



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS

MAESTRÍA EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES

Evaluación del efecto del hongo *Pleurotus djamor* var. *roseus* como suplemento alimenticio en la respuesta hematológica y crecimiento de la tilapia *Oreochromis niloticus*.

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MAESTRO EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES

P R E S E N T A:

BIOL. LUIS FERNANDO CRUZ GARCIA

DIRECTOR DE TESIS

DR. DANIEL HERNÁNDEZ OCAMPO

CO-DIRECTOR

DR. ISAAC TELLO SALGADO

CUERNAVACA, MORELOS

JUNIO 2020

AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS FAMILIARES

A mi esposa **Lizeth Lozada Mendoza**, por su invaluable apoyo en cada momento de esta etapa, y a un angelito que está en el cielo.

A mis padres **Ethel Ivone García Sánchez** y **Guillermo Cruz Ávila**, por su gran apoyo, cariño, comprensión y amor.

A los sobrinos **Abril, Paula, Deniker y Jaziel**, a mis hermanos **Alfonso Rafael** y **Ma. Guadalupe** y cuñados **Ulises, Claudia, Alfredo y Eloísa** así como a mis suegros **Raquel Mendoza** y **Alfredo Lozada**, a todos y cada uno de ellos por su apoyo.

Con un cariño especial para Mamá **Sara Sánchez Vázquez** y mi Mamá **Rosa Nora García**.

A mis abuelos **Miguel Alfonso García †**, **Rosario Ávila †**, **Rafael Cruz †** y a mi bisabuela **Esther Vázquez Vera †**, a todos ellos por su gran apoyo, amor y cariño, por Siempre.

AGRADECIMIENTOS ACADÉMICOS.

Al **Dr. Daniel Hernández Ocampo** por brindarme el apoyo siempre como director de tesis por sus consejos y asesorías respecto al proyecto de investigación, por su amistad y su apoyo como Jefe y Compañero de Trabajo.

Al **Dr. Isaac Tello Salgado**, por brindarme el apoyo como mi Co-director de tesis y asesorías respecto al proyecto de investigación.

Comité Tutorial:

A la Dra. Elsay Arce Uribe, por sus consejos, revisiones y atinados comentarios en mis seminarios.
A la M en C. Ma. de Lourdes Acosta Urdapilleta, por sus aportaciones para la mejora de mi tesis y mi formación académica.

Al M en C. Roberto Trejo Albarrán por sus comentarios y asesoría en la revisión de tesis.

Al Dr. José Guadalupe Granados Ramírez, por sus comentarios y asesoría en la revisión de tesis. Además por ser grandes amigos y compañeros colaboradores de trabajo.

Al **Dr. Luis Héctor Hernández Hernández**, por brindarme las facilidades y apoyo para la realización de mi estancia de investigación en la FES Iztacala UNAM, donde aprendí todo lo relacionado a la elaboración de dietas para peces y crustáceos.

Al **Dr. Jesús T. Ponce Palafox**, por apoyarme en la revisión y adecuación final del artículo científico.

Al **Dr. Jaime Raúl Bonilla Barbosa y Dr. Rubén Castro Franco** por su apoyo en el Posgrado del CIB UAEM.

A mis compañeros y amigos de la Administración de la Preparatoria Numero Dos Cuernavaca, por el apoyo durante mi última etapa de mi formación en la maestría: **Mtra. Ma. De Lourdes Fernández, Psic. Jorge Mindiola, Psic. Emerson Ortiz, LAE. Ernesto Reynoso, Víctor Soberanis, Rosy, Lore y Lic. Jesús.**

A la Dra. Claudia Sierra Castillo por su apoyo en la revisión final de tesis con algunos comentarios.

A mis Alumnos de Licenciatura que también forman parte de este gran equipo de trabajo y que a veces tenían que adaptarse a los tiempos que teníamos y además de su apoyo siempre: **Viridiana Pérez Blanco, Andrea Valladares Juárez, Irving Copca Arellano, Arantza Romero, Aurora Flores, Nancy Rodríguez, Joselin Valdés Nolasco.**

A mis amigos **Biólogos Alicia Quevedo Maldonado e Iván Piña Vela** porque siempre estuvieron apoyándonos en todo momento.

A Mis Compañeros del Laboratorio **Jacinto Díaz y Víctor Peñaloza** por su apoyo durante esta etapa.

A **Romy**, por su incondicional apoyo con todo lo referente a la Maestría y por ser una gran amiga.

A **Belén, Karen, Andrea, Gaby y Rosy** por su apoyo y amistad.

A todos y cada uno de Profesores, y compañeros académicos del Centro de Investigaciones Biológicas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

Este proyecto fue realizado en el Laboratorio de Bioingeniería Acuícola bajo la Dirección del Dr. Daniel Hernández Ocampo en colaboración con el Laboratorio de Micología bajo la asesoría del Dr. Isaac Tello Salgado del Centro de Investigaciones Biológicas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

Colaboración Académica con el Laboratorio de Producción Acuícola de la FES Iztacala UNAM. Dr. Luis Héctor Hernández Hernández

| <i>Contenido</i> | <i>Pág.</i> |
|---|-------------|
| I. INTRODUCCIÓN | 4 |
| I.1. Importancia de la nutrición en la acuicultura | 5 |
| I.2. Características del género <i>Pleurotus</i> | 6 |
| I.3. Valor nutricional de <i>Pleurotus</i> spp..... | 7 |
| II. ANTECEDENTES | 9 |
| II.1. Implementación de hongos como alimento | 9 |
| II.2. Uso del género <i>Pleurotus</i> en dietas | 11 |
| II.3. Requerimientos nutricionales de <i>Oreochromis niloticus</i> | 12 |
| III. JUSTIFICACIÓN | 14 |
| IV. HIPÓTESIS | 14 |
| V. OBJETIVO | 15 |
| V.1 Objetivo general..... | 15 |
| V.2. Objetivos particulares | 15 |
| VI. MATERIALES Y MÉTODOS | 16 |
| VI.1. Crecimiento de cepa | 16 |
| VI.2. Preparación de inóculo | 16 |
| VI.3. Esterilización | 16 |
| VI.4. Inoculación de los granos de trigo..... | 16 |
| VI.5. Elaboración de las unidades de producción para el cultivo en medio sólido | 17 |
| VI.6. Inoculación Unidades de Producción | 17 |
| VI.7. Fructificación | 17 |
| VI.8. Análisis químico proximal..... | 18 |
| VI.9. Preparación de formulaciones..... | 19 |
| VI. 10. Pruebas de palatabilidad | 20 |
| VI.11. Organismos y tratamientos..... | 20 |
| VI.12. Parámetros zootécnicos..... | 20 |
| VI.13. Parámetros hematológicos | 21 |
| VII. RESULTADOS | 24 |
| VII.1. Producción de hongo | 24 |
| VII.2. Hongo molido | 24 |
| VII.3. Contenido de proteína | 25 |
| VII.4. Formulaciones | 25 |

| | |
|--|-----------|
| VII.5. Análisis de dietas..... | 25 |
| VII.6. Pruebas de Palatabilidad | 26 |
| VII.7. Desarrollo experimental de los tratamientos..... | 26 |
| VII.8. Biometrías de los organismos..... | 27 |
| VII.8.1. Tasa Específica de Crecimiento (TEC %/día)..... | 30 |
| VII.8.2. Factor de conversión alimenticia (g/g)..... | 30 |
| VII.8.3. Tasa de sobrevivencia | 31 |
| VII.9. Parámetros hematológicos | 32 |
| VIII. DISCUSIÓN | 38 |
| IX. CONCLUSIÓN | 43 |
| X. PERSPECTIVAS | 44 |
| XI. LITERATURA CITADA..... | 44 |

ÍNDICE DE FIGURAS, TABLAS Y GRÁFICAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Análisis bromatológico..... | 19 |
| Figura 2. Formulaciones (pellets) de las tres dietas..... | 20 |
| Figura 3. Cámara de Newbauer, para recuento de células..... | 22 |
| Figura 4. Cuerpos fructíferos de <i>Pleurotus djamor</i> var. <i>roseus</i> | 24 |
| Figura 5. Polvo de hongo después del proceso de molienda..... | 24 |
| Figura 6. Pruebas de aceptación y palatabilidad..... | 26 |
| Figura 7. Fase experimental en condiciones de laboratorio..... | 27 |
| Figura 8. Leucocitos de la tilapia..... | 35 |
| | |
| Tabla 1. Contenido nutricional de hongo <i>Pleurotus djamor</i> | 8 |
| Tabla 2. Requerimiento proteico del organismo por estadio..... | 12 |
| Tabla 3. Fórmulas para calcular índices Hemáticos..... | 23 |
| Tabla 4. Relación de la cantidad e ingredientes (aditivos)..... | 25 |
| Tabla 5. Composición aproximada de las dietas experimentales | 26 |
| Tabla 6. Comparación de las ganancias de peso..... | 28 |
| Tabla 7. Registro de la talla promedio de los organismos..... | 29 |
| Tabla 8. Rendimiento en el crecimiento de la tilapia..... | 31 |
| Tabla 9. Comparación de los parámetros hematológicos..... | 32 |
| | |
| Grafica 1. Ganancia de peso de cada uno de los tratamientos y control..... | 28 |
| Grafica 2. Ganancia de talla de cada uno de los tratamientos y control | 29 |
| Gráfica 3. Tasa específica de crecimiento (%/día) durante la fase experimental | 30 |
| Grafica 4. Factor de Conversión Alimenticia | 30 |
| Grafica 5. Tasa de sobrevivencia..... | 31 |
| Grafica 6. Concentración de Hemoglobina (Hb)..... | 33 |
| Grafica 7. Hematocrito (Hto)..... | 33 |
| Grafica 8. Recuento Total de Glóbulos Rojos (CTR)..... | 34 |
| Grafica 9. Recuento Total de Glóbulos Blancos (RTB)..... | 34 |
| Grafica 10. Recuento Diferencial de Neutrófilos..... | 36 |
| Grafica 11. Recuento Diferencial de Linfocitos..... | 37 |

I. INTRODUCCIÓN

En México, se estiman cerca de 120 millones de habitantes, posicionándolo como el décimo primer país más poblado del mundo (INEGI, 2015), surgiendo así la necesidad de cubrir la demanda de alimento que genera la población, por ello se debe garantizar la seguridad alimentaria de todas las personas con recursos naturales finitos (FAO, 2012). La acuicultura figura como un recurso valioso en la producción de alimentos de alto valor nutricional y de bajo costo, que genera empleos para la población más vulnerable y, con un buen manejo, impulsa el desarrollo sostenible de diversas regiones; es el sector de producción de alimentos de más rápido crecimiento en el mundo suministrando el 50% de todos los peces que se consumen (FAO, 2016).

México se considera el sexto productor acuícola de América, tan solo en el 2010 se generaron 126,240 toneladas, equivalentes al 5% de la producción total del continente. En el 2014, la acuicultura produjo 18.3% de la producción bruta total del sector y empleó al 23.4% del personal ocupado en el sector de abastecimiento de pescado (INEGI, 2014). Además, en la primera década del siglo XXI, mientras que los empleos en la pesca silvestre disminuyeron, hubo un incremento en el número de puestos de trabajo dentro de la acuicultura. Las entidades con un mayor número de personas dedicadas a esta actividad son Sonora, Sinaloa y Morelos, que concentran al 54.8% del total nacional (INEGI, 2011).

Dentro de la práctica acuícola un aspecto fundamental es la alimentación, ya que representa entre el 40 y 60% de los gastos de operación de una granja, debido a que la producción de la harina de pescado y harina de soya, dos de las fuentes de proteínas más utilizadas como ingredientes en la alimentación de los peces. Además, ambos están asociados con problemas ambientales (sobreeplotación de recursos naturales como las sardinas y anchovetas (Naylor *et al.*, 2000; FAO, 2007), y de producción con calidad variable (Sánchez-Muros *et al.*, 2015). Con base en esto, ha surgido el interés por reemplazar estas fuentes de proteína mediante la sustitución con otras más económicas y de fácil adquisición (Shepherd, 1998), de

esta manera, se asegura que dicha sustitución no comprometa el crecimiento y calidad de los organismos en cultivo. Para ello se ha propuesto una alternativa como la alimentación mixta, es decir, con variación de proteína en la dieta (Kumar *et al.*, 2017).

La utilización de recursos naturales, tales como los hongos, prometen ser una alternativa viable para la obtención de alimentos que puedan aportar un alto valor nutrimental para un buen desarrollo y crecimiento de los peces dentro de los cultivos. En este estudio se propone el uso del hongo *Pleurotus djamor var. roseus*, debido a que el género *Pleurotus* se ha utilizado para elaboración de dietas de algunas especies acuícolas, obteniendo resultados positivos (Ulukoy *et al.*, 2016) siendo así una alternativa para implementar estas tecnologías en otras especies de interés comercial. Y por otra parte se evaluó la fisiología de los organismos alimentados con estas dietas a través de la hematología que se considera una herramienta que puede ser muy utilizada para conocer más sobre el estado de salud de los organismos (Fazio, 2019) esto relacionado con la nutrición y alimentación en la acuicultura.

I.1. Importancia de la nutrición en la acuicultura

En la actualidad la acuicultura tiene una tendencia a la sofisticación de sus métodos buscando ser más rentable para los productores, en este sentido uno de los insumos de mayor relevancia es la disponibilidad de alimentos, que va relacionado con el bienestar fisiológico de los organismos y la búsqueda de alimentos que sean amigables con el ambiente, es decir, alimento funcional, como una de las herramientas más prácticas y prometedoras para cumplir con los requerimientos nutricionales (Makled *et al.*, 2017).

Los temas relacionados con la nutrición deben ser considerados importantes para lograr un equilibrio en la producción de alimentos seguros y nutritivos (Hixson, 2014). Los requerimientos nutrimentales de los peces en cultivo varían de acuerdo con la especie y la etapa del ciclo de vida de éstos. En general, se encuentran en forma de pellets (granulados) y se busca que sea balanceado, de fácil digestión,

fresco, que la fracción grasa no esté rancia, que sea atractivo para el organismo, que el tamaño de la partícula sea apropiado para el tamaño de la boca del pez y que flote o se hunda de acuerdo con los hábitos alimentarios de cada especie.

Uno de los objetivos más importantes en la nutrición de los peces, es la minimización de los contenidos de proteínas en las dietas, mediante la máxima utilización de nutrientes, que permite reducir los costos en el procesamiento de alimentos y reducir las excreciones de amoníaco (NRC, 2011). Las estrategias nutricionales para minimizar el impacto de la acuicultura en ambientes acuáticos, incluyen formulación de dietas, selección de materias primas más digeribles, control de los procesos de granulación de alimentos, adoptar prácticas de manejo de alimento más efectivas para especies de peces particulares, recuperar alimentos no consumidos y seleccionar especies de peces con una mayor eficiencia alimenticia y una mejor utilización de nutrientes (Amirkolaie 2011; Neto y Ostrensky, 2015). Además de los criterios nutricionales, las fuentes de proteínas deben cumplir ciertas condiciones para su producción, como disponibilidad regular en cantidad, valor económico, no competencia con recursos para humanos (agua, tierra, o incluso la misma fuente, como ocurre con la soya) y una sostenibilidad ambiental.

I.2. Características del género *Pleurotus*

Los hongos del género *Pleurotus* conocidos como setas: *P. djamor*, *P. ostreatus*, *P. florida*, *P. pulmonarius* (Das-Cruz *et al.*, 2010), u orejas blancas (Gaitán-Hernández *et al.*, 2006), son comestibles y con un alto valor nutricional (Sánchez, 2008); estos hongos pueden ser cultivados utilizando diversos desechos agroindustriales de bajo costo y que pueden ser considerados como una alternativa para mejorar la alimentación humana debido a sus propiedades nutraceuticas, como antitumorales y moduladores inmunológicos, al incluir componentes bioactivos (Barros *et al.*, 2007; Barros *et al.*, 2008) y nutrimentales, conteniendo proteínas de alta calidad, minerales, vitaminas, carbohidratos, fibra y bajo contenido de grasa (Elmastas *et al.*, 2007; Guillamón *et al.*, 2010; Thatoi y Singdevsachan, 2014).

