para la seguridad alimentaria a nivel mundial (D'Abramo & Slater, 2019). En los océanos el cambio climático ocasiona modificaciones de temperatura, aumento del nivel del mar, salinidad, acidificación de

los océanos, estratificación e hipoxia (Naciones Unidas, 2017), favoreciendo brotes de patógenos o parásitos (nuevos o existentes) (Lim et al., 2017). La pandemia COVID-19 afectó a nivel mundial con importantes repercusiones en la economía, producción y distribución de alimentos (FAO, 2020). En donde las personas del sector rural presentan mayor índice de inseguridad alimentaria y nutricional (Galanakis, 2020). En presencia de la pandemia mundial COVID-19 el sector alimentario deberá fortalecer la seguridad alimentaria (Naciones Unidas, 2020). En el que deberán incluir innovaciones para ofrecer productos económicamente competitivos, incrementar nuevas cadenas de suministro alimenticio, fomentar alimentos funcionales fortificados con compuestos bioactivos y antioxidantes que ayudan al sistema inmunológico y promuevan la salud del consumidor (Galanakis, 2020).

Justificación

Las microalgas en acuicultura son empleados como alimentos naturales (Pangestuti et al., 2020); además son utilizados en la dieta de peces para controlar la contaminación, aumento nutricional, incremento de la inmunidad, suministro de oxígeno y equilibrio ecológico (Yang et al., 2020). Se conoce a los carotenoides como pigmentos producidos por las microalgas que proporciona efectos beneficiosos en la salud, mejora la resistencia a las enfermedades e incrementa el rendimiento de las especies acuícolas (Pérez et al., 2019); además por sus propiedades antioxidantes astaxantina y β - carotenos son los carotenoides de mayor demanda en el mercado mundial (Rammuni et al., 2019). Las microalgas aumentan la actividad plasmática de T - SOD y contenidos de C3 e IgM el cual es utilizado como ingredientes de piensos para mejorar la calidad de la carne y aumentar la inmunidad de los peces (Chen et al., 2019). Estudios realizados con la inclusión de *Chlorella peruviana* con 5g/kg balanceado mejoró el crecimiento, los parámetros fisiológicos y

el sistema inmunológico innato en alevines de *Oncorhynchus mykiss* (Arteaga et al., 2020).

La trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) es de la familia de los salmónidos y es el alimento más apetecible por su valor nutritivo, además su consumo es considerado como saludable por su alto contenido de proteínas, ácidos grasos omega-3, minerales y vitaminas (Mowi, 2020). Sin embargo, se conoce que los salmónidos son susceptibles a factores de estrés y condiciones adversas como alta variabilidad en flujos de agua de los arroyos y ríos, reforestaciones, limitación de espacio, competencia inter especie, contaminación, fluctuaciones de condiciones climáticas afectando los parámetros productivos, rendimiento y factibilidad económica (Hendrickson et al., 2002; Shekh et al., 2020). Por lo tanto, el presente estudio busca evaluar la aplicación de *Chlorella* sp. biotipo 3 en los parámetros productivos y hematológicos en alevines de *Oncorhynchus mykiss*. Se cree que los alevines de *Oncorhynchus mykiss* tratados con *Chlorella* sp. biotipo 3, presentan mayor ganancia de peso que los alevines de *Oncorhynchus mykiss* no tratados.

Objetivos

Objetivos generales

Evaluar el efecto de *Chlorella* sp. biotipo 3 sobre los parámetros productivos y hematológicos de alevines de *Oncorhynchus mykiss*.

Objetivos específicos

Determinar el efecto de dos dosis de *Chlorella* sp. sobre los parámetros morfométricos y productivos de *Oncorhynchus mykiss*.

Evaluar el perfil hematológico en *Oncorhynchus mykiss* suplementados con dos dosis de *Chlorella* sp.

Elaborar un vídeo divulgativo para la transferencia de tecnología de la suplementación de *Chlorella* sp. en *Oncorhynchus mykiss* desarrollado en el laboratorio de Recursos Acuáticos de la ESPE.

Hipótesis

H0: Los alevines suplementados con *Chlorella* sp. biotipo 3 presentan similar peso, crecimiento específico y hemoglobina que los alevines no suplementados.

H1: Los alevines suplementados con *Chlorella* sp. biotipo 3 presentan mayor peso, crecimiento específico y hemoglobina que los alevines no suplementados.

Capítulo II

Revisión de literatura

La acuicultura es uno de los sectores productores de alimento de mayor crecimiento en el mundo (Valenti et al., 2018). En 2019 el consumo mundial per cápita del pescado es de 20,6 kg con una producción acuícola de 26 millones de toneladas (FAO, 2020). En Ecuador la acuicultura impulsa la economía del país, en donde, el atún y pescado alcanzó un valor de la mercancía puesta a bordo de un transporte marítimo (FOB) promedio de 25.4 millones de USD con una participación porcentual del 4% de enero del 2018 a enero del 2019 (Banco Central del Ecuador, 2019). En 2030 el 62% de la producción acuícola mundial estará combinado por especies de agua dulce como carpa, bagre pangasio, camarón, salmón, trucha; sin embargo se supone que en el 2030 que el consumo per cápita de pescado alcanzara 21,5 kg con alrededor de 109 millones de toneladas de producción acuícola (FAO, 2020).

Trucha arcoíris (*Onchorhynchus mykiss*)

La trucha arcoíris *Onchorhynchus mykiss* pertenece al grupo de los salmónidos originarios de América del Norte. Vertebrado con forma alargada, fusiforme, ligeramente aplanada lateralmente, su piel se encuentra compuesta por pequeñas escamas. Su coloración varía por el hábitat, tamaño y condición sexual (Padrón & Lacruz, 2010). Los flancos poseen una banda de color iridiscente rosácea longitudinal. En Ecuador se distribuye en casi todos los ambientes de agua dulce de la región sierra, al haberse adaptado a los ríos, lagunas y lagos de las zonas del alto andino, aunque su movilidad en ríos se ha visto afectada por su gran movilidad, pues migran de una zona a otra dependiendo la estación del año, estado fisiológico, hora del día, alimentación y épocas de reproducción (Ortiz, 2015).

Clasificación taxonómica de *Onchorhynchus mykiss* (Blanco, 1995).

Orden : Salmoniformes

Familia : Salmonidae

Subfamilia : Salmoninae

Espécie : *Oncorhynchus mykiss*

Nombre común: Trucha arco iris

Figura 1

Morfología de Oncorhynchus mykiss



Nota. Opromar, (2017).

La trucha es un pez carnívoro, su aparato digestivo es corto y aprovecha las proteínas animales y una variedad limitada de productos vegetales. Es una especie ovípara su fecundación es externa. Alcanza su madurez sexual a los dos años en hembras y en machos un año y medio (Padrón & Lacruz, 2010).

Entorno ambiental

El hábitat de la trucha prefiere corrientes moderadas con fondos pedregosos y presencia de vegetación (Choquehuayta, 2008). Las truchas son peces poiquiloterms, lo que significa que la temperatura del pez, es la misma que tiene el

pez. Los cambios bruscos de temperatura son mal tolerados. El grado de tolerancia a la temperatura es de 6 - 20 °C, siendo recomendable realizar el manejo a temperaturas de 6 – 11 °C para reproducción, incubación y primer alevinaje (Ortiz, 2015).

Tabla 1

Parámetros fundamentales para el cultivo de trucha arcoíris

Parámetros	Unidades	Normal
Oxígeno disuelto	mg/l	5.0
Salinidad	Ppt	0 – 35
pH	pH	6.4 – 8.4
Alcalinidad	mg/l	30 – 200
Dióxido de carbono	mg/l	-2.0
Calcio	mg/l	+50
Amonio no ionizado	mg/l	-0.03 constante -0.05 intermitente
Nitritos (N-NO ₂)	mg/l	-0.55
Nitrógeno total	mg/l	-100% saturación
Sólidos suspendidos	mg/l	-80
Sólidos disueltos	mg/l	50-200
Temperatura	°C	10-22

Nota. Ppt= partes por mil; mg/l= miligramos por litro; pH= grado de acidez o alcalinidad; °C= grado Celsius. Blanco, (1995).

El suministro de alimentos debe ser de buena calidad, de la misma manera debe existir buena calidad de agua ya que requiere un rango de oxígeno 7,5 a 12 ppm, temperatura de 13 a 18°C, pH 6,5 a 8,5 (FAO, 2014). Las condiciones medioambientales para el desarrollo de la trucha arcoíris se presentan en la Tabla 1.

Etapas de cultivo de trucha arcoíris (Choquehuayta, 2008):

Huevo. Una vez realizada la fertilización los huevos son incubados. La eclosión a 10 °C será en 31 días, mientras que a una temperatura de 15,6°C en 19 días.

Larvas. Una vez concluido el desarrollo embrionario se alimentan del saco vitelino alrededor de 15 a 18 días de acuerdo a la temperatura ambiental. Cuando el 80% de las larvas absorben el saco vitelino se puede suministrar balanceado en polvo.

Dedino. Reabsorben el saco vitelino hasta alcanzar 3cm de talla.se considera el 20% de mortalidad en el periodo larval.

Alevín. Los alevines de una talla de 3 a 10 cm, su peso oscila entre 1,5 g a 20 g. Son alimentados con balanceado inicial con rangos de 3 al 7% de la biomasa de acuerdo a la talla y temperatura.

Juvenil. Miden de 10 cm a 23 cm con un peso de 20 a 150 g, el porcentaje de mortalidad es del 2%.

Adulto. Talla mayores de 23 cm con un peso mínimo de 250g.

Características de la etapa de alevinaje de *Onchorhynchus mykiss*

La etapa de alevinaje se encuentra comprendida entre 0,5 y 10 gramos de peso vivo. La biomasa a mantener es de 10 a 15 kg/m³ de acuerdo al tamaño de los alevines (FONDESPES, 2012).

Tabla 2

*Flujo de producción en alevinaje *Oncorhynchus mykiss**

Fase	Talla
Alevinaje 1	3,5 – 5,0 cm
Alevinaje 2	5,0 – 8,0 cm
Alevinaje 3	8,9 – 12,0 cm

Nota. Talla: medida; cm: centímetro; mes: periodo de tiempo. FONDESPES, (2012)

La alimentación debe contener entre 44 a 50% de proteína ya que están en formación todos sus órganos, son más voraces (Tabla 3). Deben ser alimentados cada hora, mediante las ocho horas de jornada laboral (FAO, 2014). Se inicia con pellet granulado < 0,6 mm. La deficiencia de los ácidos grasos produce una disminución del crecimiento, pérdida de apetito, hígado graso y aumento de enfermedades (Beveridge & McAndrew, 2000).

Los alevines deben presentar tamaños similares para evitar el canibalismo, no deben ser de coloración oscuros ni negros ya que puede ser señal de enfermedad, no deben presentar estado de cabeza de alfiler (cabeza grande, cuerpo delgado). La compra de alevines de trucha es ideal en un talla de 2,5 a 5 cm, es decir, cuando se absorbe el saco vitelino (FAO, 2014).

Tabla 3*Requerimientos nutritivos de trucha arcoíris en etapa de alevinaje*

Nutrientes	Composición en alimentación
Proteínas	45 – 50%
Carbohidratos	9 – 12%
Lípidos	12 – 16%
Minerales	2% (P 0.45 – 0.8%; Mg 0.05-0.07%; Zn 15-30 ppm; Mn 2.4-13 ppm; Cu 3-5 ppm; Co 0.1 ppm, Se 0.25 ppm)
Vitaminas	Vitamina A 2500-3500 U.I/kg pienso, Vitamina D 2400-3000 U.I/kg pienso; Vitamina E 30-100 U.I/kg pienso; Vitamina C 100-300 mg/kg de pienso
Aminoácidos	Arginina 4.0; Histidina 1.8; Isoleucina 2.8; Leucina 5.0; Lisina 6.0; Metionina+Cistina/2 3.3; Fenilalanina+Tirosina 6.0; Treonina 4.0; Triptófano 0.6; Valina 3.6.

Nota. P: fósforo; Mg: magnesio; Zn: zinc; Mn: manganeso; Cu: cobre; Co: monóxido de carbono; ppm: partes por millón; U.I/kg: unidad internacional por kilogramo; mg/kg: miligramos por kilogramo. Blanco, (1995).

Las enfermedades de los peces pueden ser producidas por infecciones de microorganismos del grupo de los virus, bacterias, hongos, protozoarios y gusanos, también pueden deberse a fallas en los recambios de agua, acumulación de excretas y alimento en los estanques, a deficiencias nutricionales o traumatismos sufridos por los peces. Además las causas químicas como cambios de pH., presencia de contaminantes orgánicos o inorgánicos, deficiencia de oxígeno, incremento del CO₂ (SENASICA, 2003).

Se recomienda mantener una estricta condición higiénica para prevenir la aparición de brotes. Se debe realizar una limpieza quincenalmente cepillando las paredes con la finalidad de eliminar los sedimentos y sarro. Tratamiento eficaz para combatir parásitos externos se debe utilizar baños una solución salina de 20 g/L, durante 1 o 2 minutos (Choquehuayta, 2008). Conversión alimenticia es la relación entre el peso del alimento consumido y la ganancia de peso (Mache, 2015). Los alevines presentan una conversión entre 0,5 y 0,8 (Choquehuayta, 2008).

Estudios realizados en alevines de *Oncorhynchus mykiss* alimentados con balanceado durante 84 días y con una densidad por jaula de 2,3 Kg se obtuvo las variables morfométricas con: peso 67.27 g, longitud total 18.65 cm, longitud parcial 15.50 cm, ancho 4.90 cm. Las variables productivas obtenidas fueron conversión alimenticia 1.60, índice de la condición corporal 0.57, mortalidad 5.66 %. Las variables hematológicas fueron las siguientes: Hematocrito 39.13%, hemoglobina 0.57 g/dL, albúmina 0.88 g/dL y glóbulos blancos 2.62 (cel x 10⁴/uL) (Velásquez, 2012).

La respuesta a agentes estresantes provoca la liberación del hipotálamo pituitario interrenal y se activa la hormona liberadora de corticotropina (CRH) en el hipotálamo. Después el neuroléptico se transporta a la glándula pituitaria, en donde, se produce la hormona adrenocorticotropa (ACTH) que por último estimula la

producción de cortisol (Sumpter et al., 1991). El cortisol es el primordial corticoesteroide en peces, es secretado por células interrenales mediante la activación del eje hipotálamo hipófisis interrenal (HPI). El cortisol se activa en situaciones de estrés movilizando energía (libera glucosa) e impulsa la demanda metabólica del organismo (Mommensen et al., 1999). La glucosa es utilizada como fuente de energía y metabolismo intermedio. Es el carbohidrato de mayor consideración en la ganancia de energía. Por esta razón la hiperglucemia es utilizada como factor de respuesta ante el estrés (Poza, 2017).

Microalgas

Chlorella sp. son microalgas unicelulares de coloración verde con altos niveles de proteínas, vitaminas, ácidos grasos y carotenoides como β -caroteno, luteína y astaxantina (Plaza et al., 2012; Rahimnejad et al., 2017). Posee un diámetro de 2 a 10 μm , su reproducción es asexual (autospora) y con pared celular regida que proporciona protección contra invasores y entornos hostiles. Posee un solo cloroplasto, su doble envoltura de membrana se encuentra compuesta por fosfolípidos. El cloroplasto almacena un grupo de tilacoides fusionados, en donde, el principal pigmento clorofila se sintetiza originando el color de diferentes pigmentos (Safi et al., 2014).

La composición química de la microalga *Chlorella* sp. posee alrededor de 51 a 58% de proteína, 12 a 17% de carbohidratos, del 16 al 40 % de lípidos y el 10 % se encuentra compuesto por minerales, ácidos nucleicos y pigmentos de peso seco (Ramírez et al., 2013). Las microalgas contienen vitamina A (retinol), B1 (tiamina), B2 (riboflavina), B3 (niacina), B6 (piridoxina), B9 (ácido fólico), C (ácido ascórbico), D, E (tocoferol). Los carotenoides tales como astaxantina, betacarotenos y luteína de las microalgas son precursores de la vitamina A (Bishop & Zubeck, 2012).

Además, posee compuestos bioactivos con actividad antioxidante, antiviral, antimicrobiana que incrementa la respuesta humoral y celular (Safi et al., 2014; Vijayavel et al., 2007). Los pigmentos producidos por las microalgas son de gran interés ya que proporcionan efectos beneficiosos en la salud, mejora la resistencia a las enfermedades e incrementa el rendimiento de las especies acuícolas (Pérez et al., 2019). Las principales microalgas cultivadas comercialmente son del género *Spirulina* y *Chlorella* debido a su composición química son empleados como alimentos naturales para aumentar su valor nutricional alimenticio (Pangestuti et al., 2020).

