



Efecto del noni (*Morinda citrifolia* Linn) sobre el desarrollo del sistema inmune de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) en la etapa de alevinaje

Mora Aguirre, Robetsy Del Cisne

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.

10 de febrero 2022



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería Agropecuaria

Certificación

Certifico que el trabajo de titulación: **“Efecto del noni (*Morinda citrifolia* Linn) sobre el desarrollo del sistema inmune de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) en la etapa de alevinaje”** fue realizado por la señorita **Mora Aguirre Robetsy Del Cisne**; el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además ha sido revisado y analizado en su totalidad por la herramienta de verificación de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Sangolquí, 9 de febrero del 2022



Firmado digitalmente por:
**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, **Mora Aguirre Robetsy Del Cisne**, con cédula de identidad N° 1726599820, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: **"Efecto del noni (*Morinda citrifolia* Linn) sobre el desarrollo del sistema inmune de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) en la etapa de alevinaje"** 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, 3 de febrero del 2022

Mora Aguirre, Robetsy Del Cisne
C.C.: 1726599820



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería Agropecuaria

Autorización de Publicación

Yo, **Mora Aguirre Robetsy Del Cisne**, con cédula de identidad N° 1726599820, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: "**Efecto del noni (*Morinda citrifolia* Linn) sobre el desarrollo del sistema inmune de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) en la etapa de alevinaje**" en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Sangolquí, 3 de febrero del 2022

Mora Aguirre, Robetsy Del Cisne
C.C.: 1726599820

Reporte de verificación de similitud de contenidos



Tesis Robetsy Mora Copyleaks.docx
Scanned on: 4:22 February 9, 2022 UTC



Overall Similarity Score



Results Found



Total Words in Text

Identical Words	155
Words with Minor Changes	6
Paraphrased Words	392
Omitted Words	0



JUAN
CRISTOBAL
ORTIZ TIRADO

Ing. Ortiz Tirado, Juan Cristóbal PhD.
C. C: 1709998163



Website | Education | Businesses

Dedicatoria

A Dios, por brindarme salud, sabiduría, valentía y coraje que me ha permitido cumplir esta meta en mi vida profesional.

A mi madre, Luz por ser mi ejemplo de esfuerzo y dedicación constante, por su amor incondicional que hoy se ve reflejado en este logro que lo hicimos juntas, te amo madre.

A mi padre y hermanos por siempre confiar en mí

Robetsy DC M.

Agradecimiento

A Dios por fortalecerme, guiarme, cuidarme y por bendecirme en todo este camino para poder cumplir esta meta en mi formación académica.

A la Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE y a la Carrera de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias IASA I y los docentes que la conforman, por los conocimientos y valores compartidos que aportan a mi vida profesional.

Al Dr. Juan Ortiz por sus enseñanzas, apoyo y recomendaciones que me ayudaron a culminar esta investigación. Al Ing. Gabriel Larrea, a la Ing. Daysi Muñoz y al Ing. José Masabanda por la paciencia, apoyo y enseñanzas compartidas.

A mi padre Néstor, por su amor que siempre me acompaña, por enseñarme a ser responsable y a culminar todo lo que me propongo. A mi madre Luz, por todo el esfuerzo que ha hecho por mí, por su apoyo incondicional y amor invaluable. Los amo.

A mis hermanos, Germán por ser mi ejemplo de lucha constante, por darme siempre su apoyo y cariño; Israel y Daniel por sus consejos; Julio y Alan, por ser un pilar en este sueño, por motivarme a siempre seguir, por las risas y siempre alentarme, los amo hermanos. A Cobe, por siempre recibirme con felicidad y ser un motivo para culminar este sueño.

Finalmente, a mis amigos Pablo, Angie, Yhoana, Kelin y Celena; quienes con alegría hicieron que el transcurso de la carrera sea más llevadero y ameno. A mi mejor amiga, Viviana por siempre alentarme, por el apoyo y cariño incondicional que me acompañó a culminar esta meta. A Sofía por darme ejemplo de lucha y ser un apoyo importante en mi vida.

Robetsy DC M.

Índice de contenidos

Carátula.....	1
Certificación Trabajo de titulación	2
Responsabilidad de autoría.....	3
Autorización de publicación.....	4
Reporte de verificación de similitud de contenidos.....	5
Dedicatoria	6
Agradecimiento.....	7
Índice de contenidos.....	8
Índice de tablas.....	12
Índice de figuras.....	13
Resumen.....	15
Abstract.....	16
Capítulo I.....	17
Introducción.....	17
Antecedentes	17
Justificación.....	18
Objetivos	19
Objetivo general.....	19
Objetivos específicos.....	19
Hipótesis	20

Capítulo II.....	21
Revisión de literatura	21
<i>Morinda citrifolia</i> Linn	21
Generalidades.....	21
Composición fisicoquímica	21
Actividad antibacteriana.....	27
Actividad antioxidante	28
Actividad inmunológica	29
Usos industriales.....	29
Trucha arcoíris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>).....	30
Generalidades.....	30
Alevines.....	31
Alimentación en la etapa de alevinaje.....	31
Sistema inmune	32
Órganos linfoides	34
Estrés generado por contaminantes ambientales.....	35
Capítulo III.....	37
Metodología	37
Ubicación del área de investigación.....	37
Liofilización del noni (<i>Morinda citrifolia</i> Linn).....	38
Instalación del ensayo y siembra de organismos	40

	10
Alimentación.....	41
Análisis bromatológico	42
Inducción a estrés oxidativo	43
Diseño experimental	44
Características de las unidades experimentales	44
Factores	44
Tratamientos	45
Croquis.....	45
Modelo matemático.....	46
Evaluación de variables en campo.....	46
Variables morfométricas	46
Variables productivas	47
Toma de muestras y evaluación de variables en laboratorio	48
Evaluación de cortes histológicos	55
Análisis estadístico	55
Capítulo IV	57
Resultados y discusión	57
Resultados	57
Parámetros morfométricos	57
Parámetros productivos.....	59
Parámetros hematológicos.....	62

	11
Parámetros histológicos	69
Tejido branquial	69
Tejido hepático.....	70
Discusión.....	71
Parámetros morfométricos y productivos.....	71
Parámetros hematológicos.....	73
Parámetros histológicos	75
Capítulo V	78
Conclusiones y recomendaciones.....	78
Conclusiones.....	78
Recomendaciones	79
Bibliografía	80

Índice de tablas

Tabla 1 Composición fisicoquímica de la fruta de noni (<i>Morinda citrifolia</i> Linn).....	22
Tabla 2 Resumen de los principales compuestos bioactivos de noni (<i>Morinda citrifolia</i> Linn).....	23
Tabla 3 Análisis bromatológico del alimento balanceado + inclusión de noni.....	43
Tabla 4 Descripción de los tratamientos experimentales.....	45
Tabla 5 Promedio \pm desviación estándar del peso, longitud total, parcial y ancho de <i>Oncorhynchus mykiss</i> suplementados con 4 dietas a base de <i>Morinda citrifolia</i> Linn.....	57
Tabla 6 Promedio \pm desviación estándar de la ganancia del peso, tasa de crecimiento específico e índice de condición corporal de <i>Oncorhynchus mykiss</i> suplementados con 4 dietas a base de <i>Morinda citrifolia</i> Linn.....	59
Tabla 7 Promedio \pm desviación estándar de la WBC, linfocitos, neutrófilos, monocitos, neutrófilos y basófilos de <i>Oncorhynchus mykiss</i> suplementados con 4 dietas a base de <i>Morinda citrifolia</i> Linn. n=20.....	68
Tabla 8 Cortes histológicos del tejido branquial de <i>Oncorhynchus mykiss</i> bajo el efecto de cuatro niveles de <i>Morinda citrifolia</i> Linn.....	69
Tabla 9 Cortes histológicos del tejido hepático de <i>Oncorhynchus mykiss</i> bajo el efecto de cuatro niveles de <i>Morinda citrifolia</i> Linn.....	70

Índice de figuras

Figura 1 <i>Vista satelital del área de campo en pailones.</i>	37
Figura 2 <i>Vista satelital del área de estudio en laboratorio.</i>	38
Figura 3 <i>Calibración de las niquelinas del liofilizador.</i>	39
Figura 4 <i>Liofilizador.</i>	40
Figura 5 <i>A) Pulpa de noni congelada, B) pulpa liofilizada.</i>	40
Figura 6 <i>Instalación del proyecto.</i>	41
Figura 7 <i>Preparación del alimento.</i>	42
Figura 8 <i>Dietas suministradas.</i>	42
Figura 9 <i>Alevines expuestos a insecticida organofosforado.</i>	44
Figura 10 <i>Distribución de tratamientos.</i>	45
Figura 11 <i>Medición de longitud parcial, total y ancho a alevines.</i>	47
Figura 12 <i>Extracción de sangre.</i>	48
Figura 13 <i>Absorción de sangre para hematocrito.</i>	49
Figura 14 <i>Incubación de muestras para el análisis de glucosa.</i>	50
Figura 15 <i>Incubación de muestras para el análisis de proteína.</i>	51
Figura 16 <i>Incubación de muestras para el análisis de albúmina.</i>	52
Figura 17 <i>Frotis sanguíneos.</i>	54
Figura 18 <i>Frotis sanguíneos teñidos con la solución Wrigh.</i>	54
Figura 19 <i>Tipos de leucocitos encontrados en <i>Oncorhynchus mykiss</i>.</i>	55

- Figura 20** Tasa de mortalidad acumulada (%) de *Oncorhynchus mykiss* para los distintos tratamientos al culminar la experimentación..... 61
- Figura 21** Comportamiento de la tasa de supervivencia (%) de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 4 dietas a base de *Morinda citrifolia* Linn a través del tiempo. 61
- Figura 22** Promedio \pm desviación estándar del porcentaje de hematocrito de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 4 dietas a base de *Morinda citrifolia* Linn..... 62
- Figura 23** Promedio \pm desviación estándar de la glucosa de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 4 dietas a base de *Morinda citrifolia* Linn tras 60 días de evaluación.....63
- Figura 24** Promedio \pm desviación estándar de la proteína de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 4 dietas a base de *Morinda citrifolia* Linn. 64
- Figura 25** Promedio \pm desviación estándar de la globulina de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 4 dietas a base de *Morinda citrifolia* Linn. 64
- Figura 26** Promedio \pm desviación estándar de la albúmina de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 4 dietas a base de *Morinda citrifolia* Linn. 65
- Figura 27** Promedio \pm desviación estándar del RBC de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 4 dietas a base de *Morinda citrifolia* Linn..... 66

Resumen

Morinda citrifolia Linn es considerado como un fitobiótico y utilizado como un aditivo alimentario natural que tiene como fin mejorar el sistema inmune. La aplicación de alimentos funcionales en la acuicultura es visionaria a futuro, debido a que reduce la aplicación de agroquímicos en las producciones. El presente estudio evaluó la inclusión del noni (*Morinda citrifolia* Linn) en dietas de alevines de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) sobre la calidad del sistema inmune, su fortalecimiento y evitar pérdidas de producción reduciendo y evitando el suministro de antibióticos y residuos químicos en las piscifactorías. Durante 60 días se utilizaron 800 alevines ($3,15 \pm 0,10$ g) distribuidos aleatoriamente en 16 unidades experimentales, con una densidad de 50 alevines por cada unidad experimental. Se evaluaron 3 tratamientos y un control con la inclusión de diferentes porcentajes de *Morinda citrifolia* Linn (2.5, 5 y 7.5%). A través de un análisis de varianza, complementados con un análisis de comparación múltiple de Tukey, se estableció que la inclusión de *Morinda citrifolia* Linn tiene un efecto significativo en la tasa de mortalidad del 19,5% y variables hematológicas: proteína ($2,77$ g. dL^{-1}), albúmina ($1,22$ g. dL^{-1}), RBC ($1,90$ cél $\times 10^6$. μL^{-1}), WBC ($5,73$ cél $\times 10^4$. μL^{-1}), linfocitos ($4,95$ cél $\times 10^4$. μL^{-1}), neutrófilos ($0,45$ cél $\times 10^4$. μL^{-1}) y monocitos ($0,30$ cél $\times 10^4$. μL^{-1}) con respecto al control. La histología de los alevines inducidos a estrés controlado mostró cambios significativos como: la aparición de edemas, fusión de láminas, necrosis e hiperplasia severa a nivel branquial, mientras que en el perfil hepático se observó vasodilatación de sinusoides, deformación globular de los hepatocitos y necrosis, sin embargo, estos daños disminuyen en los tratamientos con noni (*Morinda citrifolia* Linn).

Palabras clave: acuicultura, trucha arco iris, *Morinda citrifolia* Linn, sistema inmune, histología.

Abstract

Morinda citrifolia Linn is considered a phytobiotic and it is used as a natural food additive to improve the immune system. The application of functional foods in aquaculture is visionary for the future because it reduces the application of agrochemicals in production. The present study evaluated the inclusion of noni (*Morinda citrifolia* Linn) in diets of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry on the quality of the immune system, strengthening it and avoiding production losses by reducing and avoiding the supply of antibiotics and chemical residues in fish farms. For 60 days, 800 fry (3.15 ± 0.10 g) were randomly distributed in 16 experimental units, with a density of 50 fry per experimental unit. Three treatments and a control with the inclusion of different percentages of *Morinda citrifolia* Linn (2.5, 5 and 7.5%) were evaluated. Through an analysis of variance, complemented with a Tukey's multiple comparison analysis, it was established that the inclusion of *Morinda citrifolia* Linn has a significant effect on the mortality rate of 19.5% and hematological variables: protein (2.77 g. dL^{-1}), albumin (1.22 g. dL^{-1}), RBC (1.90 cell $\times 10^6$. μL^{-1}), WBC (5.73 cell $\times 10^4$. μL^{-1}), lymphocytes (4.95 cell $\times 10^4$. μL^{-1}), neutrophils (0.45 cell $\times 10^4$. μL^{-1}), and monocytes (0.30 cell $\times 10^4$. μL^{-1}) with respect to the control. The histology of the fry induced to controlled stress showed significant changes such as: the appearance of edema, fusion of lamellae, necrosis, and severe hyperplasia at gill level, while in the hepatic profile, vasodilatation of sinusoids, globular deformation of hepatocytes and necrosis were observed, however, these damages decrease in treatments with noni (*Morinda citrifolia* Linn).

Keywords: *aquaculture, rainbow trout, Morinda citrifolia* Linn, *immune system, histology.*

Capítulo I

Introducción

Antecedentes

Ecuador según la FAO (2018), presenta una producción acuícola de 1'138.557 toneladas, entre las principales especies más cultivadas la trucha arcoíris es de gran importancia por su demanda, debido a que registró una producción de 6.000 toneladas (FAO, 2018). La acuicultura ha sido de gran aporte para la economía puesto que pequeños productores han encontrado en esta actividad un sustento de vida, no obstante, el sistema de producción intensivo que emplean los piscicultores, influye a que los peces se encuentren expuestos a enfermedades y por ende una reducción en la producción y crecimiento de animales, a razón de que el sistema inmune es vulnerable a causa del estrés al que se hallan expuestos por ciertas labores culturales como desinfecciones frecuentes, uso de antibióticos y productos químicos (Penagos *et al.*, 2008).

El crecimiento apresurado de la producción de trucha arco iris ha provocado un incremento de las enfermedades infecciosas, Georgiadis *et al.* (2001) menciona que generalmente son causadas por bacterias o virus. Para controlar los agentes infecciosos, por lo regular se utilizan sustancias químicas y antibióticas, mismas que provocan efectos colaterales, como la acumulación del producto en el músculo del pez. Furushita *et al.* (2003), menciona que los antibióticos perduraron en los sedimentos durante 18 meses después de su aplicación, de la misma manera Igbinosa *et al.* (2017), señala que 26 especies de *Aeromonas* fueron resistentes a penicilina, ertapenem y tetraciclina en un 100%. Una alternativa al uso fármacos es promover el desarrollo y fortalecimiento del sistema inmune de los peces, con la finalidad de prevenir

enfermedades dentro de la piscifactoría, atenuar el impacto ambiental generado por la descarga de desechos como alimento y agua con contenido de antibióticos que podían convertirse en un riesgo a la salud pública. *Morinda citrifolia* Linn es una planta con amplios efectos nutracéuticos y terapéuticos, utilizada como antifúngico, antibacteriano, antiinflamatorio, anticanceroso, antiparasitario, analgésico (Mohamad Shalan *et al.*, 2016; Potterat & Hamburger, 2007; Ruksilp *et al.*, 2011; Sina *et al.*, 2021). Los fitobioticos como *Morinda citrifolia* Linn se pueden emplear como aditivos alimentarios naturales, ya que estos tienen la capacidad incrementar la producción de los peces debido a que estimulan el crecimiento y fortalecer la salud. Según Cristea *et al.* (2012), los fitobióticos mejoran el sistema inmunitario frente a la infección por diversas bacterias en diferentes especies de peces. Cevallos *et al.* (2007), se evaluaron distintas dosis de extracto de *Morinda citrifolia* Linn en el perfil hematológico de *Sus scrofa*, desde los 15 kg hasta alcanzar 35 kg, se evidenció la acción fitoquímica de noni sobre el sistema inmunológico, por esta razón las defensas de los individuos evaluados mejoraron, este proceso estuvo ligado al aumento de linfocitos y disminución de neutrófilos durante procesos infecciosos, en este caso aparición de abscesos.