Este género es denominado “hongos grandes” (basidiomicetos), se caracterizan por crecer sobre árboles, troncos, arbustos y otras plantas leñosas

“saprofitos” (Sánchez y Royse, 2001; Ardón, 2007). Una de las especies mayormente utilizada es *Pleurotus ostreatus* (Stemets, 2000), comestible para humanos y animales, no obstante, solo se consume el cuerpo fructífero (Chang, 1980). Este hongo destaca por sus distintas contribuciones a la sociedad, y se puede considerar de importancia en la economía social, principalmente, para el suministro de alimentos ayudando a mejorar la calidad de la salud, ya que este hongo contiene altos valores nutricionales (Chegwin, 2014).

El género *Pleurotus* es un grupo manejable y que puede ser cultivable a través de todo el mundo en diversos sustratos y condiciones que tienen un impacto por su contenido de macronutrientes y micoquímicos, particularmente por el aporte de aminoácidos esenciales como requerimientos nutricionales básicos para los adultos; se han utilizado componentes bioactivos como sustratos o suplementos que combinados con minerales ayudan como tratamientos post-cosecha (Carrasco *et al.*, 2017). Debido a esto, se ha utilizado para la medicina, farmacia, industria, control biológico, descontaminación de suelos, alimentación humana y hasta de animales (Sánchez y Royse, 2001).

I.3. Valor nutricional de *Pleurotus* spp.

En los últimos años se ha descrito al hongo con el nivel nutricional más alto que cualquier hortaliza, además de poseer propiedades medicinales como, la reducción de los niveles de colesterol, anticancerígenas, antivirales, tónico cardiaco y aportando un bajo contenido calórico (Sánchez, 2008). Se ha considerado un complemento alimenticio de alta importancia, con una gran cantidad de aminoácidos esenciales; así como, un alto contenido de proteínas (en base seca, entre 19 y 35%), ácidos grasos insaturados, vitaminas B1 y B2, minerales como fosforo y potasio, fibra (en base seca, 4 al 20%) y carbohidratos (peso fresco, entre 51 y 88%), (Chang y Buswell, 1997; Gaitán-Hernández *et al.*, 2006; Rampinelli *et al.*, 2010). El hongo seta es consumido en todo el mundo debido a sus características gastronómicas, en presentaciones como ceviche de hongos y hongos en salsa que se procesan ya envasados para su comercialización (Gómez *et al.*, 2016). Uno de los hongos que pueden ser utilizados es *Pleurotus djamor* var. *roseus*. En la tabla 1

se pueden observar el contenido nutricional que presenta *Pleurotus djamor*, cultivado sobre hojas secas de plátano (Rampinelli *et al.*, 2010).

Tabla 1. Contenido nutricional de hongo *Pleurotus djamor* (Rampinelli *et al.*, 2010).

| Contenido nutricional del hongo <i>Pleurotus djamor</i> | |
|--|----------------|
| Sustancia | Contenido (%) |
| Agua | 80 |
| Carbohidratos | 32 g/100g |
| Ceniza | 7.40 g/100g |
| Grasa | 1.12 g/100g |
| Proteína bruta | 22 – 25 g/100g |
| Fibra | 25 g/100g |
| Vitamina B1 | 1.28 mg/100g |
| Vitamina B2 | 0.22 mg/100g |
| Calcio | 33 mg/100g |
| Fósforo | 1365 mg/100g |
| Potasio | 3149 mg/100g |
| Hierro | 15.20 mg/100g |
| Ácido ascórbico (vitamina C) | 90-144 mg/100g |

II. ANTECEDENTES

II.1. Implementación de hongos como alimento

Se han realizado algunas investigaciones buscando otras alternativas, una de ellas es la utilización de hongos como alimentos, en el 2017, Van Doan *et al.*, (2017a), realizan una evaluación de suplementos alimenticios a base del hongo *Cordyceps militaris* y el bacilo *Lactobacillus plantarum*, en la tilapia *Oreochromis niloticus* observando que la tasa específica de crecimiento, peso ganado, peso final, y factor de conversión alimenticia se ven aumentados con el uso de ambos componentes, sugiriendo que la combinación de estos componentes o sustancias naturales podrían ser consideradas como aditivos o alternativas de suplementos en la alimentación de peces en cultivo o en la acuicultura, ya que incrementan el rendimiento en crecimiento y en la inmunología sérica y en las lisosimas de la mucosa de la piel (Van Doan *et al.*, 2017b).

Por otra parte, Ulukoy *et al.*, (2016) reportaron los efectos del extracto del hongo *Pleurotus ostreatus*, sobre los parámetros inmunológicos y hematológicos de la trucha arcoíris, *Oncorhynchus mykiss*, los organismos fueron alimentados con dietas que contenían: control negativo 0% y 1, 2% de suplemento del extracto de hongos durante seis semanas; analizaron las muestras de sangre después del tratamiento, posteriormente los organismos fueron incubados con *Lactococcus garvieae* para observar la mortalidad. Los resultados de este estudio mostraron que los organismos alimentados con una dieta suplementada con extracto del hongo estimuló la actividad de las células fagocíticas, lisozima y actividad de la mieloperoxidasa en el suero, al mismo tiempo, se encontró un aumento significativo en la cantidad de neutrófilos, monocitos y glóbulos blancos totales, células involucradas en la respuesta inmune. Además, mostraron una mortalidad reducida después de la infección por *L. garvieae* en comparación con los controles negativos. Estos resultados muestran que la suplementación de las dietas de pescado con extracto de hongos (setas) a concentraciones de 1 y 2% ($P > 0.05$) aumenta los parámetros hematológicos y modula la respuesta inmune (Ulukoy *et al.*, 2016); se ha utilizado al hongo *Lentinula edodes* en dietas al 1% y 2% como suplemento

alimenticio de trucha *Oncorhynchus mykiss*, después de ser alimentados fueron retados para evaluar resistencia a la enfermedad contra *Lactococcus garvieae*, mostrando una influencia significativa en los parámetros inmunológicos, la tasa de supervivencia fue la más alta en el grupo de alimentación suplementado con 2% sugiriendo que una dieta complementada con extracto de hongo *L. edodes* mejoró la respuesta inmune y disminuyó la tasa de mortalidad de la trucha arcoiris contra *L. garvieae* (Baba *et al.*, 2015); también en la trucha (*Oncorhynchus mykiss*) se ha probado a *Pleurotus ostreatus* y ortiga (*Urtica dioica*), observando una mayor resistencia a *Aeromonas hydrophila* y ganancia en peso y tasa de crecimiento específica (Bilen *et al.*, 2016), otro de los aspectos que se evalúan al utilizar hongos es la variación en cuanto a los conteos diferenciales de los leucocitos donde ha observado que los que varían son los neutrófilos monocitos, macrófagos y neutrófilos que aumentan cuando se utilizó *Pleurotus ostreatus* en trucha (Ulukuy *et al.*, 2017).

En la alimentación de peces cultivados, se ha observado que una dieta mixta balanceada con mezclas de harina de pescado combinadas con harina de gusano o harina de setas como *Pleurotus sajor-caju*, presentó resultados positivos en el crecimiento de los peces y en sus respuestas fisiológicas (Paripuram *et al.*, 2011). El extracto del hongo *Cordyceps militaris* ayuda a producir altas tasa de crecimiento y funciona como inmunoestimulante en las dietas alimenticias, además se detectó una elevación en la resistencia a *Streptococcus agalactiae*, lo que refuerza a las investigaciones sobre el uso de sustratos de hongos puede ser aplicable a otras especies de peces con interés comercial (Van Doan *et al.*, 2017b).

Se ha utilizado, además, probióticos microencapsulados como una estrategia para disminuir el consumo de antibióticos en los sistemas intensivos y mitigar los impactos sobre el ambiente, siendo considerados una alternativa ya que muestran respuesta positiva para el crecimiento en *O. niloticus* (Gutiérrez *et al.*, 2016). Se considera que algunos hongos, particularmente los del género *Pleurotus* (Khalafalla y El-Sayed, 2015), pueden favorecer el rendimiento en el crecimiento así como mejorar las respuestas al estrés propiciando mejores condiciones fisiológicas y metabólicas de los organismos en condiciones de cultivo; otra de las alternativas

es el uso de suplementos alimenticios o probióticos, que cuando son suministrados de manera adecuada puede producir incremento en la viabilidad de los cultivos y permitir a los organismo tener una mejor respuesta al estrés, las enfermedades y una mejor tasa de crecimiento (Gatlin *et al.*, 2006).

Con el fin de mantener la salud de los peces y mejorar el rendimiento, se han utilizado inmunoestimulantes como aditivos dietéticos para mejorar el aumento de peso, la eficiencia de la alimentación y / o la resistencia a enfermedades en peces cultivados, en acuicultura, los inmunoestimulantes no específicos se han usado ampliamente, probablemente debido al conocimiento limitado de la respuesta inmune en los peces y la facilidad de su aplicación, es ahí donde se abre la posibilidad de que los hongos funciones como inmunoestimulantes (Vallejos-Vidal *et al.*, 2016).

II.2. Uso del género *Pleurotus* en dietas

La importancia del cultivo de *Pleurotus* radica en la agricultura y su economía, es de fácil manejo y obtención, se ha utilizado los residuos del cultivo del hongo como un complemento para la alimentación del ganado (Gaitán-Hernández *et al.*, 2006), aves, porcinos y peces, además, se ha sometido a procesos de vermicompostaje para la producción de biomasa de lombriz (Rodríguez, 2007). Asimismo, se ha observado que la mezcla de los residuos agrícolas con el micelio del hongo, constituye una fuente potencial de proteínas, la cual puede ser aplicada para las grandes demandas nutricionales no convencional para ganado (Soto-Velasco, 1986).

Miranda (2013), utilizó como alimento alternativo el hongo *Pleurotus ostreatus* en roedores como los cuyos, observó que lo organismos consumen sin problema, el alimento hecho a base de un 75% del sustrato post-cultivo (micelio) de dicho hongo, presentando una mayor ganancia de peso. Por su parte, Potter y Hotckiss (1995), mencionaron que existen animales que se alimentan de *Pleurotus ostreatus* en épocas de apareamiento o enfermedad en su medio natural, por lo que se cree que este hongo sirve como estimulante sexual, sedante o con efecto

medicinal en caso de enfermedad, también se ha considerado un complemento alimenticio de aceptable valor nutricional (Gaitán-Hernández *et al.*, 2006).

II.3. Requerimientos nutricionales de *Oreochromis niloticus*

Uno de los principales organismos cultivados es la tilapia del Nilo *Oreochromis niloticus*, su demanda ha crecido fuertemente durante la última década, ya que es una fuente de proteína de alta calidad con alto valor en el mercado (Asaduzzman *et al.*, 2017); Se ha probado en alimentos para tilapia, una variedad de proteínas vegetales, incluidas semillas de soja, semilla de algodón, girasol, colza, maní y sésamo (Khalifa *et al.*, 2018).

Dentro de los requerimientos nutricionales de la tilapia se han aplicado dietas de alimento balanceado que contienen el 30% de proteína, 5% de grasa, 12% humedad, 10% de cenizas, 39% ELN y 4% de fibra cruda (Vega-Villasante, 2010), sin embargo, el requerimiento proteico depende de la fase de crecimiento en la que se encuentre el pez (Tabla 2).

Tabla 2. Requerimiento proteico del organismo por estadio.

| Requerimientos proteicos por estadio | |
|---|-----------------------------------|
| Peso de la tilapia (estadio) (g) | Requerimiento proteico (%) |
| Larva (0.5) | 40-45 |
| 0.5-10 | 35-40 |
| 10-30 | 30-35 |
| 30-250 | 30-35 |
| 250-talla comercial | 25-30 |

Fuente:Manual de Crianza Tilapia. Nicovita

La concentración de lípidos debe ir de acuerdo a la cantidad de proteína administrada de la siguiente manera: 40% de proteína: 6-8% lípido, 35% proteína: 4.5-6% lípido, 25-30% proteína: 3-3.5% lípido; las vitaminas y minerales deben ser suplementadas con una dieta balanceada ya que el pez no puede sintetizarlas, sin embargo, son de gran importancia, puesto que participa en las reacciones metabólicas, los procesos de osmorregulación a nivel celular y a la formación de

huesos, escamas y dientes. Las tilapias necesitan diversos nutrientes para su crecimiento, reproducción y buena salud, entre ellos los aminoácidos esenciales para la formación y regeneración de tejidos así como de proteínas necesarias para obtención de energía (Lacerda *et al.*, 2015).

III. JUSTIFICACIÓN

Debido al incremento de la producción acuícola en respuesta a la demanda alimenticia de algunas comunidades se han generado limitantes tales como, la disposición o alcance de los alimentos a bajo costo que ayuden a mantener un ambiente saludable y que permita generar bienestar en los peces sin afectar la producción y rentabilidad, que involucra la eficiencia alimenticia (dado que los peces se encuentran entre los animales más eficientes en la conversión de alimentos en tejido corporal), tasa de crecimiento y una respuesta favorable contra patógenos. El uso de alimentos balanceados en la actualidad es un recurso importante e indispensable en la crianza de peces de consumo humano, los alimentos a base de hongos pueden mejorar el bienestar del pez y del ambiente, principalmente por contener del 30 al 40% de proteína de peso seco la cual contiene la mayoría de los aminoácidos esenciales creando así un alimento funcional para peces, por lo tanto el presente proyecto busca evaluar la eficiencia del alimento a base del hongo *Pleurotus djamor* var. *roseus*, para favorecer el crecimiento de la tilapia *Oreochromis niloticus* y mejorar los procesos de producción, misma que constituye una alternativa sobre el manejo de recursos naturales de importancia productiva.

IV. HIPÓTESIS

Con la inclusión de proteína fúngica, *Pleurotus djamor* var. *roseus*, en dietas para la tilapia *Oreochromis niloticus*, se espera favorezca el crecimiento e índices hemáticos de los organismos estudiados.

V. OBJETIVO

V.1 Objetivo general

Evaluar la eficiencia nutricional de dieta a base del hongo *Pleurotus djamor* var. *roseus* en diferentes concentraciones (15, 20 y 25%), para el crecimiento de la Tilapia *Oreochromis niloticus*.

V.2. Objetivos particulares

- Obtener biomasa de cuerpos fructíferos de *Pleurotus djamor* var. *roseus* en cultivo sobre paja de trigo.
- Formular dietas a base del hongo *Pleurotus djamor* var. *roseus* en diferentes concentraciones, como un sustituto del alimento convencional para peces.
- Evaluar la tasa de crecimiento, factor de conversión alimenticia y sobrevivencia de *Oreochromis niloticus* bajo una dieta basada en *Pleurotus djamor* var. *roseus*.
- Evaluar los parámetros hematológicos de las tilapias con cada una las dietas alimenticias a base del hongo.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

VI.1. Crecimiento de cepa

La cepa 901 fue proporcionada por el laboratorio de Micología CIB UAEM para su resiembra y mantenimiento, para propagar el micelio en cajas Petri, para su incubación a temperatura ambiente (Sánchez y Royse, 2001).

VI.2. Preparación de inóculo

Se realizó la hidratación del grano de trigo de la siguiente manera, se calentaron 5L de agua hasta alcanzar el punto de ebullición, en una olla de presión, posteriormente, se agregó el trigo previamente pesado y se mantuvieron por 15 min sin apagar la flama, transcurridos los 15 min se apagó la flama y se dejó reposar 20 min. Posteriormente, se dejaron escurrir en la tarja para extenderlo sobre la mesa para quitar el exceso de agua y calor con ayuda de un ventilador, una vez obtenida una hidratación entre el 50 - 55% del total del trigo, se agregó 4 g de cal con 12 g de yeso por cada kg en peso seco de grano de trigo y se homogenizó la mezcla. Se colocaron 200g de granos de trigo en frascos de vidrio de 1L y tapados con papel aluminio para su esterilización (Ortega, 2017).

VI.3. Esterilización

Los frascos conteniendo los granos de trigo fueron esterilizados en autoclave a 121°C y libras/pulg², durante una hora y media, posteriormente se dejaron enfriar a temperatura ambiente para su posterior inoculación (Máster) (Vázquez *et al.*, 2015).

VI.4. Inoculación de los granos de trigo

La inoculación del Máster (F1), se realizó colocando un fragmento de la cepa crecida en cajas Petri. Posteriormente se realizó la siembra de un primer inóculo utilizando granos de trigo (F1) cubiertos ya con micelio del máster, en bolsas de

polipapel con trigo estéril previamente preparado, se incubaron hasta que los granos se observaran totalmente cubiertos por el micelio de hongo (Ortega, 2017).