La microalga del género *Chlorella* son inmuno estimulantes naturales debido a su composición proteica y bioquímica (Xu et al., 2013). Las microalgas en la acuicultura ayuda a disminuir el impacto ambiental como la contaminación del agua, deterioro biótico, efectos ecológicos, eutrofización y aparición de enfermedades (Yarnold et al., 2019). La aplicación de microalgas representa una manera económicamente factible para la nutrición animal (Chen et al., 2019). Del mismo modo la aplicación de la biotecnología de microalgas promueve la modernización industrial con influencia en el desarrollo de la acuicultura ecológica (Yang et al., 2020).

Estudios realizados con la inclusión de *Chlorella peruviana* con 5g/kg balanceado mejoró el crecimiento, los parámetros fisiológicos y aumentó los valores de hemoglobina, eritrocitos en alevines de *Oncorhynchus mykiss* (Arteaga et al., 2020). De igual manera la suplementación de *Chlorella* en *Paralichthys olivaceus* mejoró la capacidad antioxidante y rendimiento del crecimiento (Rahimnejad et al., 2017), mientras que en estudios previos en *Cyprinus carpio* concentraciones de 50 g kg-1 de *Chlorella* en la dieta aumentó la hemoglobina y el número de glóbulos rojos (Khani et al., 2017).

Chlorella sp. no posee efectos negativos acerca de los perfiles hematológicos de los peces, esto se debe a que poseen abundante cantidad de hierro y ácido fólico que actúan sobre la eritropoyesis (Khani et al., 2017; Yeganeh et al., 2015). Además favorecen a un incremento de producción de glóbulos rojos por su capacidad antioxidante, carotenoides y ficocianina (Rahimnejad et al., 2017). En la sangre el aumento del número de células y concentración de hemoglobina permite una mayor relación y transporte de oxígeno en la sangre (Mairbäurl & Weber, 2012).

Sistema inmune

La inmunidad innata conocida como inmunidad natural o espontánea es la primera línea de defensa contra microbios (celulares y bioquímicos), memoria (nula). La activación de los linfocitos exige la acción de la primera señal antígenica, y la segunda, componentes de las respuestas inmunitarias frente a microbios o células lesionadas.

Componentes del sistema inmunitario innato:

Barreras. Epiteliales es la barrera física para los microbios, defensivas. Los linfocitos intraepiteliales (destrucción de microbios).

Células efectoras. Neutrófilos, macrófagos, linfocitos NK. Los fagocitos reconocen a los microbios (receptores RTT, lectinas tipo C, receptores fagocitos y N-formil Met-Leu-Phe) y los destruye (producción de ERO, óxido nítrico, enzimas fago lisosomas).

Proteínas efectoras circundantes. Sistema complemento (destrucción de microbios, activación de leucocitos), pentraxinas (opsonización de los microbios, activación del complemento), colectinas (activación del complemento vía de lectina) y ficolinas (reconocimiento hidratos de carbono, se unen a diversas especies bacterianas) Proteínas citocinas (Abbas et al., 2015).

La inmunidad adaptativa conocida como Inmunidad específica o adquirida (respuestas protectoras se adquieren). Los principales componentes son los linfocitos y productos de secreción (anticuerpos), sustancias ajenas la respuesta es inmunidad específica (antígenos). La inmunidad adaptativa posee especificidad para antígenos microbianos, está constituida por barreras celulares y químicas (linfocitos y anticuerpos), células (linfocitos), proteínas sanguíneas (anticuerpos), memoria (responde con mayor energía).

Tipos de respuesta inmunitaria adaptativa:

Inmunidad humoral. Es la principal defensa contra bacterias, virus y toxinas invasoras. Los anticuerpos son producidos por los glóbulos blancos que reconocen a los antígenos microbianos neutralizan la infección y eliminan los microorganismos extracelulares mediante diversos mecanismos efectores.

Inmunidad celular. Los linfocitos T actúa como defensa contra infecciones, provoca la destrucción de los microorganismos residentes en los fagocitos o destrucción de células infectadas (Abbas et al., 2015).

Estrés oxidativo

El estrés oxidativo es causado por un desequilibrio entre oxidantes y antioxidantes a nivel celular. En este proceso existe una desmesurada generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) que pueden originar daños a macromoléculas biológicas (Ma et al., 2014). El estrés oxidativo ocurre cuando se producen radicales de oxígeno en exceso en las células sobrepasando la capacidad antioxidante normal (Gagné, 2014). El estrés oxidativo se relaciona con la lesión celular ocasionado por el desequilibrio nutricional, lesiones, exposición a agentes químicos y físicos presentes en el ambiente, intensa actividad física, desórdenes hereditarios y estadios de la enfermedad (Kuang, 1991). Además el estrés oxidativo

podría resultar de la presencia de xenobióticos, activación del sistema inmunológico como respuesta a microorganismos invasores (inflamación) y radiación (Gagné, 2014).

Productos de peroxidación lipídica (hidroperóxidos, aldehídos y epóxidos) reaccionan e inactivan las proteínas esenciales, enzimas y ácidos nucleicos ocasionando daño irreversible celular. Además inician o promueven la patogenia de lesiones y fases de enfermedad (Kuang, 1991). El daño oxidativo del estrés ambiental inhibe el sistema inmunológico y conduce a una mayor susceptibilidad a enfermedades infecciosas (Zhou et al., 2016). La defensa fagocítica depende en gran medida de la generación de ROS que resulta estar debilitado bajo estrés oxidativo (Zhou et al., 2016).

Cuando no se encuentra controlado los mecanismo de defensa interno como antioxidantes (tocoferoles, ácido ascórbico y glutatión) o enzimas (catalasa, peroxidasa y superóxido dismutasa, SOD) comprometido en la captación de los radicales de oxígeno ocasiona daño oxidativo en proteínas, lípidos y ADN lo que podría producir citotoxicidad, genotoxicidad e incluso carcinogénesis (células mutadas) (Gagné, 2014). Es primordial que se encuentre presente varios sistemas de defensa de antioxidantes. La célula logra proteger los componentes celulares del estrés oxidativo por medio de la interacción de oxidantes y agentes oxidante con agentes reductores como ácido ascórbico, glutatión reducido (GSH). Del mismo modo la eliminación de los radicales libres y oxígeno se produce con la vitamina E, betacaroteno, ácido ascórbico, y superóxido dismutasa. A través de las actividades metabólicas reemplazan o reparan el daño producido (Kuang, 1991).

Capítulo III

Metodología

Ubicación del lugar de investigación

El estudio se realizó en las instalaciones de la Carrera de Ciencias Agropecuarias IASA 1 de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, hacienda El Prado, parroquia San Fernando, cantón Rumiñahui, provincia de Pichincha, la cual se encuentra localizada en las coordenadas 78° 24' 44" LO, 0° 23' 20" LS y altitud de 2748 m.s.n.m. Precipitación anual de 1200 mm, temperatura de 16°C, humedad relativa de 65% (Estación de Meteorología e Hidrología - Hacienda El Prado, 2016)

Métodos

Fase de laboratorio

La fase de laboratorio fue realizada en el laboratorio de Recursos Acuáticos de la ESPE; en donde se trabajó con cepas de *Chlorella* sp. biotipo 3. Las cepas fueron recolectadas en la reserva Cayambe Coca (Villafuerte, 2016).

La siembra de la microalga se realizó en cajas Petri y se adicionará 1 gL^{-1} de fertilizante foliar Nitrofoska (3:1:1) y 15 gL^{-1} de agar-agar. Una vez sembrada la microalga fue incubada durante 3 días a una temperatura de 19°C con 78,8 μmol quantum $m^{-2}s^{-1}$, luego de 3 días se verificó la presencia de contaminantes (Auz, 2019).

Figura 2*Conteo celular de microalga*

Posteriormente en cada tubo de ensayo de 15 mL se adicionó 10 mL de agua destilada con 2 ml Nitrofoska (3:1:1). Se efectuó el escalamiento en la caja Petri sembrada con la microalga y se colocó en cada tubo de ensayo. Los tubos llegaron a una concentración de 2×10^6 células mL^{-1} . Luego en un matraz se colocaron 100 mL hasta que llegó a una capacidad de 3×10^6 células mL^{-1} . Finalmente se colocó en matraces con 250 ml de fertilizante hasta que llegó a una concentración de 8×10^6 células mL^{-1} (Auz, 2019).

Figura 3*Cultivo de microalga Chlorella sp. biotipo 3*

La cosecha de las microalgas de *Chlorella sp.* se realizó a los 21 días posterior a la siembra, se centrifugó a 2500 revoluciones por minuto durante 15 minutos. El sedimento se colocó en cajas Petri y se añadió en estufa durante 48 horas a $35^{\circ}C$.

Figura 4

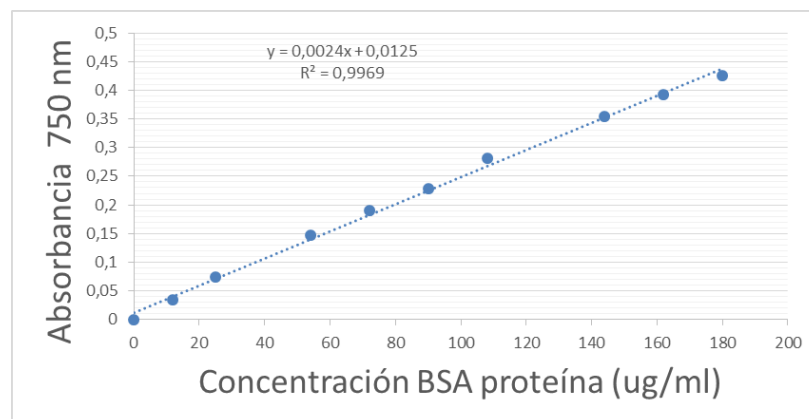
Biomasa de microalga de Chlorella sp. biotipo 3



Para determinar el contenido de proteínas totales de *Chlorella sp.* se utilizó el método de espectrofotométrico de Lowry et al., (1951). Además se elaboró una curva de calibración con albúmina sérica bovina (BSA), con un $r^2 = 0,9969$ (Figura).

Figura 5

Curva de calibración de proteína BSA



El porcentaje de proteínas se utilizó la siguiente fórmula (Lowry et al., 1951)

$$\text{Proteínas \%} = [[(m * A_{750 \text{ nm}}) / Vm] * Ve] / Ps * 100$$

Donde:

A_{750} = longitud de onda de la luz visible.

m = Pendiente de curva de calibración

V_m = Volumen de la muestra

V_e = Volumen de extracto alcalino

P_s = Peso seco

Para la extracción de carotenoides y clorofila las células de microalgas fueron cosechadas y fueron molidas con un mortero. Posteriormente se añadieron 10 ml de metanol 99.9% (v/v) durante 24 horas. La concentración de carotenos se determinó con el empleo de la siguiente ecuación (Strickland & Parsons, 1972).

$$\text{Caroteno } \left(\frac{\text{mg}}{\text{g}} \right) = \frac{A_{480} * \text{Vol Extracto}}{\text{Vol de la muestra}}$$

Donde:

A_{480} = longitud de onda de la luz visible

Vol. Extracto = extracción obtenida de la evaporación de metanol.

El contenido de clorofila α y clorofila β se analizó mediante las siguientes ecuaciones (Miazek & Ledakowicz, 2013)

$$\text{Clorofila } \alpha \left(\frac{\text{mg}}{\text{g}} \right) = 16.72 * A_{665} - 9.16 * A_{652}$$

$$\text{Clorofila } \beta \left(\frac{\text{mg}}{\text{g}} \right) = 39.09 * A_{652} - 15.28 * A_{665}$$

Donde:

A_{665} = longitud de onda de la luz visible

Fase de campo

Cuatrocientos cincuenta alevines ($4 \pm 0,5$ g) fueron utilizados y distribuidos en 9 estanques. Cada unidad experimental tuvo 80 cm de largo por 40 cm de ancho y una profundidad de 30 cm, en donde se encontraron 50 alevines. Se evaluaron tres tratamientos: 0 g *Chlorella* sp /kg dieta (T_1), 5 g *Chlorella* sp /kg dieta (T_2) y 10 g *Chlorella* sp /kg dieta (T_3) durante 90 días.

Figura 6

Área de experimentación del ensayo



El experimento se dispuso bajo un diseño por bloques completos al azar con tres repeticiones cuyo modelo matemático es el siguiente (Vega, 2018). La disposición del experimento se puede apreciar en la Figura 7.

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

Donde:

μ : Media poblacional

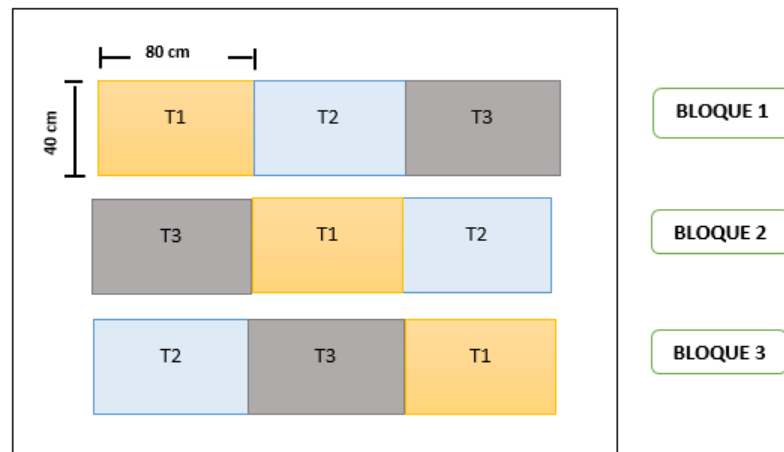
T_i : Efecto del i -ésimo dosis de *Chlorella* sp.

B_b : Efecto del bloque

E_{ij} : Error experimental

Figura 7

Croquis experimental de fase campo



T1: 0 g *Chlorella sp* /kg dieta

T2: 5 g *Chlorella sp* /kg dieta

T3: 10 g *Chlorella sp* /kg dieta

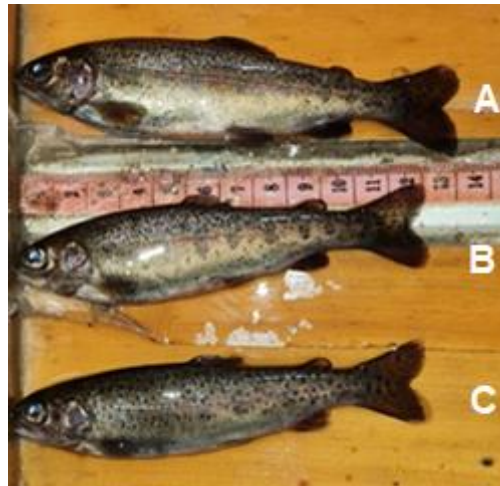
Diariamente se suministraron las dietas durante seis horas 8:00; 9:00; 10:00; 11:00; 13:00 y 15:00 h. Además se realizó la limpieza de las piscinas cada dos días.

De cada unidad experimental se tomaron 15 alevines para evaluar las variables morfométricas como: Peso total (g), longitud parcial (cm), longitud total (cm) y ancho (cm). Además se medieron las variables productivas como: mortalidad (%), tasa de crecimiento específico (T.C.E), ganancia de peso (Pn), conversión alimenticia (F.C.A), eficiencia alimentaria (E.A), índice de condición corporal (I.C.C). Estas mediciones se realizaron cada 10 días.

El peso total (g) se estableció con la ayuda de una balanza (INOX IP68). La longitud parcial (cm), longitud total (cm) y ancho (cm) se calculó con una cinta métrica (Weilifang).

Figura 8

Alevines de Oncorhynchus mykiss suplementados con diferentes dosis de microalga. A) 10 g Kg⁻¹ de Chlorella sp., B) 5 g Kg⁻¹ de Chlorella sp., C) 0 g Kg⁻¹ de Chlorella sp.