Justificación

El uso de fitobióticos pueden definirse como un alimento que beneficia a una o más funciones del organismo, incluyendo efectos nutricionales convenientes que ayudan a mejorar la salud y reducir enfermedades; el noni se considera un fitobiótico que contiene alcaloides, escopoletina, damnacanthal y otras moléculas, que contribuyen en la nutrición de animales (Singh, 2012). Kristiana *et al.* (2020), evaluaron el crecimiento y rendimiento de la tilapia del nilo (*Oreochromis niloticus*) mediante la suplementación con extracto de noni (*Morinda citrifolia* Linn) a través de la dieta,

mostraron que la tasa de crecimiento asciende en 0,0150% por día a diferencia del control, mientras que para la retención de proteínas obtuvieron un valor de 12,6246% a diferencia del control. Este fitobiótico se considera como un supresor de crecimiento de patógenos y beneficia el aumento de microorganismos beneficiosos en el tracto digestivo, lo que ayuda a la capacidad de descomponer ingredientes, especialmente de fibra cruda (Kristiana *et al.*, 2020). Experiencias desarrolladas por Ilmayati *et al.* (2016), mostraron mejores resultados al aplicar 9 g de noni (*Morinda citrifolia* Linn) por kg de pienso, con el objetivo de valorar el sistema inmune de la tilapia del nilo (*Oreochromis niloticus*), obteniendo 73.720 células.mm³ total, para linfocitos 66,33%, monocitos 29,33%, neutrófilos 4,33%, la media de peso fue de 24,06 g y la tasa de supervivencia de 91,67%, con respecto al grupo control.

Por tal motivo en este estudio se evaluó la inclusión del noni (*Morinda citrifolia* Linn) en dietas de alevines de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) sobre la calidad del sistema inmune, con la finalidad de fortalecer dicho sistema y evitar las pérdidas de producción reduciendo o evitando el suministro de antibióticos y residuos químicos en las piscifactorías.

Objetivos

Objetivo general

- Evaluar el efecto del noni (*Morinda citrifolia* Linn) sobre el desarrollo del sistema inmune de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) en la etapa de alevinaje

Objetivos específicos

- Evaluar parámetros productivos y morfométricos en etapas de alevinaje de trucha arcoíris bajo la acción de diferentes niveles de inclusión de *Morinda citrifolia* Linn en dietas balanceadas.

- Determinar el estado sanitario de los peces, capacidad antiinflamatoria de *Morinda citrifolia* Linn mediante el comportamiento de células circulantes en el perfil hematológico y la restauración de tejidos hepáticos y respiratorios en pruebas de estrés controlado.

Hipótesis

H0: La inclusión del noni (*Morinda citrifolia* Linn) en dietas balanceadas para alevines de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) mantiene el bienestar animal, sin cambios significativos en el sistema inmune, representado por células circulantes y de complemento, así como las estructuras fisiológicas en el hígado y branquias.

H1: La inclusión del noni (*Morinda citrifolia* Linn) en dietas balanceadas para alevines de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) mantiene el bienestar animal, con una evidente respuesta del sistema inmune, representado por el incremento de células circulantes y de complemento, así como el mantenimiento funcional de estructuras fisiológicas en el hígado y branquias.

Capítulo II

Revisión de literatura

***Morinda citrifolia* Linn**

Generalidades

Es una planta subtropical y tropical que se cultiva generalmente en Asia, Australia e Islas del Pacífico y ha sido utilizada para tratar varias enfermedades, debido a que contiene amplios efectos nutracéuticos y terapéuticos (McClatchey, 2002). Es usada para estimular el sistema inmune, empleada como antibacteriana, antiviral, antiparasitario, antiinflamatorio, anticanceroso, antifúngico y analgésico (Mohamad Shalan *et al.*, 2016; Potterat & Hamburger, 2007; Ruksilp *et al.*, 2011; Sina *et al.*, 2021). *Morinda citrifolia* Linn pertenece a la familia de las Rubiaceae, es un arbusto perenne que por lo regular se desarrolla en climas húmedos y templados, su fruto se produce durante todo el año, presenta una coloración verde y amarilla y transpira un olor fuerte rancio similar al ácido butírico (Chan-Blanco *et al.*, 2006).

Composición fisicoquímica

Chunhieng (2003), menciona que el fruto contiene un 90% de agua, mientras que los componentes primordiales de la materia seca son sólidos solubles, fibras dietéticas y proteínas. El fruto tiene un alto contenido de proteínas representado el 11,3% de la materia seca del zumo y los principales aminoácidos son el ácido aspártico, glutámico e isoleucina. De la materia seca el 8,4% es representado por los minerales, de los que se destacan el potasio, fósforo, calcio adicionalmente se han presentado trazas de selenio en el jugo (Tabla 1). Varios compuestos bioactivos presentes en diferentes partes del fruto de *Morinda citrifolia* Linn han mostrado su actividad biológica, (Tabla 2) los compuestos fenólicos, entre los principales principios bioactivos son las

antraquinonas que son fundamentales para procesos digestivos puesto que actúa en terminaciones nerviosas del intestino estimulando movimientos peristálticos (Chan-Blanco *et al.*, 2006; Wang, *et al.*, 2002). Bussmann *et al.* (2013), menciona que los procesos de fermentación, secado y liofilización para la producción de jugo de fruta de noni, no interfieren en el contenido de antraquinonas, lucidina, alizarina y rubidiana.

Tabla 1

Composición fisicoquímica de la fruta de noni (Morinda citrifolia Linn)

Característica	**	*
Valor de pH	3,95	
Materia seca (% en masa)		9,8 hasta 10
Sólidos solubles totales (Brix)	8,17	
Cenizas (% de masa)	0,82	
Proteínas (% de masa)	4,20	
Lípidos (% de masa)		0,15
Glucosa (g.L ⁻¹)		11970,2
Fructosa (g.L ⁻¹)		8270,2
Potasio (mg. L ⁻¹)		3900
Sodio (mg.30g ⁻¹)	16,75	
Fibras totales (% de masa)	2,40	
Vitamina C (% de masa)	0,117	
Magnesio (mg. L ⁻¹)		14
Calcio (mg. L ⁻¹)		28

Nota. Tomado de (Chunhieng, 2003) *, (Nascimento *et al.*, 2018) **.

Tabla 2

Resumen de los principales compuestos bioactivos de noni (Morinda citrifolia Linn)

Clasificación bioquímica	Compuesto bioactivo	Estructura de la planta	Cantidad (mg. g⁻¹)	Actividad biológica
Aminoácidos	Alanina	Fruta	0,45	
	Arginina		0,32	
	Ácido aspártico		0,80	
	Cisteína		0,23	
	Ácido glutámico		0,64	
	Glicina		0,36	
	Histidina		<0,1	
	Isoleucina		0,29	
	Leucina		0,38	
	Lisina		0,25	
	Metionina		<0,1	
	Fenilalanina		0,21	
	Prolina		0,26	
	Serina		0,27	
	Treonina		0,27	
	Triptófano		<0,1	
	Tirosina		0,25	
Valina	0,36			

Clasificación bioquímica	Compuesto bioactivo	Estructura de la planta	Cantidad (mg. g⁻¹)	Actividad biológica
Antraquinonas	Alizarina	Fruta	7,797	Citotóxico Antitumoral y
	Damnacanthal	Raíz	1,42	antican- cerígeno
	Lucidina	Fruta	4,65	
	Nordamnacanthal	Tallo		Antitumoral
Carotenoides	Rubiadina			Citotóxico Citotóxico,
	β -caroteno	Fruta	19,09	antioxidante y antiviral
Cumarinas	Escopoletina		6,87	Antiinflama- torio
Ácidos grasos	Ácido eicosanoico		1,5 – 4,5	
	Ácido láurico	Semilla	4,9 - 12,5	Inmunoesti- mulante, citotóxico
	Ácido linoleico		36,6 – 39,4	Antiinfla- matorio
	Ácido oleico		19,58 –	Anticance-

Clasificación bioquímica	Compuesto bioactivo	Estructura de la planta	Cantidad (mg. g ⁻¹)	Actividad biológica
			21,82	rígeno
	Ácido palmitoleico		3,5 – 10,9	Inmunoes-timulante
	Ácido esteárico		20,1 – 22,9	Inmunoes-timulante
	Kaempferol	Hojas	1,33	Antioxidante
	Rutina		2,75	Antioxidante, antiviral y antiinflama-torio
Flavonoides	Narcisoside			Antioxidante
	Quercetina	Fruta	1,59	Antiinfla-matorio, antioxidante
	Ácido asperulosídico		38,79	
Iridoides	Ácido desacetilasperulosídico		137,71	Antitumoral
	Calcio	Hojas	5,462	
Minerales	Cobre		0,00233	
	Cobalto	Fruta	0,0474	

Clasificación bioquímica	Compuesto bioactivo	Estructura de la planta	Cantidad (mg. g⁻¹)	Actividad biológica
			g.L ⁻¹	
	Hierro	Hojas	0,00447	
	Fósforo	Fruta	7,0	
	Magnesio	Hojas	0,57	
	Molibdeno		1 mg.100g ⁻¹	
	Potasio		3,9	
	Selenio		0,01 mg.100g ⁻¹	
	Sodio		15 a 40 mg.100g ⁻¹	
	Zinc		0,13 mg.100g ⁻¹	
	Ácido ascórbico (C)	Fruta	149,5 mg.100g ⁻¹	
	Biotina (B7)		1,5 – 5 mg.100g ⁻¹	
Vitaminas	Cobalamina (B12)		0,5 – 1 IU.100g ⁻¹	
	Ácido fólico (B9)		7 - 25 mg.100g ⁻¹	
	Niacina (B3)		0,1 – 0,5	

Clasificación bioquímica	Compuesto bioactivo	Estructura de la planta	Cantidad (mg. g ⁻¹)	Actividad biológica
			mg.100g ⁻¹	
			0,04 –	
	Piridoxina (B6)		0,13 mg. 100g ⁻¹	
	Riboflavina (B2)		0,003 – 0,01 mg.g ⁻¹	
			1	
			0,003 –	
	Tiamina (B1)		0,01 mg.g ⁻¹	
			1	
			0,1 - 0,3	
	Tocoferol (E)		mg.100g ⁻¹	
	Ácido pantoténico (B5)		<0,018 mg.100g ⁻¹	
	Vitamina K		<0,1 μ.g ⁻¹	

Nota. Tomado de (Abu *et al.*, 2018), (Ali *et al.*, 2016), (Deng *et al.*, 2008), (Inada *et al.*, 2017), (Kiathevest *et al.*, 2009), (Peter & Peter, 2018), (Rybak & Ruzik, 2013), (Singh, 2012), (Thani *et al.*, 2010), (West *et al.*, 2011).

Actividad antibacteriana

Wei *et al.* (2008), menciona que el extracto de metanol de *Morinda citrifolia* Linn mostró zonas de inhibición en un rango de 7,7 a 26 mm contra *Vibrio cholerae*,

Klebsiella, *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus lactis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus thermophilus*, *Shigella flexneri*, *Vibrio harveyi*, *Chromobacterium vialaceum*, *Aeromonas hydrophila*, *Salmonella paratyphi*. Tiene la capacidad de inhibir el crecimiento de bacterias patógenas a través de sustancias bioactivas como alcaloides, flavonoides además de que puede mejorar las características morfológicas intestinales (Murdiati *et al.*, 2000; Zhang *et al.*, 2016). Para aumentar la inmunidad de la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) por *Streptococcus iniae* se utilizó una dosis de 9 g.kg⁻¹ de alimento con la adicción de harina de noni *Morinda citrifolia* Linn, obteniendo 73.720 células.mm³ totales, linfocitos 66,33%, monocitos 29,33%, neutrófilos 4,33%, la media de peso 24,06 g y la tasa de supervivencia 91,67% (Ilmayati *et al.*, 2016)

Actividad antioxidante

Según Singh (2012), una alimentación basada en un elevado consumo de frutas y verduras contiene antioxidantes fenólicos, que son capaces de inhibir la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad, lo que reduce el proceso de aterosclerosis y el riesgo de cáncer y otras enfermedades. Un estudio realizado por Mohamad Shalan *et al.* (2016), mostraron que la concentración de glutatión en el plasma sanguíneo del grupo suministrado con 200 mg.kg⁻¹ de las hojas de *Morinda citrifolia* Linn fue dos veces mayor al grupo control, debido a que los niveles de glutatión (GHS), representa a una enzima que cataliza la reducción de glutatión oxidado a reducido debido a que cede electrones de su estructura química, el cual es utilizado por la glutatión peroxidasa para la reducción del peróxido y lipoperóxidos, jugando un papel primordial en la defensa antioxidante y se encuentra en diferentes órganos y tejidos promoviendo que las células no se envejeczan y presenten mayor (Cisneros, 1995).

Actividad inmunológica

Palu *et al.* (2008), muestran que los efectos del concentrado y zumo de noni (*Morinda citrifolia* Linn) si modula la respuesta inmunitaria *in vitro* e *in vivo* en ratones, este proceso fue dado mediante la activación de los receptores CB2 y la supresión de la IL-4, no obstante, presentó un aumento en la producción de citoquinas IFN-gamma. Mientras que el jugo fermentado de noni inhibe la reproducción celular esencialmente de células cancerosas, Wong (2004), reporta que el jugo fermentado estimula tanto a los esplenocitos como a las células B para producir IgG e IgM. Además, contiene una fracción rica en polisacáridos que contienen actividad antitumoral en el modelo de carcinoma de pulmón de Lewis en ratones mostrando una tasa de recuperación del 25 – 45 % (Furusawa *et al.*, 2003).

Usos industriales

Conservante natural. Zin *et al.* (2002), mencionan que debido a sus propiedades antioxidantes de hojas, frutas y raíces las cuales son similares a la vitamina E, además de contener hidroxitolueno butilado el cual es un derivado del fenol, contribuye como un antioxidante natural en aditivos alimenticios, pero, su sabor desagradable restringe su uso como conservante (Tapp *et al.*, 2012). También se ha identificado que las películas del polisacárido de la fruta de noni - NPS (*Morinda citrifolia* Linn) contiene una excelente resistencia a la tracción y que se caracteriza como un material elástico (módulo de Young) y con la adición de la caracterización de los extractos de las hojas de arándano (*Vaccinium corymbosum*), su respuesta antioxidante mejora eficazmente las películas de NPS (Han & Song, 2021).

Jugo. El jugo fresco se adquiere luego de comprimir los frutos tras su cosecha, mientras que el jugo casero se obtiene dejando que los frutos se maduren de forma

natural, no obstante, el jugo comercial se preparara mediante la fermentación del fruto (Brown, 2012; Nelson, 2006; Newton, 2002). Además, el jugo de fruta fermentado sin semillas, mostro que es capaz de producir probióticos, mediante la reacción del sustrato crudo del jugo de *Morinda citrifolia* Linn con bacterias del ácido láctico (*Lactobacillus casei* y *Lactobacillus plantarum*) o Bifidobacterias (*Bifidobacterium longum*), posterior a 48 horas de fermentación todas las cepas probadas crecieron eficazmente en el jugo y la formación de colonias alcanzaron alrededor de 109 unidades. mL⁻¹ (Wang *et al.*, 2009).

Fuente natural de medicamentos. Abou Assi *et al.* (2017), reportan que se ha considerado al noni (*Morinda citrifolia* Linn) como una fuente natural para la elaboración de medicina, mediante el uso de tecnología para el cultivo de biorreactores con el fin de producir compuestos medicinales específicos a una tasa similar o superior a la del noni cultivado de forma natural. El extracto acuoso de la raíz de *Morinda citrifolia* Linn fue utilizado para la síntesis de nanopartículas ecológicas de metales nobles por la presencia de antraquinonas, las nanopartículas de plata se obtuvieron a través de la reducción de nitrato de plata en iones de plata, luego de agregar extracto acuoso de raíz de noni e incubar durante una noche para producir partículas entre 30 y 55 nm con actividad citotóxica; los cuales pueden impedir que las células cancerosas se dividan y crezcan. (Suman *et al.*, 2013).

Trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*)

Generalidades

Según la FAO (2020), la producción de trucha a nivel mundial en el 2018 fue de 848 mil toneladas, mercado que se encuentra generalmente liderado por Noruega y Chile. El Ecuador anualmente produce 2803 toneladas de trucha, esta producción está

distribuida entre 606 criaderos ubicados en provincias como Azuay, Bolívar, Cañar, Carchi, Chimborazo, Cotopaxi, Imbabura, Loja, Napo, Pichincha, Sucumbíos y Tungurahua (Troya, 2021). Las condiciones ambientales favorables del alto andino en el país han provocado una excelente adaptabilidad de la trucha, adicionalmente esta especie ha mostrado una excelente adaptación, crecimiento rápido por lo que forma parte de las producciones piscícolas (Batallas, 2018).

Las truchas toleran temperaturas entre 6 a 20°C, sin embargo, los cambios bruscos de temperatura no son tolerables, por tanto, la temperatura apropiada oscila entre 6 a 11°C para etapas de reproducción incubación y alevinaje, puesto que a esta condición se forman bien los órganos internos y compactación de vertebras, porcentajes de supervivencia altos y excelentes rendimientos (Ortiz, 2015).

Alevines

El alevín se alimenta de las reservas nutricionales que se encuentran contenidas en el saco vitelino por un lapso de 2 a 4 semanas, esto depende de la temperatura a la que se encuentra (Torres, 2017). Posteriormente, de la absorción del saco vitelino, empieza la búsqueda de alimento para esto son trasladados a distintos estanques donde son alimentados con dietas iniciales especializadas para cada etapa, además de contar con una protección contra rayos solares, utilizando techo de plástico, sarán o lámina de Zinc (FAO, 2014).

Alimentación en la etapa de alevinaje

Las raciones que se debe dar a los alevines que empiezan a comer deben ser pequeñas, el alimento debe ser concentrado en polvo o granulado fino con un nivel de proteína alto (44 a 50%), durante las ocho horas de trabajo se debe suministrar cada

hora, con el fin de que los alevines lleguen a un tamaño de 5 cm de tamaño (FAO, 2014).