VI.5. Elaboración de las unidades de producción para el cultivo en medio sólido

Para favorecer el crecimiento de los cuerpos fructíferos, se preparó paja de trigo mezclándola con agua hasta alcanzar una humedad del 60%, posteriormente se pesó 750g de paja húmeda por cada bolsa de polipapel se colocó un filtro hecho con cinta micropore, para permitir aireación, posteriormente se esterilizó en autoclave por 1.3 h a 121°C, se dejó enfriar a temperatura ambiente por 12 horas antes de ser utilizadas (Ortega, 2017).

VI.6. Inoculación Unidades de Producción

Las bolsas con el sustrato estéril (paja húmeda), se colocaron en la campana de flujo laminar para mantener un ambiente estéril y evitar la contaminación, se tomó la bolsa de inóculo previamente descrita con el micelio del hongo y se agregaron 100 g de inóculo a la bolsa con paja húmeda, se dispersó el hongo por medio de la agitación hasta observar que los granos de trigo con micelio estuvieran distribuidos uniformemente por toda la bolsa, posteriormente fueron cerradas con un sellador termoeléctrico para evitar la contaminación de la bolsa inoculada (UP, Unidades de Producción).

VI.7. Fructificación

Una vez obtenidas las UP's, se colocaron en las áreas de fructificación ubicadas en el módulo de crecimiento del Laboratorio de Micología en el Centro de Investigaciones Biológicas (CIB), durante 60 días a una temperatura de 23 °C promedio con una humedad del 90 al 95%, una vez que los cuerpos fructíferos alcanzaron el estadio adulto se procedió a realizar la cosecha. Las UPA's fueron regadas por la mañana, a medio día y por la tarde para preservar la humedad.

VI.8. Análisis químico proximal

Los cuerpos fructíferos adultos que se cosecharon se secaron a temperatura ambiente para evitar la desnaturalización de las proteínas y nutrientes, posteriormente, estos cuerpos fructíferos fueron pulverizados, una vez obtenido el polvo de hongo se procedió a determinar el contenido proteico de la siguiente manera: se utilizó el método de Kjeldahl que se basa en la digestión por destrucción oxidativa con ácido sulfúrico de los compuestos orgánicos de una muestra en la presencia de un catalizador y temperatura. Resultando en la producción de nitrógeno orgánico amoníaco, mismo que es retenido y puede ser determinado por destilación alcalina y titulación. Se obtuvo el peso exento de la muestra y se procedió a realizar la digestión. Se colocó la muestra en un tubo de vidrio para digestión y se agregaron dos tabletas 10g de una mezcla 9:1 de sulfato de potasio y sulfato de cobre (Kjeldahl). Se agregó 15 mL de ácido sulfúrico concentrado al tubo y se incubó a una temperatura de 440°C durante 1 hora, al término del ciclo se dejó enfriar el tubo por una hora aproximadamente para evitar la desnaturalización de las proteínas por choque térmico (Ronald *et al.*, 1996). Posteriormente, se procedió a realizar la destilación de la muestra agregando 70 mL de agua destilada y se colocó el tubo en el destilador Kjeltex TM2100, la destilación fue recolectada en un matraz de 250 mL conteniendo 25 mL de la solución indicadora de ácido bórico, la solución destilada en el matraz se tituló con la solución de ácido sulfúrico 0.1N. Se utilizó la cantidad de mililitros empleados en la titulación para realizar el cálculo siguiente:

$$\% N = \frac{[(V_m - V_b) \times 140.07]}{PM}$$

Donde:

N= peso molecular del nitrógeno

V_m= mL usado para la titulación de la muestra

V_b= mL usado para titular blanco, usualmente es 0

PM= peso de muestra en mg

Una vez obtenido el peso molecular del nitrógeno se procedió a calcular el porcentaje total de la proteína contenida en la muestra, utilizando el factor de 6.25, el cual es calculado por el contenido de nitrógeno proteico.

$$\% \text{ proteína cruda} = \% \text{ N} \times 6.25$$

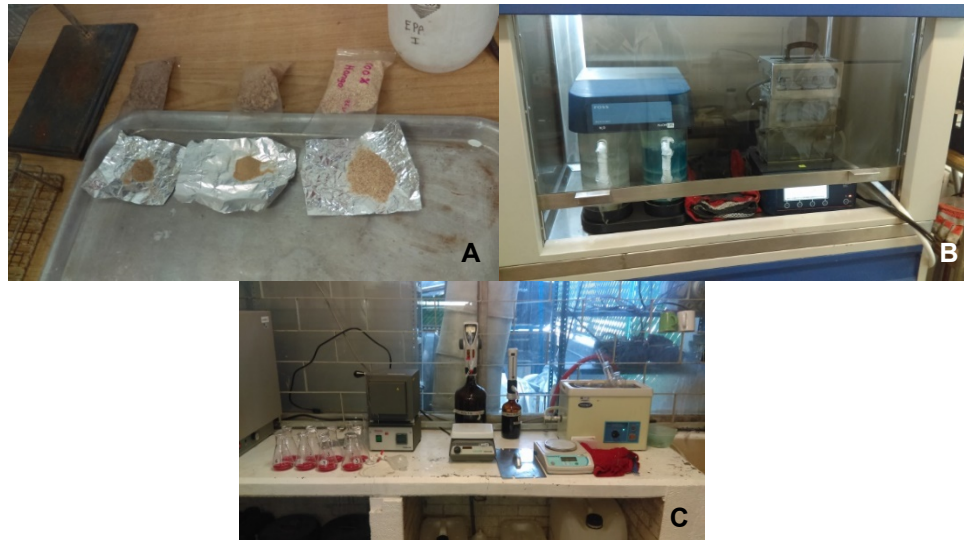


Figura 1. Análisis bromatológico A) Polvo de hongo y de harina pescado para calcular el contenido proteico de cada una, B) digestor para los tubos con muestras de las harinas para digerir las proteínas por el método de Kendalf; C) titulación de los matraces que contiene la destilación obtenida de las proteínas.

VI.9. Preparación de formulaciones

Una vez obtenidos los valores de proteína contenidos en la muestra del polvo de hongo se procedió a realizar las formulaciones, tomando en cuenta los parámetros nutricionales del estadio del organismo (Tabla 2) y diversos insumos utilizados comercialmente para la elaboración de alimento para peces: harina de pescado, polvo de hongo, aceite de pescado, mezcla de minerales, carbohidratos y grasas.



Figura. 2. Formulaciones (pellets) de las tres dietas con diferentes contenidos porcentuales del hongo *Pleurotus djamor* var. *roseus* (15, 20 y 25%), en proceso de secado en el horno a 60°C.

VI. 10. Pruebas de palatabilidad

Se realiza un prueba para determinar si los peces aceptan las dietas propuestas, para ellos se tomaron tres acuarios con diez organismos cada uno a los que se les proporciono la dieta tres veces al día, para observar si el alimento se consume y si es aceptado pos los organismos, esto se realizó durante siete días, previos a iniciar la fase experimental (figura 6).

VI.11. Organismos y tratamientos

Los peces se mantuvieron en condiciones de laboratorio con temperatura de 27 °C, y pH 6.8, aireación constante, fueron separados en cuatro grupos (T1, T2, T3 y Control), y en cada pecera se utilizaron siete organismos. Se realizaron tres periodos de alimentación, 9, 13 y 17 h con base a la biomasa a una tasa de alimentación del 7 % mantenida diariamente, durante un periodo de 60 días, se realizaron tres repeticiones por cada tratamiento.

VI.12. Parámetros zootécnicos

Utilizando los resultados de peso y talla se calcularon los valores zootécnicos con las siguientes ecuaciones (Ricker, 1979; Karga y Mandal, 2017).

$$\text{Ganancia de Peso (GP)} = \text{PF} - \text{PI}$$

(PF: peso final y PI: peso inicial)

Ganancia de Talla (GT)= TF - TI

(TF: talla final y TI: talla inicial)

Tasa Específica de Crecimiento $TEC (\%) = \frac{\ln(PF) - \ln(PI)}{t} \times 100$

(PF y PI son el peso final e inicial, t es el tiempo y Ln es el logaritmo natural)

Porcentaje de Supervivencia $\% S = \frac{\text{No final de peces}}{\text{No inicial de peces}} \times 100$

Factor de Conversión Alimenticia (FCA): relación entre el alimento consumido y la biomasa al final del periodo experimental

VI.13. Parámetros hematológicos

La muestra sanguínea se tomó de cinco organismos en los días 0, 30 y 60 de cada tratamiento. Se midió la concentración de hemoglobina, hematocrito, recuento de eritrocitos, para determinar los índices hemáticos Volumen Corpuscular Medio (VCM), Concentración Media de Hemoglobina Globular Media (CMHG), Concentración de Hemoglobina Media (CMH) (Ulukoy, 2016).

Toma de muestra sanguínea. Se esterilizó con alcohol al 70% la zona de la branquia donde se ubica la vena aorta ventral al interior de la branquia. La extracción de sangre se realizó con una jeringa con anticoagulante EDTA, se tomó 1.5 ml de sangre aproximadamente (Campbell y Ellis, 2007).

Conteos diferenciales de leucocitos. Se realizó el conteo diferencial de leucocitos en un microscopio compuesto registrando los valores de cada tipo celular en porcentaje.

Recuento total de leucocitos. Del tubo de la muestra de sangre se tomó con una pipeta de glóbulos blancos hasta la marca de 0.5 unidades, posteriormente se tomó la solución de Turk al 1% hasta la marca de 11 unidades sin burbujas, se mezcló durante tres minutos, se colocó una gota en la cámara de Neubauer y se procedió a realizar el conteo de las células en los cuatro de las esquinas. El recuento del número de leucocitos se expresa en cel's/mm³ (Figura 3, Cámara de Neubauer, cuadros azules) (Campbell y Ellis 2007).

Recuento total de eritrocitos. Se tomó la muestra con la pipeta de glóbulos rojos hasta la marca de 0.5 unidades, y complementando con la solución de Hayem al 1% hasta la marca de 101 unidades sin burbujas. Mezclar de 2 ó 3 min, eliminar las 3 primeras gotas, la siguiente se coloca en la cámara de Neubauer; se contaron las células en los cinco cuadros de la retícula central. El recuento del número de eritrocitos se expresa en cel's/mm³ (Figura 3, Cámara de Neubauer, cuadros rojos) (Campbell y Ellis 2007).

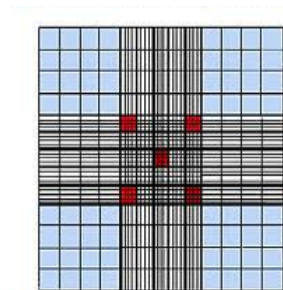


Figura 3. Hemocitometro área azul para recuento de glóbulos blancos (leucocitos), áreas rojas para recuento de glóbulos rojos (eritrocitos).

Hematocrito. Se llenaron los tubos capilares a un 70-80 % y fueron sellados por calor, se procedió a centrifugarlos durante 5 min a 10000 rpm. Posteriormente, se procedió a medir la cantidad de muestra de los paquetes celulares y suero para obtener la relación en porcentaje (Book, 1993).

Determinación de hemoglobina. Se utilizó el Kit Hemoglobin Cal, que consta de Diluyente de Drabkin y solución patrón. Se tomaron para el diluyente 4.9 ml de agua destilada y se adicionaron 0.1 mL de la solución de Drabkin; se utilizó

esta misma solución como blanco y una más para la solución patrón (valor de referencia), lo anterior fue realizado con cada muestra de cada organismo (20µl). Se realizó la lectura en un espectrofotómetro a 540 nm, una vez obtenido el resultado se realizó la fórmula dada por el Kit para para obtener la concentración de hemoglobina en g/dL (Blaxhall *et al.*, 1973).

Índices hemáticos. A partir de los resultados de concentración de hemoglobina, recuento de eritrocitos y microhematocrito, se utilizaron las fórmulas para obtener los índices eritrocitarios (Tabla 3), Volumen Corpuscular Medio (VCM), Concentración de Hemoglobina Media (HCM) y Concentración media de Hemoglobina Corpuscular (CHCM) (Lee *et al.*, 1998).

Tabla 3. Fórmulas para calcular índices Hemáticos, utilizando los valores obtenidos en los parámetros hematológicos (hemoglobina, hematocrito y recuento total de glóbulos rojos).

| Índice Hemático | Formula |
|---|---|
| Volumen Corpuscular Medio (fL) | (Hematocrito * 10)/Recuento total de Eritrocitos |
| Concentración Media de Hemoglobina Globular (%) | (Hemoglobina * 100)/Hematocrito |
| Hemoglobina Globular Media (pg) | (Hemoglobina * 10)/ Recuento total de Eritrocitos |

VI.14. Análisis estadísticos

Los datos obtenidos en la fase experimental fueron analizados en el programa Statistica 7.0, utilizando una prueba de Análisis de Varianza (ANOVA, por sus siglas en inglés) con un valor de significancia $P=0.05$. La normalidad se determinó y confirmó con la prueba de Kolmogorov-Smirnov antes del análisis de datos. Se utilizó el análisis de varianza unidireccional (ANOVA) seguido de la prueba de Tukey.

VII. RESULTADOS

VII.1. Producción de hongo

En la producción de los cuerpos fructíferos del hongo *Pleurotus djamor* var. *roseus* (Figura 4) se obtuvo un total de 23.5 kg de hongo fresco, con una Eficiencia Biológica de $55\% \pm 3.17$ y la Tasa de producción de 0.87.

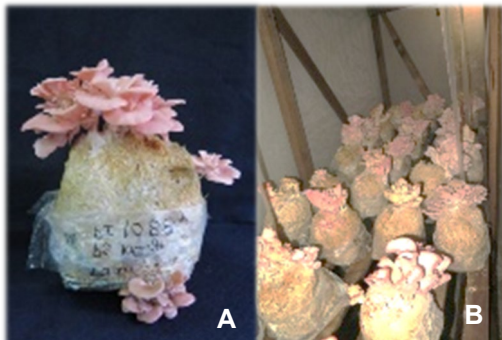


Figura 4. Cuerpos fructíferos de *Pleurotus djamor* var. *roseus*, A) apertura de las bolsas con los cuerpos fructíferos en desarrollo y crecimiento a 10 días; B) desarrollo de los cuerpos fructíferos.

VII.2. Hongo molido

Del hongo obtenido se realizó el secado obtenido 2,326 g (Figura 5A y 5B), representando un aproximado del 10% del hongo en fresco.

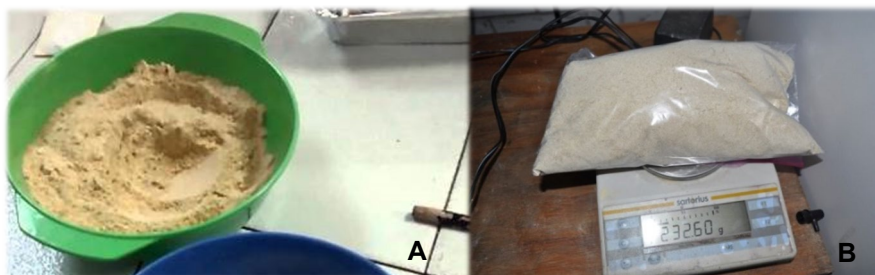


Figura 5. A) Polvo de hongo molido, tamizado con un colador de poro fino; B) peso del polvo en seco para la elaboración de las dietas.

VII.3. Contenido de proteína

Al realizar el análisis químico proximal del hongo molido, se determinó que el contenido de proteína total era de 4.32 % de nitrógeno, que dio como resultado un total de 27 % de proteína en base seca.

VII.4. Formulaciones

Se realizaron tres formulaciones en base a las necesidades nutricionales de los organismos (Tabla 2), todas a la concentración final de 35 % de proteína: dieta 1; 15% de hongo y 85% harina de pescado, dieta 2; 20% hongo y 80% harina de pescado y dieta 3: 25% hongo y 75% de harina de pescado, con los complementos para todas las dietas (Tabla 4).