El porcentaje de mortalidad se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Mortalidad (\%)} = \frac{\text{Número de peces muertos}}{\text{Número de peces vivos}} * 100$$

La tasa de crecimiento específico (T.C.E) se calculó con la siguiente ecuación:

$$\text{TCE} = (\text{L}_n W_{xf} - \text{L}_n W_{xi}) / t(\text{días}) * 100$$

Donde:

W_{xf} = peso final (g)

W_{xi} = peso inicial (g)

t = días de crianza

L_n = logaritmo natural

La ganancia de peso se determinó a través de la siguiente ecuación:

$$\text{Ganancia de peso} = \frac{W_{xf} - W_{xi}}{t}$$

Donde:

W_{xf} = peso final (g)

W_{xi} = peso inicial (g)

t = días

El factor de conversión alimenticia (F.C.A) se calculó con la siguiente ecuación:

$$\text{F.C.A} = \frac{\text{Total de alimento consumido (g)}}{\text{Ganancia de peso (g)}}$$

El índice de condición corporal (I.C.C) se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$\text{ICC} = (P/Lt^3) * 100$$

Donde:

P = peso corporal (g)

Lt = longitud total (cm)

Las variables hematológicas que se evaluaron fueron: recuento eritrocitario, recuento leucocitario, hematocrito, albúmina, hemoglobina, proteína total, cortisol y glucosa. Se realizó la extracción de sangre de la vena caudal de los peces mediante una jeringa de 3 mL. La jeringa estuvo estar previamente heparinizada, con 5000 UI/mL de heparina sódica. Una vez extraída la sangre se colocó en tubos eppendorf con su respectiva rotulación y almacenadas a 4°C. La muestra de sangre se tomó de 15 alevines por tratamiento a los 90 días.

El recuento de eritrocitario y leucocitario se realizó con el método de Natt & Herrick, (1952) en cámara de Neubauer (Numak) (Campuzano, 2007). Para determinar el número de eritrocitos en sangre se aplicó la siguiente ecuación:

$$\text{Número de eritrocitos en sangre} = \frac{\text{células} \times 10^6}{\mu\text{L}}$$

Figura 9

*Recuento eritrocitario y leucocitario de *Oncorhynchus mykiss**

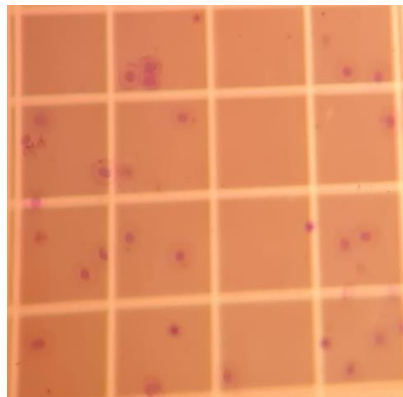
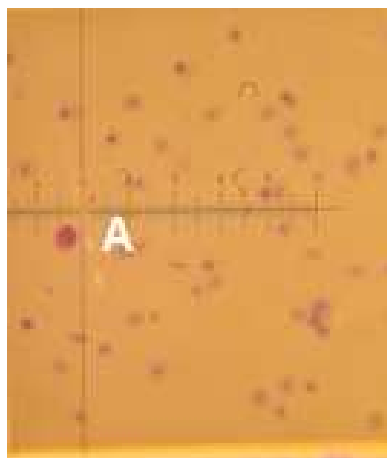


Figura 10

*Identificación leucocitaria de *Oncorhynchus mykiss**

a) *neutrófilo*



El análisis de la morfología leucocitaria se realizó mediante la tinción Wright con peroxidasa (Buenaño, 2010).

Figura 11

Morfología de leucocitario



Para determinar el porcentaje de hematocrito se colocó la sangre en un capilar y se ubicó en una centrífuga (MX 8624) a 3500 rpm durante 10 minutos. Los resultados se determinaron mediante una tabla de micro hematocrito (Campuzano, 2007).

Figura 12

*Microhematocrito de *Oncorhynchus mykiss**



En el análisis de albúmina, hemoglobina, proteína total y glucosa se utilizó el método fotométrico colorimétrico, el cual se evaluó con espectrofotómetro UV (Min & Kang, 2008). El análisis de hemoglobina se realizó con el kit de Wiener, mientras que en el análisis de proteínas totales y albúmina se emplearon el kit de Human. Los niveles de cortisol (Kits de ELISA Cortisol AccuBind) se evaluaron con analizador de Inmunoensayo Automatizado (TOSOH AIA-360).

Análisis de la información

Las variables morfológicas, productivas y hematológicas se caracterizaron con estadística descriptiva (media y desviación estándar). Para comparar las variables morfológicas, productivas y hematológicas entre tratamientos se realizaron análisis de varianza y pruebas de tukey ($\alpha = 0.05$). Todos los análisis se realizaron en software INFOSTAT®.

Capítulo IV

Resultados y Discusiones

Resultados

Contenido de pigmentos fotosintéticos y proteínas

Al realizar el análisis bromatológico de *Chlorella* sp. *biotipo 3* se obtuvo 46,91% de proteína, 15,61 mg g⁻¹ de clorofila α , 6,99 mg g⁻¹ de clorofila β , 22,6 mg g⁻¹ de clorofila total y 6,05 mg g⁻¹ de carotenos (Tabla 4).

Tabla 4

Contenido de nutrientes de Chlorella sp. biotipo 3

Nutrientes	Concentración
Proteínas %	46,91 \pm 0,42
Clorofila α (mg/g)	15,61 \pm 0,19
Clorofila β (mg/g)	6,99 \pm 0,54
Clorofila total (mg/g)	22,6 \pm 0,7
Carotenos (mg/g)	6,05 \pm 0,07

Nota. mg: miligramos; g: gramos; %: porcentaje

Variables morfométricas

Masa corporal. La masa corporal presentó un efecto significativo para la interacción tratamiento * tiempo ($F= 60,17$; $p<0,0001$) (Tabla 5). *Chlorella* sp. aplicado en dietas de *Oncorhynchus mykiss* presentaron un aumento de masa corporal a partir del día 30 con 10 g Kg^{-1} de *Chlorella* sp. Del mismo modo 5 g Kg^{-1} de *Chlorella* sp. presentó mayor masa corporal a partir del día 40 (Figura 13). A los 80 días los alevines suplementados con 10 g Kg^{-1} de *Chlorella* sp. presentaron mayor masa corporal promedio (25,64 g) que los alevines suplementados con 5 g Kg^{-1} de *Chlorella* sp. (21,73 g) y 0 g Kg^{-1} de *Chlorella* sp. (16,62 g).

Tabla 5

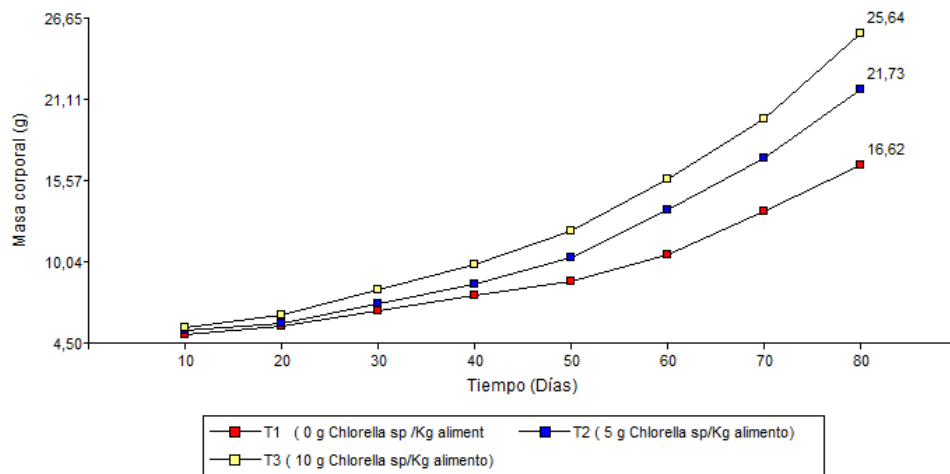
Promedio \pm error estándar de la masa corporal de alevines de Oncorhynchus mykiss suplementados con 3 dietas a base de Chlorella sp. biotipo 3 en 80 días.

Tiempo (Días)	T1 (0 g Chlorella sp /Kg alimento)	T2 (5 g Chlorella sp/Kg alimento)	T3 (10 g Chlorella sp/Kg alimento)
10	5,11 \pm 0,02 m	5,32 \pm 0,03 lm	5,53 \pm 0,03 lm
20	5,68 \pm 0,03 klm	5,81 \pm 0,04 klm	6,43 \pm 0,05 jklm
30	6,69 \pm 0,17 ijkl	7,16 \pm 0,22 hijk	8,16 \pm 0,24 hi
40	7,70 \pm 0,09 hij	8,54 \pm 0,12 gh	9,86 \pm 0,22 ef
50	8,70 \pm 0,12 gh	10,36 \pm 0,11 f	12,11 \pm 0,28 e
60	10,47 \pm 0,21 f	13,53 \pm 0,24 e	15,64 \pm 0,17 d
70	13,44 \pm 0,18 e	17,09 \pm 0,17 d	19,80 \pm 0,24 c
80	16,62 \pm 0,22 d	21,73 \pm 0,45 b	25,64 \pm 0,49 a

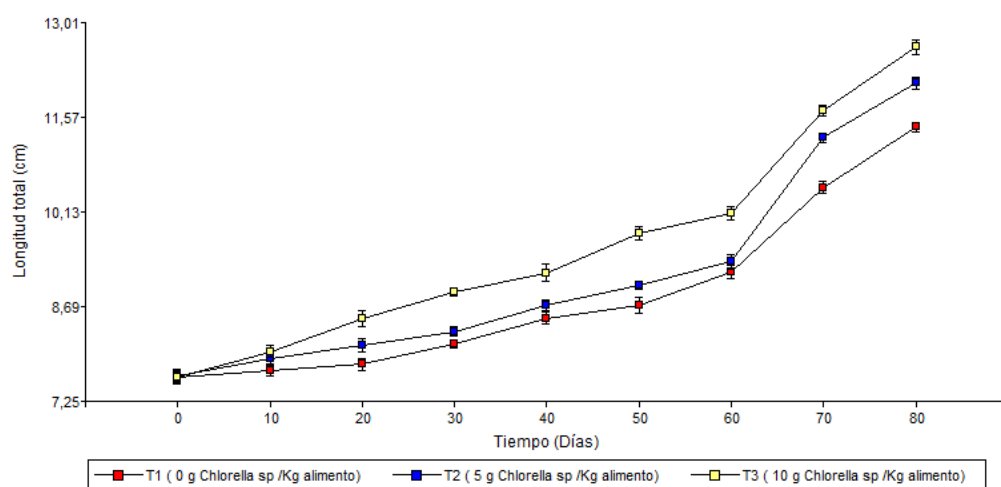
Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

Figura 13

*Promedio ± error estándar del peso a través del tiempo de alevines de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 3 dietas a base de *Chlorella* sp. biotipo 3.*

**Figura 14**

*Promedio ± error estándar de longitud total a través del tiempo de alevines de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 3 dietas a base de *Chlorella* sp. biotipo 3.*



Longitud parcial, longitud total y ancho total. La longitud parcial, longitud total y ancho total mostraron un efecto significativo para la interacción tratamiento * tiempo ($F= 9,70$; $p<0,0001$); ($F= 5,75$; $p<0,0001$); ($F= 6,95$; $p<0,0001$) (Tabla 6). Los alevines de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con el T3 presentaron mayor longitud parcial, longitud total y ancho total a los 80 días que el resto de tratamientos.

Tabla 6

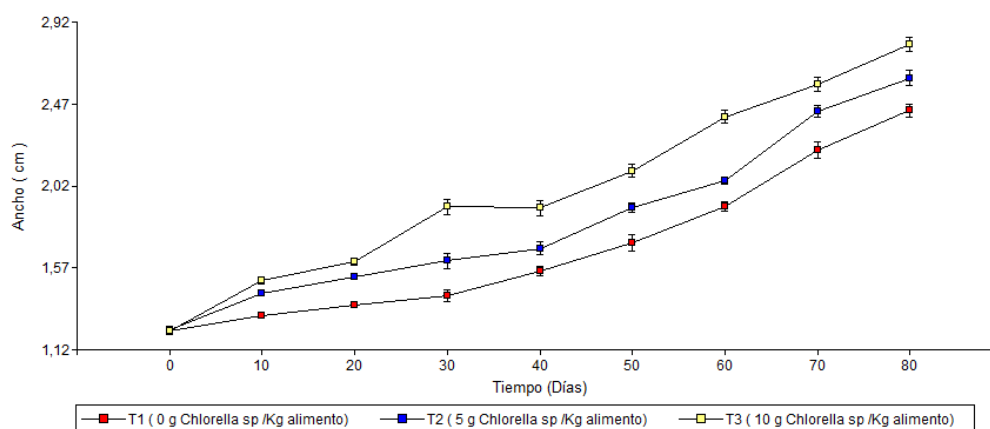
Promedio ± error estándar de longitud parcial, longitud total, ancho de alevines de Oncorhynchus mykiss suplementados con 3 dietas a base de Chlorella sp. biotipo 3 en 80 días

Tratamientos	Tiempo (Días)	Longitud parcial (cm)	Longitud total (cm)	Ancho total (cm)
T1 (0 g <i>Chlorella sp./</i> Kg alimento)	0	6,61 ± 0,09 m	7,61 ± 0,09 op	1,22 ± 0,02 n
	10	6,87 ± 0,09 klm	7,71 ± 0,09 nop	1,31 ± 0,01 mn
	20	7,10 ± 0,08 jkl	7,81 ± 0,09 nop	1,37 ± 0,01 lmn
	30	7,31 ± 0,05 jk	8,11 ± 0,05 lmn	1,42 ± 0,03 klm
	40	7,51 ± 0,09 ij	8,51 ± 0,10 jkl	1,55 ± 0,03 hijk
	50	7,81 ± 0,11 hi	8,70 ± 0,12 ijk	1,71 ± 0,04 h
	60	8,30 ± 0,10 fg	9,21 ± 0,10 g	1,91 ± 0,03 g
	70	9,02 ± 0,04 de	10,50 ± 0,09 d	2,22 ± 0,04 e
	80	10,36 ± 0,06 c	11,42 ± 0,08 c	2,44 ± 0,04 cd
T2 (5 g <i>Chlorella sp./</i> Kg alimento)	0	6,70 ± 0,09 lm	7,64 ± 0,10 nop	1,23 ± 0,02 n
	10	7,02 ± 0,09 klm	7,90 ± 0,09 mnop	1,43 ± 0,02 klm
	20	7,30 ± 0,10 jk	8,10 ± 0,11 lmno	1,52 ± 0,01 ijkl
	30	7,49 ± 0,07 ij	8,30 ± 0,07 klm	1,61 ± 0,04 hij
	40	7,91 ± 0,10 ghi	8,71 ± 0,09 hijk	1,68 ± 0,04 hi
	50	8,18 ± 0,05 gh	9,01 ± 0,05 ghi	1,90 ± 0,03 g
	60	8,68 ± 0,10 ef	9,37 ± 0,11 fg	2,05 ± 0,02 fg
	70	10,04 ± 0,06 c	11,26 ± 0,06 c	2,43 ± 0,03 cd
	80	10,91 ± 0,08 bc	12,10 ± 0,09 b	2,61 ± 0,04 b

Tratamientos	Tiempo (Días)	Longitud parcial (cm)	Longitud total (cm)	Ancho total (cm)
T3 (10 g <i>Chlorella</i> sp./ Kg alimento)	0	6,62 ± 0,09 m	7,60 ± 0,10 p	1,22 ± 0,02 n
	10	7,20 ± 0,09 jk	8,00 ± 0,09 mn op	1,50 ± 0,01 jkl
	20	7,51 ± 0,13 ij	8,51 ± 0,13 jkl	1,60 ± 0,02 hij
	30	8,00 ± 0,06 gh	8,90 ± 0,06 ghij	1,91 ± 0,04 g
	40	8,66 ± 0,13 ef	9,20 ± 0,13 gh	1,90 ± 0,04 g
	50	9,21 ± 0,09 d	9,81 ± 0,09 ef	2,10 ± 0,04 ef
	60	9,40 ± 0,11 d	10,11 ± 0,11 de	2,40 ± 0,03 d
	70	10,48 ± 0,05 bc	11,67 ± 0,08 bc	2,58 ± 0,04 bc
	80	11,50 ± 0,10 a	12,64 ± 0,11 a	2,80 ± 0,04 a

Figura 15

Promedio ± error estándar de la variable ancho a través del tiempo de alevines de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 3 dietas a base de *Chlorella* sp. biotipo 3



A los 80 días los alevines suplementados con 10 g Kg⁻¹ de *Chlorella* sp. presentaron mayor longitud total (12,64 cm) que los alevines suplementados con 5 g Kg⁻¹ de *Chlorella* sp. (12,10 cm) y 0 g Kg⁻¹ de *Chlorella* sp. (11,42 cm).