La FAO (2014), menciona que existen cinco componentes básicos que son necesarios para su alimentación, los cuales deben estar presentes. La proteína es importante para la formación de distintos órganos del cuerpo y debe ser de origen animal como carne, hígado o sangre; el nivel de proteína disminuye conforme el tamaño del pez aumenta. Mientras que los carbohidratos son utilizados como fuente de energía, generalmente se utiliza cereales como el trigo, maíz, cebada, soya, de igual forma las grasas. Así mismo para un buen crecimiento y reducir los riesgos de enfermedad son importantes las vitaminas, lo mismo ocurre con los minerales los cuales son útiles para la formación de huesos, dientes y sangre estos son asimilados del agua y alimento.

Sistema inmune

El sistema inmune innato es considerado como la primera línea de defensa la que se encuentra determinada por las barreras físicas como superficies mucosas y piel, así también se encuentra dado por leucocitos como monocitos o macrófagos, granulocitos y células citotóxicas no específicas. Además de contar con distintas sustancias y órganos humorales como las lisozimas, complementos sanguíneos, interferones, proteína C, transferrina entre otros, los cuales tienen como función principal inhibir la reproducción de microorganismos patógenos (Fernández *et al.*, 2002)

Vanya Ewart *et al.* (2008), mencionan que los macrófagos son un componente celular primordial, los fagocitos secretan citoquinas pro-inflamatorias cuando ocurre una inflamación al presentarse una enfermedad como estreptococosis, aeromoniasis entre otras. Mientras que los leucocitos granulares llamados neutrófilos cumplen funciones

fagocíticas, quimiotácticas, bactericidas y poseen una capacidad de degranulación (Palić *et al.*, 2007).

Así también los granulocitos se caracterizan porque presentan gránulos en el citoplasma (Fernández *et al.*, 2002), se encuentran presentes en algunas especies de teleósteos y se describen a continuación: los eosinófilos granulares homogéneos se asocian al tejido conectivo singularmente al tracto gastrointestinal y branquias, se detecta en procesos inflamatorios además de destruir parásitos, en los que se libera el contenido granular, además también se encuentra en piel, corazón y sistema nervioso (Ferguson, 1989). Los basófilos constituyen menos del 1% de los leucocitos sanguíneos raramente son observados, se presentan en la fagocitosis de microorganismos y en reacciones alérgicas.

Los neutrófilos tienen un núcleo segmentado en tres a cinco lóbulos conectados, es la población más abundante y median en las primeras fases del proceso inflamatorio (Abbas *et al.*, 2015), se localizan en sangre circulante y tejidos inflamados, se ha identificado 6% de estos neutrófilos en el salmón atlántico, las principales funciones que cumple es la fagocitosis, actividad microbicida mediada por la explosión respiratoria que consiste en la capacidad de convertir el oxígeno molecular en una serie de compuestos o metabolitos de oxígeno los cuales son idóneos para dañar moléculas orgánicas actuando como microbicidas (Ferguson, 1989). Los neutrófilos circulan por la sangre por varias horas o días, migran a la zona de infección con gran rapidez, cuando los neutrófilos actúan dentro de los tejidos lo hacen durante 1 o 2 días y posteriormente mueren (Abbas *et al.*, 2015). Los monocitos poseen núcleos en forma de riñón, su función es la fagocitosis de los microbios, pero, también ingieren células muertas del anfitrión, incluidas las células que mueren en los tejidos por contusiones y los monocitos

que se almacenan en lugares de infección, es decir, forman parte fundamental de limpieza celular, a diferencia de los neutrófilos, estos viven por más tiempo en las zonas de inflamación, son células dominantes en zonas de infección (Abbas *et al.*, 2015)

Los linfocitos son células diferenciadas por su capacidad de respuesta frente a estímulos inmunológicos con alto potencial metabólico, circulan por la sangre y la linfa. Son ocupados en su totalidad por el núcleo de cromatina muy agrupada, su función primordial es la respuesta inmune específica humoral mediada por los linfocitos B y celular por los linfocitos T, debido a que producen anticuerpos, por la memoria inmunológica y la liberación de reguladores de la función inmune, en trucha arco iris se tiene rangos de entre 89 a 98% de los leucocitos (Fernández *et al.*, 2002).

Órganos linfoides

El timo es el primer órgano en convertirse en linfoide, a pesar de que el riñón puede contener precursores hematopoyéticos, pero no linfocitos en teleósteos de agua dulce, no obstante, en teleósteos marinos los principales órganos linfoides que se desarrollan es el riñón, bazo y finalmente el timo, pese a que el bazo larvario es más eritropoyético que linfocítico (Zapata *et al.*, 2006).

Timo. La caracterización del timo se da por la cápsula que envuelve una corteza de tejido linfoide, se puede considerar como una agregación encapsulada de macrófagos, su principal función es la proliferación de células T (Davis *et al.*, 2002), el desarrollo del timo dependerá de la especie y temperatura en el crecimiento. Bowden *et al.* (2005), menciona que la relación entre el crecimiento y desarrollo es dinámica puesto que se expresa como la edad fisiológica en grados día, siendo que las diferencias de las temperaturas históricas no representan un factor. Este órgano tiene alta capacidad mitótica, es decir, las células se multiplican con mayor proliferación.

Riñón. Zapata *et al.* (2006), mencionan que el riñón en los peces equivale a la médula ósea de los vertebrados y es uno de los lugares de mayor hematopoyesis hasta alcanzar una edad adulta, este órgano en la trucha arcoíris es un órgano bien desarrollado después de la incubación, donde produce principalmente eritrocitos y células granulocíticas. La región anterior presenta falta de nefronas por lo que carece de función renal, sin embargo, también participa en la inducción de la respuesta inmune por ser un linfoide secundario, así también que la región media y distal contienen ambas funciones: la función hematopoyética y renal (Maguregui, 2020).

Bazo. Se encuentra compuesto por un sistema de elipsoides esplénicos los cuales son capilares de paredes gruesas que se abren en la pulpa y son el resultado de la división de las arteriolas esplénicas (Ferguson, 1989)., centros melanomacrófagos y tejido linfoide. En las paredes del bazo se hallan macrófagos que contribuyen en la fagocitosis de antígenos, mayormente en el complejo antígeno – anticuerpo, además cuentan con un papel importante en la memoria inmunológica.

Estrés generado por contaminantes ambientales

Los contaminantes de origen xenobiótico pueden presentarse en una amplia gama y son causantes de estrés. Estos contaminantes exógenos están presentes principalmente en peces que habitan embalses naturales ya que en estos puede existir residuos contaminantes de origen industrial, sin embargo, la acuicultura intensiva no está exenta de peligro, a causa de que el agua que abastece a los estanques puede estar contaminada, debido a su proximidad al sitio de uso de contaminantes, derrames accidentales o deriva del químico después de una aplicación aérea, produciendo cambios bioquímicos y estructurales en la patología de los peces (Torres, 2017). Estos xenobióticos están dados por metales de transición, hidrocarburos aromáticos

policíclicos, pesticidas organoclorados y organofosforados, piretroides, policlorinados, bifenílicos y dioxinas, etc (Valavanidis *et al.*, 2006).

El efecto tóxico de varios xenobióticos está dado por el estrés oxidativo, debido al desequilibrio entre la producción de radicales libres o agentes prooxidantes y los mecanismos de defensa antioxidante de un organismo, lo que puede provocar daños de componentes celulares y tejidos que conducen a procesos patológicos (Valavanidis *et al.*, 2006). Los compuestos organofosforados son sustancias orgánicas que tienen una estructura química de fósforo y carbono, ejemplar de este insecticida es el chlorpirifos, es muy utilizado en la agricultura por su efectividad contra una amplia gama de insectos perjudiciales para los cultivos, debido a su potencial y efecto peligroso es un producto de preocupación ambiental. Es distribuido por sus nombres comerciales como Dursban, Lorsban, entre otros.

De Anna (2019), realizó un estudio para evaluar la expresión genética por q-PCR de 12 genes de interés del intestino e hígado de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*), luego de exposición subletal a clorpirifos con una dosis de $1.4 \mu\text{g.L}^{-1}$ durante 12, 24 y 48 horas; se observó que este agroquímico induce la vía del receptor nuclear de pregnano X, su función principal es detectar la presencia de sustancias tóxicas o extrañas y activa la expresión de proteínas encargadas de la desintoxicación y eliminación de dichas sustancias del intestino e hígado. Holguín *et al.* (2019), evaluaron lesiones histopatológicas en cachama (*Piaractus brachypomus*) con una dosis de $0.011 \mu\text{g.L}^{-1}$, se evidenció degeneración generalizada de los hepatocitos caracterizada por la presencia de vacuolas citoplasmáticas translúcidas por lo cual no se podía distinguir el núcleo en la mayoría de las células del hígado, no obstante, a nivel branquial se halló hipertrofia del epitelio lamelar e hiperplasia del epitelio interlamelar moderada.

Capítulo III

Metodología

Ubicación del área de investigación

El estudio se realizó en las instalaciones de producción del proyecto de acuicultura (Pailones) y en los laboratorios de Recursos Acuáticos de la Carrera de Ingeniería Agropecuaria – IASA I de la Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE que se encuentra en la Hacienda “El Prado”, provincia de Pichincha, cantón Rumiñahui en la parroquia San Fernando. Geográficamente se ubica a $78^{\circ}24'44''$ E, $0^{\circ}23'20''$ S y 2 748 m.s.n.m.

El área de estudio corresponde a una zona de vida bosque húmedo, piso altitudinal montano bajo, generalmente presenta una temperatura de 12°C . La precipitación anual que presenta es de 1531 mm y una humedad relativa de 64,11%.

Figura 1

Vista satelital del área de campo en pailones



Nota. Obtenido de (Google Earth, 2021)

Figura 2

Vista satelital del área de estudio en laboratorio



Nota. Obtenido de (Google Earth, 2021)

Liofilización del noni (*Morinda citrifolia* Linn)

Para obtener la pulpa de los frutos maduros de noni provenientes del cantón Puerto Quito, se cortó en cuadros pequeños cada fruto, para ser licuados y filtrados por un colador muy fino con el fin de evitar el paso de las semillas, este proceso permitió obtener el jugo. Posteriormente, para su almacenamiento debe ser congelado en recipientes herméticos alrededor de 200 g llegando a una temperatura de -15°C .

La calibración del liofilizador de extractos botánicos se da por temporizadores tanto para las niquelinas y el sistema de refrigeración, siendo así que la temperatura de las niquelinas debe ser de 35°C y para la refrigeración de -45°C , mientras que el temporizador del proceso general está dado por 17 horas y para el temporizador de las niquelinas de 3 horas.

Figura 3

Calibración de las niquelinas del liofilizador



Se ubicó 200 g en la bandeja superior e inferior respectivamente, esparciéndolo de forma homogénea a lo largo de la superficie de cada bandeja. Se situó la tapa aislante de poliuretano dentro de la cámara de liofilización, atravesando los cables de alimentación de las niquelinas y los sensores de temperatura por el orificio central para ser colocados en las ranuras respectivas. Se colocó las bandejas en las ranuras sobre las niquelinas para tener un contacto superficial directo entre ellas, colocar y cerrar la tapa de la cámara de liofilización. Transcurrido el tiempo de duración del proceso, se recolectó el producto en fundas herméticas para evitar el ingreso de la humedad del ambiente.

Figura 4*Liofilizador***Figura 5***A) Pulpa de noni congelada, B) pulpa liofilizada***Instalación del ensayo y siembra de organismos**

Se seleccionó 4 piscinas para la aplicación de los tratamientos, se limpió y desinfectó con hipoclorito de sodio 48 h antes del ingreso de los peces, dividió cada

piscina en 4 jaulas debidamente rotuladas. Se trabajó con alevines completamente sanos, con un peso promedio que oscila entre 3 a 3.5 g. Los peces seleccionados fueron colocados en cuatro piscinas las cuales estuvieron divididas en cuatro unidades experimentales, obteniendo un total de 16 u.e. La limpieza en los estanques se realizó de forma diaria, reduciendo los índices de mortalidad y retirando la materia orgánica.

Figura 6

Instalación del proyecto



Alimentación

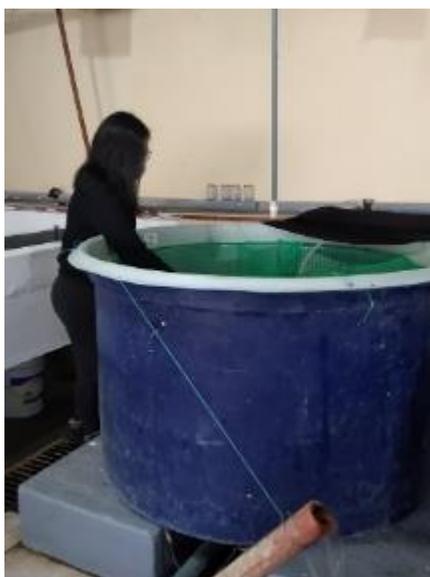
Se disolvió 2g de gelatina sin sabor en agua caliente, se enfrió hasta alcanzar una temperatura entre 15 a 20°C. Se pesó 1 kg de alimento balanceado y fue rociado con la solución de gelatina, para posteriormente agregar las dosis de noni liofilizado, proceso que se debe repetir para las tres dosis 2,5, 5 y 7,5 g.kg⁻¹. Finalmente se secó y almacenó en fundas ziploc y se conservó a -4°C. Se alimentó a los alevines con una frecuencia de 8 veces al día hasta alcanzar un peso promedio de 20 g.

Figura 7

Preparación del alimento

**Figura 8**

Dietas suministradas



Análisis bromatológico

El alimento suministrado a los alevines fue de la marca Piscis de Skretting, tipo 3 y 4 con diámetro de 1.2 mm y 1.7 mm respectivamente, este producto es extrusado. El tipo 3 fue suministrado 8 veces al día hasta los 10 g mientras que el tipo 4 hasta el final de la experimentación, a continuación, se muestra los valores obtenidos en el análisis bromatológico con la adición de los distintos niveles de noni, realizado en las

instalaciones del laboratorio de química de la Carrera de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias – IASA 1.

Tabla 3

Análisis bromatológico del alimento balanceado + inclusión de noni

Tratamiento	Proteína %	Cenizas %	Humedad %	Fibra %	Grasa %
T1	43,47	11,46	2,84	3,62	17,46
T2	43,56	11,38	2,88	3,64	17,49
T3	44,73	11,26	3,15	3,54	14,01
T4	44,01	11,26	3,02	3,44	13,77

Inducción a estrés oxidativo

Luego de transcurrir los 60 días de la alimentación con la inclusión de noni en la dieta de los alevines, se utilizó 4 acuarios del laboratorio de recursos acuáticos, en los cuales se dispuso a 5 alevines de cada tratamiento, para ser inducidos a estrés mediante la utilización de un insecticida organofosforado. Se empleó 10 $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ de chlorpyrifos para cada uno de los acuarios y se expuso a los peces en esta solución por un periodo de 48 horas. La alimentación fue la misma a la que fueron suministrados en la fase de campo, este proceso se realizó durante 5 días incluyendo los días de exposición a chlorpyrifos.

Figura 9

Alevines expuestos a insecticida organofosforado

**Diseño experimental*****Características de las unidades experimentales***

La experimentación contó con 16 unidades experimentales, en cada una se dispuso de 50 peces, teniendo un total de 800 peces en el ensayo y para la submuestra 15 alevines.

Factores

Porcentaje de inclusión de noni liofilizado en el balanceado

T1: Balanceado sin noni liofilizado - Control

T2: Balanceado + 2,5 % de noni liofilizado

T3: Balanceado + 5 % de noni liofilizado

T4: Balanceado + 7,5 % de noni liofilizado

Tratamientos

Tabla 4

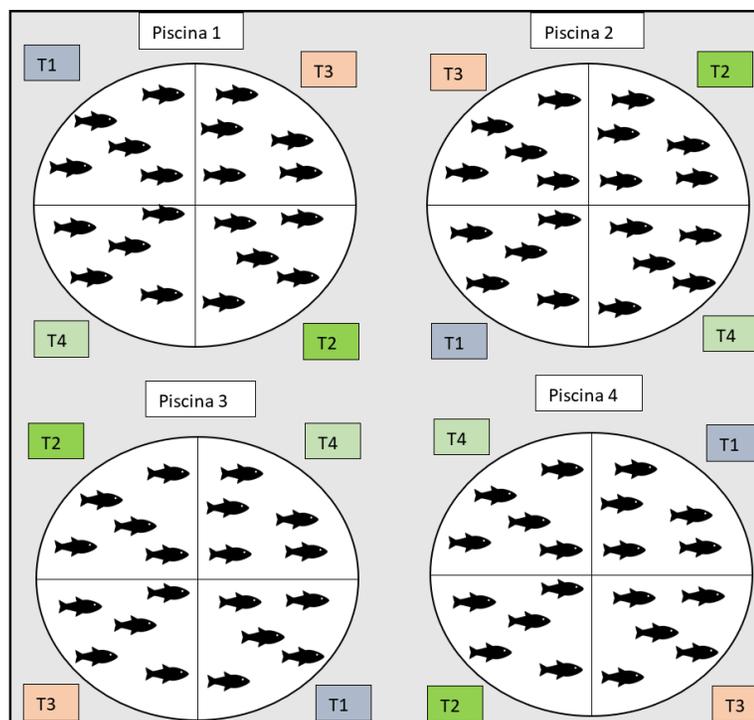
Descripción de los tratamientos experimentales

Tratamiento	Descripción	Noni liofilizado
T1	Alimento balanceado (control)	-
T2	Alimento balanceado	2,5 g.kg ⁻¹
T3	Alimento balanceado	5 g.kg ⁻¹
T4	Alimento balanceado	7,5 g.kg ⁻¹

Croquis

Figura 10

Distribución de tratamientos



Modelo matemático

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) y una estructura de parcelas unifactorial con 4 repeticiones.

$$Y_{ij} = \mu + I_i + E_{ji}$$

Donde:

Y_{ij} = desempeño productivo

μ = media general

I_i = efecto del i-ésimo nivel de inclusión de noni (*Morinda citrifolia* Linn)

E_{ji} = error experimental asociado a la ij-ésima unidad experimental

Evaluación de variables en campo

Variables morfométricas

Peso corporal. – esta variable fue medida cada diez días a partir del ingreso de los alevines obteniendo un total de siete lecturas, con la ayuda de una balanza electrónica se pesó a 15 alevines de cada tratamiento, el peso fue tomado en gramos.