Tabla 4. Relación de la cantidad e ingredientes (aditivos) para las formulaciones de los tres tratamientos a diferentes concentraciones del polvo de hongo, calculados a partir de la determinación del contenido proteico de las harinas y que todas al final tuvieran una concertación de 35% de proteína.

| Contenido (g) | Tratamiento 1 (T1) | Tratamiento 2 (T2) | Tratamiento 3 (T3) |
|----------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Harina de pescado | 545 | 513 | 481 |
| Polvo de hongo | 198 | 265 | 330 |
| Aceite de pescado | 100 | 100 | 100 |
| Mezcla de Minerales | 40 | 40 | 40 |
| Dextrina | 67 | 32 | 0 |
| Aglutinante | 50 | 50 | 49 |
| Total | 1000 | 1000 | 1000 |

VII.5. Análisis de dietas

Se realizó la determinación del contenido nutricional de cada una de las dietas así como del alimento convencional, dando que cada una de las dietas y

control dan una Ganancia de Energía de 4,200 Cal g⁻¹, como se describe en la tabla 5.

Tabla 5. Composición aproximada de las dietas experimentales (g kg⁻¹ de materia seca).

| | Control | Dieta 1 | Dieta 2 | Dieta 3 |
|---|---------|---------|---------|---------|
| Proteína Cruda | 352.2 | 352.5 | 352.6 | 352.9 |
| Lípidos Crudos | 87.8 | 87.9 | 88.1 | 88.3 |
| Ceniza | 76.1 | 76.6 | 76.8 | 76.9 |
| Fibra | 49.3 | 50.1 | 50.5 | 50.9 |
| Ganancia de Energía (Cal g ⁻¹) ^e | 4,216 | 4,209 | 4,208 | 4,207 |

VII.6. Pruebas de Palatabilidad

El alimento formulado con cada una de las tres concentraciones de polvo de hongo fue proporcionado durante una semana previa al inicio experimental, observado que el alimento es consumido por todos los peces de los acuarios de prueba logrando una tasa de aceptación del 100% de los organismos en los 3 acuarios.



Figura. 6. Pruebas de aceptación y palatabilidad con el 100 % de aceptación.

VII.7. Desarrollo experimental de los tratamientos

El desarrollo experimental para poner a prueba las tres mezclas obtenidas, se realizó de la siguiente manera, se utilizaron 3 acuarios para cada una de las dietas y para la dieta control (alimento convencional: Pedregal con 35% de proteína), dando un total de 12 acuarios, conteniendo 40 litros de agua con un pH

de 7.2 y oxígeno disuelto en promedio de 6.82 mg/L, mantenidas a una temperatura de 28 ± 2 ° C, por medio de la utilización de un termostato sumergible en cada pecera (condiciones monitoreadas semanalmente). Se distribuyeron 7 organismos por acuario dando un total de 84 organismos (Figura 7A), de los cuales, se registró peso, talla y muestra sanguínea a los 0 días para realizar el cálculo de la biomasa y el alimento requerido (g) (Figura 7B) y posteriormente, cada 7 días después de iniciado el tratamiento.

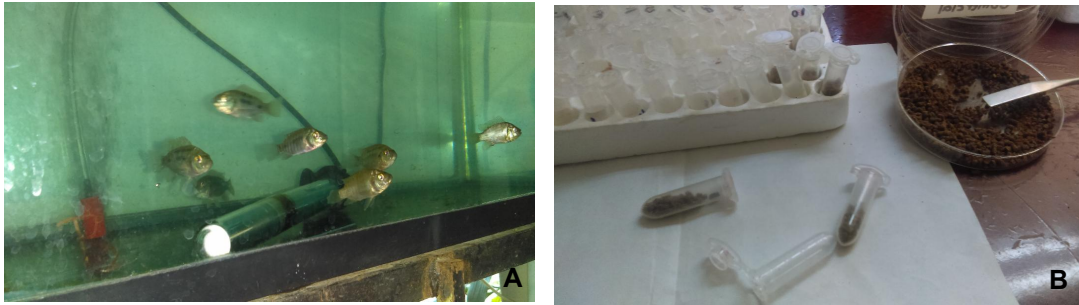


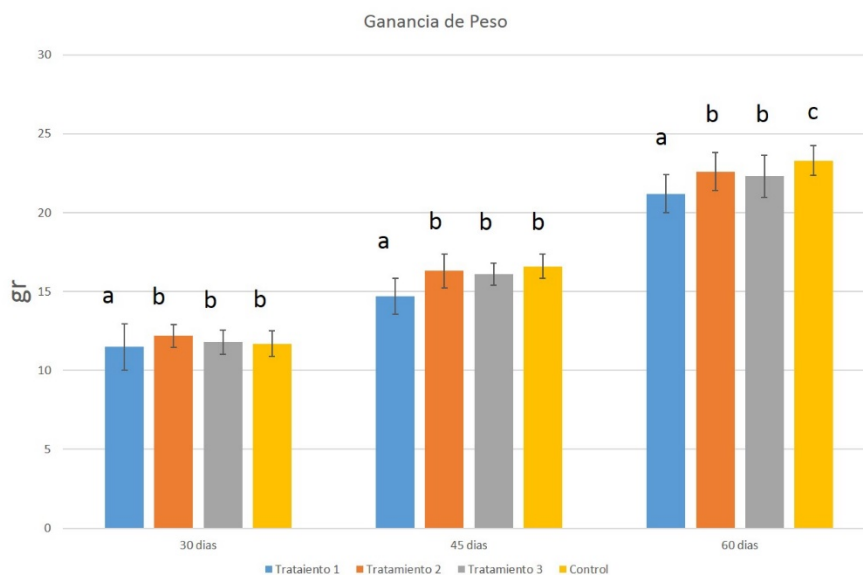
Figura 7. A) Acuario para la fase experimental en condiciones de laboratorio con aeración y temperatura controladas monitoreadas una vez por semana; B) cálculo de biomasa para establecer la dieta en viales con registro por pecera de todos los tratamientos.

VII.8. Biometrías de los organismos

Se observó ganancia de peso en los tres tratamientos a base de hongo (Gráfica 1), al analizar y comparar los tratamientos por cada tiempo estadísticamente podemos describir que a los 30 y 45 días se observa ya una diferencia significativa entre los tratamientos y el control ($F=3.32 P=0.02$; $F=9.25 P=0.00002$) no obstante, al culminar el tratamiento (60 días) se observa que el tratamiento 3 (25% de polvo de hongo) muestra resultados similares con el control (alimento convencional), con diferencia significativa ($F=11.64 P=0.00002$) (Gráfica 2).

Tabla. 6. Comparación de las ganancias de peso de los tratamientos y el control a los 60 días de crecimiento (Promedio \pm DE, n=30).

| Peso (g) | Control | Tratamiento 1 (15%) | Tratamiento 2 (20%) | Tratamiento 3 (25%) |
|----------|-----------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| Inicio | 3 \pm 0.16 | 3.5 \pm 0.22 | 3.3 \pm 0.22 | 3.1 \pm 0.17 |
| 15 días | 6.1 \pm 1.14 | 5.7 \pm 0.45 | 5.8 \pm 0.24 | 6.2 \pm 1.29 |
| 30 días | 11.7 \pm 0.82 | 11.5 \pm 1.47 | 12.2 \pm 0.72 | 11.8 \pm 0.77 |
| 45 días | 16.6 \pm 0.77 | 14.7 \pm 1.15 | 16.3 \pm 1.09 | 16.1 \pm 0.7 |
| 60 días | 23.3 \pm 0.95 | 21.2 \pm 1.19 | 22.6 \pm 1.21 | 22.3 \pm 1.32 |



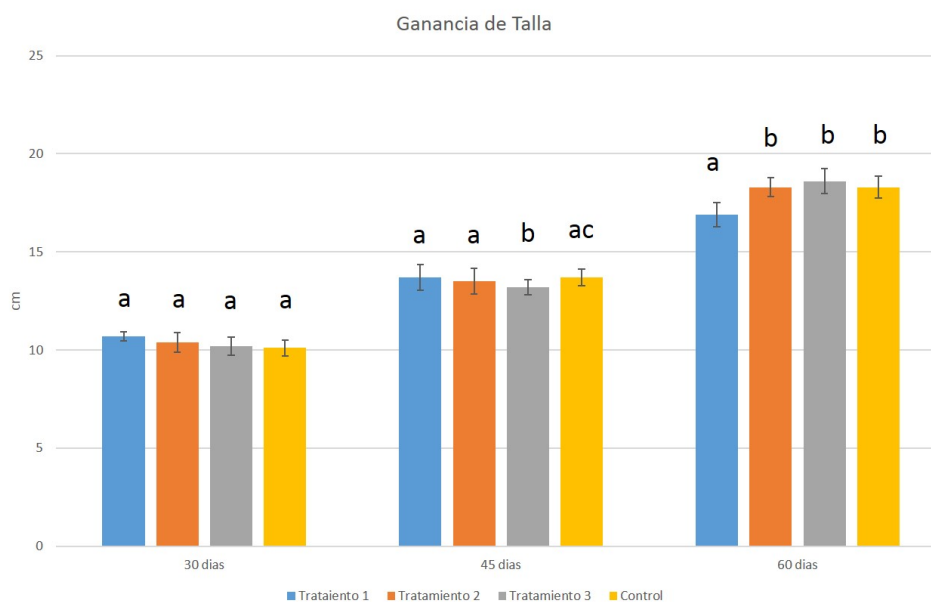
Grafica 1. Ganancia de peso de cada uno de los tratamientos y control $F_{(4, 30)} = 11.64$; $P > 0.05$ durante los 60 días de la fase experimental (solo se muestra lo más representativo que se dio a los 45 y 60 días).

Se realizó el registro de las tallas (longitud patrón) al mismo tiempo que fueron tomados los datos del peso (0, 15, 30, 45 y 60 días) (Tabla 9). En los datos promedio de los tres tratamientos a base de hongo, se observó que los organismos aumentan de tamaño de manera similar (Grafica 3), al realizar un análisis de varianza (ANOVA) se comprueba que existe diferencia significativa a los 15, 45 y 60 días ($F=5.64 P=0.0015$; $F=5.13 P=0.0022$; $F=33.14 P=0.000001$) entre estos, el control (Grafica 4) (alimento convencional) registra un aumento significativo ($F=45.6$) en los días 15, 30, 45 y 60, en la talla de los organismos a diferencia de

los que fueron alimentados con los tratamientos hechos a base de polvo de hongo (Grafica 2).

Tabla. 7. Registro de la talla promedio de los organismos en cada uno de los tratamientos a los 0, 15,30, 45 y 60 días del experimento, (Promedio \pm DE, n=30).

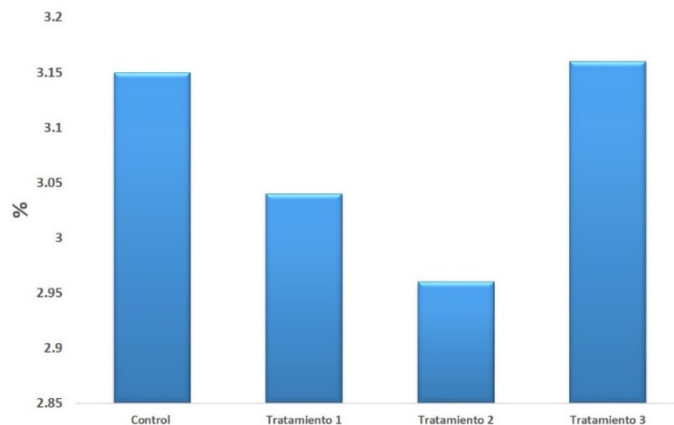
| Talla (cm) | Control | Tratamiento 1 (15%) | Tratamiento 2 (20%) | Tratamiento 3 (25%) |
|------------|-----------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| Inicio | 4.1 \pm 0.74 | 4.2 \pm 0.82 | 4.2 \pm 0.26 | 4.1 \pm 0.16 |
| 15 días | 7 \pm 0.31 | 6.5 \pm 0.41 | 6.6 \pm 0.61 | 6.9 \pm 0.16 |
| 30 días | 10.1 \pm 0.41 | 10.6 \pm 0.63 | 10.4 \pm 0.5 | 10.2 \pm 0.16 |
| 45 días | 13.7 \pm 0.41 | 13.7 \pm 0.64 | 13.5 \pm 0.66 | 13.2 \pm 0.16 |
| 60 días | 18.3 \pm 0.57 | 16.9 \pm 0.62 | 18.3 \pm 0.48 | 18.6 \pm 0.16 |



Grafica 2. Ganancia de talla de cada uno de los tratamientos y control $F_{(4, 30)}=45.6$; $P > 0.05$ durante los 60 días de la fase experimental.

VII.8.1. Tasa Específica de Crecimiento (TEC %/día)

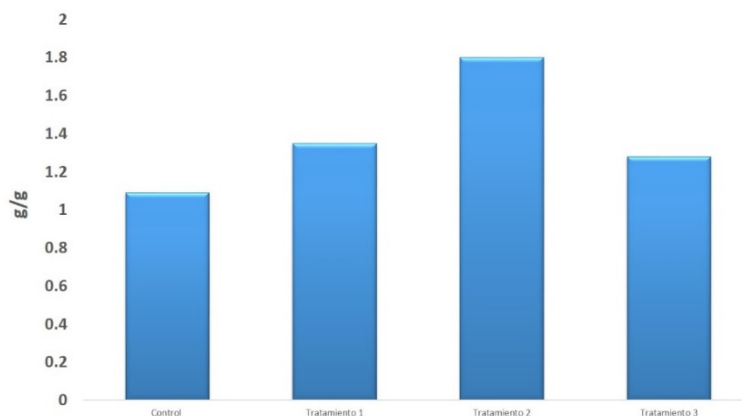
La tasa específica de crecimiento se refiere a la medida ganada por el organismo al día, ésta se calcula a partir del peso inicial y final de cada uno de ellos. En este estudio se observó que la tasa de crecimiento del tratamiento 3 y el control, producen un crecimiento similar a diferencia del tratamiento 1, que produjo la menor tasa de crecimiento de los tres tratamientos.



Gráfica 3. Tasa específica de crecimiento (%/día) durante la fase experimental, el que muestra una mejor tasa es el Tratamiento 3 y el Control.

VII.8.2. Factor de conversión alimenticia (g/g)

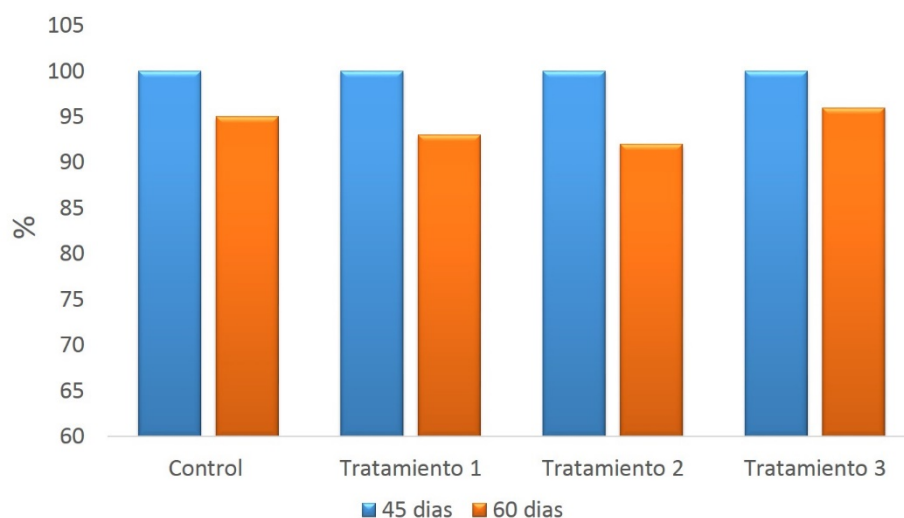
El Factor de Conversión Alimenticia tiene un mejor rendimiento en el tratamiento tres y en el que se invirtió más alimento fue en el tratamiento dos 1.7 g para producir un gramo de biomasa, y el control mantiene un mejor resultado de conversión del alimento.



Gráfica 4. Factor de Conversión Alimenticia durante la fase experimental, se muestra que el que tiene un menor aprovechamiento del alimento es el tratamiento 2 a diferencia del Tratamiento 3 y control que se invierte menos alimento.

VII.8.3. Tasa de sobrevivencia

Se iniciaron con 10 organismos por acuario con tres repeticiones por tratamiento y se determinó la tasa de sobrevivencia durante los 60 días de fase experimental, mostrando una tasa de sobrevivencia al 100% durante 45 días, sin embargo esta bajo a 97 % en los tratamientos 1 y 2, 98% en el tratamiento 3 y 96% para el control (Grafica 7).