Oncorhynchus mykiss suplementados con 0 g Kg⁻¹ de *Chlorella* sp. presentaron un

aumento de longitud a partir del día 20 (Figura 14). Alevines suplementados con 5 g Kg⁻¹ de *Chlorella* sp. y 0 g Kg⁻¹ de *Chlorella* sp. mostró un similar longitud a partir del día 30 al 60. Sin embargo a partir del día 60 dietas con 5 g Kg⁻¹ de *Chlorella* sp. presentó un mayor longitud que dietas con 0 g Kg⁻¹ de *Chlorella* sp. A los 80 días los alevines suplementados con 10 g Kg⁻¹ de *Chlorella* sp. presentaron mayor ancho (2,80 cm) que los alevines suplementados con 5 g Kg⁻¹ de *Chlorella* sp. (2,61 cm) y 0 g Kg⁻¹ de *Chlorella* sp. (2,44 cm).

Parámetros productivos

Ganancia de peso. La ganancia de peso no presentó un efecto significativo para la interacción tratamiento * tiempo (F= 0,46; p=0,9420). Sin embargo existió diferencias significativas entre tratamientos y tiempo (F= 101,95; p=0,0004), (F= 45,05; p=<0,0001) (Tabla 8). *Chlorella* sp. aplicado en dietas de *Oncorhynchus mykiss* presentaron un aumento de ganancia de peso a partir del día 30 con 10 g Kg⁻¹ de *Chlorella* sp. Del mismo modo 5 g Kg⁻¹ de *Chlorella* sp. presentó un mayor peso a partir de los 40 días (Figura 16). A los 80 días los alevines suplementados con 10 g Kg⁻¹ de *Chlorella* sp. presentaron mayor ganancia de peso (0,57 g/día) que los alevines suplementados con 5 g Kg⁻¹ de *Chlorella* sp. (0,47 g/día) y 0 g Kg⁻¹ de *Chlorella* sp. (0,32 g/día).

Oncorhynchus mykiss suplementados con 10 g Kg⁻¹ de *Chlorella* sp. presentaron mayor ganancia de peso (0,57 g/día) durante los 80 días que los suplementados con 0 g Kg⁻¹ de *Chlorella* sp. (Tabla 7).

Tabla 7

Promedio ± error estándar de ganancia de peso de Oncorhynchus mykiss suplementados con 3 dietas a base de Chlorella sp. biotipo 3 en 80 días

Tiempo (Días)	T1 (0 g Chlorella sp. /Kg alimento)	T2 (5 g Chlorella sp. /Kg alimento)	T3 (10 g Chlorella sp. /Kg alimento)
10	0,07 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,10 ± 0,01
20	0,06 ± 0,003	0,06 ± 0,01	0,10 ± 0,02
30	0,10 ± 0,02	0,13 ± 0,04	0,17 ± 0,03
40	0,08 ± 0,01	0,14 ± 0,02	0,17 ± 0,05
50	0,13 ± 0,03	0,20 ± 0,01	0,23 ± 0,09
60	0,20 ± 0,01	0,30 ± 0,01	0,37 ± 0,07
70	0,30 ± 0,01	0,37 ± 0,03	0,43 ± 0,03
80	0,32 ± 0,02	0,47 ± 0,07	0,57 ± 0,07

Tabla 8

Promedio ± error estándar de ganancia de peso de Oncorhynchus mykiss suplementados con 3 dietas a base de Chlorella sp. biotipo 3 en 80 días

Tratamiento	GP (g/día)	
T1 (0 g Chlorella sp. /Kg alimento)	0,16 ± 0,03	c
T2 (5 g Chlorella sp. /Kg alimento)	0,22 ± 0,03	b
T3 (10 g Chlorella sp. /Kg alimento)	0,27 ± 0,04	a

Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes

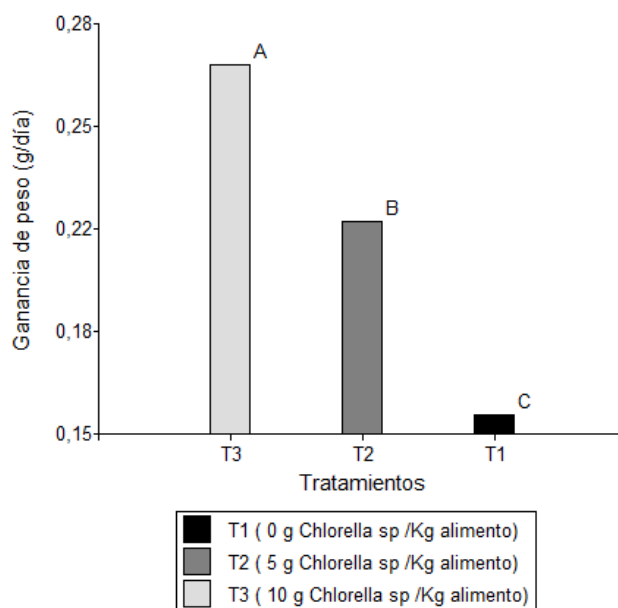
Tabla 9

*Promedio ± error estándar de ganancia de peso de
Oncorhynchus mykiss suplementados con 3 dietas a
base de Chlorella sp. biotipo 3 en 80 días*

Tiempo (Días)	GP (g/día)
10	0,09 ± 0,01 de
20	0,07 ± 0,02 e
30	0,14 ± 0,02 cd
40	0,13 ± 0,03 cde
50	0,19 ± 0,03 c
60	0,29 ± 0,03 b
70	0,37 ± 0,02 ab
80	0,45 ± 0,03 a

Figura 16

*Promedio \pm error estándar de la ganancia de peso a través del tiempo de alevines de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 3 dietas a base de *Chlorella* sp. biotipo 3*



Tasa de crecimiento específico, eficiencia alimentaria y factor de conversión alimenticia. La tasa de crecimiento específico y eficiencia alimentaria no presentó un efecto significativo para la interacción tratamiento * tiempo ($F= 0,46$; $p=0,9420$); ($F= 1,44$; $p=0,1764$) (Tabla 10). La tasa de crecimiento específico presentó un efecto significativo entre tratamientos y tiempo ($F= 171,83$; $p= 0,0001$); ($F= 6,17$; $p= 0,0001$) (Tabla 11). Del mismo modo la eficiencia alimentaria presentó un efecto significativo entre tratamientos y tiempo ($F= 50,12$; $p=0,0015$); ($F= 8,19$; $p<0,0001$) (Tabla 12).

Tabla 10

Promedio ± error estándar tasa de crecimiento específico y eficiencia alimentaria de Oncorhynchus mykiss suplementados con 3 dietas a base de Chlorella sp. biotipo 3 en 80 días

Tratamientos	Tiempo (Días)	TCE	EA
T1 (0 g <i>Chlorella</i> sp. /Kg alimento)	10	1,54 ± 0,28	49,49 ± 3,32
	20	1,05 ± 0,03	50,41 ± 1,66
	30	1,64 ± 0,26	66,60 ± 7,17
	40	1,04 ± 0,06	55,34 ± 2,32
	50	1,27 ± 0,36	58,36 ± 16,56
	60	2,18 ± 0,07	69,24 ± 1,19
	70	2,51 ± 0,07	58,48 ± 1,15
	80	2,12 ± 0,14	62,74 ± 3,65
T2 (5 g <i>Chlorella</i> sp. /Kg alimento)	10	1,77 ± 0,30	36,84 ± 6,08
	20	1,05 ± 0,17	29,02 ± 4,65
	30	2,04 ± 0,54	92,70 ± 27,56
	40	1,79 ± 0,34	73,6 ± 9,70
	50	1,94 ± 0,23	78,97 ± 7,78
	60	2,67 ± 0,07	79,19 ± 1,13
	70	2,33 ± 0,17	82,32 ± 5,76
	80	2,39 ± 0,32	87,83 ± 12,93
T3 (10 g <i>Chlorella</i> sp. /Kg alimento)	10	1,94 ± 0,17	39,56 ± 2,97
	20	1,62 ± 0,21	53,27 ± 6,65
	30	2,36 ± 0,33	83,61 ± 13,97
	40	1,90 ± 0,62	88,76 ± 18,79
	50	2,06 ± 0,61	124,34 ± 30,45
	60	2,56 ± 0,45	98,78 ± 17,13
	70	2,36 ± 0,20	83,05 ± 6,53
	80	2,57 ± 0,28	98,88 ± 12,49

Tabla 11

*Promedio ± error estándar tasa de crecimiento específico y eficiencia alimentaria de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 3 dietas a base de *Chlorella* sp. biotipo 3 durante 80 días*

Tratamiento	TCE	EA
T1 (0 g <i>Chlorella</i> sp. /Kg alimento)	1,67 ± 0,12 c	58,83 ± 2,42 c
T2 (5 g <i>Chlorella</i> sp. /Kg alimento)	2,00 ± 0,13 b	70,07 ± 5,85 b
T3 (10 g <i>Chlorella</i> sp. /Kg alimento)	2,17 ± 0,13 a	83,78 ± 7,01 a

Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$). TCE= tasa de crecimiento específico; EA= eficiencia alimentaria.

A los 80 días los alevines suplementados con 10 g Kg⁻¹ de *Chlorella* sp. presentaron mayor eficiencia alimentaria (83,78%) que los alevines suplementados con 5 g Kg⁻¹ de *Chlorella* sp. (70,07 %) y 0 g Kg⁻¹ de *Chlorella* sp. (58,83 %). Del mismo modo *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 10 g Kg⁻¹ de *Chlorella* sp. presentaron mayor tasa de crecimiento específico (2,17 %) que los alevines suplementados con 5 g Kg⁻¹ de *Chlorella* sp. (2,00 %) y 0 g Kg⁻¹ de *Chlorella* sp. (1,67 %) (Tabla 11).

Tabla 12

*Promedio ± error estándar tasa de crecimiento específico y eficiencia alimentaria de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 3 dietas a base de *Chlorella* sp. biotipo 3 en 80 días*

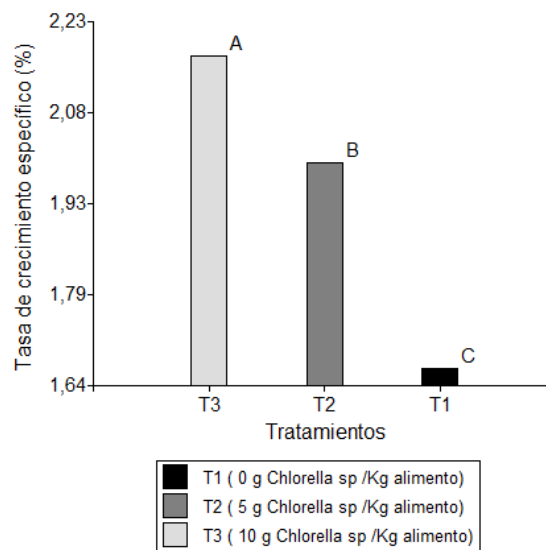
Tiempo (Días)	TCE	EA
10	1,75 ± 0,14 abc	41,96 ± 2,90 b
20	1,24 ± 0,12 c	44,23 ± 4,51 b
30	2,01 ± 0,22 abc	80,97 ± 9,92 a
40	1,58 ± 0,24 bc	72,59 ± 7,81 a
50	1,76 ± 0,25 abc	87,22 ± 14,15 a
60	2,47 ± 0,15 a	82,40 ± 6,59 a
70	2,40 ± 0,08 a	74,61 ± 4,77 a
80	2,36 ± 0,14 ab	83,15 ± 7,52 a

Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$). TCE= tasa de crecimiento específico; EA= eficiencia alimentaria.

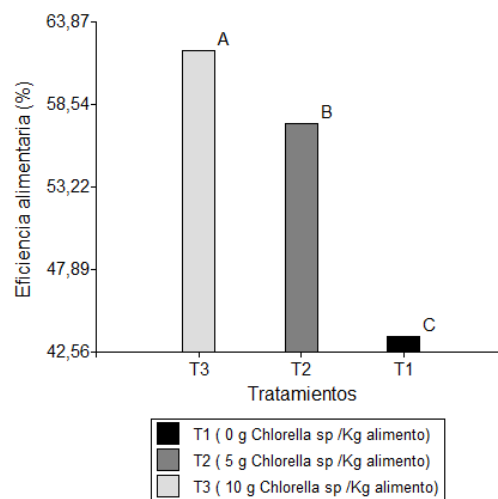
Oncorhynchus mykiss alimentados con 10 g Kg⁻¹ de *Chlorella* sp. presentaron una mayor tasa de crecimiento específico en los días 30, 50, 60, 70. Sin embargo *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 0 g Kg⁻¹ de *Chlorella* sp. tuvo una menor tasa de crecimiento específico en los días 40 y 50 (Figura 17). Al día 80 el experimento obtuvo una mayor tasa de crecimiento específico con 2,36 % y eficiencia alimentaria de 83,15% (Tabla 12).

Figura 17

*Promedio \pm error estándar de tasa de crecimiento específico a través del tiempo de alevines de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 3 dietas a base de *Chlorella* sp. biotipo 3*

**Figura 18**

*Promedio \pm error estándar de eficiencia alimentaria a través del tiempo de alevines de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 3 dietas a base de *Chlorella* sp. biotipo 3*



Factor de conversión alimenticia. El factor de conversión alimenticia presentó un efecto significativo para la interacción tratamiento * tiempo ($F= 2,48$; $p= 0,0118$) (Tabla 13). A los 30 días los alevines suplementados con 5 g Kg^{-1} de *Chlorella* sp. presentaron mayor factor de conversión alimenticia (3,61). Sin embargo a los 80 días *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 0 g Kg^{-1} de *Chlorella* sp. presentó mayor factor de conversión alimenticia (1,61) que el tratamiento con 10 g Kg^{-1} de *Chlorella* sp. (1,04) (Tabla 13).

Tabla 13

Promedio \pm error estándar factor de conversión alimenticia Oncorhynchus mykiss suplementados con 3 dietas a base de Chlorella sp. biotipo 3 en 80 días

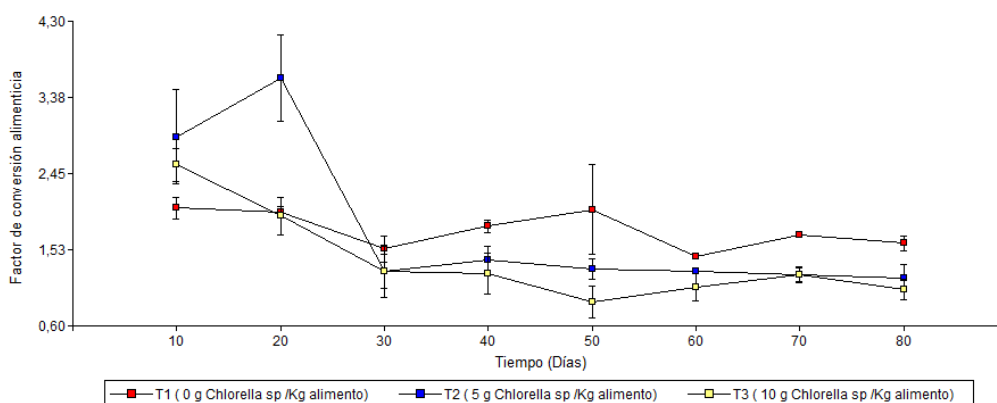
Tiempo (Días)	T1 (0 g <i>Chlorella</i> sp. /Kg alimento)	T2 (5 g <i>Chlorella</i> sp. /Kg alimento)	T3 (10 g <i>Chlorella</i> sp. /Kg alimento)
10	2,04 \pm 0,13 abcd	2,90 \pm 0,57 ab	2,56 \pm 0,21 abc
20	1,99 \pm 0,06 abcd	3,61 \pm 0,53 a	1,94 \pm 0,23 abcd
30	1,54 \pm 0,16 bcd	1,26 \pm 0,31 cd	1,26 \pm 0,21 cd
40	1,81 \pm 0,08 bcd	1,40 \pm 0,17 bcd	1,23 \pm 0,25 cd
50	2,02 \pm 0,55 abcd	1,29 \pm 0,13 cd	0,89 \pm 0,19 d
60	1,44 \pm 0,02 bcd	1,26 \pm 0,02 cd	1,07 \pm 0,16 d
70	1,71 \pm 0,04 bcd	1,23 \pm 0,09 cd	1,22 \pm 0,10 cd
80	1,61 \pm 0,09 bcd	1,19 \pm 0,17 cd	1,04 \pm 0,12 d

Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes

($p > 0,05$). FCA: factor de conversión alimenticia

Figura 19

*Promedio ± error estándar del factor de conversión alimenticia a través del tiempo de alevines de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 3 dietas a base de *Chlorella* sp. biotipo 3*



Índice de condición corporal. El factor de índice de condición corporal presentó un efecto significativo para la interacción tratamiento * tiempo ($F= 2,16$; $p= 0,0277$) (Tabla 14). El índice de condición corporal de *Oncorhynchus mykiss* alimentados con 5 g Kg^{-1} de *Chlorella* sp. fueron mayores en los días 40, 50 y 60 (Figura 21). Sin embargo a los 80 días *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 10 g Kg^{-1} de *Chlorella* sp. presentó mayor índice de condición corporal ($1,28$) que el tratamiento con 0 g Kg^{-1} de *Chlorella* sp. ($1,12$) (Tabla 14).