Longitud cauda y total. – fue cuantificada desde el extremo frontal hasta la bifurcación de la aleta caudal, mientras que la longitud total fue medida desde el extremo frontal hasta el extremo caudal, ambos valores fueron expresados en centímetros, estas medidas se realizaron cada diez días a partir del ingreso de los alevines obteniendo un total de siete lecturas por cada variable, este proceso se realizó a 15 alevines de cada tratamiento con la ayuda de un ictiómetro.

Figura 11

Medición de longitud parcial, total y ancho a alevines



Variables productivas

Ganancia de peso ($g \cdot d^{-1}$), con la utilización de la fórmula a continuación fue determinada la ganancia de peso semanal:

$$gp = \frac{\text{peso final (g)} - \text{peso inicial (g)}}{\text{tiempo (días)}}$$

Tasa de crecimiento específico (%), para la evaluación del crecimiento de los alevines en 10 días se utilizó la siguiente fórmula:

$$TCE = \frac{\ln \text{Peso final} - \ln \text{Peso inicial}}{\text{tiempo final} - \text{tiempo inicial}} \times 100$$

Índice de condición corporal, la siguiente fórmula permitió conocer la condición del alevín que desarrolló durante el tiempo de experimentación.

$$ICC = \frac{\text{Peso}}{\text{Longitud total}^3} \times 100$$

Mortalidad (%), para estimar el porcentaje de mortalidad se empleó la siguiente fórmula:

$$M = \frac{\text{Número de peces vivos}}{\text{Número de peces muertos}} \times 100$$

Toma de muestras y evaluación de variables en laboratorio

Los análisis de las muestras hematológicas se realizaron a 20 individuos de cada tratamiento.

Toma de muestras

Se emplearon jeringas de 1 mL heparinizadas con agujas de calibre 26 G, las muestras fueron recolectadas por punción en la arteria caudal a un ángulo de 45°, tomando como referencia la línea media del pez. De cada individuo se tomó entre 0.6 a 0.8 mL de sangre, estas muestras fueron colocadas en microtubos de 1 mL que fueron previamente rotulados y auto clavados. Para el traslado de las muestras al laboratorio, fueron colocados en un cooler con friogel para mantener las muestras a una temperatura de -4°C.

Figura 12

Extracción de sangre



En el caso del hematocrito se utilizó un capilar para cada muestra de sangre, se absorbió una muestra de sangre de acuerdo con la lectura de la tabla Critocaps, para luego ser sellados con plastilina, posteriormente fueron situados en tubos de ensayo los cuales estaban rotulados. Las muestras fueron centrifugadas a 2400 rpm durante 10 minutos, transcurrido este tiempo se realizó la lectura de la columna de sangre, que da como resultado un empaquetamiento máximo de los eritrocitos. Este análisis sanguíneo se realiza para conocer el volumen de glóbulos rojos con relación al total de la sangre, esto permite detectar enfermedades de la sangre.

Figura 13

Absorción de sangre para hematocrito

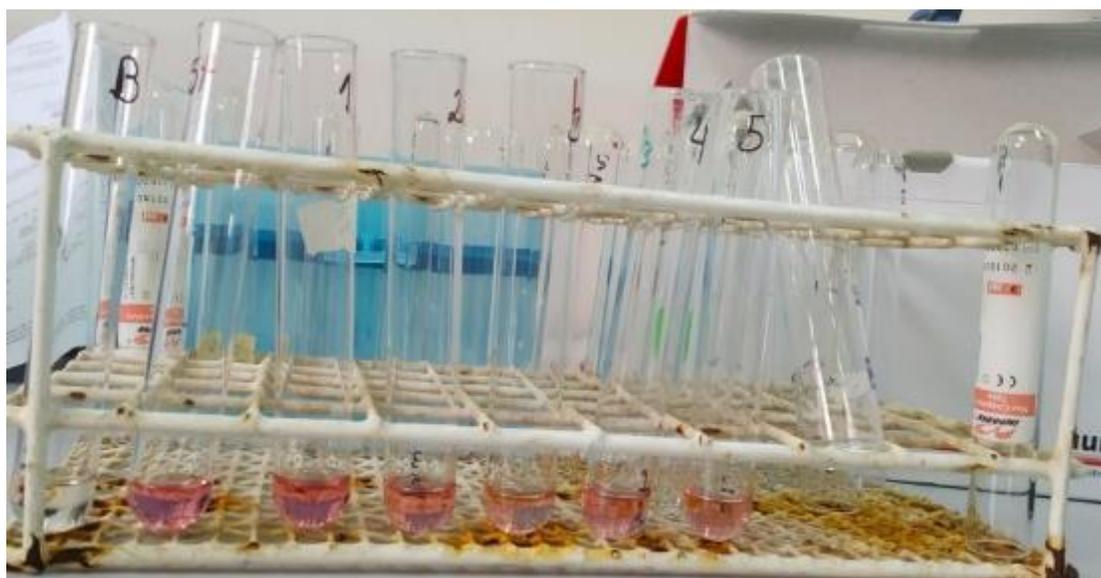


Para la obtención del plasma de sangre se tomó 100 μ L de sangre de cada muestra y se colocó en microtubos previamente rotulados, a continuación, se distribuyó en la micro centrifugadora por 10 minutos a 3600 rpm.

En análisis de glucosa permite medir la cantidad de azúcar en sangre, este estudio se realizó a través del kit Human Glucose, se rotuló cada tubo de ensayo respecto al número de muestras, además se añadió un tubo para el blanco y estándar, en el blanco se colocó 1mL del reactivo del kit, en el estándar se depositó 1mL del reactivo + 10 µL del estándar, posteriormente en los tubos correspondientes a las muestras se colocó 1mL de reactivo + 10 µL del plasma sanguíneo. Se debe incubar por un lapso de 10 minutos a una temperatura de 20 a 25 °C.

Figura 14

Incubación de muestras para el análisis de glucosa



Se midió la absorbancia a través de un espectrofotómetro a 546 nm, el cual deberá estar encerrado con el blanco y calibrado con el estándar. Se utilizó la siguiente fórmula para el análisis de los datos obtenidos por el espectrofotómetro.

$$Gluc (mg.dL^{-1}) = 100 \times \frac{\Delta A_{Muestra}}{\Delta A_{Estándar}}$$

El análisis de proteínas totales mide el conjunto total de dos proteínas encontradas en la porción líquida del plasma, tanto albúmina y globulina. Esta lectura se realizó utilizando el kit Human Total Protein liquicolor, se dispuso 1 mL de reactivo en los tubos de ensayo previamente rotulados, el primer tubo corresponde al blanco, el segundo tubo pertenece al estándar en el cual se adicionó 20 μ L del estándar STD, mientras que en los demás tubos se añadió 20 μ L del plasma sanguíneo. Las muestras fueron incubadas por un lapso de 10 minutos a 20 a 25 $^{\circ}$ C, las lecturas fueron dadas a través de un espectrofotómetro a 546 nm, este aparato fue calibrado con el estándar y encerado con el blanco. Se empleó la siguiente ecuación:

$$PT (g.dL^{-1}) = 8 \times \frac{\Delta A_{Muestra}}{\Delta A_{Estándar}}$$

Figura 15

Incubación de muestras para el análisis de proteína



La albúmina es medida generalmente para la identificación de posibles complicaciones a nivel de hígado o riñones, adicionalmente se puede identificar déficits nutricionales. Para la lectura de este análisis se desarrolló mediante la utilización kit de Human Albumin liquicolor, se colocó 1 mL de reactivo en cada tubo de ensayo,

adicionalmente en los tubos se colocó 10 μL de plasma sanguíneo de cada muestra, mientras que a un tubo se adicionó 10 μL del estándar. Deben ser incubadas a 20 – 25 $^{\circ}\text{C}$ por un lapso de 5 minutos. Estas muestras fueron leídas a través de un espectrofotómetro a 578 nm, el cual fue previamente encerado con el blanco y calibrado con el estándar, para el análisis se empleó la siguiente fórmula:

$$\text{Alb (g.dL}^{-1}\text{)} = 4 \times \frac{\Delta A_{\text{Muestra}}}{\Delta A_{\text{Estándar}}}$$

Figura 16

Incubación de muestras para el análisis de albúmina



La globulina es una proteína producida por el sistema inmunitario en el hígado y juegan un papel importante en su funcionamiento, participa en la coagulación de la sangre y batalla con las infecciones, para obtener los resultados se aplicó la siguiente fórmula debido que la suma de proteínas totales es la suma entre albúmina y globulina:

$$\text{Glob (g.L}^{-1}\text{)} = \text{PT} - \text{Alb}$$

El recuento de eritrocitos y leucocitos se utilizó la solución de Natt-Herrick, misma que fue usada como mancha y diluyente. Se dispuso una dilución 1:200 de la sangre, mediante la utilización de una micropipeta para añadir 5 μL de sangre a 1 mL de la solución para después ser mezclada, la sangre diluida fue depositada 20 μL en una cámara de recuento (hemocitómetro o cámara de Neubauer), se dejó reposar durante 5 minutos y posteriormente se llevó al microscopio para realizar el recuento con el lente de 40x. El conteo de eritrocitos se realizó en los cinco cuadrados, situados en las cuatro esquinas y el cuadro central del retículo central de la cámara, mientras que el conteo leucocitario se realizó en los cuadros centrales grandes.

El número de eritrocitos contabilizados se multiplicó por 10000 y es expresado en $\text{cél} \times 10^6 \cdot \mu\text{L}^{-1}$, mientras que el número de leucocitos contados se multiplicó por 2000 y se expresa en $\text{cél} \times 10^4 \cdot \mu\text{L}^{-1}$.

Para la morfología leucocitaria se realizó a través de un frotis sanguíneo que fue fijado con metanol al 99.9%, se dejó secar y se añadió el colorante Wrigth durante 15 minutos, luego se lavó las muestras con agua destilada y se dejó secar, para poder ser observado en el microscopio con un lente de 100x y aceite de inmersión.

Figura 17

Frotis sanguíneos

**Figura 18**

Frotis sanguíneos teñidos con la solución Wrigh

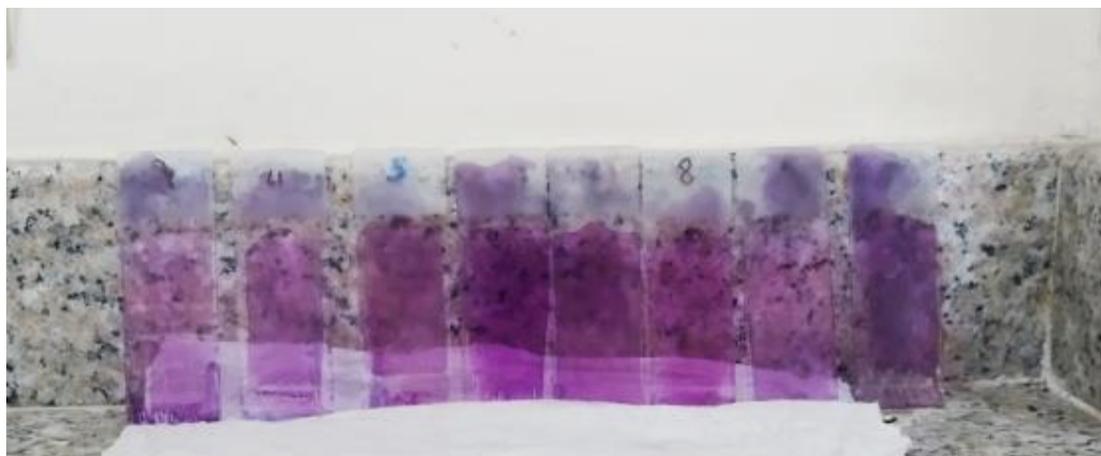
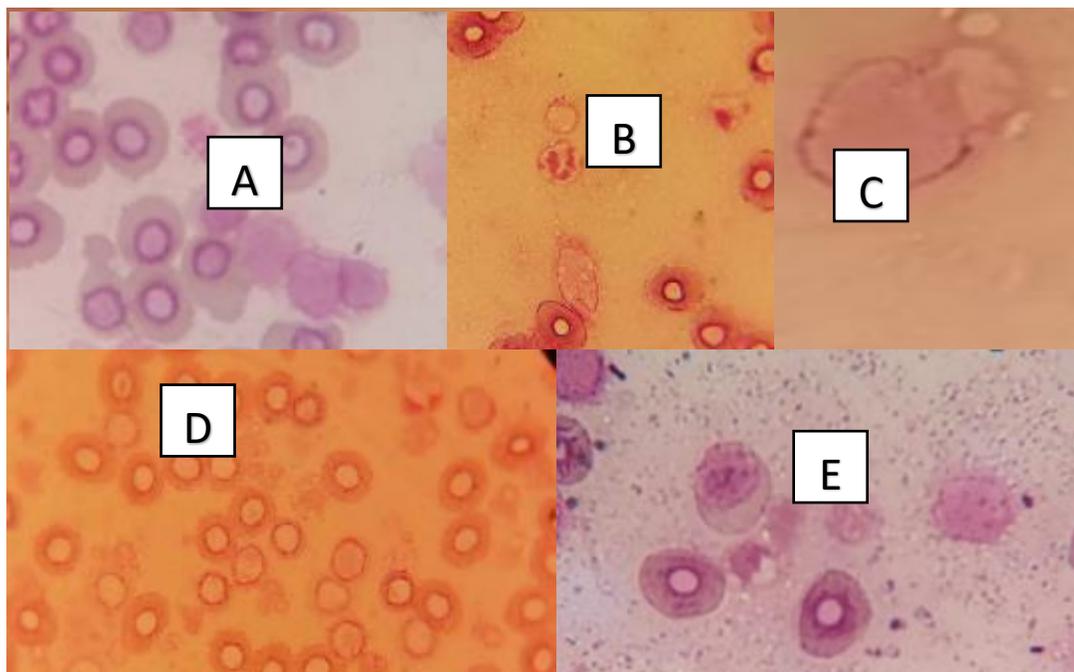


Figura 19

*Tipos de leucocitos encontrados en *Oncorhynchus mykiss**



Nota. A) Linfocito, B) Neutrófilo, C) Monocito, D) Eosinófilo y E) Basófilo. Elaboración propia

Evaluación de cortes histológicos

Los peces que fueron expuestos a estrés fueron sacrificados a los 5 días de experimentación en los acuarios, fueron adormecidos con eugenol para extraer los órganos internos (hígados y branquias). Estas muestras fueron conservadas en tubos Falco y formalina al 10%. Para el proceso histológico se realizó cortes de 7 μ m y teñidos con Hematoxilina – Eosina, finalmente las muestras fueron fijadas en los portaobjetos y observadas al microscopio.

Análisis estadístico

Las variables morfométricas, productivas y hematológicas fueron caracterizadas con estadística descriptiva (media y desviación estándar). Se comparó las medias de

los tratamientos para las variables morfométricas, productivas y hematológicas con un análisis de varianza y pruebas de Tukey. Todo el análisis tuvo un nivel de confianza del 95% y se realizaron en el software estadístico Infostat.

Capítulo IV

Resultados y discusión

Resultados

Parámetros morfométricos

La inclusión de noni en la dieta balanceada de los alevines no mostró diferencias significativas para el peso, longitud total, parcial y ancho ($F=0,04$; $p=0,9879$), ($F=0,03$; $p=0,9945$), ($F=0,03$; $p=0,9918$) y ($F=10,31$ $p=0,8169$) respectivamente (Tabla 5). La media final del proceso mantuvo un rango de $19,43 \pm 1,19$ g hasta $20,51 \pm 0,96$ g para el peso, mientras que para la longitud total y parcial (cm) se mantuvo en un rango de $12,00 \pm 0,24$; $10,84 \pm 0,25$ hasta $12,20 \pm 0,20$; $11,06 \pm 0,17$ respectivamente. Así también, para el ancho (cm) tuvo un rango de $2,24 \pm 0,02$ hasta $2,29 \pm 0,08$.