Grafica 5. Tasa de sobrevivencia, en el caso de los tratamientos dos y tres es menor la tasa de mortalidad, a diferencia del tratamiento uno donde hay una mayor tasa de mortalidad al cabo de los 60 días.

Tabla 8. Rendimiento en el crecimiento de *O. niloticus* alimentado con las dietas experimentales. Los valores se expresan como media \pm SE. Los valores en la misma fila que tienen letras superíndice muestran la diferencia significativa ($P < 0.05$), $n = 10$.

| Variable | Tratamientos | | | |
|--|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| | Dieta 1 | Dieta 2 | Dieta 3 | Control |
| Talla inicial (cm-1) | 4.2 \pm 0.82 ^a | 4.2 \pm 0.27 ^a | 4.1 \pm 0.21 ^a | 4.1 \pm 0.75 ^a |
| Peso inicial (g-1) | 3.4 \pm 0.22 ^a | 3.3 \pm 0.22 ^a | 3.1 \pm 0.18 ^a | 3.1 \pm 0.17 ^a |
| Talla final (cm -1) | 16.9 \pm 0.62 ^a | 18.2 \pm 0.48 ^b | 18.5 \pm 0.63 ^b | 18.3 \pm 0.57 ^b |
| Peso Final (g -1) | 21.1 \pm 1.19 ^a | 22.5 \pm 1.22 ^b | 22.3 \pm 1.32 ^b | 23.3 \pm 0.96 ^c |
| Tasa Especifica de Crecimiento (% dia-1) | 3.1 \pm 0.01 ^a | 3.2 \pm 0.01 ^a | 3.3 \pm 0.01 ^b | 3.4 \pm 0.01 ^b |
| Ganancia de peso | 19.3 \pm 0.02 ^a | 19.2 \pm 0.02 ^a | 20.3 \pm 0.02 ^b | 20.2 \pm 0.02 ^b |
| Factor de condición | 0.43 \pm 0.01 ^a | 0.37 \pm 0.01 ^b | 0.35 \pm 0.01 ^b | 0.38 \pm 0.01 ^b |
| Tasa de conversión alimenticia | 1.7 \pm 0.01 ^a | 1.4 \pm 0.01 ^b | 1.3 \pm 0.01 ^b | 1.4 \pm 0.01 ^b |

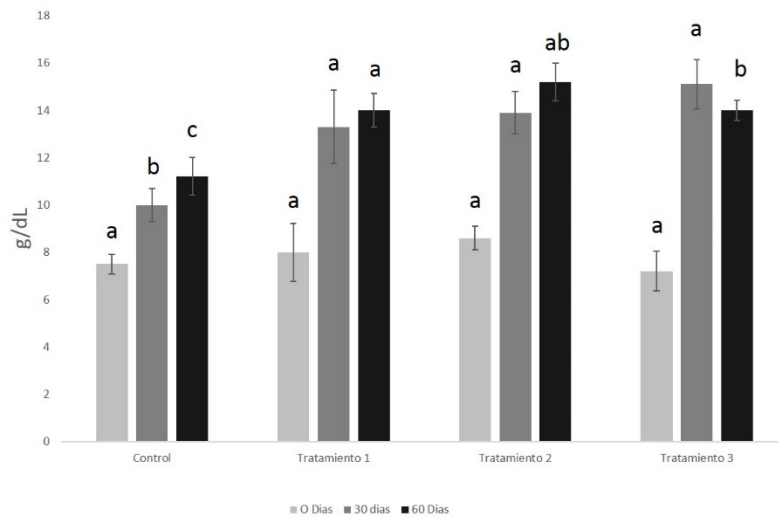
VII.9. Parámetros hematológicos

Se realizaron los perfiles hematológicos a cinco organismos de cada tratamiento y control a los 0, 30 y 60 días del tratamiento, y se registraron los promedios (Tabla 5), se observó que en las muestras tomadas en el día 0, mostraban valores similares en la concentración de glóbulos rojos (RTR), blancos (RTB), hemoglobina (Hb), y paquete celular (Hto), sin embargo el muestreo realizado a los 30 días de iniciado el tratamiento, se observa un incremento en comparación al inicio de la fase experimental, con las tres dietas hechas a base de polvo de hongo, a excepción del grupo control no varía en relación al inicio. En la Tabla 9 se comparan todos los parámetros hematológicos al inicio y a los 60 días que es al tiempo donde se aprecia el incremento en hemoglobina, hematocrito recuento total de glóbulos rojos y blancos y en los conteos diferenciales de neutrófilo y linfocitos. En las gráficas 8-11 se presenta los valores y las diferencias significativas de la hemoglobina, hematocrito, recuento total de glóbulos rojos y blancos comparados al inicio a los 30 y 60 días entre los tres grupos y el control por una prueba de ANOVA.

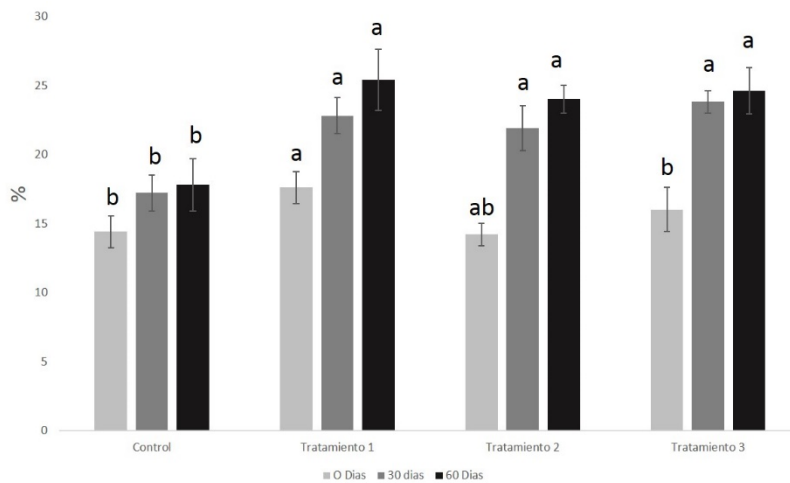
Tabla 9. Comparación de los parámetros hematológicos al inicio y a los 60 días de alimentación, con la formulación que contiene polvo de hongo *Pleurotus djamor var. roseus* (Promedio \pm DE, n=5).

| Parámetros Hematológicos | Control | | 15 % | | 20 % | | 25% | |
|--|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| | Inicio | 60 días | Inicio | 60 días | Inicio | 60 días | Inicio | 60 días |
| RTR (cels/mm ³) x10 ⁵ | 2.374 \pm 0.1 ^a | 2.88 \pm 0.08 ^b | 2.52 \pm 0.1 ^a | 3.67 \pm 0.1 ^a | 2.4 \pm 0.09 ^a | 3.68 \pm 0.11 ^a | 2.38 \pm 0.21 ^a | 3.60 \pm 0.44 ^a |
| RTB (cels/mm ³) x10 ³ | 2.03 \pm 0.12 ^a | 2.66 \pm 0.13 ^c | 2.18 \pm 0.19 ^a | 3.06 \pm 0.20 ^a | 2.08 \pm 0.83 ^a | 3.3 \pm 0.16 ^{ab} | 2.1 \pm 0.07 ^a | 3.38 \pm 0.84 ^b |
| Hemoglobina (g/dL) | 7.5 \pm 0.42 ^a | 11.2 \pm 0.8 ^c | 8 \pm 1.22 ^a | 14 \pm 0.7 ^a | 8.6 \pm 0.5 ^a | 15.2 \pm 0.8 ^{ab} | 7.2 \pm 0.84 ^a | 14 \pm 0.44 ^b |
| Hematocrito (%) | 14.4 \pm 1.14 ^b | 17.8 \pm 1.9 ^b | 17.6 \pm 1.14 ^a | 25.4 \pm 2.2 ^a | 14.2 \pm 0.8 ^b | 24 \pm 1 ^a | 16 \pm 1.6 ^{ab} | 24.6 \pm 1.67 ^a |
| VCM (fL) | 60.7 \pm 4.5 ^{ab} | 61.9 \pm 7.8 ^a | 69.9 \pm 4.7 ^a | 69.2 \pm 4.2 ^a | 58.3 \pm 4.2 ^b | 65.2 \pm 2.5 ^a | 67.6 \pm 7.9 ^{ab} | 69.9 \pm 4.4 ^a |
| CMH (pg) | 31.5 \pm 2.7 ^a | 38.9 \pm 2.6 ^a | 31.7 \pm 4.6 ^a | 38.2 \pm 1.9 ^a | 35.3 \pm 3.2 ^a | 41.3 \pm 2.2 ^a | 30.5 \pm 5.2 ^a | 44.9 \pm 1.3 ^b |
| CMHG (%) | 52.2 \pm 6.9 ^{ab} | 63.5 \pm 8.4 ^a | 45.3 \pm 5.4 ^a | 55.4 \pm 5.4 ^a | 60.6 \pm 2.6 ^b | 63.5 \pm 5.4 ^a | 45.7 \pm 9.3 ^a | 64.5 \pm 5.6 ^a |
| Neutrófilos (%) | 62.6 \pm 3.22 ^a | 60.8 \pm 1.6 ^c | 60.2 \pm 1.7 ^a | 50.2 \pm 1.1 ^a | 61.2 \pm 1.9 ^a | 46.2 \pm 2.6 ^{ab} | 61.8 \pm 2.4 ^a | 43.8 \pm 3.2 ^b |
| Eosinófilos (%) | 3.6 \pm 1.1 ^a | 3 \pm 1.6 ^a | 4 \pm 1.6 ^a | 3.2 \pm 0.8 ^a | 4.4 \pm 1.5 ^a | 2.2 \pm 0.8 ^a | 5 \pm 1.6 ^a | 4 \pm 1.0 ^a |
| Basófilos (%) | 1.8 \pm 0.83 ^a | 2.8 \pm 0.83 ^a | 3.2 \pm 1.09 ^a | 3 \pm 1.22 ^a | 2.4 \pm 0.54 ^a | 1.8 \pm 0.83 ^a | 2.4 \pm 0.54 ^a | 2.2 \pm 0.83 ^a |
| Monocitos (%) | 3.8 \pm 0.83 ^a | 3.8 \pm 1.2 ^a | 4.2 \pm 0.83 ^a | 2.4 \pm 0.54 ^a | 4.2 \pm 0.83 ^a | 2.4 \pm 0.89 ^a | 3.2 \pm 0.83 ^a | 2.6 \pm 1.51 ^a |
| Linfocitos (%) | 28.2 \pm 3.11 ^a | 29.6 \pm 2.5 ^c | 28.4 \pm 3.5 ^a | 41.2 \pm 2.04 ^a | 27.8 \pm 2.68 ^a | 47.4 \pm 2.07 ^b | 27.6 \pm 1.14 ^a | 47.4 \pm 2.5 ^b |

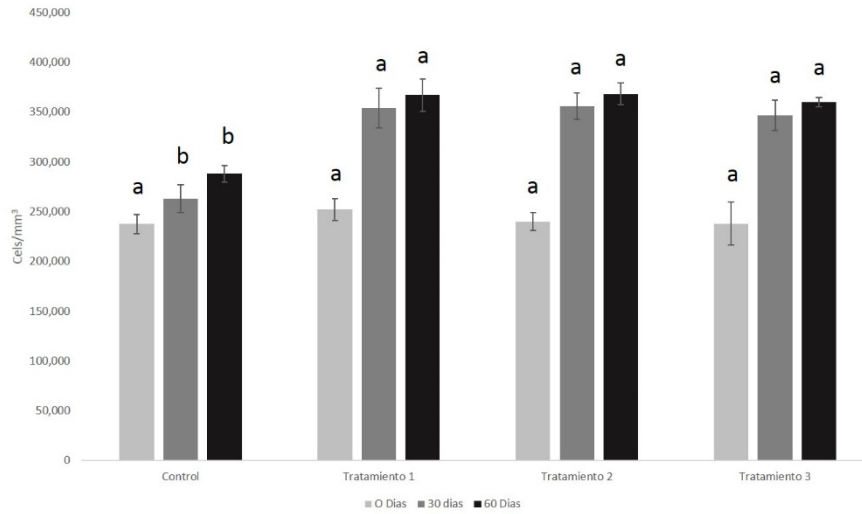
*Nota. RTR: recuento total de glóbulos rojos, RTB: recuento total de glóbulos blancos, VCM: volumen corpuscular medio, CMHG: concentración media de hemoglobina globular, CMH: concentración media de hemoglobina. Los valores con letras diferentes dentro de una fila son significativamente diferentes (ANOVA, $P < 0.05$)



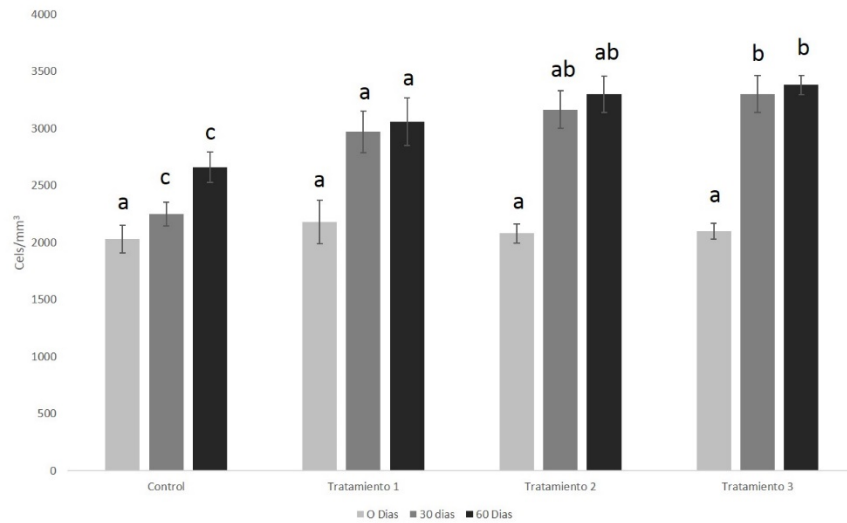
Grafica 6. Concentración de Hemoglobina (Hb), como se puede apreciar los tres tratamientos presentan un aumento en los valores después de 30 y 60 días, el mejor efecto es con tratamiento 2 (20% de hongo) ANOVA, $F=39.71$; $p=0.00001$.



Grafica 7. Hematocrito (Hto), como se puede apreciar los tres tratamientos presentan un aumento en los valores después de 30 y 60 días. ANOVA $F=19.70$; $p=0.000013$.



Grafica 8. Recuento Total de Glóbulos Rojos (CTR), como se puede apreciar los tres tratamientos presentan un aumento en los valores después de 30 y al final a los 60 días. ANOVA $F=5.7$; $p=0.000001$.



Grafica 9. Recuento Total de Glóbulos Blancos (RTB), como se puede apreciar los tres tratamientos presentan un aumento en los valores después de 30 y al final a los 60 días. ANOVA $F=22.48$; $p=0.000006$.

Se realizó el análisis de los índices hemáticos de los organismos, en estos se relaciona los valores de hematocrito, hemoglobina y conteo total de rojos, para determinar el tamaño de los eritrocitos (VCM), la cantidad de hemoglobina por cada eritrocito (CMH) y la cantidad de hemoglobina total en relación al paquete celular (CMHG). Se observó que el tamaño de los eritrocitos no presenta diferencia significativa a los 30 días ($F=2.35$; $p=0.11$) y los 60 días ($F=1.05$; $p=0.39$). En cuanto a la cantidad de hemoglobina por eritrocito no tuvo significancia desde el inicio ($F=1.63$; $p=0.22$) y a los 60 días ($F=1.35$; $p=0.29$) y en el porcentaje de hemoglobina solo presentó significancia entre los tratamientos a los 60 días ($F=10.82$; $p=0.00039$). Tabla 8 previamente mostrada.