Tabla 14

Promedio ± error estándar índice de condición corporal Oncorhynchus mykiss suplementados con 3 dietas a base de Chlorella sp. biotipo 3 en 80 días.

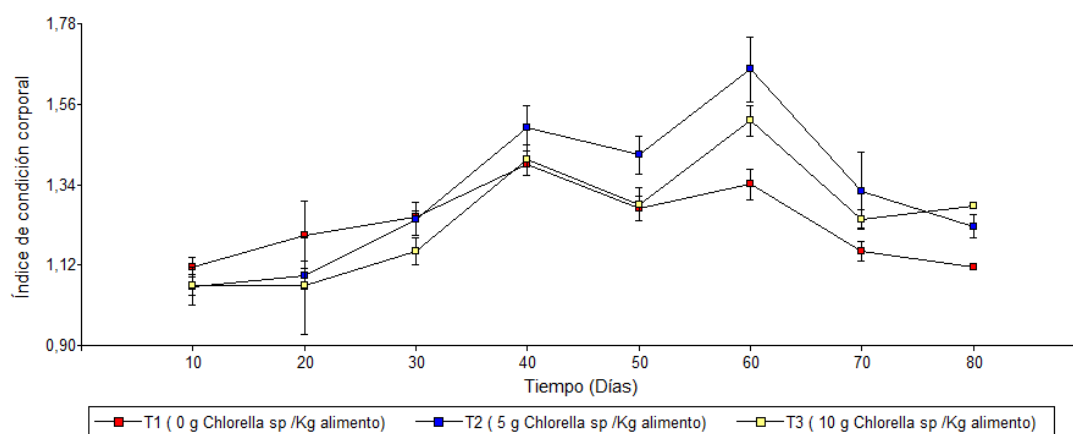
Tiempo (Días)	T1 (0 g Chlorella sp. /Kg alimento)	T2 (5 g Chlorella sp. /Kg alimento)	T3 (10 g Chlorella sp. /Kg alimento)
10	1,12 ± 0,03 de	1,06 ± 0,05 e	1,07 ± 0,03 e
20	1,20 ± 0,09 cde	1,09 ± 0,04 e	1,07 ± 0,13 e
30	1,25 ± 0,01 bcde	1,25 ± 0,04 bcde	1,16 ± 0,04 cde
40	1,39 ± 0,01 abcd	1,49 ± 0,06 ab	1,41 ± 0,04 abc
50	1,28 ± 0,03 bcde	1,42 ± 0,05 abc	1,29 ± 0,04 bcde
60	1,34 ± 0,04 bcde	1,65 ± 0,09 a	1,51 ± 0,04 ab
70	1,16 ± 0,03 cde	1,32 ± 0,10 bcde	1,25 ± 0,03 bcde
80	1,12 ± 0,01 cd	1,23 ± 0,03 bcde	1,28 ± 0,01 bcde

Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p >$

0,05). ICC: índice de condición corporal

Figura 20

*Promedio ± error estándar del índice de condición corporal a través del tiempo de alevines de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 3 dietas a base de *Chlorella sp. biotipo 3**



Tasa de mortalidad. A los 90 días el porcentaje de mortalidad presentó diferencias significativas entre tratamientos ($F_{2,4} = 7,60$; $p = 0,0434$). Los alevines de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 0 g Kg^{-1} de *Chlorella sp.* presentó mayor porcentaje de mortalidad (4,66 %) que los alevines suplementados con 5 g Kg^{-1} de *Chlorella sp.* y 10 g Kg^{-1} de *Chlorella sp.* (2,7 %; 1,33 %) (Tabla 15).

Tabla 15

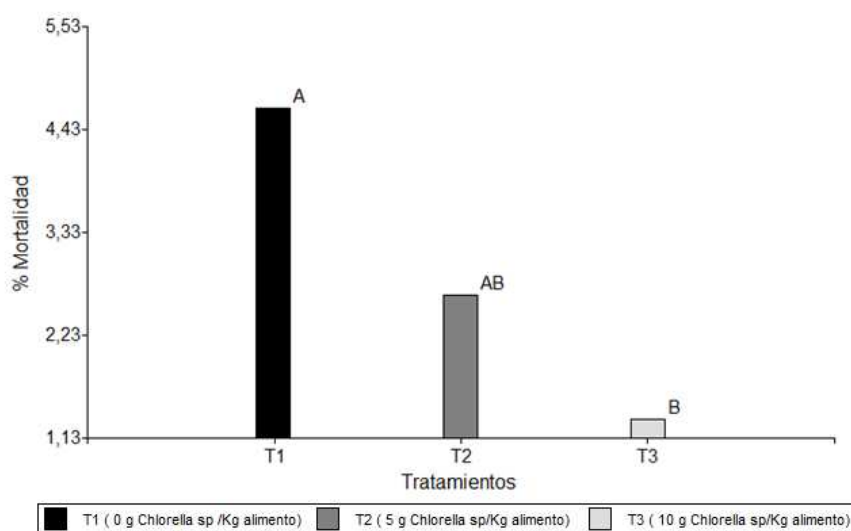
*Promedio ± error estándar del porcentaje de mortalidad de alevines de *Oncorhynchus mykiss* suplementados a los 80 días con 3 dietas a base de *Chlorella* sp.*

Tratamientos	% Mortalidad
T1 (0 g <i>Chlorella</i> sp. / Kg alimento)	4,67 ± 0,67 a
T2 (5 g <i>Chlorella</i> sp. / Kg alimento)	2,67 ± 0,67 ab
T3 (10 g <i>Chlorella</i> sp. / Kg alimento)	1,33 ± 0,67 b

Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

Figura 21

*Promedio ± error estándar del porcentaje de mortalidad de alevines de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 3 dietas a base de *Chlorella* sp. biotipo 3 a los 80 días*



Variables hematológicas

La glucosa presentó diferencias significativas entre los tratamientos ($F_{2,4} = 14,08$; $p < 0,0001$). Alevines de *Oncorhynchus mykiss* suministrados 10 g Kg^{-1} de *Chlorella* sp. y 5 g Kg^{-1} de *Chlorella* sp. presentaron mayor glucosa (83,56 mg/dL; 78,51 mg/dL) que los alevines suministrados 0 g Kg^{-1} de *Chlorella* sp. (60,35 mg/dL). La albúmina presentó diferencias significativas entre tratamientos ($F_{2,4} = 60,61$; $p < 0,0001$). Como se puede evidenciar *Oncorhynchus mykiss* alimentados con 10 g Kg^{-1} de *Chlorella* sp. presentó mayor contenido de albúmina (2,07 g/dL) seguido de 5 g Kg^{-1} de *Chlorella* sp. (1,97 g/dL) y 0 g Kg^{-1} de *Chlorella* sp. (1,63 g/dL) (Tabla 16).

Proteína total y RBC presentó diferencias significativas entre los tratamientos ($F_{2,4} = 17,37$; $p = 0,0001$); ($F_{2,4} = 7,28$; $p = 0,020$). Además 10 g Kg^{-1} de *Chlorella* sp. presentó mayor contenido de proteína total (3,45 g/dL) en comparación a los alevines suplementados con 5 g Kg^{-1} de *Chlorella* sp. (2,62 g/dL) y 0 g Kg^{-1} de *Chlorella* sp. (2,68 g/dL) (Figura 23).

El porcentaje de hematocrito presentó diferencias significativas entre los tratamientos ($F_{6,04} = 14,08$; $p = 0,0051$). *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 10 g Kg^{-1} de *Chlorella* sp. (63,27 %) presentó mayor porcentaje de hematocrito que los alimentados con 5 g Kg^{-1} de *Chlorella* sp. /Kg alimento (60,2 %) y 0 g Kg^{-1} de *Chlorella* sp. /Kg alimento (57 %).

El porcentaje de hematocrito presentó diferencias significativas entre los tratamientos ($F_{6,04} = 14,08$; $p = 0,0051$). *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 10 g Kg^{-1} de *Chlorella* sp. (63,27 %) presentó mayor porcentaje de hematocrito que los alimentados con 5 g Kg^{-1} de *Chlorella* sp. /Kg alimento (60,2 %) y 0 g Kg^{-1} de *Chlorella* sp. /Kg alimento (57 %).

El cortisol presentó diferencias significativas entre los tratamientos (F 2,4= 5,71; p=0,0066). Los alevines alimentados con 10 g *Chlorella* sp. /Kg alimento (21,71 ug/dl) presentaron mayor cortisol que los suplementados con 5 g *Chlorella* sp. /Kg alimento (19,50 ug/dl) y 0 g *Chlorella* sp. /Kg alimento (13,17 ug/dl) (Figura 16).

Tabla 16

Promedio ± error estándar de glucosa, albúmina, globulina, hematocrito, proteína total, conteo rojos, cortisol de alevines de Oncorhynchus mykiss suplementados a los 80 días con 3 dietas a base de Chlorella sp.

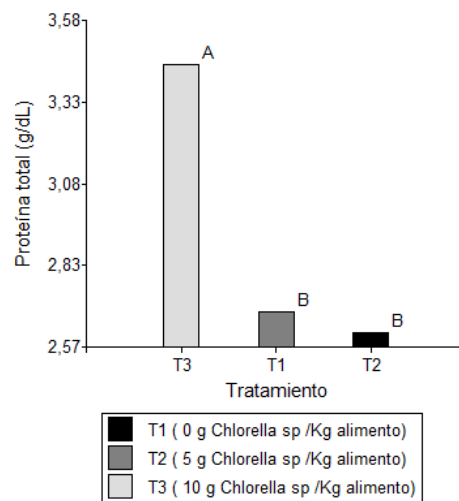
Variables	n	T1 (0 g <i>Chlorella</i> sp /Kg alimento)	T2 (5 g <i>Chlorella</i> sp /Kg alimento)	T3 (10 g <i>Chlorella</i> sp /Kg alimento)
Glucosa (mg/dL)	15	60,35 ± 2,08 b	78,51 ± 3,03 a	83,56 ± 3,29 a
Proteína total (g/dL)	15	2,68 ± 0,06 b	2,62 ± 0,08 b	3,45 ± 0,12 a
Albúmina (g/dL)	15	1,63 ± 0,02 c	1,92 ± 0,03 b	2,07 ± 0,02 a
Hct (%)	15	57 ± 1,28 b	60,2 ± 1,39 ab	63,27 ± 1,29 a
RBC (cel x 10 ⁶ /ul)	15	1,42 ± 0,02 b	1,54 ± 0,03 b	1,66 ± 0,04 a
Cortisol (ug/dl)	15	13,17 ± 0,22 b	19,50 ± 0,34 ab	21,71 ± 0,40 a

Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p> 0,05).

*= transformación de datos a Logaritmo natural. RBC = conteo glóbulos rojos; Hct: hematocrito; dL= decilitro; g= gramos

Figura 23

Promedio ± error estándar de proteína total de alevines de
Oncorhynchus mykiss *suplementados con 3 dietas a base de*
Chlorella sp. biotipo 3 a los 80 días

**Figura 24**

Promedio ± error estándar de albúmina de alevines de
Oncorhynchus mykiss *suplementados con 3 dietas a base de*
Chlorella sp. biotipo 3 a los 80 días

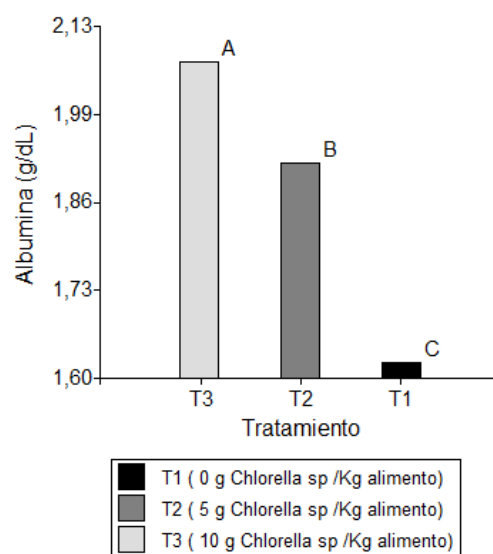
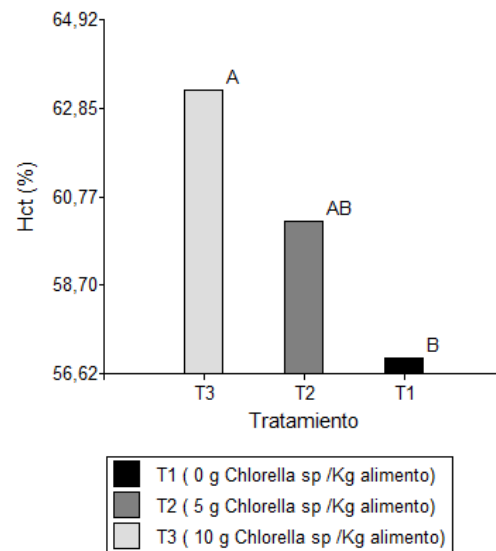


Figura 25

*Promedio ± error estándar de hematocrito de alevines de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 3 dietas a base de *Chlorella* sp. biotipo 3 a los 80 días*

**Figura 26**

*Promedio ± error estándar de cortisol de alevines de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 3 dietas a base de *Chlorella* sp. biotipo 3 a los 80 días*

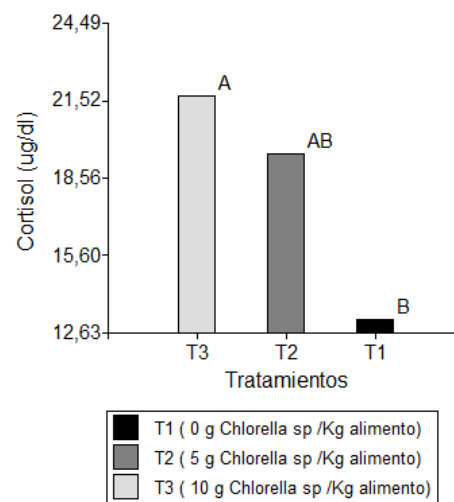


Tabla 17

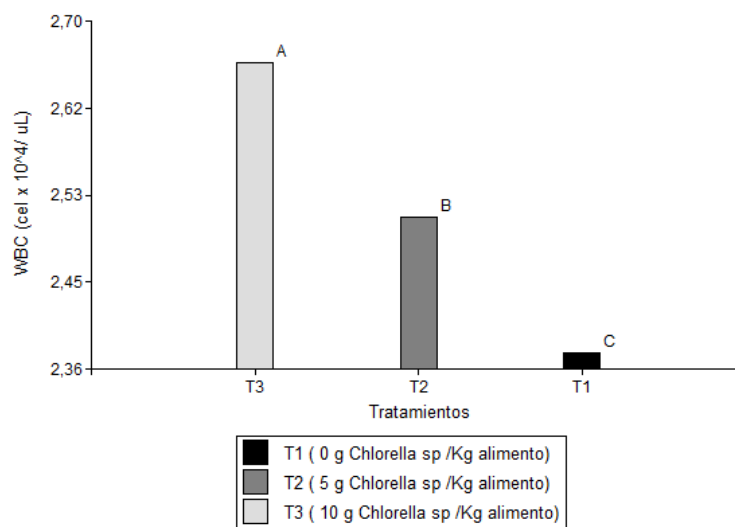
Promedio \pm error estándar de conteo de glóbulos blancos y porcentaje de linfocitos, neutrófilos, monocitos, basófilos, eosinófilos de alevines de *Oncorhynchus mykiss* suplementados a los 80 días con 3 dietas a base de *Chlorella* sp.