Tabla 5

*Promedio \pm desviación estándar del peso, longitud total, parcial y ancho de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 4 dietas a base de *Morinda citrifolia* Linn*

Tiempo (días)	% Noni	Peso (g)	Largo Total (cm)	Largo Parcial (cm)	Ancho (cm)
0	0	$3,12 \pm 0,27$	$6,51 \pm 0,19$	$5,58 \pm 0,08$	$1,36 \pm 0,06$
	2,5	$3,31 \pm 0,09$	$6,64 \pm 0,07$	$5,74 \pm 0,13$	$1,41 \pm 0,03$
	5	$3,07 \pm 0,16$	$6,46 \pm 0,12$	$5,52 \pm 0,10$	$1,29 \pm 0,13$
	7,5	$3,08 \pm 0,27$	$6,48 \pm 0,18$	$5,53 \pm 0,10$	$1,31 \pm 0,04$
10	0	$6,38 \pm 0,46$	$8,27 \pm 0,19$	$7,25 \pm 0,14$	$1,56 \pm 0,05$
	2,5	$6,50 \pm 0,21$	$8,33 \pm 0,09$	$7,32 \pm 0,10$	$1,57 \pm 0,01$
	5	$6,40 \pm 0,35$	$8,28 \pm 0,15$	$7,30 \pm 0,15$	$1,62 \pm 0,03$

Tiempo (días)	% Noni	Peso (g)	Largo Total (cm)	Largo Parcial (cm)	Ancho (cm)
20	7,5	6,13 ± 0,15	8,17 ± 0,07	7,19 ± 0,06	1,57 ± 0,01
	0	8,32 ± 0,09	9,04 ± 0,04	8,01 ± 0,03	1,73 ± 0,02
	2,5	8,07 ± 0,31	8,96 ± 0,11	7,94 ± 0,11	1,73 ± 0,05
	5	8,14 ± 0,22	8,99 ± 0,08	7,98 ± 0,08	1,99 ± 0,48
	7,5	8,12 ± 0,21	8,98 ± 0,08	7,93 ± 0,10	1,70 ± 0,03
30	0	9,37 ± 0,15	9,41 ± 0,06	8,36 ± 0,09	1,78 ± 0,05
	2,5	9,21 ± 0,35	9,36 ± 0,12	8,35 ± 0,12	1,75 ± 0,03
	5	9,23 ± 0,23	9,37 ± 0,08	8,36 ± 0,08	1,84 ± 0,21
	7,5	9,10 ± 0,23	9,32 ± 0,08	8,28 ± 0,06	1,74 ± 0,02
40	0	14,18 ± 0,43	10,78 ± 0,10	9,74 ± 0,14	2,04 ± 0,07
	2,5	14,03 ± 0,62	10,77 ± 0,16	9,72 ± 0,14	1,91 ± 0,11
	5	14,16 ± 0,66	10,79 ± 0,17	9,78 ± 0,19	2,00 ± 0,04
	7,5	13,55 ± 0,79	10,64 ± 0,21	9,44 ± 0,41	1,95 ± 0,05
50	0	17,10 ± 0,97	11,48 ± 0,23	10,24 ± 0,24	2,14 ± 0,06
	2,5	16,66 ± 1,09	11,39 ± 0,26	10,33 ± 0,20	2,08 ± 0,02
	5	17,19 ± 0,94	11,52 ± 0,21	10,37 ± 0,22	2,12 ± 0,04
	7,5	15,94 ± 0,64	11,24 ± 0,15	10,20 ± 0,13	2,08 ± 0,04
60	0	20,51 ± 0,96	12,20 ± 0,20	11,06 ± 0,17	2,29 ± 0,08
	2,5	20,08 ± 1,96	12,10 ± 0,40	10,95 ± 0,28	2,28 ± 0,05
	5	20,06 ± 1,51	12,12 ± 0,30	10,78 ± 0,37	2,27 ± 0,04
	7,5	19,43 ± 1,19	12,00 ± 0,24	10,84 ± 0,25	2,24 ± 0,02

Parámetros productivos

Del mismo modo que en los parámetros métricos, no existen diferencias significativas entre tratamientos para la ganancia de peso, tasa de crecimiento específico ($F=0,09$; $p=0,9676$) y ($F=0,03$; $p=0,9942$) respectivamente; en el caso del índice de condición corporal se mantuvo constante, debido a que es la relación entre el peso y la longitud³. La media a los 60 días de experimentación se mantuvo en un rango de $0,35 \pm 0,35$ hasta $0,34 \pm 0,04$; $1,94 \pm 0,22$ hasta $1,84 \pm 0,21$ para la ganancia de peso y tasa de crecimiento específico respectivamente, de manera similar el índice de condición corporal se mantuvo en $1,12 \pm 0,00$ (Tabla 6).

Tabla 6

*Promedio \pm desviación estándar de la ganancia del peso, tasa de crecimiento específico e índice de condición corporal de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 4 dietas a base de *Morinda citrifolia* Linn*

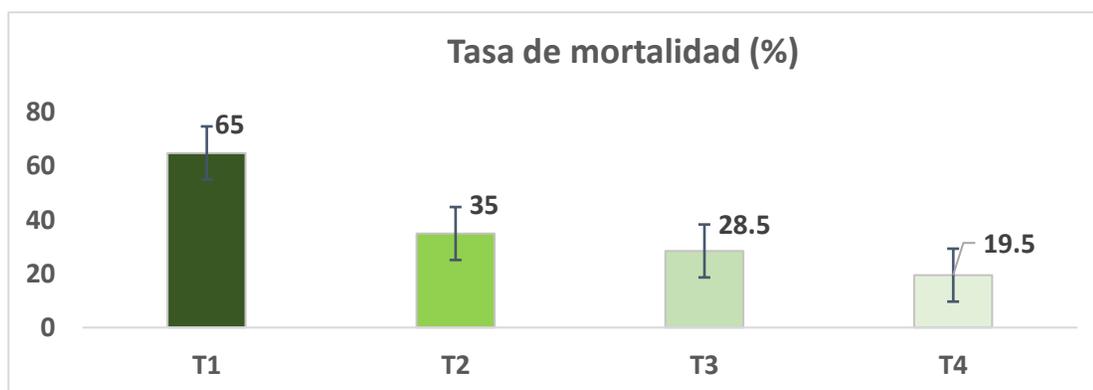
Tiempo (días)	% Noni	Ganancia de peso (g/día)	TCE (%)	ICC
10	0	$0,33 \pm 0,06$	$7,19 \pm 1,29$	$1,12 \pm 0,00$
	2,5	$0,32 \pm 0,12$	$6,80 \pm 0,37$	$1,12 \pm 0,00$
	5	$0,33 \pm 0,05$	$7,49 \pm 0,92$	$1,12 \pm 0,00$
	7,5	$0,33 \pm 0,03$	$7,00 \pm 0,85$	$1,12 \pm 0,00$
20	0	$0,20 \pm 0,04$	$2,69 \pm 0,60$	$1,12 \pm 0,00$
	2,5	$0,16 \pm 0,02$	$2,21 \pm 0,28$	$1,12 \pm 0,00$
	5	$0,18 \pm 0,03$	$2,47 \pm 0,42$	$1,12 \pm 0,00$
	7,5	$0,20 \pm 0,02$	$2,85 \pm 0,35$	$1,12 \pm 0,00$
30	0	$0,11 \pm 0,01$	$1,23 \pm 0,11$	$1,12 \pm 0,00$

Tiempo (días)	% Noni	Ganancia de peso (g/día)	TCE (%)	ICC	
40	2,5	0,11 ± 0,02	1,33 ± 0,20	1,12 ± 0,00	
	5	0,11 ± 0,00	1,26 ± 0,02	1,12 ± 0,00	
	7,5	0,10 ± 0,01	1,15 ± 0,07	1,12 ± 0,00	
	0	0,48 ± 0,05	4,03 ± 0,29	1,12 ± 0,00	
	2,5	0,48 ± 0,06	4,17 ± 0,43	1,12 ± 0,00	
	5	0,49 ± 0,04	4,19 ± 0,26	1,12 ± 0,00	
	7,5	0,45 ± 0,09	3,95 ± 0,68	1,12 ± 0,00	
	0	0,29 ± 0,12	1,88 ± 0,70	1,12 ± 0,00	
	50	2,5	0,26 ± 0,07	1,69 ± 0,38	1,12 ± 0,00
		5	0,30 ± 0,06	1,97 ± 0,38	1,12 ± 0,00
		7,5	0,24 ± 0,02	1,64 ± 0,19	1,12 ± 0,00
		0	0,34 ± 0,04	1,84 ± 0,21	1,12 ± 0,00
60	2,5	0,34 ± 0,08	1,78 ± 0,32	1,12 ± 0,00	
	5	0,29 ± 0,07	1,51 ± 0,20	1,12 ± 0,00	
	7,5	0,35 ± 0,35	1,94 ± 0,22	1,12 ± 0,00	

La tasa de mortalidad mostró diferencias significativas para los diferentes niveles de inclusión de noni ($F=5,68$; $p=0,0013$), los alevines suplementados con el tratamiento T1 presentó 65% de mortalidad a diferencia de los alevines suplementados con el tratamiento T4 que presentó el 19,5% (Figura 20).

Figura 20

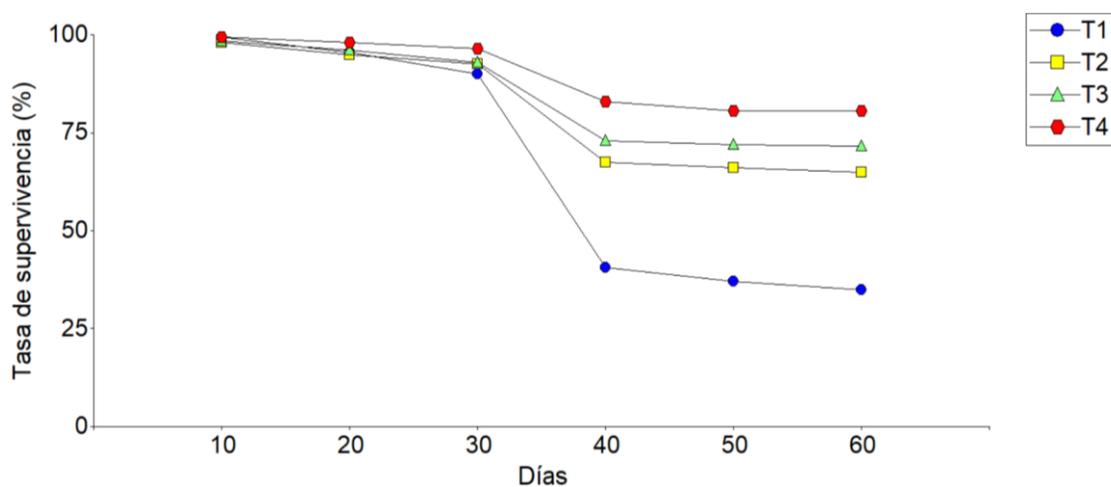
Tasa de mortalidad acumulada (%) de *Oncorhynchus mykiss* para los distintos tratamientos al culminar la experimentación



La tasa de supervivencia mostró diferencias significativas entre tratamientos ($F=5,51$; $p=0,0016$), los alevines suplementados con el tratamiento T4 presentó 89,67% mayor que el tratamiento control (Figura 21).

Figura 21

Comportamiento de la tasa de supervivencia (%) de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 4 dietas a base de *Morinda citrifolia* Linn a través del tiempo



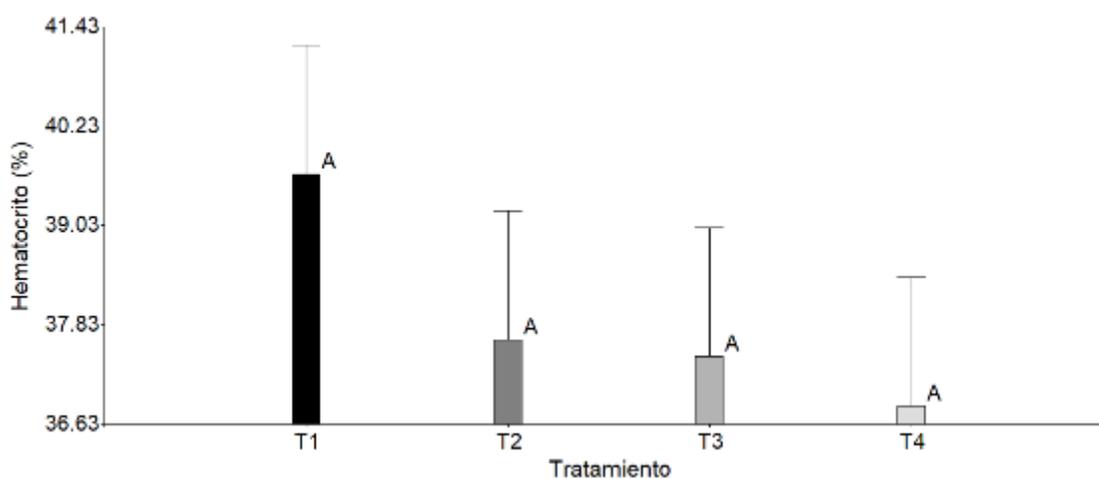
Parámetros hematológicos

El porcentaje de hematocrito no presentó diferencias significativas entre tratamientos ($F= 0,61$; $p= 0,6126$) (Figura 22), sin embargo, los rangos de comportamiento para esta etapa fisiológica en trucha arco iris van desde 36,85 hasta el 39,65%.

La glucosa presente en alevines mostró diferencias significativas para los distintos niveles de inclusión de noni ($F=14,41$; $p<0,0001$). El tratamiento T2 muestra una concentración de $41.79 \text{ mg. dL}^{-1}$, menor que el tratamiento control con una concentración de $85.85 \text{ mg. dL}^{-1}$ (Figura 23).

Figura 22

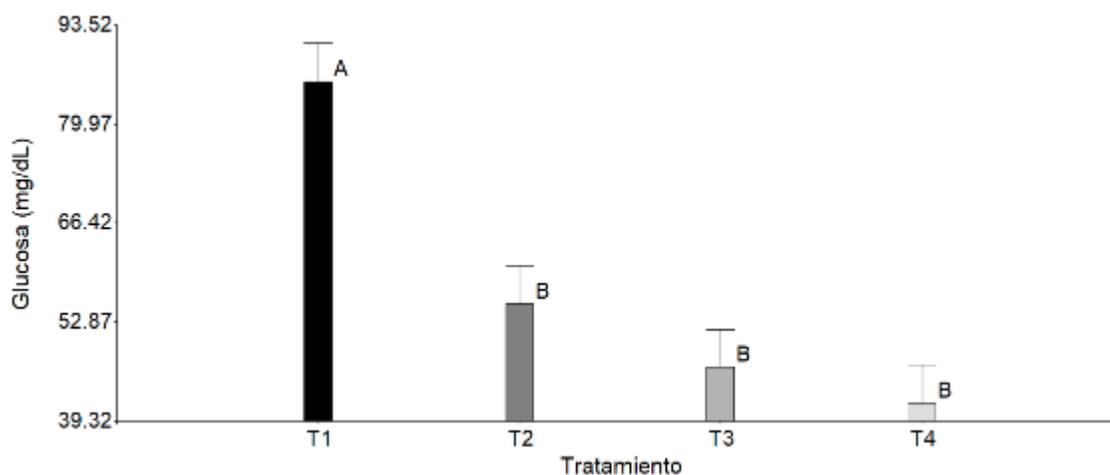
*Promedio \pm desviación estándar del porcentaje de hematocrito de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 4 dietas a base de *Morinda citrifolia* Linn*



Nota. Medias con letras distintas difieren estadísticamente (Tukey, $\alpha 0,05$)

Figura 23

*Promedio \pm desviación estándar de la glucosa de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 4 dietas a base de *Morinda citrifolia* Linn tras 60 días de evaluación*

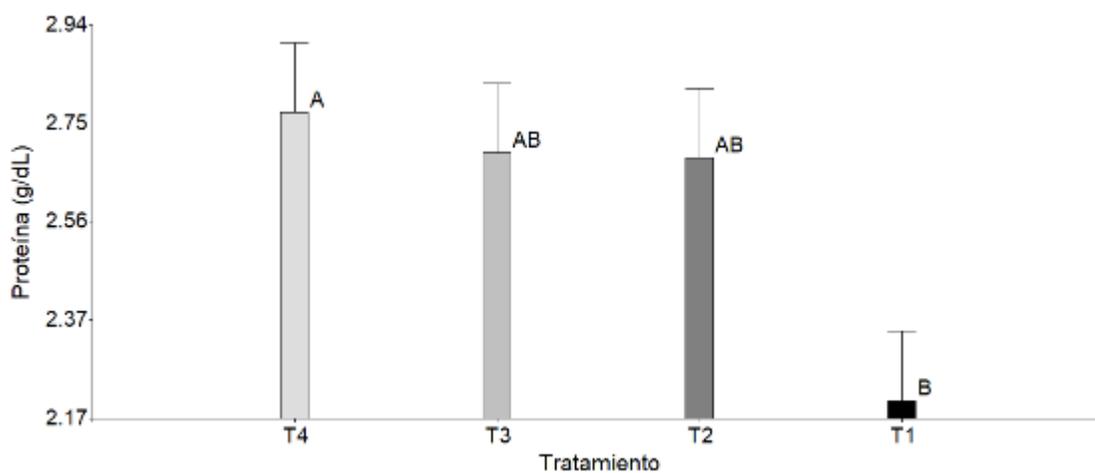


Nota. Medias con letras distintas difieren estadísticamente (Tukey, α 0,05)

La proteína mostró diferencias significativas entre los distintos niveles de inclusión de noni ($F=3,61$; $p=0,0171$). Los alevines suplementados con el tratamiento T4 fue de $2,77 \text{ g. dL}^{-1}$ con respecto a los del tratamiento T1 que tuvieron $2,21 \text{ g. dL}^{-1}$ (Figura 24). Mientras que la globulina no presentó diferencias significativas entre tratamientos; no obstante, los rangos de comportamiento para esta etapa fisiológica en trucha arco iris van desde $1,26$ hasta $1,56 \text{ g. dL}^{-1}$. ($F=0,97$; $p=0,4135$) (Figura 25). Por otra parte, la albúmina presentó diferencias significativas entre tratamientos ($F=5,17$; $p=0,0026$). El tratamiento T2 y T4 muestra una concentración de $1,26$ y $1,22 \text{ g. dL}^{-1}$ respectivamente, mayores que el tratamiento testigo con una concentración $0,95 \text{ g. dL}^{-1}$ (Figura 26).