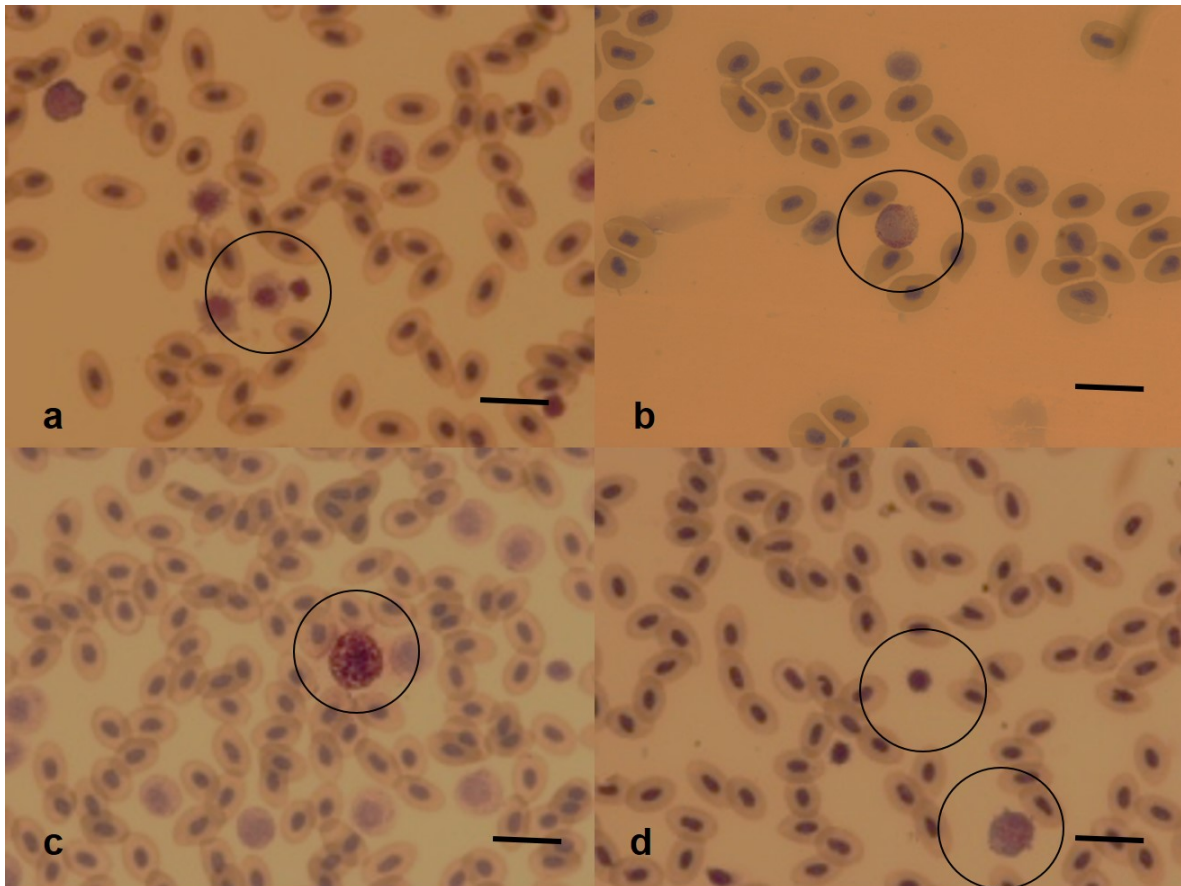
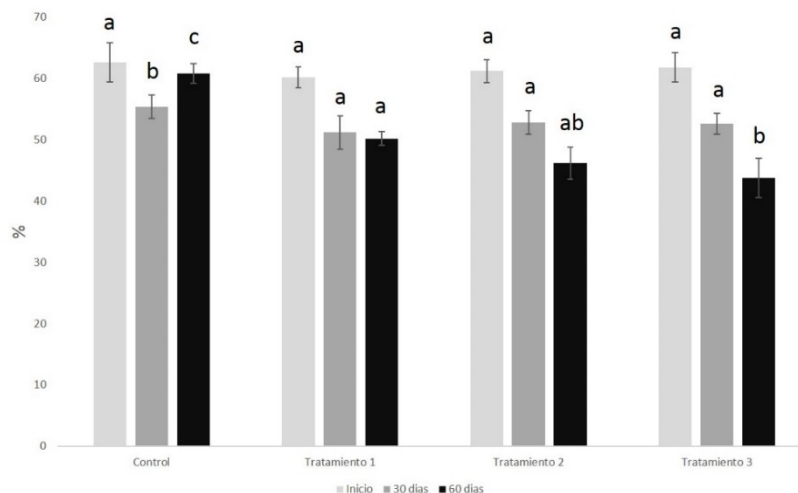


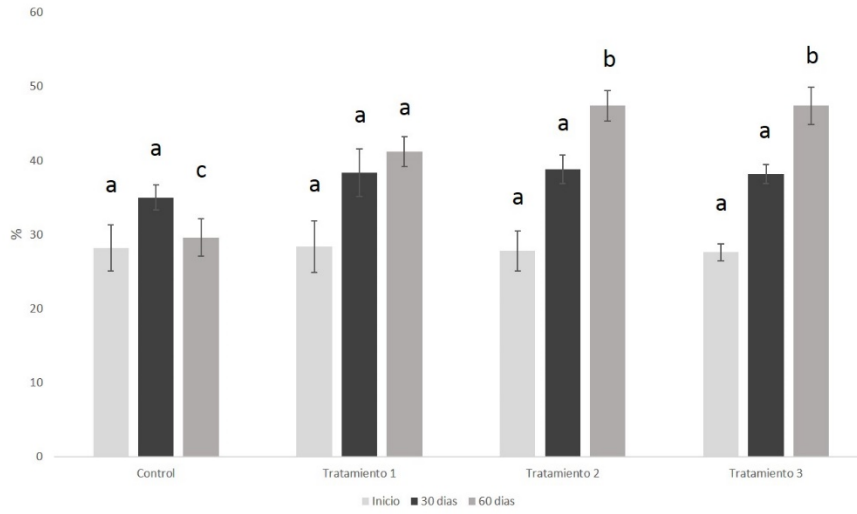
Figura 8. a) neutrófilo b) eosinófilo, c) basófilo, d) linfocito y monocito. Microscopia de luz 100X. Bar 20 μm .

En la tilapia los eritrocitos se caracterizan por ser elípticos, poseen núcleo céntrico, se aprecia pleomorfismo celular que quiere decir que se pueden encontrar

diferentes formas de las células y los núcleos, en los leucocitos se determinaron los cinco grupos principales: neutrófilos, son células que se caracterizan por poseer un núcleo excéntrico, la reacción de sus gránulos es neutra, por eso se aprecia de color blanco o azul claro, (Figura 8a); eosinófilos, son células que se caracterizan por poseer un núcleo excéntrico y la reacción de los gránulos citoplasmáticos es acida y son redondos, se aprecian de color naranja. (Figura 8b); basófilo, son células que se caracterizan por poseer un núcleo excéntrico y su reacción de sus gránulos es básica, por eso se aprecia de color azul en sus gránulos (Figura 8c); monocitos son células que no tienen gránulos, son grandes y su núcleo se puede apreciar en varias formas, el citoplasma se observa de color azul claro y en ocasiones más obscuro (Figura 8d); y los linfocitos, son células pequeñas que se caracterizan por poseer un núcleo que ocupa casi la totalidad del citoplasma y no presenta gránulos (Figura 8d). Los conteos diferenciales se presentan en la tabla 5 con las diferencias significativas en los neutrófilos y linfocitos, en el caso de los neutrófilos estos bajan su número después de los 60 días de tratamiento en las tres dietas, sin embargo se observa que los linfocitos son los que aumentan a los 60 con los tres tratamientos como se muestra en las gráficas 12 y 13. Esto podría estar relacionado con la activación de la respuesta inmune adaptativa que la realizan los linfocitos y en el caso de los neutrófilos estos pueden tener una alta actividad fagocítica.



Grafica 10. Recuento Diferencial de Neutrófilos como se puede apreciar los tres tratamientos presentan una disminución después de 30 y al final a los 60 días. ANOVA, $F=54.2$; $p=0.00001$.



Grafica 11. Recuento Diferencial de Linfocitos como se puede apreciar los tres tratamientos presentan aumento después de 30 y al final a los 60 días. ANOVA $F=66.7$; $p=0.0001$.

VIII. DISCUSIÓN

La acuicultura es el sector de producción de alimentos de más rápido crecimiento en el mundo. La acuicultura suministra el 50% de todos los peces que se consumen en todo el mundo hoy en día, y se pronostica que para 2030 será la principal fuente de peces (FAO, 2016); una herramienta que puede ser muy utilizada es el recuento de células de la sangre que podría favorecer el conocer más sobre el estado de salud de los organismos (Fazio, 2019) esto relacionado con la nutrición y alimentación en la acuicultura.

La alimentación es uno de los principales objetivos dentro del manejo operativo de una Unidad de Producción Acuícola (UPA), y más si se tiene una dieta formulada con ingredientes naturales, puede ser considerado una alternativa viable si esta ofrece ventajas que permitan un mejor éxito de las UPA's y de especies de interés comercial en este sentido como la tilapia *Oreochromis niloticus*. Para implementar una dieta se debe cuidar que contenga los suficientes aportes nutricionales y que se pueda considerarse como orgánico (amigables con el ambiente) y funcional, (Mente *et al.*, 2011), así como el uso de inmunoestimulantes naturales (Billen *et al.*, 2011), vertientes actuales que busca la acuicultura. Una de las nuevas propuestas es la utilización de hongos debido a que contienen compuestos bioactivos como complementos y suplementos alimenticios o inmunoestimulantes incrementando la viabilidad de los cultivos, que los organismos tengan una mejor respuesta ante el estrés, y ante las enfermedades en peces de interés comercial (Van Doan *et al.*, 2017; Rairakhwada *et al.*, 2007; Billen *et al.*, 2011), activando el sistema inmunológico de los peces (Katya *et al.*, 2014; Van Doan *et al.*, 2017; Safari y Sarkheil, 2018). La combinación de probióticos e inmunoestimulantes es actualmente un tema de conversación en nutrición de peces, (Newaj-Fyzul y Austin, 2015; Oliva-Teles, 2012). Para ello en este proyecto se probó la inclusión del polvo de hongo *Pleurotus djamor var. roseus* en una dieta a tres concentraciones (15, 20y 25%) para evaluar su efecto en el crecimiento y en los parámetros hematológicos d la tilapia *Oreochromis niloticus*.

Uno de los principales aportes vistos al utilizar hongos como suplementos o complementos alimenticios es mejorar el crecimiento (Gatlin *et al.*, 2006) y en

algunos estudios se ha evaluado la activación del sistema inmune por varias especies de hongos en dietas para algunos peces de interés comercial como *P. eryngii* en *Cyprinus carpio* (Safari y Sarkheil, 2018) o en el pez gato *Pangasius bocourti* (Van Doan *et al.*, 2016), *P. ostreatus* en el pez gato *Silurus asotus* (Katya *et al.*, 2014), o los betaglucanos de setas en *Epinephelus coioides* (Chang *et al.*, 2013) y *Lentinula edodes* en truchas arcoíris, *Oncorhynchus mykiss* (Baba *et al.*, 2015).

En la búsqueda de saber si los hongos favorecen el crecimiento se han realizado algunos estudios, Safari y Sarkheil, (2018), probaron polvo de hongo *Pleurotus eryngii* a diferentes concentraciones porcentuales (0, 0.5, 1, 1.5 y 2%), y encontraron que favorece el crecimiento de *Cyprinus carpio* koi después de 63 días de prueba con dietas con el hongo, la tasa específica de crecimiento fue de 1.35 %/día y su factor de conversión alimenticia es de 2.13 con el 1.5 % de polvo del hongo (Safari y Sarkheil, 2018), otro que se ha utilizado es *Cordyceps militaris* como suplementos alimenticio en la tilapia *Oreochromis niloticus* (Van Doan *et al.*, 2017a), demostraron que *C. militaris* ayuda a mejorar la tasa específica de crecimiento (de 2.50 a 2.92%) conforme se va aumentando la cantidad de extracto del hongo, peso ganado, peso final, y factor de conversión alimenticia que demuestran que el que tiene un mejor factor (1.47) es el que tiene más cantidad del hongo sin ser la máxima cantidad utilizada en ese estudio, sugiriendo que la combinación de estos componentes o sustancias naturales podrían ser consideradas como aditivos o alternativas de suplementos en la alimentación (Van Doan *et al.*, 2017); Ulukoy (2016), utilizó el extracto de *Pleurotus ostreatus* en concentraciones 1 y 2% de suplemento durante 6 semanas también influye en el crecimiento de la trucha arcoíris *Oncorhynchus mykiss*, elevando su nutrición y respuesta a estrés positiva (Ulukoy, 2016), en este estudio al evaluar la inclusión del polvo de hongo *Pleurotus djamor* var. *roseus* en diferentes porcentajes (15, 20 y 25%), se encontró que ayuda a la ganancia de peso y talla, encontrado que los tratamientos de 20 y 25 % favorecen el crecimiento sin mostrar diferencias significativas con el alimento convencional, mostrando un rendimiento similar al convencional, ya que sus tasas de específica de crecimiento es de 3.2 y 3.3 %/día y la del control fue de 3.4%/día y

su factor de conversión alimenticia es de 1.6 %/día para el de 20% y 1.4%/día para el de 25% mejor que el de alimento control que tuvo un factor de 1.3 %/día, sin embargo, esto abre la posibilidad de que el uso de los hongos gradualmente podrían substituir en mayor cantidad la utilización de harina de pescado, por otra parte, el hongo mejoro la sobrevivencia manteniéndola al 100 % hasta los 50 días, el que mejor tasa de sobrevivencia tiene es el que tiene 25% de hongo, lo que nos indica que el hongo *P. djamor* var. *roseus* podría estar mejorando de alguna manera su fisiología, particularmente una mejor activación del mecanismo de defensa o en su fisiología del crecimiento.

El uso y la validación de las herramientas de monitoreo de la salud de los peces se han vuelto cada vez más evidentes debido a la expansión de la acuicultura; el recuento de células sanguíneas es una herramienta de diagnóstico importante que puede utilizarse para conocer el estado de salud de los peces en respuesta a los cambios relacionados con la nutrición, calidad del agua y enfermedades (Fazio, 2019).

El perfil hematológico de peces puede indicar su estado fisiológico y salud, de modo que la hematología combinada con otros métodos de diagnóstico de rutina podría usarse para identificar y evaluar las condiciones que causan estrés o enfermedades que afectan el rendimiento de la producción (Tavares-Dias y Moraes, 2004). En peces, la sangre es un indicador de problemas fisiopatológicos al determinar cualquier cambio que se produzca durante el manejo de los organismos en cultivo, por ejemplo debido al uso de inmunoestimulantes (Tewary y Patra, 2011) o efectos potenciales de los prebióticos en los alimentos acuáticos (Fric, 2007). Los recuentos diferenciales y totales de leucocitos son marcadores importantes para la determinación de la actividad inmune de los peces (De Pedro *et al.*, 2005). Al utilizar dietas a base de hongos como complementos o suplementos que pueden funcionar como inmunoestimulantes activando el sistema inmune y los parámetros hematológicos como el caso de la utilización del polvo de *P. eryngii* en carpa koi *Cyprinus carpio* donde repartan un aumento significativo en el hematocrito (22.3% en el control a 25.8 %) hemoglobina (de 2.74 a 3.52 mmol/l) recuento total de glóbulos blancos (de 33.20 a 36.9× 10³ /μl) recuento total de glóbulos rojos (de 1.64

a 2.15×10^6 / μ l) gradualmente conforme van aumentando la concentración del hongo desde el control hasta el 2% de hongo (Safari y Sarkheil, 2018); por otra parte en la trucha arcoíris, *Oncorhynchus mykiss* utilizando el extracto hongo *Pleurotus ostreatus* en concentraciones 1 y 2% de suplemento durante 6 semanas reportan aumento en el conteo total de glóbulos blancos al utilizar 1% de hongo van de 42 a 52 $\times 10^3$ cel/mm, y al utilizar 2% de hongo de 80 a 83 $\times 10^3$ cel/mm, mejor que el control, no encontraron diferencia significativa en el hematocrito (Ulukoy *et al.*, 2016), esto es muy similar a lo que observamos en el presente estudio en la tilapia cuando se les administro las dietas que contenían una concentración del polvo de hongo *Pleurotus djamor* var. *roseus* mostró un aumento en los valores del perfil hematológico en el recuento total de glóbulos rojos (de 2.37 a 3.68 $\times 10^6$ cel/mm) en la hemoglobina (de 7.2 a 14.2 g/dL); hematocrito (14 a 25.4 %) y conteo total de glóbulos blancos (2.03 a 3.38 $\times 10^3$ cel/mm), también conforme se va aumentando la concentración del polvo del hongo. Por otra parte los índices hemáticos (Volumen Corpuscular Medio y Concentración Media de Hemoglobina) también se ven ligeramente aumentados puesto que en estos hay una relación entre los valores de la hemoglobina, hematocrito y conteo total de glóbulos rojos, al utilizar *Pleurotus djamor* var. *roseus* en la tilapia *Orochromis niloticus*.