Variables	T1 (0 g <i>Chlorella</i> sp /Kg alimento)	T2 (5 g <i>Chlorella</i> sp/Kg alimento)	T3 (10 g <i>Chlorella</i> sp/Kg alimento)
WBC (cel x 10 ⁴ /uL)	2,38 \pm 0,04 c	2,51 \pm 0,04 b	2,66 \pm 0,02 a
Linfocitos (%)	93,88 \pm 0,33 b	95,21 \pm 0,49 a	95,91 \pm 0,62 a
Neutrófilos (%)	3,98 \pm 0,12 a	2,16 \pm 0,20 b	1,7 \pm 0,26 b
Monocitos (%)	1,44 \pm 0,05 a	1,09 \pm 0,10 a	0,98 \pm 0,18 a
Basófilos (%)	0,31 \pm 0,01 b	0,36 \pm 0,02 a	0,37 \pm 0,02 a
Eosinófilos (%)	0,84 \pm 0,04 ab	0,83 \pm 0,03 b	0,93 \pm 0,03 a

El conteo de glóbulos blancos presentó diferencias significativas entre los tratamientos (F 2,4= 33,67; p=0,0031). Los alevines de *Oncorhynchus mykiss* suministrados 10 g Kg⁻¹ de *Chlorella* sp. y 5 g Kg⁻¹ de *Chlorella* sp. presentaron mayor WBC (2,66 cel x 10⁴/ uL; 2,51 cel x 10⁴/ uL) que los alevines suministrados 0 g Kg⁻¹ de *Chlorella* sp. (2,38 cel x 10⁴/ uL). En cuanto al porcentaje de linfocitos presentó diferencias significativas entre tratamientos (F2, 40= 17,36; p=0,0107). Como se puede evidenciar *Oncorhynchus mykiss* alimentados con 10 g Kg⁻¹ de *Chlorella* sp. presentó mayor contenido de linfocitos con 95,91% seguido de 5 g Kg⁻¹ de *Chlorella* sp. 95,21 % y 0 g Kg⁻¹ de *Chlorella* sp. 93,88% (Tabla 17).

Figura 27

Promedio \pm error estándar de conteo de glóbulos blancos de alevines de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 3 dietas a base de *Chlorella* sp. biotipo 3 a los 80 días

**Figura 28**

Promedio \pm error estándar del porcentaje de linfocitos de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 3 dietas a base de *Chlorella* sp. biotipo 3 a los 80 días.

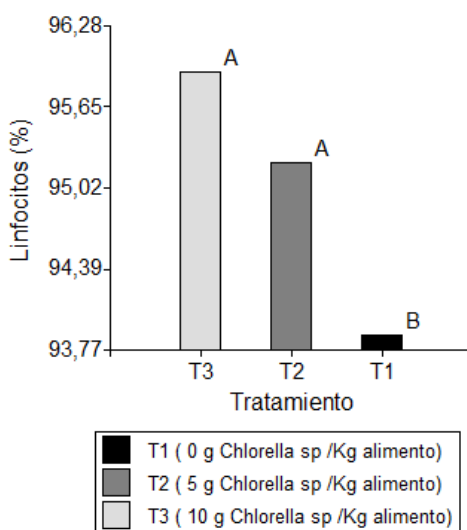
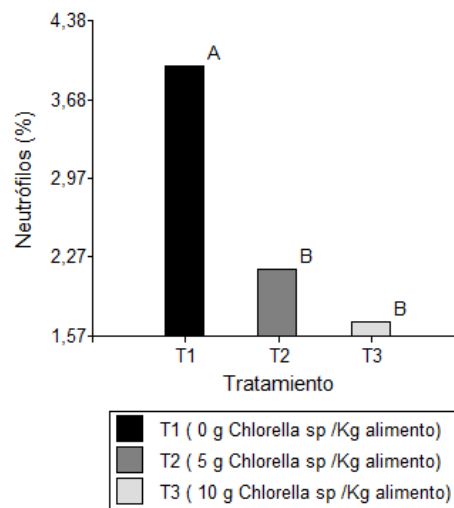


Figura 29

*Promedio \pm error estándar del porcentaje de neutrófilos de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 3 dietas a base de *Chlorella* sp. biotipo 3 a los 80 días.*

**Figura 30**

*Promedio \pm error estándar del porcentaje de monocitos de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 3 dietas a base de *Chlorella* sp. biotipo 3 a los 80 días*

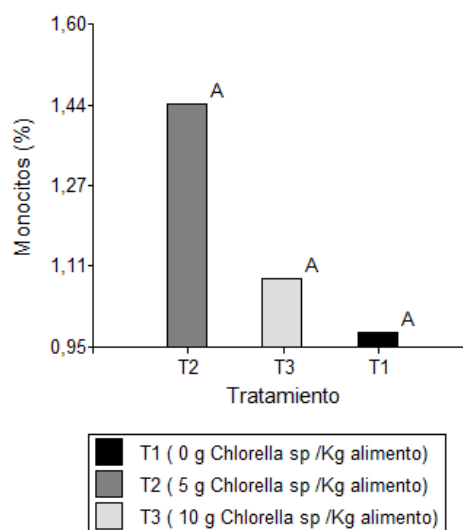
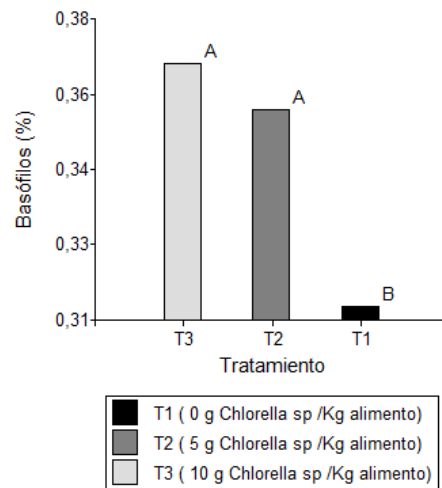
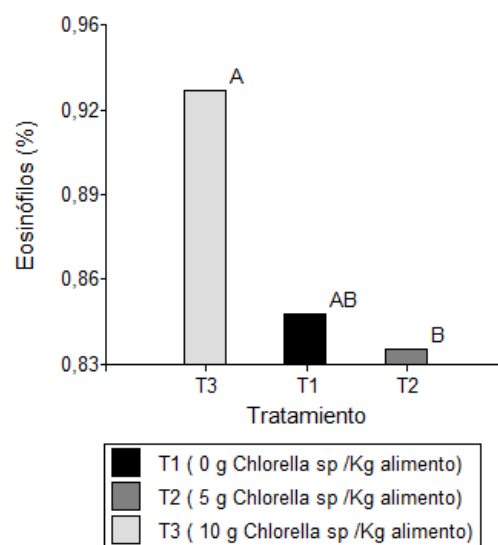


Figura 31

Promedio \pm error estándar del porcentaje de basófilos de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 3 dietas a base de *Chlorella* sp. biotipo 3 a los 80 días.

**Figura 32**

Promedio \pm error estándar del porcentaje de eosinófilos de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 3 dietas a base de *Chlorella* sp. biotipo 3 a los 80 días



Los alevines suministrados con 10 g Kg^{-1} de *Chlorella* sp. presentó mayor porcentaje de basófilos con 0,37% y eosinófilos con 0,93% en relación al tratamiento control que obtuvo 0,31% de basófilos y eosinófilos con 0,84%.

Relación entre las variables morfo métricas, productivas y hematológicas.

Se encontraron correlaciones positivas entre masa corporal y longitud total ($r= 0,97$ y $p= <0,0001$). Además se existió una correlación positiva entre masa corporal y ancho ($r= 0,88$ y $p= <0,0001$) (Tabla 18).

Tabla 18

Coefficiente de correlación de Pearson para variables morfométricas

	Masa corporal	Longitud total	Ancho
Masa corporal	1	0,91	0,88
Longitud total		1	0,87
Ancho			1

Se encontraron correlaciones positivas entre ganancia de peso y tasa de crecimiento específico ($r= 0,75$ y $p= <0,0001$). La tasa de crecimiento específico y factor de conversión alimenticia mostraron correlaciones negativas ($r= - 0,81$ y $p= <0,0001$). Sin embargo se encontró correlaciones positivas entre la tasa de crecimiento específico y eficiencia alimentaria ($r= 0,89$ y $p= <0,0001$), índice de condición corporal ($r= 0,25$ y $p= 0,0366$).

Se mostró correlaciones negativas entre el factor de conversión alimenticia y eficiencia alimentaria ($r= -0,9$ y $p= <0,0001$). Por otro lado se encontró correlaciones positivas entre eficiencia alimentaria e índice de condición corporal ($r= -0,9$ y $p= 0,0073$) (Tabla 19).

Tabla 19

Coefficiente de correlación de Pearson para variables productivas

	GP	TCE	FCA	EA	ICC
GP	1	0,75	-0,68	0,84	0,24
TCE		1	-0,81	0,89	0,25
FCA			1	-0,9	ns
EA				1	0,31
ICC					1

Nota. GP= ganancia de peso; TCE= tasa de crecimiento específico; FCA= factor de conversión alimenticia; EA= eficiencia alimenticia; ICC= índice de condición corporal, ns= no significativo.

Tabla 20

Coefficiente de correlación de Pearson para variables hematológicas

	Glucosa	Proteína total	Albúmina	Hct	Cortisol	RBC
Glucosa	1	ns	0,58	0,55	0,82	0,67
Proteína total		1	0,59	ns	ns	ns
Albúmina			1	ns	ns	0,62
Hct				1	ns	0,68
Cortisol					1	0,52
RBC						1

Nota. ns= no significativo.

Se encontraron correlaciones positivas entre glucosa y cortisol ($r= 0,82$ y $p<0,0001$). Además existió una correlación positiva entre glucosa y conteo de glóbulos rojos ($r= 0,67$ y $p= 0,0018$) (Tabla 20).

Se presentó una relación positiva entre hematocrito y recuento de glóbulos rojos ($r= 0,68$ y $p<0,0001$). Del mismo modo existió una correlación positiva entre cortisol y recuento de glóbulos rojos ($r= 0,52$ y $p= 0,0057$) (Tabla 20).

Discusión

Contenido de pigmentos fotosintéticos y proteínas

El contenido de clorofila α , clorofila β , clorofila total y de carotenos de *Chlorella* sp. biotipo 3 presentaron similares resultados a los obtenidos por Auz, (2019) que obtuvo 43,08 % proteínas, 16,48 mg g⁻¹ de clorofila α , 6,7 mg g⁻¹ de clorofila β , 23,19 mg g⁻¹ de clorofila total y 5,23 mg g⁻¹ de carotenos.

Parámetros morfométricos

Las microalgas *Chlorella* son empleados como alimentos naturales debido a su valor nutricional (Pangestuti et al., 2020). Además son suministrados para mejorar la eficiencia productiva y perfiles hematológicos en peces (Arteaga et al., 2021). La *Chlorella* sp. se ha reconocido como una fuente potencial para la alimentación animal debido al elevado contenido de proteínas, vitaminas, ácidos grasos y carotenoides como β -caroteno, luteína y astaxantina (Plaza et al., 2012; Rahimnejad et al., 2017). Dentro de la composición bromatológica de *Chlorella* sp. los aminoácidos que presentan mayor contenido son el ácido aspártico y ácido glutámico (Romero et al., 2010). Además contiene fitonutrientes denominado factor de crecimiento de *Chlorella* (CFG) que regularmente se encuentran libres de alérgenos y no producen biotoxinas (Han et al., 2002; Liu & Hu, 2013). Al poseer una buena fuente de proteínas las microalgas pueden sustituir a la harina de pescado en

las dietas (Enyidi, 2017). En consecuencia la aplicación de micro algas representa una manera económicamente factible para la nutrición animal (Chen et al., 2019).

La suplementación de *Chlorella sp.* afectó significativamente el contenido de masa corporal, longitud total y ancho de *Oncorhynchus mykiss*. Los valores más altos se presentaron en *Oncorhynchus mykiss* alimentados con 5 y 10 g Kg⁻¹ de *Chlorella sp.*

Estos resultados coinciden con los realizados en peces de *Paralichthys olivaceus* alimentados con 5 g Kg⁻¹ de *Chlorella vulgaris* presentaron un aumento de masa corporal del 5,09%. Mientras que los peces alimentados con 10 g Kg⁻¹ *Chlorella vulgaris* obtuvieron un aumento del 14,64% en comparación al tratamiento control (Rahimnejad et al., 2017).

Arteaga et al., (2021) evaluaron la suplementación de 5 g Kg⁻¹ de *Chlorella* en *Oncorhynchus mykiss* obteniendo un incremento de masa corporal del 20,20% y longitud total del 6,94%. Además la suplementación de 7,5 g Kg⁻¹ de *Chlorella* presentó un aumento de 2,8% de masa corporal y 7,9 % de longitud total.

Los macronutrientes, pigmentos y bioactivos (CFG) presentes en *Chlorella sp.* aumentan el rendimiento de crecimiento, respuestas inmunitarias y el apetito de los peces (Bai et al., 2002; Luo et al., 2018; Abdelhamid et al., 2020). *Chlorella* incrementa la capacidad digestiva beneficiando el rendimiento de crecimiento. Esto se debe al aumento de las actividades de las enzimas amilasa, lipasa y tripsina intestinales que facilitan la absorción de nutrientes (Xu et al., 2014; Shi et al., 2017; Luo et al., 2018). La actividad de las enzimas digestivas es empleado como indicador de los procesos digestivos y el estado nutricional del pez (Abolfathi et al., 2012).

Parámetros productivos

La suplementación de *Chlorella sp.* afectó significativamente el contenido de TCE, ICC y EA, sin embargo, presentó menor FCA. Los valores más altos se presentaron en *Oncorhynchus mykiss* alimentados con 5 y 10 g Kg⁻¹ de *Chlorella sp.*

Estudios realizados en *Oncorhynchus mykiss* suministrados con 5 g Kg⁻¹ de *Chlorella sp.* mostraron 1,36% de FCA, 3,14% de TCE y 1,15 de ICC. Mientras que los suplementados con 7,5 g Kg⁻¹ de *Chlorella sp.* presentaron 3,44% de TCE, 1,21% de FCA y 1,11 de ICC (Arteaga et al., 2021). *Sebastes schlegeli* alimentado con 5 g Kg⁻¹ de *Chlorella sp.* obtuvo un FCA de 1,02%, mientras que los alimentados con 10 g Kg⁻¹ de *Chlorella vulgaris* presentaron un FCA de 1 % (Bai et al., 2002). En *Paralichthys olivaceus* alimentados con 5 g Kg⁻¹ de *Chlorella vulgaris* obtuvo un FCA de 0,88%, en cambio los alimentados con 10 g Kg⁻¹ de *Chlorella sp.* presentaron un FCA de 0,96 %. En cuanto a la eficiencia alimenticia (EA) los peces de *Paralichthys olivaceus* alimentados con 5 g Kg⁻¹ de *Chlorella vulgaris* presentaron 111% y los suplementados con 10 g Kg⁻¹ de *Chlorella vulgaris* presentaron 110% (Rahimnejad et al., 2017).

El aumento de la eficiencia alimentaria se debe a la alta digestibilidad de *Chlorella sp.*, ya que la adición de *Chlorella sp.* aumentan las actividades de las enzimas digestivas como amilasa, proteasa, lipasa y tripsina (Xu et al., 2014; Shi et al., 2017; Luo et al., 2018). Además incrementa la actividad de la enzima fosfatasa alcalina que participa en procesos digestivos del epitelio intestinal permitiendo una mayor absorción y transporte de aminoácidos por los enterocitos (células epiteliales del intestino) (Carneiro et al., 2020).

El incremento de la actividad de la amilasa aumenta el empleo de carbohidratos de las dietas (Pakravan et al., 2017). La mayor tasa de crecimiento se atribuye a la digestibilidad y el valor nutricional de *Chlorella* sp. (Khani et al., 2017).

Pakravan et al., (2017) menciona que *Litopenaeus vannamei* alimentados con *Chlorella vulgaris* mejoraron el rendimiento de crecimiento, ya que presentaron contenidos más altos de ácidos grasos poliinsaturados como ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido docosahexaenoico (DHA) y ácido araquidónico (ARA). Esto se debe a que los ácidos grasos participan en los procesos de osmorregulación (equilibran la cantidad de sales y agua dentro de su organismo), poseen propiedades antiinflamatorias y aceleran la resolución de la inflamación. Además participa como un factor importante en las respuestas adaptativas de los factores de estrés fisiológicos en peces, ya que participan en la liberación de hormonas (control de la respuesta al estrés) (McKenzie et al., 1997).