Figura 24

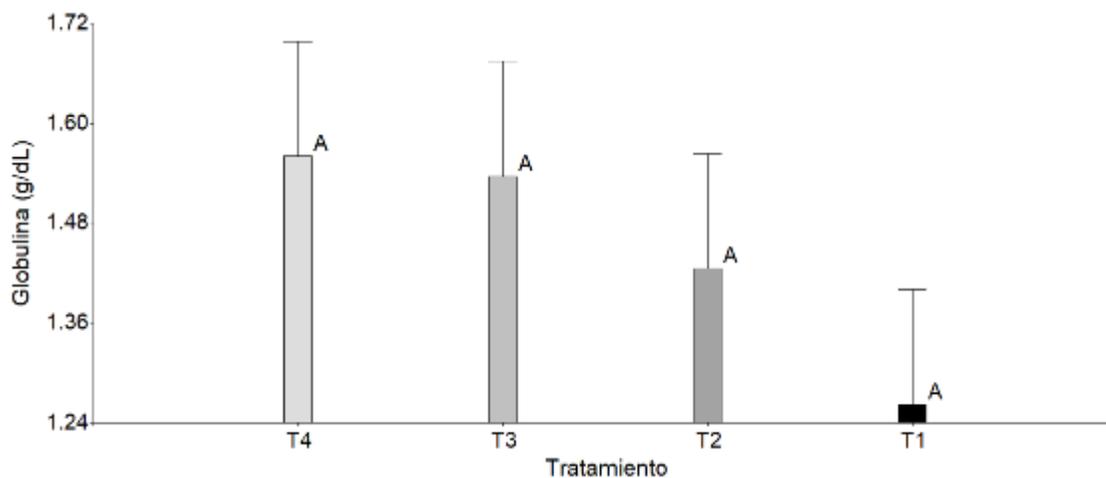
*Promedio \pm desviación estándar de la proteína de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 4 dietas a base de *Morinda citrifolia* Linn*



Nota. Medias con letras distintas difieren estadísticamente (Tukey, α 0,05)

Figura 25

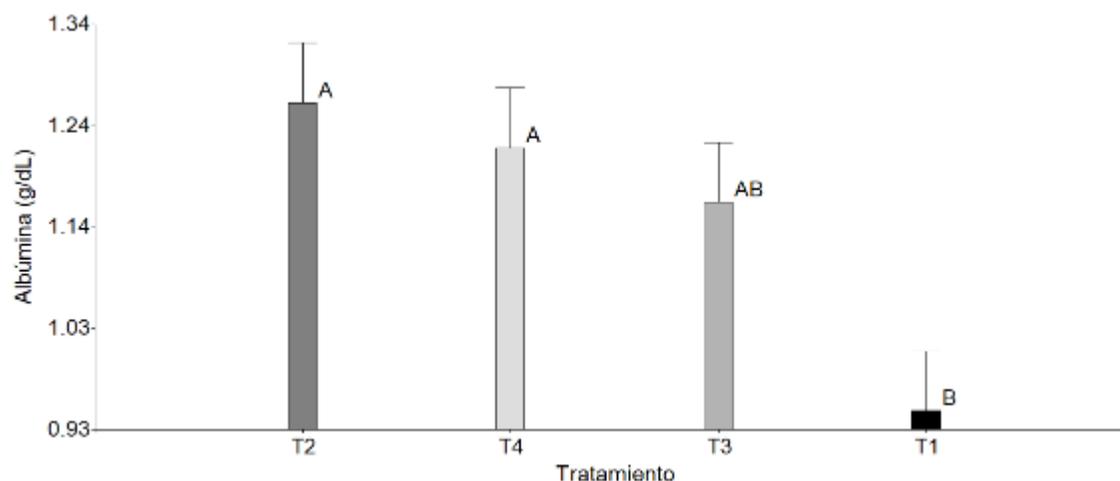
*Promedio \pm desviación estándar de la globulina de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 4 dietas a base de *Morinda citrifolia* Linn*



Nota. Medias con letras distintas difieren estadísticamente (Tukey, α 0,05)

Figura 26

*Promedio \pm desviación estándar de la albúmina de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 4 dietas a base de *Morinda citrifolia* Linn*

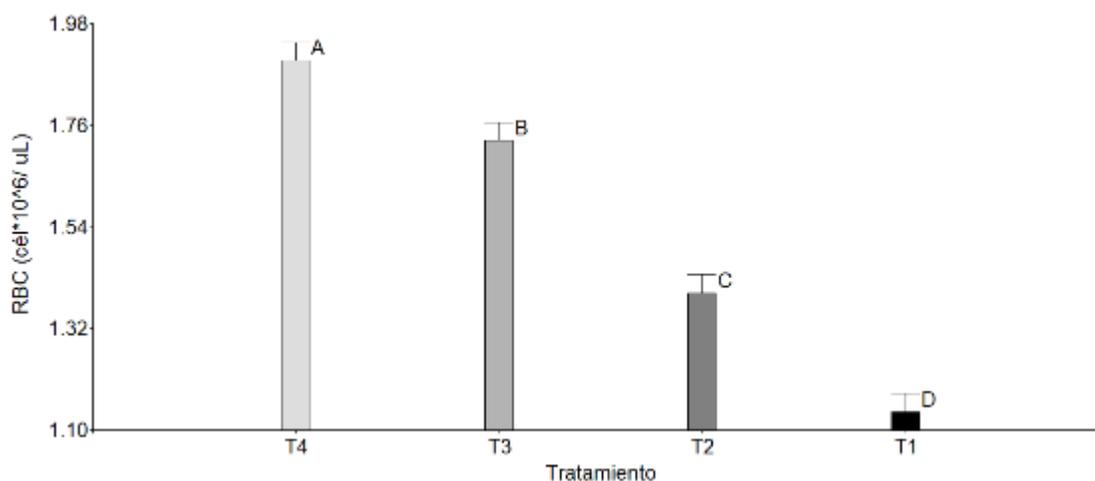


Nota. Medias con letras distintas difieren estadísticamente (Tukey, α 0,05)

El conteo de glóbulos rojos presente en los alevines mostró diferencias significativas para los diferentes niveles de inclusión de noni ($F=71,03$; $p<0,0001$). Los alevines alimentados con el tratamiento T4 presentó $1,90 \text{ cél} \times 10^6 \cdot \mu\text{L}^{-1}$ respecto al tratamiento T1 que fue de $1,14 \text{ cél} \times 10^6 \cdot \mu\text{L}^{-1}$ (Figura 27).

Figura 27

*Promedio \pm desviación estándar del RBC de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 4 dietas a base de *Morinda citrifolia* Linn*



Nota. Medias con letras distintas difieren estadísticamente (Tukey, α 0,05)

El recuento leucocitario presentó diferencias significativas entre los distintos niveles de inclusión de noni ($F=31,46$; $p<0,0001$). El tratamiento T4 fue mayor, con un valor de $5,73 \text{ cél} \times 10^4 \cdot \mu\text{L}^{-1}$, a diferencia del tratamiento control presentando un valor de $3,05 \text{ cél} \times 10^4 \cdot \mu\text{L}^{-1}$ (Tabla 7). En cuanto al conteo celular de linfocitos presentaron diferencias significativas entre tratamientos ($F=26,12$; $p<0,0001$). Los especímenes suplementados con el tratamiento T4 fue de $4,95 \text{ cél} \times 10^4 \cdot \mu\text{L}^{-1}$, mayor que el tratamiento T1 que obtuvo un valor de $2,83 \text{ cél} \times 10^4 \cdot \mu\text{L}^{-1}$ (Tabla 7). Así mismo, el recuento celular de neutrófilos mostró diferencias significativas entre tratamientos ($F=16,17$; $p<0,0001$). Los alevines alimentados con el tratamiento T4 tuvo una concentración de $0,45 \text{ cél} \times 10^4 \cdot \mu\text{L}^{-1}$ con respecto al tratamiento T1 con una concentración de $0,13 \text{ cél} \times 10^4 \cdot \mu\text{L}^{-1}$ (Tabla 7). De forma similar el conteo celular de monocitos mostró diferencias significativas entre tratamientos ($F=9,00$; $p<0,0001$). Los

monocitos de los alevines suplementados con el tratamiento T4 presentaron una concentración de $0,30 \text{ cél} \times 10^4 \cdot \mu\text{L}^{-1}$ a diferencia del tratamiento control que fue de $0,06 \text{ cél} \times 10^4 \cdot \mu\text{L}^{-1}$.

Mientras que el porcentaje de eosinófilos y basófilos no presentaron diferencias significativas entre tratamientos ($F=0,16$; $p=0,9212$) y ($F=0,92$; $p=0,4355$) respectivamente (Tabla 7).

Tabla 7

*Promedio \pm desviación estándar de la WBC, linfocitos, neutrófilos, monocitos, neutrófilos y basófilos de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 4 dietas a base de *Morinda citrifolia* Linn. n=20*

Variables (cél x 10⁴. μL⁻¹)	WBC	Linfocitos	Neutrófilos	Monocitos	Eosinófilos	Basófilos
Tratamiento						
0% de noni	3,05 \pm 0,68 c	2,83 \pm 0,064 b	0,13 \pm 0,08 b	0,06 \pm 0,05 c	0,03 \pm 0,04	0,21 \pm 0,95
2,5% de noni	4,80 \pm 0,88 b	4,39 \pm 0,79 a	0,26 \pm 0,11 b	0,11 \pm 0,07 bc	0,02 \pm 0,03	0,02 \pm 0,07
5% de noni	5,18 \pm 1,18 ab	4,55 \pm 0,97 a	0,40 \pm 0,25 a	0,20 \pm 0,25 ab	0,03 \pm 0,04	0,002 \pm 0,01
7,5% de noni	5,73 \pm 0,88 a	4,95 \pm 0,81 a	0,45 \pm 0,15 a	0,30 \pm 0,17 a	0,03 \pm 0,03	0,01 \pm 0,01

Nota. Medias en la misma columna con letra distinta son significativamente diferentes (Tukey, α 0,05)

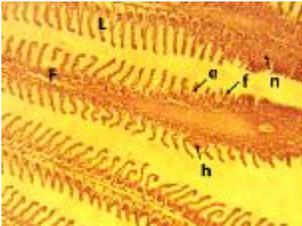
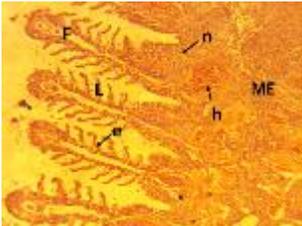
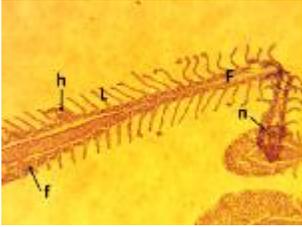
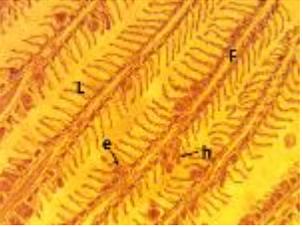
Parámetros histológicos

Tejido branquial

En la Tabla 8 se muestran imágenes comparativas de los cortes histológicos realizados en las branquias de trucha arco iris, vistos en un lente 40x. La histología de las branquias de las truchas que no fueron tratadas con la inclusión de noni presentaron cambios degenerativos a nivel lamelar, filamento y músculo estriado. De forma semejante, pero en un menor grado el T2 presenta, cambios necróticos, edemas, hiperplasia severa fusión laminar. No obstante, la histopatología de las branquias de los tratamientos que fueron administrados con el T3 y T4 presentan un menor daño, hiperplasia leve y un edema en el T3.

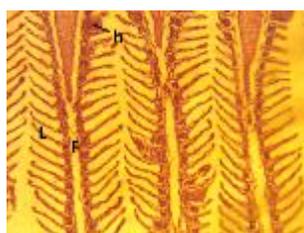
Tabla 8

*Cortes histológicos del tejido branquial de *Oncorhynchus mykiss* bajo el efecto de cuatro niveles de *Morinda citrifolia* Linn*

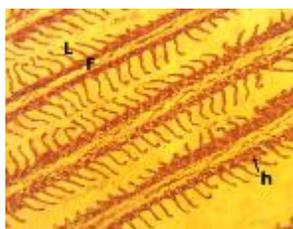
T1 (40X)			Lamelas reducidas del tamaño normal, fusión lamelar y presencia de edemas. Necrosis e hiperplasia severa en el músculo estriado y filamentos.
T2 (40X)			Fusión lamelar, edemas e hiperplasia severa en filamentos, cambios necróticos.
T3 (40X)			



T4 (40X)



Hiperplasia leve en filamentos y presencia de edemas.



Presencia de hiperplasia en filamentos

Nota. Lamelas (L), filamentos (F), hiperplasia (h), edemas (e), necrosis (n), fusión lamelar (f). Elaboración propia

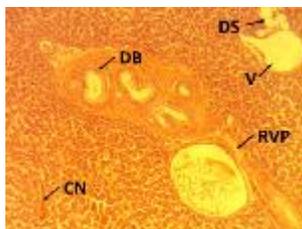
Tejido hepático

La histología del hígado del tratamiento T4 muestra un hígado normal con una masa continua de grandes células hexagonales, hepatocitos de gran tamaño, con citoplasma granular homogéneo y con una leve dilatación del espacio sinusoidal. Sin embargo, la histopatología del tratamiento control presenta un mayor daño (Tabla 9).

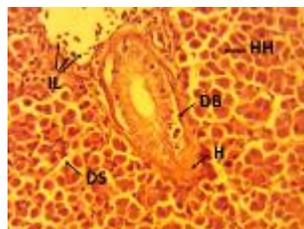
Tabla 9

*Cortes histológicos del tejido hepático de *Oncorhynchus mykiss* bajo el efecto de cuatro niveles de *Morinda citrifolia* Linn*

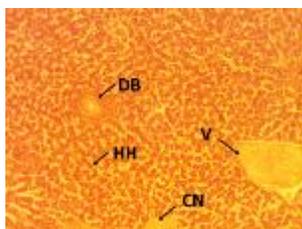
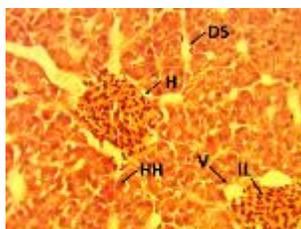
T1 (40X)



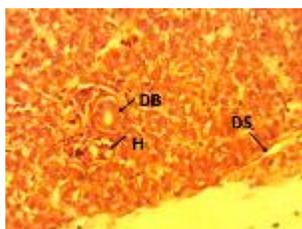
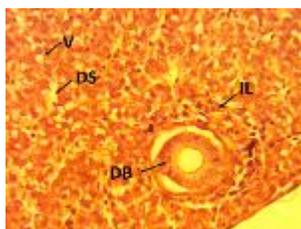
(100X)



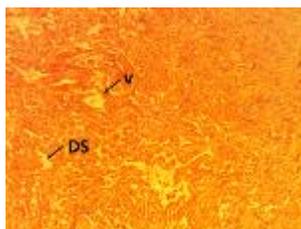
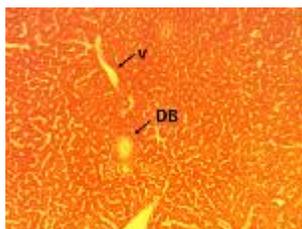
Vacuolización e hipertrofia de hepatocitos, dilatación de sinusoides, cambios necróticos, hemorragia e infiltración de leucocitos.

T2 (40X)**(100X)**

Vacuolización e hipertrofia de hepatocitos, cambios necróticos, hemorragia, infiltración de leucocitos y dilatación de sinusoides.

T3 (100X)**(100X)**

Hemorragia, vacuolización de hepatocitos, dilatación en el espacio sinusoidal, infiltración de leucocitos.

T4 (40X)

Vacuolización de hepatocitos y dilatación sinusoidal.

Nota. Ducto biliar (DB), ramas de la vena porta (RVP), vacuolización (V), dilatación sinusoidal (DS), cambios necróticos (CN), infiltración de leucocitos (IL), hipertrofia de hepatocitos (HH), hemorragia (H). Elaboración propia.

Discusión

Parámetros morfométricos y productivos

Morinda citrifolia Linn posee propiedades organolépticas poco agradables debido a los metabolitos que contiene como: ésteres trisacáridos de ácidos grasos y compuestos azufrados y volátiles como el ácido octanoico y hexanoico en proporciones de 58 y 19% respectivamente; por esta razón es muy poco consumido y se cree que es poco apreciado por los animales (Farine *et al.*, 1996; Pino *et al.*, 2010; Rivera *et al.*, 2012). Sin embargo, en el presente estudio se ha alimentado a los alevines por un

periodo de 60 días, teniendo en cuenta que hubo un crecimiento homogéneo en las variables morfométricas y productivas de los distintos tratamientos; lo que refiere que la inclusión de *Morinda citrifolia* Linn no fue rechazado por los animales.

La ganancia de peso muestra un decrecimiento a los 30 días, puesto que los peces presentaron lesiones cutáneas caracterizadas por despigmentación o manchas de color gris, en los cuales se observó estructuras algodonosas en regiones como aleta caudal y dorso, lo que posiblemente corresponde a la acumulación de hifas provenientes de saprolegnia; enfermedad que es responsable del 10% de pérdidas anuales (Sandoval *et al.*, 2014), además ciertos especímenes enfermos presentaron erosiones severas muy profundas que afectaban la piel, signos que pueden ser dados por *flabovacterium*, siendo la trucha arco iris muy susceptible y responsable de los porcentajes de mortalidad altos en etapa de alevinaje (Nilsen *et al.*, 2011).

No se han reportado estudios del efecto de la inclusión de *Morinda citrifolia* Linn sobre la dieta de *Oncorhynchus mykiss*, sin embargo, si se ha logrado evidenciar el impacto del uso de diferentes plantas medicinales en dietas alimenticias. La tasa de mortalidad con la inclusión de *Morinda citrifolia* Linn fue baja, esto se debe a los compuestos fenólicos que posee, como: flavonoides, los cuales tienen características antioxidantes, antibióticas y antiinflamatorias que asisten al sistema inmune (Hong *et al.*, 2019; Serafini *et al.*, 2011). Estos compuestos presentes en el fruto de *Morinda citrifolia* Linn ejercen una acción sobre el sistema inmune, fortaleciendo las defensas del organismo durante procesos infecciosos a los que posiblemente los alevines se encontraron expuestos. La tasa de supervivencia que obtuvo el tratamiento T4 fue de 89,67%, resultados similares presentaron Palu *et al.* (2008), al tener una tasa de

supervivencia de 91.67% tras haber suministrado 9g. Kg⁻¹ de *Morinda citrifolia* Linn en la dieta de *Oreochromis niloticus*.