El sistema inmune innato de los peces teleósteos tiene componentes celulares y humorales, siendo los leucocitos los que se encargan de las primeras líneas de defensa, principalmente los monocitos, neutrófilos, macrófagos y linfocitos T y B, estos tienen una respuesta favorable cuando pueden ser previamente estimulados como puede ser por la acción de los hongos por sus componentes los betaglucanos pues se ha observado que los recuentos de monocitos y neutrófilos fueron mayores al aumentar el extracto de *Pleurotus ostreatus* en trucha (Ulukuy *et al.*, 2017). Los neutrófilos desempeñan un papel crucial en la generación de respuestas inmunes en peces (Ainsworth 1992), además el uso de otras fuentes de proteína como en la beluga juvenil (Binaii *et al.*, 2014) y en trucha arcoíris (Awad y Austin, 2010) revelaron una mejora en los conteos de neutrófilos, en alevines de *Channa striata* se probaron tres prebióticos comerciales (β -glucano, galactooligosacárido y manano-oligosacárido) observando que los leucocitos aumentan para resistir

enfermedades por *Aeromonas hydrophila* (Munir *et al.*, 2018), o los β -glucano que favorecen la activación del sistema inmune innato produciendo enzimas y actividad fagocítica como mecanismo de defensa aumentando el número de células como los macrófagos (Mueller *et al.*, 2000), o como los polisacáridos con propiedades inmunomoduladoras del hongo *C. militaris* (Van Doan *et al.*, 2017b), esto podría atribuirse a la activación del mecanismo de inmunidad no específica por los componentes de los hongos. En acuicultura, si se tiene un buen crecimiento, suplementos alimenticios y además resistencia a las enfermedades, suele ser viable un cultivo, bajo estas condiciones existen varias limitaciones, como el estrés y la enfermedad que se traducen en un debilitamiento del sistema inmunológico permitiendo que las enfermedades se propagan rápidamente y la amenaza de la industria de la acuicultura conduce a una grave pérdida económica. El uso de antibióticos en la alimentación de animales acuáticos cultivables se ha practicado en general para reducir las enfermedades infecciosas, así como para mejorar la supervivencia y el crecimiento (Kannan *et al.*, 2019a); las vacunas se han utilizado para controlar diversas enfermedades en las industrias acuícolas, sin embargo, estas prácticas pueden aumentar la resistencia de los patógenos, por lo que se necesitan nuevas estrategias para controlar los patógenos (Kannan *et al.*, 2019b). En los últimos años, muchos países prohíben los animales acuáticos debido al uso de una gran cantidad de antibióticos y quimioterapias, por lo que se necesitan nuevas estrategias alternativas para promover el crecimiento de los animales acuáticos y controlar los patógenos (Kannan *et al.*, 2019b), actualmente se busca nuevas alternativas como los probióticos, prebióticos y simbióticos que funciones como suplementos dietéticos e inmunoestimuladores que estimulen el crecimiento y las respuestas inmunitarias contra microbios patógenos. En la práctica de la acuicultura, los polisacáridos fúngicos son una sustancia prebiótica que es ampliamente aceptada como un componente nutricional para regular el crecimiento y la condición de salud. En la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) se determinó que los extractos de hongo *Pleurotus ostreatus* le permitió a este pez tener una resistencia ante la bacteria *Aeromonas hydrophila*, por lo que puede proponerse como un inmunoestimulante nuevo y económico, para la trucha arco iris (Bilen *et*

al., 2016); también en la trucha se probó el efecto del extracto de hongo *Lentinula edodes* y probaron que se hace resistente a la enfermedad producida por *Lactococcus garvieae* (lactococosis) y además aumentó su tasa de supervivencia y también mejoró su respuesta inmunológica (Baba *et al.*, 2015). En acuicultura, los inmunoestimulantes no específicos se han usado ampliamente, probablemente debido al conocimiento limitado de la respuesta inmune en los peces y la facilidad de su aplicación (Vallejos-Vidal *et al.*, 2016). Esto podría ser atribuido a las propiedades nutritivas, nutracéuticas e inmunomoduladoras de los hongos en la inclusión en las dietas o como suplementos alimenticios como una nueva alternativa acuicultura.

IX. CONCLUSIÓN

La inclusión de polvo del hongo *Pleurotus djamor var. roseus*, en dietas balanceadas para tilapia *Oreochromis niloticus*, en las primeras etapas de crecimiento, permitió mantener una tasa específica de crecimiento y supervivencia equiparada con las dietas comerciales, la suplementada con hongo ayuda a mejorar aspectos de su fisiología (perfil hematológico), bajo condiciones de laboratorio. Por otra parte, el hongo *Pleurotus djamor var. roseus* puede considerarse como un prebiótico natural para modular el sistema inmunitario de la tilapia previniendo enfermedades ya que podría mejorar su capacidad fisiológica e inmunológica y tener una mejor respuesta ante posibles condiciones adversas como baja concentración de oxígeno ya que el hongo estimula la producción de eritrocitos, hemoglobina, sugiriendo que al estimular la producción de leucocitos particularmente los neutrófilos y los linfocitos permite que la respuesta inmune innata y adaptativa puedan funcionar de una manera adecuada ante posibles patógenos.

X. PERSPECTIVAS

- Realizar pruebas de alimentación en fase de campo, bajo las condiciones naturales.
- Probar las dietas en otras fases del desarrollo de la tilapia en condiciones controladas.
- Estimular a los organismos con algunos PAM'S (Patrones asociados a patógenos) y después alimentarlos con las dietas para evaluar cómo responden los organismos con el hongo y si este actúa como inmunomodulador.
- Evaluar histológicamente el efecto de las dietas sobre los órganos de la tilapia.

XI. LITERATURA CITADA

Ainsworth, A. (1992). Fish granulocytes: morphology, distribution and function. *Annual Review of Fish Diseases*, 2: 123 –148.

Amirkolaie, A. K. (2011). Reduction in the environmental impact of waste discharged by fish farms through feed and feeding. *Aquaculture*, 3: 19-26.

Asaduzzaman, M., Iked, D., Abol-Munafi, A. B., Balbul, M., Ali M. E., Kinoshita, S., Watabe, S., and Kader, M. A. (2017). Dietary supplementation of inosine monophosphate promotes cellular growth of muscle and upregulates growth-related gene expression in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*, *Aquaculture* 1: 297-306.

Ardón, L. (2007). Producción de hongos comestibles, informe investigación, Maestría docencia universitaria con especialidad en evaluación educativa. Facultad de Humanidades, Universidad San Carlos de Guatemala, Guatemala, Cap: 1: 1-19.

Awad, E. and Austin, B. (2010). Use of lupin, *Lupinus perennis*, mango, *Mangifera indica*, and stinging nettle, *Urtica dioica*, as feed additives to prevent *Aeromonas hydrophila* infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases*, 33: 413-420.

Baba, E., Uluköy, G., Öntaş, C. (2015). Effects of feed supplemented with *Lentinula edodes* mushroom extract on the immune response of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, and disease resistance against *Lactococcus garvieae*. *Aquaculture*, 448: 476-482.

Barros, L., Calhelha, J. A., Vaz, I., Ferreira, P., and Baptista, L. M. (2007). Antimicrobial activity and bioactive compounds of Portuguese wild edible mushrooms methanolic extracts. *European Food Research and Technology*, 225: 151–156.

Barros, L., Cruz, T., Baptista, P., Estevinho, L. M. and Ferreira, I. (2008). Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 2742-2747.

Bilen, S., Ünal, S., and Güvensoy, H. (2016). Efectos de los extractos metanólicos de hongos ostra (*Pleurotus ostreatus*) y de ortiga (*Urtica dioica*) sobre las respuestas inmunes y la resistencia a *Aeromonas hydrophila* en la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 454: 90-94.

Bilen, S., Bulut, M., Bilen, A. M. (2011). Immunostimulant effects of *Cotinus coggyria* on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & Shellfish Immunology*, 30: 451–455.

Binaii, M., Ghiasi, M., Farabi, S. M. V., Pourgholam, R., Fazli, H., Safari, R., Alavi, S. E., Taghavi, M. J., and Bankehsaz, Z. (2014). Biochemical and hemato-immunological parameters in juvenile beluga (*Huso huso*) following the diet supplemented with nettle (*Urtica dioica*). *Fish & Shellfish Immunology*, 36: 46–51.

Book, 1993. Hematology. Principles and Procedures WorldCat.

Blaxhall, P. C., Daisley, K. W. (1973). Routine haematological methods for use with fish blood. *Journal of Fish Biology*, 5: 771–781.

Campbell, T. W. and Ellis, C. K. (2007). Avian and Exotic Animal Hematology and Cytology. Third Edition. *Blackwell Publishing*, 4: 93-112.

Chang, S. T. y Buswell, J. A. (1997). Mushroom nutraceuticals. *World Journal Microbiology Biotechnology*, 12: 473-476.

Chang, C. S., Huang, S. L., Chen, S. Chen, S. N. (2013). Innate immune responses and efficacy of using mushroom beta-glucan mixture (MBG) on orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*. *Fish & Shellfish Immunology*, 35: 115–125.

Chegwin, C. (2014). Incidencia del medio y de las condiciones de cultivo en el Potencial como nutraceutico de tres especies del género *Pleurotus*. Tesis doctoral en ciencias. Facultad de Ciencias, Departamento de química, Universidad Nacional de Colombia. Pp. 25-28.

Carrasco, G., Serna, S., Gutiérrez, U. (2017). Nutritional composition and nutraceutical properties of the *Pleurotus* fruiting bodies: Potential use as food ingredient. *Journal of Food Composition and Analysis*, 58: 69-81.

Das, C., López, De León E., Pascual, L. F. y Battaglia, M. (2010). Guía técnica de producción de hongos comestibles de la especie *Pleurotus ostreatus*. *Journal of Agriculture and Environment for International Development*, 104: 139 – 154.

De Pedro, N., Guijarro, A., López-Patino, M. A., Martinez-Alvarez, M. J., and Delgado, R. (2005). Daily and seasonal variations in hematological and blood

biochemical parameters in the tench, *Tinca tinca* Linnaeus, 1758. *Aquaculture Research*, 36: 1185-1196.

Elmastas, M., Isildak, O., Turkecul, I. and Temur, N. (2007). Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20: 337-345.

Fazio, F. (2019). Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: A review. *Aquaculture*, 500: 237–242

FAO, (2007). El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.

FAO, (2012). El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.

FAO, (2016). El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.

Fric, P. (2007) Probiotics and prebiotics - renaissance of a therapeutic principle. *Central European Journal of Medicine*, 2: 237–270.

Gaitán-Hernández, R., Salmones, D., Pérez, R. y Mata, G. (2006). Manual práctico del cultivo de setas Aislamiento, siembra y producción. 3^{ra} Ed. Instituto de Ecología, Xalapa, Veracruz, México, Pp. 1-5.

Gatlin, D. M., Li, P., Wang, X., Burr, G. S., Castille, F., and Laurence, L. (2006). Potential application of Prebiotics in Aquaculture. *Aquaculture*, 371-376.

Gatlin, D. M., Halver, J. E. and Hardy, R. W. (2002). Fish Nutrition. *Academic Press*, 671-702 pp.

Gutiérrez, R. L. A., David, R. C. A., Montoya, C. O. I., Betancourt, G. E. (2016). Efecto de la inclusión en la dieta de probióticos microencapsulados sobre algunos parámetros zootécnicos en alevinos de tilapia roja (*Oreochromis* sp.). *Revista Salud Animal*, 38: 2 112-119.

Gómez, C. A., Acosta-Urdapilleta, L., and Villegas, V. E. (2016). Elaboración de envasados a partir del hongo comestible *Pleurotus djamor* var. *roseus* con recetas tradicionales. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 1:1 756-761.

Guillamón, E., García-Lafuente, A., Lozano, M., D'Arrigo, M., Rostagno, M. A., Villares, A. and Martínez, J. A. (2010). Edible mushrooms: role in the prevention of cardiovascular diseases. *Phytotherapy*, 81(7): 715–723.

Hixson, S. M. (2014). Fish Nutrition and Current Issues in Aquaculture: The Balance in Providing Safe and Nutritious Seafood, in an Environmentally Sustainable Manner. *Journal of Aquaculture Research and Development*, 5:3 1-10.

INEGI, (2011). *Pesca y Acuicultura. Censos Económicos 2009*. Aguascalientes: Instituto Nacional de Estadística y Geografía.

INEGI, (2014). *Pesca y Acuicultura*. México: Conociendo México. Disponible en www.inegi.org.mx.

INEGI, (2015). *Pesca y Acuicultura. Censos Económicos 2009*. Aguascalientes: Instituto Nacional de Estadística y Geografía.

Kannan, M., Samuthirapandian, R., Thirunavukkarasu, M., Venkatachalam, U., Ramachandran, C., Palaniappan, S., Ramu, G., Abirami, D., and Karthick, R. (2019a). Application of marine-derived polysaccharides as immunostimulants in aquaculture: A review of current knowledge and further perspectives. *Fish and Shellfish Immunology*, 86:1177-1193.

Kannan, M., Samuthirapandian, R., Thirunavukkarasu, M., Venkatachalam, U., Ramachandran, C., Palaniappan, S., Durairaj, K. R. (2019b). Potential uses of fungal polysaccharides as immunostimulants in fish and shrimp aquaculture: A review. *Aquaculture*, 500:1 250-263.

Karga, J. and Mandal, S. C. (2017). Effect of different feeds on the growth, survival and reproductive performance of zebrafish, *Danio rerio* (Hamilton, 1822). *Aquaculture*, 23: 406–413.

Katya, K., Yun, Y. H., Park, G., Lee, J. Y., Yoo, G., Bai, S.C. (2014). Evaluation of the efficacy of fermented by-product of mushroom, *Pleurotus ostreatus*, as a fishmeal replacer in juvenile amur catfish, *Silurus asotus*: effects on growth, serological characteristics and immune responses, Asian-Australasian. *Journal of Animal Science*, 27: 1478–1486.

Kumar, P., Jain, K. K., MunilKumar, S. and Sudhagar, S. A. (2017). Alternate feeding strategies for optimum nutrient utilization and reducing feed cost for semi-intensive practices in aquaculture system-A review. *Agricultural Reviews*, 38 (2): 145-151.

Khalifa, N. S. A., Belal, I. E. H., El-Tarabily, K. A., Tariq, S. and Kassab, A. A. (2018). Evaluation of replacing fishmeal with corn protein concentrate in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fingerlings commercial diet. *Aquaculture Nutrition*, 24:143–152.

Khalafalla, M. M. and El-Sayed, B. (2015). Biological treatment of broad vean hulls and its Evaluation through Tilapia Fingerlings (*Oreochromis niloticus*) Feeding. *Journal of Aquaculture Research and Development*, 6:8 1-5.

Lacerda, A. C., Sado, R. F., Pereira, C. D., Ferreira, P. S., Ferreira, P. M. (2015). *Nutrição, alimentação, Tilápia do Nilo. Nutri-Time*, 12:6.

Lee, R. G., Foerster, J., Jukens, J., Paraskevas, F., Greer, J. P., Rodgers, G. (1998). *Wintrobe's Clinical Hematology*, 10th Edition, Lippincott Williams & Wilkins, New York.

Mente, E., Karalazos, V., Karapanagiotidis, I. T., Pita, C. (2011). Nutrition in organic aquaculture: an inquiry and a discourse. *Review Aquaculture Nutrition*, 17:798-817.

Miranda, M. L. (2013). Evaluación del sustrato post-producción del hongos comestibles *Pleurotus ostreatus* en la alimentación de cuyos. Tesis de grado. Facultad de Ciencias Pecuarias. Escuela de Ingeniería Zootécnica. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Ecuador. Pp. 52-63.