Se obtuvo un menor porcentaje de mortalidad en alevines de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 10 g Kg⁻¹ de *Chlorella* sp. con el 1,33% en comparación a los alevines suplementados con 0 g Kg⁻¹ de *Chlorella* sp. que mostraron el 4,63%. Estos datos coinciden con (Arteaga et al., 2021), *Oncorhynchus mykiss* alimentados con 7,5 g Kg⁻¹ de *Chlorella* sp. que presentaron 2% de mortalidad, por el contrario los alevines suplementados con 5 g Kg⁻¹ de *Chlorella* sp. mostraron el 3% de mortalidad.

El menor porcentaje de mortalidad en la trucha arcoíris se debe a la capacidad de defensa antioxidante de *Chlorella*. Puesto que existe un incremento de la actividad de las enzimas superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT) que protege el daño de la membrana celular causado por peroxidación lipídica. En donde

la peroxidación lipídica es el principal efecto del estrés oxidativo que provoca la muerte celular (Sikiru et al., 2019).

Productos de peroxidación lipídica (hidroperóxidos, aldehídos y epóxidos) reaccionan e inactivan las proteínas esenciales, enzimas y ácidos nucleicos ocasionando daños irreversibles celulares. Además el estrés oxidativo inhibe el sistema inmunológico y conduce a una mayor susceptibilidad a enfermedades infecciosas. La defensa fagocítica depende en gran medida de la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) que resulta estar debilitado bajo estrés oxidativo (Zhou et al., 2016).

Las microalgas poseen compuestos bioactivos con actividad antioxidante, antiviral, antimicrobiana que incrementa la respuesta humoral y celular (Vijayavel et al., 2007; Safi et al., 2014). Los carotenoides son sistemas antioxidantes no enzimáticos liposolubles que poseen la capacidad de secuestrar radicales tóxicos de oxígeno inactivando la peroxidación lipídica. La peroxidación de lípidos también se produce en el gasto respiratorio de los fagocitos (Guedes et al., 2011).

La astaxantina incrementa la defensa contra el estrés oxidativo, ya que posee propiedades antioxidantes. Esto se debe a que la astaxantina inhibe la peroxidación lipídica mediada por formas activas de oxígeno (Jorgensen & Skibsted, 1993). Además Khalifah, (1986) describe que la astaxantina es convertida en vitamina A en *Oncorhynchus mykiss*, el cual es importante para el mantenimiento del sistema inmunitario y sistema visual del animal.

Perfil hematológico

Los parámetros sanguíneos son indicadores del estado fisiológico del animal. La actual investigación presenta valores hematológicos de *Oncorhynchus mykiss* dentro de los rangos normales (McCarthy et al., 1973).

La suplementación de *Chlorella sp.* afectó significativamente la concentración de hematocrito, número de glóbulos rojos, proteína, glucosa y cortisol. Los valores más altos se presentaron en *Oncorhynchus mykiss* alimentados con 5 y 10 g Kg⁻¹ de *Chlorella sp.* En el presente estudio los alevines tratados con 5 g Kg⁻¹ de *Chlorella sp.* presentó 60,2% de hematocrito, 1,24 cel x 10⁶/ul de RBC, 2,62 g/dL de proteína, 78,51 mg/dL de glucosa y 18,54 ug/dl cortisol. Mientras que la suplementación de 10 g Kg⁻¹ de *Chlorella sp.* mostró un incremento de hematocrito con 63,27%, RBC 1,37 cel x 10⁶/ul, proteína de 3,45 g/dL, glucosa 83,56 mg/dL y cortisol 26,32 ug/dl.

Estudios anteriores en *Oncorhynchus mykiss* mostraron que concentraciones de 5 g Kg⁻¹ de *Chlorella sp.* en la alimentación de los alevines obtuvieron 56% de hematocrito y el número de glóbulos rojos de 1,46 cel x 10⁶/ul. Mientras que *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 7,5 g Kg⁻¹ de *Chlorella sp.* aumentaron el contenido de hematocrito con 61% y el número de glóbulos rojos con 1,28 cel x 10⁶/ul. (Arteaga et al., 2021). Por otro lado la suplementación de 50 g Kg⁻¹ de *Chlorella sp.* en *Cyprinus carpio* presentaron un incremento en glóbulos rojos de 3,53 cel x 10⁶/ul (Khani et al., 2017).

La albúmina presentó diferencias significativas entre los tratamientos. Estos resultados coinciden con los realizados en *Sebastes schlegeli* suplementados con 10 g Kg⁻¹ de *Chlorella* obteniendo 3,12 g/dL de albúmina. Mientras que el tratamiento control obtuvo 2,74 g/dL (Bai et al., 2002).

Lates calcarifer obtuvo a los 90 días una glucosa de 5,53 mmol L⁻¹ (99,63 mg/dL) y cortisol de 12,09 ng/ml (Lim et al., 2019). Sin embargo los resultados encontrados por (Bai et al., 2002) presentó mayor contenido de glucosa en *Sebastes schlegeli* alimentados con 10 g Kg⁻¹ de *Chlorella* con 50,3 mg/dL de glucosa,

mientras que los suplementados con 5 g Kg⁻¹ de *Chlorella* presentó 49,2 mg/dL. *Cyprinus carpio* suplementado con 25 g Kg⁻¹ de *Chlorella pyrenoidosa* obtuvo 163 mg/dL de glucosa, 3,18 g/dL de proteína, mientras que el tratamiento control obtuvo 140.6 mg/dL de glucosa y 2.23 g/dL de proteína total (Abdel et al., 2020). Estudios previos mostraron la relación del estrés con el aumento del contenido de glucosa y cortisol en *Oncorhynchus mykiss*. Peces estresados por hacinamiento presentaron un incremento de la gluconeogénesis para mantener la homeostasis (Bermejo et al., 2015).

De tal manera la glucosa se encuentra vinculada con el consumo de alimentos ingeridos por el organismo. Además es un indicador de estrés, por lo que se encuentra relacionado con los niveles plasmáticos de cortisol (Poza, 2017). El estrés también puede ser causado por cultivar truchas con altas densidades provocando un aumento de glucosa y niveles plasmáticos de cortisol (Trenzado, 2004).

El cortisol es una hormona capaz de activar el proceso de glucogenólisis en el hígado, también reduce la concentración de glucógeno e incrementa la glucosa plasmática, producción de hepatocitos de piruvato y liberación de lactato al plasma. Además en el metabolismo proteico el cortisol es capaz de aumentar la proteólisis en el músculo lo que da como resultado un aumento de aminoácidos en el plasma que se traslada hacia el hígado. En cuanto al metabolismo lipídico ocurre un incremento de lipólisis (tejido adiposo, hígado y músculo rojo) produciendo un aumento de ácidos libres en el plasma. Es necesario destacar que actúa en el intestino incrementando la liberación de glucosa, prolina al plasma (Sumpter et al., 1991; Mommsen et al., 1999; Poza, 2017).

La administración de *Chlorella* sp. mejora el perfil hematológico. La *Chlorella* no posee efectos negativos sobre los parámetros sanguíneos de los peces, esto se debe a que poseen abundante cantidad de hierro y ácido fólico que actúan sobre la eritropoyesis (Khani et al., 2017; Yeganeh et al., 2015). Del mismo modo la microalga posee carotenoides, propiedades antioxidantes, bioactivos que favorecen al aumento de producción de glóbulos rojos (Rahimnejad et al., 2017). El incremento de glóbulos rojos proporciona un mayor transporte de oxígeno en la sangre (Mairbäurl & Weber, 2012).

Los alevines de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 5 g Kg⁻¹ y 10 g Kg⁻¹ *Chlorella* sp. presentaron un incremento de leucocitos, en donde, el porcentaje de linfocitos predominó entre los glóbulos blancos. *Cyprinus carpio* suplementados con 20 g Kg⁻¹ de *Chlorella vulgaris* que obtuvo un aumento de leucocitos del 10,02% en relación al tratamiento control (Khani et al., 2017). *Clarias Gariepinus* suplementados con 12,5 g/100g *Chlorella* sp. con 5,38% (Raji et al., 2018) y en *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 5 g Kg⁻¹ obtuvieron un incremento de 9,316% (Arteaga et al., 2021).

Los parámetros inmunológicos de los alevines suministrados con *Chlorella* se determinaron mediante la actividad de lisozima y complejo sérico (componentes del sistema inmunológico innato) ((Hoseini et al., 2016). Esto se debe a que la lisozima es la enzima bacteriolítica que contribuye a los mecanismos de defensa inespecíficos y su actividad se modifica en reacción a agentes estresantes o infecciosos. Estudios preliminares determinaron que la administración de *Chlorella* estimula la respuesta inmune humoral innata, incrementando la actividad de lisozima y complejo sérico (Khani et al., 2017; Abdelhamid et al., 2020; Arteaga et al., 2021).

El incremento de leucocitos genera una mejor respuesta inmune celular frente a agentes infecciosos, incrementando la resistencia a enfermedades y trastornos. Esto se debe al aumento de la capacidad de fagocitosis, de las respuestas inmunitarias mediadas por células, niveles de IgM, lisozima y C4 (Khani et al., 2017; Arteaga et al., 2021).

Capítulo V

Conclusiones y Recomendaciones

Conclusiones

La inclusión de 10 g Kg⁻¹ de *Chlorella* sp. por cada Kg de alimento en dietas para alevines de trucha arcoíris presentaron una mejora en masa corporal del 54,27%, longitud total 10,68% y ancho total del 14,75% en relación al control.

En cuanto a los parámetros productivos los alevines suplementados con 10 g Kg⁻¹ de *Chlorella* sp. biotipo 3 mostraron un incremento en la tasa de crecimiento específico de 2,17%, índice de condición corporal de 1,28, eficiencia alimenticia de 83,78% y un factor de conversión alimenticia óptimo de 1,04%.

El efecto de *Chlorella* sp. en el estado sanitario de los peces mejora los indicadores hematológicos como hematocrito, concentración de células circulantes y contenido de proteínas en la sangre, fortaleciendo el sistema inmunitario de estos organismos y por tanto disminuyendo la tasa de mortalidad durante el estudio experimental. Por otro lado, el contenido de glucosa y cortisol se incrementan en el tiempo, dado por el aumento sustancial de la carga animal que va, de 2,6 kg m⁻³ en todos los tratamientos, llegando a una carga de hasta 13,35 Kg m⁻³.

Recomendaciones

Evaluar la expresión génica del metabolismo de los lípidos y carotenoides de los alevines de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con *Chlorella* sp. biotipo 3 con el propósito de determinar la digestibilidad del animal.

Determinar el efecto de la adición alimentaria de *Chlorella* sp. biotipo 3 sobre las características organolépticas de *Oncorhynchus mykiss* con la finalidad de valorar la calidad de la carne.

Valorar la suplementación de *Chlorella* sp. biotipo 3 en diferentes zonas climáticas con la finalidad de determinar la actividad enzimática digestiva de *Oncorhynchus mykiss*.

Valorar el efecto de concentraciones superiores a 10 g Kg^{-1} de *Chlorella* sp. biotipo 3 en dietas de *Oncorhynchus mykiss* para determinar la eficiencia del sistema inmune bajo condiciones de estrés.

Bibliografía

- Abbas, A., Lichtman, A., & Pillai, S. (2015). Sistema inmunitario. In *Inmunología celular y molecular* (6th ed., pp. 19–130). Elsevier Saunders.
www.el12cirujano.blogspot.com
- Abdel, M., Abdulrahman, N., Baiz, A., Nader, P., & Refaiee, I. (2020). The using of *Chlorella pyrenoidosa* and *Daphnia magna* as feed supplements for common carp, *Cyprinus carpio*: Growth performance, somatic indices, and hemato-biochemical biomarkers. *Journal of Applied Aquaculture*, 1–15.
<https://doi.org/10.1080/10454438.2020.1787291>
- Abdelhamid, F., Elshopakey, G., & Aziza, A. (2020). Ameliorative effects of dietary *Chlorella vulgaris* and β -glucan against diazinon-induced toxicity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish & Shellfish Immunology*, 96, 213–222.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.12.009>
- Arteaga, C., Astocondor, M., & Aquino, R. (2021). Dietary supplementation with *Chlorella peruviana* improve the growth and innate immune response of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* fingerlings. *Aquaculture*, 533, 736117.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736117>
- Arteaga, C., Mariano, M., & Aquino, R. (2020). Dietary supplementation with *Chlorella peruviana* improve the growth and innate immune response of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* fingerlings. *Aquaculture*, 736117.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736117>
- Auz, D. (2019). *Efecto de ácido indol 3- acético (AIA) exógeno en la productividad de tres biotipos de Chlorella endémica del Ecuador*. [Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE].
<http://repositorio.espe.edu.ec/jspui/bitstream/21000/22044/1/T-IASAI-005578.pdf>

- Bai, S., Koo, J., Kim, K., & Kim, S. (2002). Effects of Chlorella powder as a feed additive on growth performance in juvenile Korean rockfish, *Sebastes schlegeli* (Hilgendorf). *Aquaculture Research*, 32(s1), 92–98.
<https://doi.org/10.1046/j.1355-557x.2001.00008.x>
- Banco Central del Ecuador. (2019). *Evolución de la Balanza Comercial*.
<https://contenido.bce.fin.ec/documentos/Estadisticas/SectorExterno/BalanzaPagos/balanzaComercial/ebc201903.pdf>
- Bermejo, R., Fuente, J., Pérez, C., Lauzurica, S., González, E., Díaz Riquelme, M. T., Torrent, M., & Villarroel Robinson, M. (2015). Efecto de los grados día de ayuno y del hacinamiento previos al sacrificio sobre el contenido estomacal y respuesta de estrés en trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). *XVI Jornadas sobre Producción Animal | XVI Jornadas sobre Producción Animal | 19/05/2015-20/05/2015 | Zaragoza, España, 2, 3*. <http://www.aida-itea.org/index.php/jornadas/presentacion-jornadas>
- Beveridge, M., & McAndrew, B. (Eds.). (2000). *Tilapias: Biología y explotación*. Springer Países Bajos. <https://www.springer.com/gp/book/9780412800900>
- Bishop, W., & Zubeck, H. (2012). Evaluation of Microalgae for use as Nutraceuticals and Nutritional Supplements. *Journal of Nutrition & Food Sciences*, 02.
<https://doi.org/10.4172/2155-9600.1000147>
- Blanco, M. (1995). Trucha Arco Iris. In *Cría industrial de la Trucha Arco Iris*. (Mundi Prensa, pp. 120–200).
- Bouwmeester, M., Goedknecht, M., Poulin, R., & Thielges, R. (2020). Collateral diseases: Aquaculture impacts on wildlife infections. *Journal of Applied Ecology*, 1365-2664.13775. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13775>
- Buenaño, M. (2010). Hemograma de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) en tres etapas de producción en la cuenca alta de la provincia del Napo, Ecuador. *Boletín Técnico, Serie Zoológica*, 9(6), Article 6.