Parámetros hematológicos

Es importante conocer el estado fisiológico de la biomasa con la que se trabaja, esto se realiza a través de análisis sanguíneos, el estudio realizado presenta valores entre 36,85 a 39,65 % para hematocrito, este valor se encuentra dentro de los rangos normales de *Oncorhynchus mykiss* que oscilan entre el 29 – 40% según Nabi *et al.* (2022). El porcentaje del hematocrito no fue relevante por las diferentes concentraciones del *Morinda citrifolia* Linn aplicadas en las dietas suministradas por 60 días de evaluación. Estudios previos en *Oncorhynchus mykiss* mostraron que no hay diferencias significativas con la inclusión de extractos de plantas medicinales, manifestando valores del porcentaje de hematocrito de 38,66 en relación con el control con un porcentaje de 36% (Haghighi *et al.*, 2014).

Sin embargo, el recuento de glóbulos rojos fue más alto para los alevines alimentados con 7,50% de *Morinda citrifolia* Linn, respecto a los del 0% de *Morinda citrifolia* Linn. Debido a que los polifenoles, vitaminas C y E que posee el noni, tienen actividad antioxidante fortaleciendo a los eritrocitos en situaciones de estrés oxidativo, los glóbulos rojos son muy susceptibles dado que su función es transportar oxígeno, además de poseer un elevado contenido de ácidos grasos poliinsaturados, proteínas en la membrana, elevadas concentraciones de hierro y hemoglobina intracelular, que pueden ser precursores de procesos oxidativos (Mohamad Shalan *et al.*, 2016; Pietta, 2000; Singh, 2012; Valencia *et al.*, 2017).

Los alevines del tratamiento que no contenía *Morinda citrifolia* Linn tuvo un valor de 85.85 mg. dL⁻¹, este valor es alto en relación con los tratados con noni. La glucosa es

un indicador metabólico como respuesta secundaria del estrés, los niveles de glucosa aumentan, liberando las reservas de glúcidos en corto tiempo. Entonces a largo plazo, el estrés contribuye al aumento de la glucosa y la disminución de las reservas de glucógeno, provocando el rompimiento de la glucosa desde el hígado y liberándose en la sangre. Por lo tanto, se puede afirmar que *Morinda citrifolia* Linn contiene antioxidantes con la capacidad de reducir niveles de estrés oxidativo (Barandica & Tort, 2008).

La suplementación de *Morinda citrifolia* Linn afectó significativamente la concentración total de proteínas séricas, los valores más elevados se presentaron en *Oncorhynchus mykiss* alimentados con 7,5% de *Morinda citrifolia* Linn (2,77 g. dL⁻¹) comparados con el tratamiento control (2,21 g. dL⁻¹), valores que se encuentran dentro de los rangos normales (Manera & Britti, 2006). Estudios anteriores coinciden con los valores obtenidos en la investigación, al evaluar en *Oncorhynchus mykiss* extractos de plantas medicinales incrementan los valores totales de proteína sérica 4,45 g. dL⁻¹ en relación con el tratamiento control (4,03 g. dL⁻¹) (Haghighi *et al.*, 2014)

El recuento de glóbulos blancos es fundamental para el análisis de parámetros sanguíneos, puesto que los leucocitos son las células sanguíneas que ayudan al sistema inmune a combatir infecciones y enfermedades ocasionadas por agentes patógenos, los alevines de *Oncorhynchus mykiss* suplementados con 7,5 % de *Morinda citrifolia* Linn, presentaron mayor recuento celular de leucocitos, donde, los linfocitos predominaron entre los glóbulos blancos, seguido de los neutrófilos y monocitos. Estudios previos coinciden con los valores obtenidos en la investigación, al evaluar en *Oreochromis niloticus* la suplementación de 9g. kg⁻¹ de *Morinda citrifolia* Linn, mostrando el conteo de leucocitos de 73.720 células.mm³ total, para linfocitos 66,33%,

monocitos 29,33%, neutrófilos 4,33% en relación con el tratamiento testigo (Ilmayati *et al.*, 2016).

Morinda citrifolia Linn tiene la capacidad de activar el receptor cannabinoide 2 (CB2) de los alevines, este receptor se localiza principalmente en las células del sistema inmune de los peces y se encuentra ligado en el control de la neuroinflamación a través de las células T y monocitos (Palazuelos *et al.*, 2008). *Morinda citrifolia* Linn activa potencialmente CB2, pero disminuye la producción del IL-4, no obstante, aumenta la producción del interferón (Palu *et al.*, 2008); los cuales constituyen una serie de moléculas importantes como agentes antivirales (Olabuenaga, 2000). Varios compuestos fenólicos que posee *Morinda citrifolia* Linn como la quercetina, rutina, cafeína, el ácido elágico, gálico, rosmarínico, y clorogénico, son antioxidantes NOX, es decir, altamente potentes (Jeyaprakash *et al.*, 2020). Los antioxidantes mantienen radicales libres en equilibrio, por consecuente se reduce el riesgo de estrés oxidativo y previenen el daño de células normales (Palu *et al.*, 2008). Debido a que los radicales libres son sustancias tóxicas que dañan las células, el ADN e intervienen en el envejecimiento celular, además los antioxidantes elevan la producción de leucocitos (Hong *et al.*, 2019). Adicionalmente el jugo fermentado de *Morinda citrifolia* Linn tiene la capacidad de estimular la producción de esplenocitos y linfocitos B, los cuales contribuyen a la producción de inmunoglobulinas IgG e IgM, no obstante, inhibe la reproducción celular esencialmente de células cancerosas (Wong, 2004).

Parámetros histológicos

Los peces podrían ser usados como bioindicadores de la exposición a la contaminación del agua, lo que resulta útil para tener una visión general del grado de contaminación para insecticidas que se usan comúnmente en la agricultura (de Anna, 2019). Los cambios histológicos del presente estudio tienen concordancia con los

registrados en branquias e hígado de peces *Piaractus brachypomus* expuestos a chlorpirifos, en branquias se evidenció hipertrofia del epitelio lamelar e hiperplasia del epitelio interlamelar moderada, mientras que el hígado presentó degeneración de hepatocitos caracterizada por la aparición de vacuolas citoplasmáticas translucidas lo cual no permitía observar el núcleo (Holguín *et al.*, 2019). El análisis histopatológico de las branquias que no recibieron la dieta con *Morinda citrifolia* Linn indica lamelas reducidas del tamaño normal, fusión lamelar y presencia de edemas; además de necrosis e hiperplasia severa en el músculo estriado y filamentos. La presencia de edema se da cuando existe una acumulación de líquido en tejidos, es decir, acumulación del agroquímico a causa de que existe un desequilibrio electrolítico en el medio (Mukti *et al.*, 2019). La función de las branquias es actuar como osmoregulador, lo que provocó que este órgano se encuentre influenciado directamente por las condiciones ambientales, la hiperplasia se da por la reducción de la difusión de los principios activos del químico a través del epitelio branquial y esto desencadena la fusión de las láminas cuando las células basales del epitelio se expanden (Rennika *et al.*, 2013; Roberts, 2001). Mientras que el hígado presentó vacuolización e hipertrofia de hepatocitos, dilatación de sinusoides, cambios necróticos, hemorragia e infiltración de leucocitos; estos cambios se dan principalmente a consecuencia de que el hígado es un órgano transcendental en los procesos de desintoxicación; los cambios necróticos se da por la participación de las células hepáticas en la transformación metabólica del insecticida, consecuencia de esto cambios funcionales y estructurales, la vacuolización es provocada por la acumulación de agua ocasionado por la incapacidad de las células de mantener la homeostasis de los iones y fluidos (de Melo *et al.*, 2008).

El efecto protector que posee *Morinda citrifolia* Linn contra el estrés oxidativo se encuentra inducido por los compuestos bioquímicos como flavonoides y vitaminas, las cuales son de gran importancia para contrarrestar los radicales libres que provocan diversas alteraciones, para ello es necesario la acción de las enzimas antioxidantes, como la catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPX), glutatión S transferasa (GST), glutatión reductasa (GR) y superóxido dismutasa (SOD) (Jeyaprakash *et al.*, 2020). Así también, se evidencia un efecto antiinflamatorio puesto que *Morinda citrifolia* Linn posee cumarinas y flavonoides como rutina y quercetina (Singh, 2012), que intervienen en la expresión de citoquinas antiinflamatorias en los tejidos del hígado, debido a que son capaces de regular la inflamación y de proteger el tejido afectado, sin embargo, se evidencia que componentes como triterpenoides y alcaloides desempeñan papeles importantes en la curación de heridas, debido a la propiedad astringente y antimicrobiana que posee, lo que incrementa la tasa de epitelización (Nayak *et al.*, 2009).

Capítulo V

Conclusiones y recomendaciones

Conclusiones

No existe diferencias significativas en los parámetros morfométricos y productivos tratados con los distintos niveles de inclusión de *Morinda citrifolia* Linn en etapas de alevinaje de *Oncorhynchus mykiss* teniendo un peso corporal promedio de 20,02 g y una ganancia de peso promedio de 0.33 g. día⁻¹, sin embargo, la tasa de supervivencia de los alevines tratados con 7,5 % de *Morinda citrifolia* Linn fue de 89,67%.

Morinda citrifolia Linn tienen un efecto positivo en el estado sanitario de *Oncorhynchus mykiss* mejora la concentración de células circulantes y contenido de proteínas séricas, fortaleciendo el sistema inmune de los peces, de tal modo que reduce la tasa de mortalidad durante la fase experimental. La concentración de células circulantes presentó una mejora con la inclusión de 7,5 % de *Morinda citrifolia* Linn de 42,83% de linfocitos, 71,11% de neutrófilos y 80% basófilos en relación con el control.

El efecto protector que posee *Morinda citrifolia* Linn, está dado por los compuestos bioquímicos como: polifenoles, flavonoides, fenoles y vitaminas que posee, debido a que tiene la capacidad de restaurar tejidos hepáticos y respiratorios en condiciones de estrés oxidativo, así también, la expresión de citoquinas antiinflamatorias en tejidos, regulando la inflamación y protegiendo al tejido afectado.

Recomendaciones

Evaluar otro método de conservación para *Morinda citrifolia* Linn, con el propósito de evitar el aglutinamiento acelerado de las muestras.

Valorar la suplementación de *Morinda citrifolia* Linn en especímenes reproductores de *Oncorhynchus mykiss* con la finalidad de elevar la inmunidad y reducir la transmisión vertical de enfermedades.

Evaluar el efecto de concentraciones superiores a 7,5 % de *Morinda citrifolia* Linn en dietas de *Oncorhynchus mykiss* para determinar la calidad del sistema inmune bajo condiciones de estrés controlado.

Realizar ensayos sobre la actividad de las enzimas digestivas y antioxidantes de *Oncorhynchus mykiss*, suplementados con la inclusión de *Morinda citrifolia* Linn en dietas de alevines.

Realizar estudios especializados de inmunología como la detección de citoquinas, inmunoglobulinas, etc., presentes en alevines de *Oncorhynchus mykiss*, tras la inclusión de *Morinda citrifolia* Linn en las dietas alimenticias.

Bibliografía

- Abbas, A., Lichtman, A., & Pillai, S. (2015). Cellular and Molecular Immunology. *Elsevier Gezondheidszorg*, 532.
- Abou Assi, R., Abdulbaqi, I., Darwis, Y., Khan, A., Laghari, M., & Vuanghao, L. (2017). Morinda citrifolia (Noni): A comprehensive review on its industrial uses, pharmacological activities, and clinical trials. *Arabian Journal of Chemistry*, 10(5), 691–707. doi:<https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.06.018>
- Abu, N., Zamberi, N., Yeap, S., Nornin, N., Mohamad, N., Romli, M., . . . Alitheen, N. (2018). Subchronic toxicity, immunoregulation and anti-breast tumor effect of Nordamnacantal, an anthraquinone extracted from the stems of Morinda citrifolia L. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18(1). doi:<https://doi.org/10.1186/s12906-018-2102-3>
- Ali, M., Kenganora, M., & Manjula, S. (2016). Health Benefits of Morinda citrifolia (Noni). *Pharmacognosy Journal*, 8(4), 321–334. doi:<https://doi.org/10.5530/pj.2016.4.4>
- Barandica, C., & Tort,, B. (2008). Neuroendocrinología e inmunología de la respuesta al estrés en peces. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, XXXII(123), 267–284.
- Batallas, M. (Marzo de 2018). Dspace. Obtenido de Evaluar la suplementación con polen en alevines de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) medidos a través del peso y talla. : <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/15658/1/T-UCE-0014-MVE-007.pdf>
- Bowden, T., Cook, P., & Rombout, J. (2005). Development and function of the thymus in teleosts. *Fish & Shellfish Immunology*, 19(5), 413–427. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2005.02.003>

- Brown, A. C. (2012). Anticancer Activity of *Morinda citrifolia* (Noni) Fruit. *Phytotherapy Research*. doi:<https://doi.org/10.1002/ptr.4595>
- Bussmann, R., Hennig, L., Giannis, A., Ortwein, J., Kutchan, T., & Feng, X. (2013). Anthraquinone Content in Noni (*Morinda citrifolia*L.). *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-5. doi:<https://doi.org/10.1155/2013/208378>
- Cevallos, J., Villavicencio, M., & Giacometti, J. (Junio de 2007). Influencia de *Morinda citrifolia* en el perfil hematológico de *Sus scrofa*. *Serie Zoológica*. Obtenido de Serie: <https://journal.espe.edu.ec/ojs/index.php/revista-serie-zoologica/article/viewFile/1408/999>
- Chan-Blanco, Y., Vaillant, F., Mercedes Perez, A., Reyne, M., Brillouet, J., & Brat, P. (2006). The noni fruit (*Morinda citrifolia* L.). *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7), 645–654. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2005.10.001>
- Chunhieng, T. (2003). Développement de nouveaux aliments santé à partir de graines et fruits d'origine tropicale : application à la noix du Brésil *Bertholettia excelsa* et au fruit du Cambodge *Morinda citrifolia*. *Hal Open Science*. Obtenido de <https://hal.univ-lorraine.fr/tel-02019759/document>
- Cisneros, P. (1995). La glutatión reductasa y su importancia biomédica. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 14. Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03001995000100003&lng=es&tling=es.
- Cristea, V., Antache, A., Grecu, J., Docan, A., Dediu, L., & Mocanu, M. (2012). The use of phytobiotics in aquaculture. *Lucrări Științifice*, 57, 250–255. Obtenido de https://www.researchgate.net/profile/Alina-Mogodan-Antache/publication/283420784_THE_USE_OF_PHYTOBIOTICS_IN_AQUACU

LTURE/links/574e9b0a08aec988526bcf51/THE-USE-OF-PHYTOBIOTICS-IN-AQUACULTURE.pdf

Davis, J., Clay, H., Lewis, J., Ghor, N., Herbomel, P., & Ramakrishnan, L. (2002). Real-Time Visualization of Mycobacterium-Macrophage Interactions Leading to Initiation of Granuloma Formation in Zebrafish Embryos. *Immunity*, 17(6), 693–702. doi:[https://doi.org/10.1016/s1074-7613\(02\)00475-2](https://doi.org/10.1016/s1074-7613(02)00475-2)

de Anna, J. (2019). Efectos de la interacción entre compuestos tóxicos en Trucha Arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). Obtenido de <http://rdi.uncoma.edu.ar/handle/123456789/16125>

de Melo, G., Donatti, L., Mendes Rudniki, C., & Fanta, E. (2008). Hepatic alterations in the fish *Rhamdia quelen* contaminated with Folidol 600®. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71(3), 821–829. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2008.02.001>

Deng, S., West, B., & Jensen, C. (2008). Simultaneous characterisation and quantitation of flavonol glycosides and aglycones in noni leaves using a validated HPLC-UV/MS method. *Food Chemistry*, 111(2), 526–529. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.04.021>

Earth, G. (2021). Google Earth. Obtenido de Navegación: <https://www.google.com/intl/es/earth/>

FAO. (2014). Manual práctico para el cultivo de trucha arcoíris. . Obtenido de <http://www.fao.org/3/bc354s/bc354s.pdf>

FAO. (2018). Estadísticas de pesca y acuicultura.

FAO. (2020). La sostenibilidad en acción. Roma. Obtenido de El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2020. : <https://doi.org/10.4060/ca9229es>.

- Farine, J., Legal, L., Moreteau, B., & le Quere, J. (1996). Volatile components of ripe fruits of *Morinda citrifolia* and their effects on *Drosophila*. *Phytochemistry*, 41(2), 433–438. doi:[https://doi.org/10.1016/0031-9422\(95\)00455-6](https://doi.org/10.1016/0031-9422(95)00455-6)
- Ferguson, H. W. (1989). *Systemic Pathology of Fish: A Text and Atlas of Comparative Tissue Responses in Diseases of Teleosts*. Iowa State University Press Ames, IA. Obtenido de <https://www.cabi.org/isc/abstract/19892296976>
- Fernández, A., Ruiz, I., & de Blas, I. (2002). El sistema inmune de los teleósteos (II): Respuesta inmune inespecífica. *Revista AquaTIC*, 17, 167–176. Obtenido de <http://www.revistaaquatic.com/ojs/index.php/aquatic/article/view/178/167>
- Furusawa, E., Hirazumi, A., Story, S., & Jensen, J. (2003). Antitumour potential of a polysaccharide-rich substance from the fruit juice of *Morinda citrifolia* (Noni) on sarcoma 180 ascites tumour in mice. *Phytotherapy Research*, 17(10), 1158–1164. doi:<https://doi.org/10.1002/ptr.1307>
- Furushita, M., Shiba, T., Maeda, T., Yahata, M., Kaneoka, A., Takahashi, Y., . . . Ohta, M. (2003). Similarity of Tetracycline Resistance Genes Isolated from Fish Farm Bacteria to Those from Clinical Isolates. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(9), 5336–5342. doi:<https://doi.org/10.1128/aem.69.9.5336-5342.2003>
- Georgiadis, M., Gardner, I., & Hedrick, R. (2001). The role of epidemiology in the prevention, diagnosis, and control of infectious diseases of fish. *Preventive Veterinary Medicine*, 48(4), 287–302. doi:[https://doi.org/10.1016/s0167-5877\(00\)00202-6](https://doi.org/10.1016/s0167-5877(00)00202-6)
- Haghighi, M., Rohani, M., Pourmoghim, H., Toliat, T., Samadi, M., Tavoli, M., . . . Yusefi, R. (2014). Haemato-immunological indices in rainbow trout (*Oncorhynchus*

- mykiss) fry fed with Aloe vera extract supplemented feed. *Journal of Coastal Life Medicine*, 2(5), 350–356. doi:<https://doi.org/10.12980/jclm.2.2014j49>
- Han, H., & Song, K. (2021). Noni (*Morinda citrifolia*) fruit polysaccharide films containing blueberry (*Vaccinium corymbosum*) leaf extract as an antioxidant packaging material. *Food Hydrocolloids*, 112, 106372. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106372>
- Holguín, G., Millán, L., Mahecha, E., Céspedes, N., & Rondón, I. (2019). EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL CLORPIRIFÓS EN ALEVINOS DE CACHAMA BLANCA (*Piaractus brachypomus*). *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 35(4), 815–829. doi:<https://doi.org/10.20937/rica.2019.35.04.04>
- Hong, Y., Yi, Y., Han, S., Aziz, N., Kim, H., Park, S., . . . Cho, J. (2019). *Morinda citrifolia* noni water extract enhances innate and adaptive immune responses in healthy mice, ex vivo, and in vitro. *Phytotherapy Research*, 33(3), 676–689. doi:<https://doi.org/10.1002/ptr.6256>
- Igbinosa, I., Beshiru, A., Odjadjare, E., Ateba, C., & Igbinosa, E. (2017). Pathogenic potentials of *Aeromonas* species isolated from aquaculture and abattoir environments. *Microbial Pathogenesis*, 107, 185–192. doi:<https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.03.037>
- Ilmayati, M., Syawal, H., & Adelina. (2016). DIFFERENTIATION OF LEUKOCYTES OF NILE TILAPIA (*Oreochromis niloticus*) WITH FEED CONSIST OF NONI FRUIT FLOUR (*Morinda citrifolia* L). *Jurnal Online Mahasiswa*, 3, 1-14. Obtenido de <https://jom.unri.ac.id/index.php/JOMFAPERIKA/article/view/8903>
- Inada, A., Figueiredo, P., Santos-Eichle, R., Freitas, K., Hiane, P., Castro, A., & Guimarães, R. (2017). *Morinda citrifolia* Linn. (Noni) and Its Potential in Obesity-

Related Metabolic Dysfunction. *Nutrients*, 9(6), 540.

doi:<https://doi.org/10.3390/nu9060540>

Jeyaprasanth, K., AlSalhi, M., & Devanesan, S. (2020). Anticancer and antioxidant efficacy of silver nanoparticles synthesized from fruit of *Morinda citrifolia* Linn on Ehrlich ascites carcinoma mice. *Journal of King Saud University - Science*, 32(7), 3181–3186. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jksus.2020.09.005>

Kiathevest, K., Goto, M., Sasaki, M., Pavasant, P., & Shotipruk, A. (2009). Extraction and concentration of anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia* by non-ionic surfactant solution. *Separation and Purification Technology*, 66(1), 111–117. doi:<https://doi.org/10.1016/j.seppur.2008.11.017>

Kristiana, V., Mukti, A., & Agustono. (2020). Increasing growth performances of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by supplementation of noni *Morinda citrifolia* fruit extract via diet. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation. International Journal of the Bioflux Society*, 13, 159–166.

doi:<http://www.bioflux.com.ro/docs/2020.159-166.pdf>

Maguregui, E. (Octubre de 2020). El sistema inmune de los peces - Producción acuícola. Obtenido de Veterinaria Digital - Avicultura, Porcicultura, Rumiantes y Acuicultura. : <https://www.veterinariadigital.com/articulos/el-sistema-inmune-de-los-peces-mejora-la-produccion-acuicola-a-traves-de-la-inmunidad/>

Manera, M., & Britti, D. (2006). Assessment of blood chemistry normal ranges in rainbow trout. *Journal of Fish Biology*, 69(5), 1427–1434.

doi:<https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2006.01205.x>

McClatchey, W. (2002). From Polynesian Healers to Health Food Stores: Changing Perspectives of *Morinda citrifolia*(Rubiaceae). *Integrative Cancer Therapies*, 1(2), 110–120. doi:<https://doi.org/10.1177/1534735402001002002>

- Mohamad Shalan, N., Mustapha, N., & Moham, S. (2016). Morinda citrifolia leaf enhanced performance by improving angiogenesis, mitochondrial biogenesis, antioxidant, anti-inflammatory & stress responses. *Food Chemistry*, 212, 443–452. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.179>
- Mukti, A., Dewi, E., Satyantini, W., Sulmartiwi, L., Sudarno, & Hassan, M. (2019). The effect of noni Morinda citrifolia L. fruit extracts on the gill histopathological changes of Nile tilapia Oreochromis niloticus. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 236, 12-93. doi:<https://doi.org/10.1088/1755-1315/236/1/012093>
- Murdiati, T., Adiwinatai, G., & Hildasari, D. (2000). PENULUSURAN SENYAWA AKTIF DARI BUAH MENGGUDU (MORINDA CITRIFOLIA) DENGAN AKTIVITAS ANTELMINTIK TERHADAP HAEMONCHUS CONTORTUS. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*, 5(4), 255–259. Obtenido de <https://medpub.litbang.pertanian.go.id/index.php/jitv/index>
- Nabi, N., Ahmed, I., & Bilal Wani, G. (2022). Hematological and serum biochemical reference intervals of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* cultured in Himalayan aquaculture: Morphology, morphometrics and quantification of peripheral blood cells. *Saudi Journal of Biological Sciences*. doi:<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.01.019>
- Nascimento, L., Rodrigues, N., Alves, M., Sabaa Srur, A., Barbosa Junior, J., & Barbosa, I. (2018). Chemical characterization, nutritional aspects and antioxidant capacity of noni (*Morinda citrifolia* L) produced in northeastern Brazil. *International Food Research Journal*, 2, 870–875. doi:[http://www.ifrj.upm.edu.my/25%20\(02\)%202018/\(58\).pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/25%20(02)%202018/(58).pdf)

- Nayak, B., Sandiford, S., & Maxwell, A. (2009). Evaluation of the Wound-Healing Activity of Ethanolic Extract of *Morinda citrifolia* L. Leaf. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 6(3), 351–356.
doi:<https://doi.org/10.1093/ecam/nem127>
- Nelson, S. (2006). *Morinda citrifolia* (noni). Species profiles for Pacific Island forestry., 1-13. Obtenido de <https://www.renevanmaarsseveen.nl/wp-content/uploads/overig/noni/Morinda-noni.pdf>
- Newton, K. (2002). Production of noni juice and powder in Samoa. *In The 2002 Hawai'i noni conference*, 29-31. Obtenido de https://www.ctahr.hawaii.edu/noni/Downloads/noni29_32.pdf
- Nilsen, H., Olsen, A., Vaagnes, Ø., Hellberg, H., Bottolfsen, K., Skjelstad, H., & Colquhoun, D. (2011). Systemic *Flavobacterium psychrophilum* infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), farmed in fresh and brackish water in Norway. *Journal of Fish Diseases*, 34(5), 403–408.
doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2011.01249.x>
- Olabuenaga, S. E. (2000). SISTEMA INMUNE EN PECES. *Gayana (Concepción)*, 64(2). doi:<https://doi.org/10.4067/s0717-65382000000200010>
- Ortiz, J. (2015). Repositorio ESPE. Obtenido de Producción dulce acuícola en el Ecuador I:
<http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/10164/3/Acuacultura.pdf>
- Palazuelos, J., Davoust, N., Julien, B., Hatterer, E., Aguado, T., Mechoulam, R., . . . Galve-Roperh, I. (2008). The CB2 Cannabinoid Receptor Controls Myeloid Progenitor Trafficking. *Journal of Biological Chemistry*, 283(19), 13320–13329.
doi:<https://doi.org/10.1074/jbc.m707960200>

- Palić, D., Ostojić, J., Andreasen, C., & Roth, J. (2007). Neutrophil extracellular traps are released from fish neutrophils. *Developmental & Comparative Immunology*, 31(8), 805–816. doi:<https://doi.org/10.1016/j.dci.2006.11.010>
- Palu, A., Kim, A., West, B., Deng, S., Jensen, J., & White, L. (2008). The effects of *Morinda citrifolia* L. (noni) on the immune system: Its molecular mechanisms of action. *Journal of Ethnopharmacology*, 115(3), 502–506. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.10.023>
- Penagos, G., Barato, P., & Iregui, C. (2008). Sistema inmune y vacunación de peces. *Acta Biológica Colombiana*, 13(3), 3-26. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/abc/v14n1/v14n1a01.pdf>
- Peter, P., & Peter, K. (2018). Noni (*Morinda citrifolia* L.). *Research and Development. New Age Herbals*, 55-69. doi:https://doi.org/10.1007/978-981-10-8291-7_4
- Pietta, P. G. (2000). Flavonoids as Antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63(7), 1035–1042. doi:<https://doi.org/10.1021/np9904509>
- Pino, J., Márquez, E., Quijano, C., & Castro, D. (2010). Volatile compounds in noni (*Morinda citrifolia* L.) at two ripening stages. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 30(1), 183–187. doi:<https://doi.org/10.1590/s0101-20612010000100028>
- Potterat, O., & Hamburger, M. (2007). *Morinda citrifolia* (Noni) Fruit. *Phytochemistry, Pharmacology, Safety Planta Medica*, 73(3), 191–199. doi:<https://doi.org/10.1055/s-2007-967115>
- Rennika, Aunurohim, & Abdulgani. (2013). Konsentrasi dan Lama Pemaparan Senyawa Organik dan Inorganik pada Jaringan Insang Ikan Mujair (*Oreochromis mossambicus*) pada Kondisi Sub Lethal. *JURNAL SAINS DAN SENI POMITS*, 2(2), 2337–3520.

- Rivera, A., Cedillo, L., Hernández, F., Castillo, V., Sánchez, A., & Castañeda, D. (2012). Bioactive constituents in ethanolic extract leaves and fruit juice of *Morinda citrifolia*. *Annals of Biological Research*, 3(2), 1044–1049. Obtenido de https://www.researchgate.net/profile/Fernando-Hernandez-5/publication/281639426_Bioactive_constituents_in_ethanolic_extract_leaves_and_fruit_juice_of_Morinda_citrifolia/links/577133a808ae10de639dc8b0/Bioactive-constituents-in-ethanolic-extract-leaves-and-
- Roberts, R. J. (2001). *Fish Pathology*. W B Saunders Co.
- Ruksilp, T., Sichaem, J., Khumkratok, S., Siripong, P., & Tip-pyang, S. (2011). Anthraquinones and an iridoid glycoside from the roots of *Morinda pandurifolia*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 36(4-6), 888–892.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.bse.2011.07.003>
- Rybak, J., & Ruzik, L. (2013). Application of chromatography and mass spectrometry to the characterization of cobalt, copper, manganese and molybdenum in *Morinda Citrifolia*. *Journal of Chromatography A*, 1281, 19–25.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.01.040>
- Sandoval, J., Latif, F., Martín, M., Zaror, L., & Diéguez-Uribeondo, J. (2014). *Saprolegnia* species affecting the salmonid aquaculture in Chile and their associations with fish developmental stage. *Aquaculture*, 434, 462–469.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.09.005>
- Serafini, M., Santos, R., Guimarães, A., dos Santos, J., da Conceição Santos, A., Alves, I., . . . de Souza Araújo, A. (2011). *Morinda citrifolia* Linn Leaf Extract Possesses Antioxidant Activities and Reduces Nociceptive Behavior and Leukocyte Migration. *Journal of Medicinal Food*, 14(10), 1159–1166.
doi:<https://doi.org/10.1089/jmf.2010.0254>

- Sina, H., Dramane, G., Tchekounou, P., Assogba, M., Chabi-Sika, K., Boya, B., . . .
Baba-Moussa, L. (2021). Phytochemical composition and in vitro biological activities of *Morinda citrifolia* fruit juice. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(2), 1331–1335. doi:<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.11.059>
- Singh, R. (2012). *Morinda citrifolia* L. (Noni): A review of the scientific validation for its nutritional and therapeutic properties. . *Journal of Diabetes and Endocrinology*, 3(6), 77–91. doi:<https://doi.org/10.5897/jde10.006>
- Suman, T., Radhika Rajasree, S., Kanchana, A., & Elizabeth, S. (2013). Biosynthesis, characterization and cytotoxic effect of plant mediated silver nanoparticles using *Morinda citrifolia* root extract. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 106, 74–78. doi:<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.01.037>
- Tapp, W., Yancey, J., Apple, J., Dikeman, M., & Godbee, R. (2012). Noni puree (*Morinda citrifolia*) mixed in beef patties enhanced color stability. *Meat Science*, 21(2), 131–136. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.01.005>
- Thani, W., Vallisuta, O., Siripong, P., & Ruangwis, N. (2010). Anti-proliferative and antioxidative activities of Thai noni/Yor (*Morinda citrifolia* Linn.) leaf extract. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 41(2), 482–900. Obtenido de <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20578533/>
- Torres, N. H. (2017). Estimación de los desperdicios generados por la producción de trucha arcoíris en el lago de Tota, Colombia. . *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 18(2), 247. doi: https://doi.org/10.21930/rcta.vol18_num2_art:631
- Troya, G. (Marzo de 2021). La cadena productiva del cultivo de trucha arcoíris y su consumo interno, en el cantón Otavalo. Obtenido de <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/24207/1/T-ESPE-044435.pdf>

- Valavanidis, A., Vlahogianni, T., Dassenakis, M., & Scoullou, M. (2006). Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 64(2), 178–189. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2005.03.013>
- Valencia, E., Ignacio, I., Sosa, E., Bartolomé, M., Martínez, H., & García, M. (2017). Polifenoles: propiedades antioxidantes y toxicológicas. *Revista de la Facultad de Ciencias Químicas*, 16, 15–29. Obtenido de <https://publicaciones.ucuenca.edu.ec/ojs/index.php/quimica/article/view/1583/1238>
- Vanya Ewart, K., Williams, J., Richards, R., Gallant, J., Melville, K., & Douglas, S. (2008). The early response of Atlantic salmon (*Salmo salar*) macrophages exposed in vitro to *Aeromonas salmonicida* cultured in broth and in fish. *Developmental & Comparative Immunology*, 34(2), 380–390. doi:<https://doi.org/10.1016/j.dci.2007.07.005>
- Wang, C., Ng, C., Su, H., Tzeng, W., & Shyu, Y. (2009). Probiotic potential of noni juice fermented with lactic acid bacteria and bifidobacteria. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60(sup6), 98–106. doi:<https://doi.org/10.1080/09637480902755095>
- Wang, M., West, B., Jensen, C., Nowicki, D., Su, C., Palu, A., & Anderson, G. (2002). *Morinda citrifolia* (Noni): a literature review and recent advances in Noni research. *Acta pharmacologica Sinica*, 23(12), 1127–1141. Obtenido de <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12466051/>
- Wei, L., Musa, N., Sengm, C., Wee, W., & Shazili, N. (2008). Antimicrobial properties of tropical plants against 12 pathogenic bacteria isolated from aquatic organisms.

African Journal of Biotechnology, 7(13), 2275–2278. Obtenido de

<https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/58974>

West, B., Deng, S., & Jensen, C. (2011). Nutrient and phytochemical analyses of processed noni puree. *Food Research International*, 44(7), 2295–2301.

doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.09.038>

Wong, D. (2004). Are immune responses pivotal to cancer patient's long term survival?

Two clinical case-study reports on the effects of *Morinda citrifolia* (Noni). . *Hawaii*

Med J, 63(6), 182–184. Obtenido de <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15298088/>

Zapata, A., Diez, B., Cejalvo, T., Gutiérrez-de Frías, C., & Cortés, A. (2006). Ontogeny of the immune system of fish. *Fish & Shellfish Immunology*, 20(2), 126–136.

doi:<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2004.09.005>

Zhang, W. M., Wang, W., Zhang, J. J., Wang, Z. R., Wang, Y., Hao, W. J., & Huang, W. Y. (2016). Antibacterial Constituents of Hainan *Morinda citrifolia* (Noni) Leaves.

Journal of Food Science, 81(5), M1192-M1196. doi:<https://doi.org/10.1111/1750-3841.13302>

Zin, Z., Abdul-Hamid, A., & Osman, A. (s.f.). Antioxidative activity of extracts from

Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) root, fruit and leaf. . *Food Chemistry*, 78(2), 227–

231. doi:[https://doi.org/10.1016/s0308-8146\(01\)00402-2](https://doi.org/10.1016/s0308-8146(01)00402-2)

<https://drive.google.com/drive/folders/1J6vg-Q-xnZMYFDnWCFqWxilJZ9kMk3x>