<https://journal.espe.edu.ec/ojs/index.php/revista-serie-zoologica/article/view/1426>

- Campuzano, G. (2007). Del hemograma manual al hemograma de cuarta generación. *Médica Colombiana S.A*, 13, 511–550.
- Carneiro, W., Castro, T., Orlando, T., Meurer, F., Paula, D., Virote, B., Vianna, A., & Murgas, L. (2020). Replacing fish meal by *Chlorella* sp. meal: Effects on zebrafish growth, reproductive performance, biochemical parameters and digestive enzymes. *Aquaculture*, 528, 735612.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735612>
- Chen, W., Wang, T., Han, D., Zhu, X., Xie, S., & Han, D. (2019). Two filamentous microalgae as feed ingredients improved flesh quality and enhanced antioxidant capacity and immunity of the gibel carp (*Carassius auratus gibelio*). *Aquaculture Nutrition*, 25(5), 1145–1155.
- Choquehuayta, A. (2008). *Manual crianza de truchas de pescado de agua*. Puno.
<https://es.scribd.com/doc/63931862/Manual-Crianza-de-Truchas>
- Costa, J., & Val, A. (2020). Extreme climate scenario and parasitism affect the Amazonian fish *Colossoma macropomum*. *Science of The Total Environment*, 726, 138628. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138628>
- D’Abramo, L., & Slater, M. (2019). Climate change: Response and role of global aquaculture. *Journal of the World Aquaculture Society*, 50(4), 710–714.
<https://doi.org/10.1111/jwas.12643>
- Enyidi, U. (2017). *Chlorella vulgaris* as Protein Source in the Diets of African Catfish *Clarias gariepinus*. *Fishes*, 2(4), 17. <https://doi.org/10.3390/fishes2040017>
- Estación de Meteorología e Hidrología- hacienda El Prado. (2016). In *Boletín climatológico anual*. Sangolquí.
- FAO. (2014). *Manual práctico para el cultivo de Trucha Arcoíris*. Guatemala.
<http://www.fao.org/3/a-bc354s.pdf>

- FAO. (2020). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2020. *Roma*, 28.
<https://doi.org/10.4060/ca9231es>
- FONDESPE. (2012). Manual de Cultivo de Trucha en Ambientes Convencionales. In *Lima—Perú* (Vol. 1, pp. 11–119).
<https://www.fondepes.gob.pe/src/manuales/Manual-de-Cultivo-de-Trucha.pdf>
- Gagné, F. (2014). Oxidative Stress. In *Biochemical Ecotoxicology* (6th ed., pp. 104–115). Chapter. <https://scihub.wikicn.top/10.1016/B978-0-12-411604-7.00006-4>
- Galanakis, C. (2020). The Food Systems in the Era of the Coronavirus (COVID-19) Pandemic Crisis. *Foods*, 9(4), 10. <https://doi.org/10.3390/foods9040523>
- Guedes, A., Amaro, H., & Malcata, F. (2011). Microalgae as Sources of Carotenoids. *Marine Drugs*, 9(4), 625–644. <https://doi.org/10.3390/md9040625>
- Han, J., Kang, J., & Kim, S. (2002). *The present status and future of Chlorella*. (6th ed.). Food Science and Industry.
- Hendrickson, D., Pérez, H., Findley, L., Forbes, W., Tomelleri, E., Mayden, R., Nielsen, J., Jensen, B., Campos, G., Romero, A., Camarena, F., & García, F. (2002). Mexican native trouts: A review of their history and current systematic and conservation status. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 12(2), 273–316. <https://doi.org/10.1023/A:1025062415188>
- Hoseini, S., Tort, L., Abolhasani, M., & Rajabiesterabadi, H. (2016). Physiological, ionoregulatory, metabolic and immune responses of Persian sturgeon, *Acipenser persicus* (Borodin, 1897) to stress. *Aquaculture Research*, 47(12), 3729–3739. <https://doi.org/10.1111/are.12822>
- Ibrahim, M., Anmad, F., Ramzan, A., Imran, A., Afzaal, M., Mirza, S., Mazhar, I., Younus, M., Akram, Q., Sulman, M., Taseer, A., & Ahmed, S. (2020). Current trends of antimicrobials used in food animals and aquaculture. In *Antibiotics*

- and Antimicrobial Resistance Genes in the Environment* (Vol. 4, pp. 39–69). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818882-8.00004-8>
- Indranil, S., & Bandyopadhyay, S. (2020). Use of antimicrobials and antibiotics in livestock, poultry, fishery and agriculture. In *Antimicrobial Resistance in Agriculture* (Vol. 2, pp. 7–18). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815770-1.00002-X>
- Jorgensen, K., & Skibsted, L. (1993). Carotenoid scavenging of radicals. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung Und -Forschung*, 196(5), 423–429. <https://doi.org/10.1007/BF01190806>
- Khalifah, A. (1986). *Studies on the Metabolism of Astaxanthin in the Rainbow Trout (Salmo gairdneri)* [University of Rhode Island]. <https://doi.org/10.23860/diss-al-khalifah-abdulrhaman-1986>
- Khani, M., Soltani, M., Shamsaie, M., & Ghaeni, M. (2017). The effect of *Chlorella vulgaris* Chlorophyta, Volvocales microalga on some hematological and immune system parameters of Koi carp *Cyprinus carpio*. *Iranian Journal of Ichthyology*, 4, 62–68. <https://doi.org/doi:10.7508/iji.2016.02.015>
- Kuang, C. (1991). Vitamin e and oxidative stress. In *Radical biology* (11th ed., pp. 215–232). Pergamon press. [https://scihub.wikicn.top/10.1016/0891-5849\(91\)90174-2](https://scihub.wikicn.top/10.1016/0891-5849(91)90174-2)
- Lim, K., Yusoff, F., Shariff, M., Kamarudin, M., & Nagao, N. (2019). Dietary supplementation of astaxanthin enhances hemato-biochemistry and innate immunity of Asian seabass, *Lates calcarifer* (Bloch, 1790). *Aquaculture*, 512, 734339. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734339>
- Lim, P., Kause, A., Mulder, H., & Olesen, I. (2017). Breeding and genetics symposium: Climate change and selective breeding in aquaculture. *Journal of Animal Science*, 95(4), 1801–1812. <https://doi.org/10.2527/jas.2016.1066>

- Liu, J., & Hu, Q. (2013). Chlorella: Industrial Production of Cell Mass and Chemicals. In A. Richmond & Q. Hu (Eds.), *Handbook of Microalgal Culture* (pp. 327–338). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781118567166.ch16>
- Lowry, O., Rosebrough, N., Farr, A., & Randall, R. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, *193*(1), 265–275. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6)
- Luo, Z., Ye, H., Gao, Y., Ling, S., Wei, C., & Zhu, X. (2018). Chlorella additive increased growth performance, improved appetite and immune response of juvenile crucian carp *Carassius auratus*. *Aquaculture Research*, *49*(10), 3329–3337. <https://doi.org/10.1111/are.13797>
- Ma, J., Zhou, C., Li, Y., & Li, X. (2014). Biochemical responses to the toxicity of the biocide abamectin on the freshwater snail *Physa acuta*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *101*, 31–35. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.12.009>
- Mache, C. (2015). *Incremento de biomasa de truchas juveniles arco iris *Oncorhynchus mykiss* alimentadas con alimento comercial crecimiento 3 por 49, 76, 103 y 130 días* [Universidad Nacional del Centro del Perú.]. <http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/1845/Tesis%20Mache.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Mairbäurl, M., & Weber, R. (2012). Oxygen Transport by Hemoglobin. In *Comprehensive Physiology* (p. c080113). John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/cphy.c080113>
- McCarthy, D., Stevenson, J., & Roberts, M. (1973). Some blood parameters of the rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Journal of Fish Biology*, *5*(1), 1–8. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1973.tb04425.x>
- McKenzie, D., Piraccini, G., Papini, N., Galli, C., Bronzi, P., Bolis, C., & Taylor, E. (1997). Oxygen consumption and ventilatory reflex responses are influenced

- by dietary lipids in sturgeon. *Fish Physiology and Biochemistry*, 16(5), 365–379. <https://doi.org/10.1023/A:1007702908947>
- Miazek, K., & Ledakowicz, S. (2013). Chlorophyll extraction from leaves, needles and microalgae: A kinetic approach. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, 6(2), 107–115. <https://doi.org/10.25165/ijabe.v6i2.642>
- Min, E., & Kang, J. (2008). Effect of waterborne benomyl on the hematological and antioxidant parameters of the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. In *Pesticide Biochemistry and Physiology* (pp. 138–143).
- Mommsen, T., Vijayan, M., & Moon, T. (1999). Cortisol in teleosts: Dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 9(3), 211–268. <https://doi.org/10.1023/A:1008924418720>
- Mowi. (2020). *Salmon Farming Industry Handbook 2020* (Vol. 1, pp. 18–90). <https://mowi.com/it/wp-content/uploads/sites/16/2020/06/Mowi-Salmon-Farming-Industry-Handbook-2020.pdf>
- Naciones Unidas. (2017). *Los efectos del cambio climático y los cambios atmosféricos conexos en los océanos*. (pp. 26–33). https://www.un.org/regularprocess/sites/www.un.org.regularprocess/files/17-05753_s-impacts-of-climate-change.pdf
- Naciones Unidas. (2020). Ensuring Food Security in the Era of COVID-19. *United Nations Sustainable Development*. <https://www.un.org/sustainabledevelopment/blog/2020/04/ensuring-food-security-covid-19/>
- Natt, M., & Herrick, C. (1952). *A new blood diluent for counting erythrocytes and leucocytes of the chicken* (Vol. 31, pp. 735–738). *International Poultry Science*.
- Opromar. (2017). *Trucha arco iris*. Opromar. <http://opromar.com/catalogo-especies/es/trucha-arco-iris>

- Ortiz, J. (2015). Acuicultura producción dulce acuícola en el Ecuador. In *Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE* (pp. 28–38).
<https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/10164/3/Acuicultura.pdf>
- Padrón, A., & Lacruz, L. (2010). *Elementos prácticos para la cría de truchas en Venezuela. 1*, 157–168.
- Pakravan, S., Akbarzadeh, A., Sajjadi, M., Hajimoradloo, A., & Noori, F. (2017). *Chlorella vulgaris* meal improved growth performance, digestive enzyme activities, fatty acid composition and tolerance of hypoxia and ammonia stress in juvenile Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Nutrition*, 24(1), 594–604. <https://doi.org/10.1111/anu.12594>
- Pangestuti, R., Noerdjito, D., Siahaan, E., & Sapulete, S. (2020). Marine Microalgae in Food and Health Applications. In *Encyclopedia of Marine Biotechnology* (pp. 445–458). John Wiley & Sons, Ltd.
<https://doi.org/10.1002/9781119143802.ch14>
- Pérez, I., Valadez, V., Ortega, L., & Jiménez, M. (2019). Microalgal pigment induction and transfer in aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 12(3), 1323–1343.
<https://doi.org/10.1111/raq.12384>
- Plaza, M., Santoyo, S., Jaime, S., Avalo, B., Cifuentes, A., Reglero, G., García, G., Señoráns, F., & Ibáñez, E. (2012). Comprehensive characterization of the functional activities of pressurized liquid and ultrasound-assisted extracts from *Chlorella vulgaris*. *Food Science and Technology*, 46(1), 245–253.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.09.024>
- Poza, R. (2017). Repercusiones sobre el bienestar y la calidad de la carne del manejo previo sacrificio de la trucha arcoíris. *Revista AquaTIC*, 48, 40–41.
- Rahimnejad, S., Lee, S., Park, H., & Choi, J. (2017). Effects of Dietary Inclusion of *Chlorella vulgaris* on Growth, Blood Biochemical Parameters, and Antioxidant

- Enzyme Activity in Olive Flounder. *Journal of the World Aquaculture Society*, 48(1), 103–112. <https://doi.org/10.1111/jwas.12320>
- Raji, A., Alaba, P., Yusuf, H., Abu, N., Mohd, N., Muin, H., Alias, Z., Milow, P., & Abdul Razak, S. (2018). Fishmeal replacement with *Spirulina Platensis* and *Chlorella vulgaris* in African catfish (*Clarias gariepinus*) diet: Effect on antioxidant enzyme activities and haematological parameters. *Research in Veterinary Science*, 119, 67–75. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2018.05.013>
- Ramírez, M., Rendón, L., & Vélez, Y. (2013). *Microalgas para la industria alimenticia*. Universidad Pontificia Bolivariana. <https://www.researchgate.net/publication/299769593>
- Rammuni, M., Ariyadasa, T., Nimarshana, P., & Attalage, R. (2019). Comparative assessment on the extraction of carotenoids from microalgal sources: Astaxanthin from *H. pluvialis* and β -carotene from *D. salina*. *Food Chemistry*, 277, 128–134. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.10.066>
- Romero, T., Manso, B., López, R., Martínez, F., & Moreno, M. (2010). Producción de *Moina* sp alimentada con *Chlorella* spp. Cultivada con riles orgánicos de la industria pesquera cubana. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 11(12), 1–20.
- Safi, C., Zebib, B., Merah, O., Pontalier, P., & Vaca, G. (2014). Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 35, 265–278. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.007>
- Santos, L., & Ramos, F. (2018). Antimicrobial resistance in aquaculture: Current knowledge and alternatives to tackle the problem. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 52(2), 135–143. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2018.03.010>

- Saraiva, J., Arechavala, P., Castanheira, M., Volstorf, J., & Heinzpeter, B. (2019). A Global Assessment of Welfare in Farmed Fishes: The FishEthoBase. *Fishes*, 4(2), 30. <https://doi.org/10.3390/fishes4020030>
- SENASICA. (2003). *Manual de trucha industria de alimentos en Acuicultura*. (1st ed., Vol. 1). <https://es.scribd.com/document/200632/Manual-Trucha>
- Shekh, K., Alcaraz, A., & Niyogi, S. (2020). Comparative analyses of oxidative stress response and metallothionein induction in white sturgeon and rainbow trout during acute waterborne copper exposure. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 231, 108723. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2020.108723>
- Shi, X., Luo, Z., Chen, F., Wei, C., Wu, K., Zhu, X., & Liu, X. (2017). Effect of fish meal replacement by Chlorella meal with dietary cellulase addition on growth performance, digestive enzymatic activities, histology and myogenic genes' expression for crucian carp *Carassius auratus*. *Aquaculture Research*, 48(6), 3244–3256. <https://doi.org/10.1111/are.13154>
- Sikiru, A., Arangasamy, A., Alemmede, I., Guvvala, P., Egena, S., Ippala, J., & Bhatta, R. (2019). Chlorella vulgaris supplementation effects on performances, oxidative stress and antioxidant genes expression in liver and ovaries of New Zealand White rabbits. *Heliyon*, 5(9), e02470. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02470>
- Smith, M. (2019). *Factores Claves para la Producción de la Trucha Arcoiris*. <https://aquafeed.co/entrada/factores-claves-para-la-produccion-de-la-trucha--arcoiris-19973/>
- Strickland, J., & Parsons, T. (1972). *Practical handbook of seawater analysis*. (pp. 80–250). Fisheries research. https://epic.awi.de/id/eprint/39262/1/Strickland-Parsons_1972.pdf

- Sumpter, J., Bail, P., Pickering, A., Pottinger, T., & Carragher, J. (1991). The effect of starvation on growth and plasma growth hormone concentrations of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *General and Comparative Endocrinology*, 83(1), 94–102. [https://doi.org/10.1016/0016-6480\(91\)90109-J](https://doi.org/10.1016/0016-6480(91)90109-J)
- Trenzado, C. (2004). *Selección parental y dieta como estrategias de atenuación del estrés crónico en la trucha "Oncorhynchus mykiss" (Walbaum, 1792)*. Editorial de la Universidad de Granada.
- Valenti, W., Kimpara, J., Preto, P., & Morales, P. (2018). Indicators of sustainability to assess aquaculture systems. *Ecological Indicators*, 88, 402–413. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2017.12.068>
- Vega, R. (2018). *DBCA | Análisis de la varianza | Prueba estadística de hipótesis*. <https://es.scribd.com/doc/64878946/DBCA>
- Velásquez, F. (2012). *Uso de pro bióticos en la producción de Trucha Arcoiris*. [Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE]. <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/8368/1/T-ESPE-IASA%201-004600.pdf>
- Vijayavel, K., Anbuselvam, C., & Balasubramanian, M. (2007). Antioxidant effect of the marine algae *Chlorella vulgaris* against naphthalene-induced oxidative stress in the albino rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 303(1–2), 39–44. <https://doi.org/10.1007/s11010-007-9453-2>
- Villafuerte, G. (2016). *Uso de Chlorella sorokiniana biotipo 1 en dietas balanceadas para tilapia roja*. <http://acuacultura.espe.edu.ec/wp-content/uploads/2016/05/20-Chlorella-en-Dietas-de-Tilapia-Roja-Gabriel-Villafuerte.pdf>
- Xu, W., Gao, Z., Qi, Z., Qiu, M., Peng, J., & Shao, R. (2013). Effect of Dietary *Chlorella* on the Growth Performance and Physiological Parameters of Gibel

- carp, *Carassius auratus gibelio*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 14(1). https://doi.org/10.4194/1303-2712-v14_1_07
- Xu, W., Gao, Z., Qi, Z., Qiu, M., Peng, J., & Shao, R. (2014). Effect of Dietary *Chlorella* on the Growth Performance and Physiological Parameters of Gibel carp, *Carassius auratus gibelio*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 14(1). https://doi.org/10.4194/1303-2712-v14_1_07
- Yang, L., Li, H., Lu, Q., & Zhou, W. (2020). Emerging trends of culturing microalgae for fish-rearing environment protection. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, jctb.6563. <https://doi.org/10.1002/jctb.6563>
- Yarnold, J., Karan, H., Oey, M., & Hankamer, M. (2019). Microalgal Aquafeeds As Part of a Circular Bioeconomy. *Trends in Plant Science*, 24(10), 959–970. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2019.06.005>
- Yeganeh, S., Teimouri, M., & Amirkolaie, A. (2015). Dietary effects of *Spirulina platensis* on hematological and serum biochemical parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Research in Veterinary Science*, 101, 84–88. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2015.06.002>
- Zhou, Y., Dahms, H., Dong, F., Jing, W., & Wang, L. (2016). Immune-associated parameters and antioxidative responses to cadmium in the freshwater crab *Sinopotamon henanense*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 129, 235–241. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.03.040>