Makled, S. O., Hamdan, A. M., El-Sayed, F. M., and Hafez, E. E. (2017). Evaluation of marine psychrophile, *Psychrobacter namhaensis* SO89, as a probiotic in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) diets. *Fish & Shellfish Immunology*, 61:194-200.

Mueller, A., Raptis, J., Rice, P. J., Kalbfleisch, J. H., Stout R. D., Ensley H. E., Browder, W., Williams, D. L. (2000). The influence of glucan polymer structure and solution conformation on binding to (1→3)-beta-D-glucan receptors in a human monocyte-like cell line. *Glycobiology*, 10 339–346,

Munir, M. B., Hashim, R., Nor, S. A. M., Marsh, T. L. (2018). Effect of dietary prebiotics and probiotics on snakehead (*Channa striata*) health: haematology and disease resistance parameters against *Aeromonas hydrophila*. *Fish and Shellfish Immunology*, 75 99–108.

Naylor, R. L., Goldberg, R. J., Primavera, J. H., Kautsky, N., Beveridge, M. C. M., Clay, J., Folke, J., Lubchenco, H., Mooney, H. and Troell, M. (2000). Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature*, 405:1017–1024.

Neto, R. M. and Ostrensky, A. (2015). Evaluation of commercial feeds intended for the Brazilian production of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): nutritional and environmental implications. *Aquaculture Nutrition*, 21; 311–320.

Newaj-Fyzul, A., Austin, B. (2015). Probiotics, immunostimulants, plant products and oral vaccines, and their role as feed supplements in the control of bacterial fish diseases. *Journal of Fish Diseases*, 38 (11) 937-955.

National Research Council (NRC). (2011). Nutrient requirements of fish and shrimp. Washington, DC: *National Academies Press*.

Oliva-Teles, A. (2012). Nutrition and health of aquaculture fish. *Journal of Fish Diseases*, 35 (2): 83-108.

Paripuram, T. D., Divya, V. V., Ulaganathan, P., Balamurugan, V. and Umamaheswari, S. (2011). Replacing fishmeal with earthworm and mushroom meals in practical diets of *Labeo rohita* and *Hemigrammus caudovittatus* fingerlings. *Indian Journal of Animal Research*, 45 (2): 115 – 119.

Potter, N. y Hotckiss, J. (1995). Ciencia de los alimentos. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España.

Rampinelli, J. R., Silveira, M. L., Miranda, R. M., Furlan, S. A., Ninow, J. L., Wisbeck, E. (2010). Valor nutricional de *Pleurotus djamor* cultivado em palha de bananeira. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, 21:2 197-202.

Rairakhwada, D., Pal, A. K., Bhatena, Z. P., Sahu, N. P., Jha, A., Mukherjee, S.C. (2007). Dietary microbial levan enhances cellular non-specific immunity and survival of common carp (*Cyprinus carpio*) juveniles. *Fish Shellfish Immunol*, 22: 477–486.

Ricker, W. E. (1979). Growth rates and models. In: Hoar, W.S., Randall, D.J. and Brett, J.R., Eds., Fish Physiology, III, *Bioenergetics and Growth*, Academic Press, New York, 677-743.

Ronald S.K., Ronald S. Harold E. (1996). Composición y Análisis de alimentos de Pearson, Ed. Continental. 2da Edición México. pp 10-34.

Safari, O. and Sarkheil, M. (2018). Dietary administration of *eryngii* mushroom (*Pleurotus eryngii*) powder on haemato-immunological responses, bactericidal activity of skin mucus and growth performance of koi carp fingerlings (*Cyprinus carpio koi*). *Fish and Shellfish Immunology*, 80: 505–513.

Shepherd, T. (1998). Rendered products in aquaculture feeds. *International AquaFeed*, 4: 13-17.

Sánchez, C. G. (2008). Determinación de la eficiencia biológica del hongo *Pleurotus ostreatus* en cinco sustratos para su comercialización. Tesis de ingeniería. División de ciencias socioeconómicas. Departamento de administración agropecuaria. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Pp. 20.

Sánchez, J. E., Royse D. J. (2001). La biología y el cultivo de *Pleurotus* spp. Ed. El Colegio de la frontera sur y Limusa, México. 290 Pp.

Sánchez-Muros, M. J., De Haro, C., Sanz, A., Trenzado, C. E., Villareces, S., and Barroso, F. G. (2015). Nutritional evaluation of *Tenebrio molitor* meal as fishmeal substitute for tilapia (*Oreochromis niloticus*) diet. *Aquaculture Nutrition*, 22; 943-955.

Soto-Velazco, C. (1986). La producción de los hongos comestibles en la región de Xalapa Coatepec. Veracruz durante 1985-1986. *Revista Mexicana de Micología*. 2. Pp. 420-432.

Stemets, P. (2000). Growing gourmet and medicinal mushrooms. Third Edition. Ten Press. Berkeley, Toronto, Pp. 10-11.

Tavares-Dias, M. and Moraes, F.R. (2004). Hematologia de peixes teleósteos. Ribeirão Preto, São Paulo. 144pp.

Tewary, A. and Patra, B. C. (2011). Oral administration of baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) acts as a growth promoter and immunomodulator in *Labeo rohita* (Ham.). *Journal of Aquaculture Research Development*, 2(1):1-7.

Thatoi, H. and Singdevsachan, S. K. (2014). Diversity, nutritional composition and medical potential of Indian mushrooms: A review. *African Journal of Biotechnology*, 13: 523-545.

Ulukoy, G., Baba, E., and Ontas, C. (2016). Effect of Oyster Mushroom, *Pleurotus ostreatus*, Extract on Hemato-Immunological Parameters of Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 47:5 676-684.

Van Doan, H., Doolgindachbaporn, S., Suksri, A. (2016). Effects of Eryngii mushroom (*Pleurotus eryngii*) and *Lactobacillus plantarum* on growth performance, immunity and disease resistance of Pangasius catfish (*Pangasius bocourti*, Sauvage 1880). *Fish Physiology Biochemistry*, 42 1427–1440,

Van Doan, H., Hoseinifar, S. H., Dawwood, M. A. O., Chitmanat, C. and Tayyamath, K. (2017a). Effects of *Cordyceps militaris* spent mushrooms substrate and *Lactobacillus plantarum* on mucosal, serum immunology and growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish and Shellfish Immunology*, 70: 87-94.

Van Doan, H., Hoseinifar, S. H., Tapingkae, W. D., Chitmanat, C. and Mekchay, S. (2017b). Effects of *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate and *Lactobacillus plantarum* on mucosal, serum immunology and growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish and Shellfish Immunology*, 67: 78-85.

Vallejos-Vidal, E., Reyes-Lopez, F., Teles, M. and MacKenzie, S. (2016). The response of fish to immunostimulant diets. *Fish and Shellfish Immunology*, 56: 34-69.

Vázquez-Jiménez, J., Romero, O., Tello, I., Rivera, A., Bernal, H. (2015). Utilization of cob corn (*Zea maíz*) for the production of inoculum of *Ganoderma lucidum*. *Kasmera*, Pp 59-71.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS

POSGRADO

Maestría en Manejo de Recursos Naturales



CENTRO DE
INVESTIGACIONES
BIOLÓGICAS
UAEM

Cuernavaca, Mor., 15 de junio de 2020.

DR. RUBÉN CASTRO FRANCO
COORDINADOR DE LA MAESTRIA EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES
DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS

Por este medio informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis intitulado: **Evaluación del efecto del hongo *Pleurotus djamor var. roseus* como suplemento alimenticio en la respuesta hematológica y crecimiento de la tilapia *Oreochromis niloticus***, que presenta el alumno **LUIS FERNANDO CRUZ GARCÍA**, mismo que constituye un requisito parcial para obtener el grado de MAESTRO EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES, lo encuentro satisfactorio por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

Dr. Daniel Hernández Ocampo
Catedrático de posgrado del
Centro de Investigaciones Biológicas



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

DANIEL HERNANDEZ OCAMPO | Fecha:2020-06-24 11:38:36 | Firmante

FuKhVp3GAlv1bZggbaelkIpRJ55ZqHUauFM2O28X2JrhT7N8ZnU8MO/lgsJ9MaZjLp70Pf/SOvVT7g/SSC/4W2Z9XyUflgNPA9W73iHnGLqaGjJzjTLz/3ohriM0rgss9PSd1kKAgdpdUT4/LfYbMARRteKBWvowu7GQix+RxNAW7UhYBLwhbJg3pwq9aFxFxJZi5Qr9Tx/QFqi/B4sBQHAYZz8OIXATH/9KfY3sb3jeCpyZoOkxfH08WVwS1Oktg2FgCqLUaJqYkznwjxCM3gOm5gTEemGik6l2CXnihERkf8KTY0ouri1osr1NaTgtNTUpW1EAW9MjSHYaOxsaXeQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[hUgzw1](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/acfUWnxUgZm9RGTX7lp3lqaoMzIHvD0x>



Cuernavaca, Mor., 15 de junio de 2020.

DR. RUBÉN CASTRO FRANCO
COORDINADOR DE LA MAESTRIA EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES
DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS

Por este medio informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis intitulado: **Evaluación del efecto del hongo *Pleurotus djamor var. roseus* como suplemento alimenticio en la respuesta hematológica y crecimiento de la tilapia *Oreochromis niloticus***, que presenta el alumno **LUIS FERNANDO CRUZ GARCÍA**, mismo que constituye un requisito parcial para obtener el grado de MAESTRO EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES, lo encuentro satisfactorio por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

Dr. Isaac Tello Salgado
Catedrático de posgrado del
Centro de Investigaciones Biológicas



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

ISAAC TELLO SALGADO | Fecha:2020-06-22 22:42:28 | Firmante

C8EU6gy5dwoQpLrFf+B31V6EIlzEPXLcuIWgdzySOUE0Q3JEP8pmi8vPFLzQI347yM9MHwQPUFRqQFtnuPV3AOdMchpQxuPmmglayhIAtFKTi/dDOU+d//q4qWx0NpwS5J2LLT
uQErU03puNA3KeFiwlLgkYVQMDWqTyrifmprhwMxjg/NeK9jq0qofYktFwpYPGRmOvmNR2EHGe/nfwSjvblPbkQ7pVubK807q7v5EShYQ3jyzjFYKTDgxx6NwJ2p7SvBbRtyzgsJ
STH4g9W273cKQrgru+P2YUG5OtERAwAVWxm5hCroi1oosB/9aREKSPdKJh4nM82D7zAWRJAQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



pOYVLf

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/3znFkbYEXTh6oa8onFxo1OfW3pLtlLL>



Cuernavaca, Mor., 15 de junio de 2020.

DR. RUBÉN CASTRO FRANCO
COORDINADOR DE LA MAESTRIA EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES
DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS

Por este medio informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis intitulado: **Evaluación del efecto del hongo *Pleurotus djamor var. roseus* como suplemento alimenticio en la respuesta hematológica y crecimiento de la tilapia *Oreochromis niloticus***, que presenta el alumno **LUIS FERNANDO CRUZ GARCÍA**, mismo que constituye un requisito parcial para obtener el grado de MAESTRO EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES, lo encuentro satisfactorio por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

M. en C. Ma. de Lourdes Acosta Urdapilleta
Catedrática de posgrado del
Centro de Investigaciones Biológicas



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

MA DE LOURDES ACOSTA URDAPILLETA | Fecha:2020-06-22 12:39:59 | Firmante

W70twlmxoTm8eonVm5usm/DQa8aizHPZA6cufm5Jr/BG0KndYAbB0LCMxOKkModJiwKxAW2NoUohtiv2JWubUkrSUiLA+bHLfgjMu+xnMG7T9aduGm7uxPJY30AF4ZZHitDP/GRR4+H1Y4pyejbj8Yg1/nbCGtuTbAxksU/iSLbMmn4lppue+biSs5BfLTW2ND1JRdCan6W0K4J3UgFIX9FvwZXdP0L6tb4b/gLcW7csizStgcY1P8UBDxN/+W6Q0+Lz/WeRc976NsBUdJnbNgctPQN2/aqC2ghSNsLNkasna3g531EZcL+gYZiRlnX0OYB7gJdMATs7F0I098Gg==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[aOfn9s](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/rnJZHgj3OGB5rPpb2FYIDXcRRDQwHyhc>





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS

POSGRADO

Maestría en Manejo de Recursos Naturales



CENTRO DE
INVESTIGACIONES
BIOLÓGICAS
UAEM

Cuernavaca, Mor., 15 de junio de 2020.

DR. RUBÉN CASTRO FRANCO
COORDINADOR DE LA MAESTRIA EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES
DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS

Por este medio informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis intitulado: **Evaluación del efecto del hongo *Pleurotus djamor var. roseus* como suplemento alimenticio en la respuesta hematológica y crecimiento de la tilapia *Oreochromis niloticus***, que presenta el alumno **LUIS FERNANDO CRUZ GARCÍA**, mismo que constituye un requisito parcial para obtener el grado de MAESTRO EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES, lo encuentro satisfactorio por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

Dra. Elisah Arce Uribe
Catedrática de posgrado del
Centro de Investigaciones Biológicas



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

ELSAH ARCE URIBE | Fecha:2020-06-22 14:08:45 | Firmante

cr+tHVnaLxbfgSQCZKS/wNHMu0grfK2JMK7ixlUp49xoyxq2AfFbTSCn44+STuAy60S2+IQZhfyzrsRsYg9DSKprQhiOWqsAcFNKsDYVRhQia2w9yvVmTIGotrpism5p4lpGtRz7+H/E5FkwOzxhgIO+0FdX8gO4pVvRREFmZWqZ2c3T3U7MEV08Qm/MYLiHc9aJ8101hGMDYTTBf2XdmDj7w1qPC3H2gVzw5KS0WzZbdSAECi5TsBtbGfuYUV8qrlQUJJPx5nhdziNnrsNdLmbcuDiADp9tyn3oN0SSei2yJBUF+Z1IF3ioiM2pG0jvHk6Ukj7+t+5W6N1no2rWg==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[jJZxgK](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/hKJKMu3fzTawS49nZdcbk5P6L5fW6Cqv>



Cuernavaca, Mor., 15 de junio de 2020.

DR. RUBÉN CASTRO FRANCO
COORDINADOR DE LA MAESTRIA EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES
DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS

Por este medio informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis intitulado: **Evaluación del efecto del hongo *Pleurotus djamor* var. *roseus* como suplemento alimenticio en la respuesta hematológica y crecimiento de la tilapia *Oreochromis niloticus***, que presenta el alumno **LUIS FERNANDO CRUZ GARCÍA**, mismo que constituye un requisito parcial para obtener el grado de MAESTRO EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES, lo encuentro satisfactorio por lo que emito mi **VOTO DE APROBACIÓN** para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

M. en C. Roberto Trejo Alabarán
Catedrático de posgrado del
Centro de Investigaciones Biológicas



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

ROBERTO TREJO ALBARRAN | Fecha:2020-06-22 17:52:29 | Firmante

f045SbsVDwUdzHmlaD9PaB0+3Lw5JmTqomZg9XvilcDFSIszv18nhyON9zQz6Xuj0Qd3SAeDI92VcwqZ63Svi8YAf/T6cEi8QcHbfeF5ndRYem9MDqxwu5GGL9w2QF+uupHwD2NqAPwkzJCyvQYn3FzjFaeSsHscVMuL/Vh36k4dW2VNB3nufQIRIERoJDxH7DrVC6MRLJSWnncdJktjC8zYd5+gaoxtPz6orjYgJpsWr+Jga9SUI7q8pxeP5CWh/Ar/f2G+9MQ4v9CdAX+AOldXwifUaY9V7GO4fhY0leUnV5lhyPN856kzV6n1AF0Ghb3fmpXkdXthlvoJc7c/tJg==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[SHKoBi](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/DXkU74JmTJtuqDYLdM04X4kagebiYANs>



Cuernavaca, Mor., 15 de junio de 2020.

DR. RUBÉN CASTRO FRANCO
COORDINADOR DE LA MAESTRIA EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES
DEL CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS

Por este medio informo a usted que después de revisar el trabajo de tesis intitulado: **Evaluación del efecto del hongo *Pleurotus djamor var. roseus* como suplemento alimenticio en la respuesta hematológica y crecimiento de la tilapia *Oreochromis niloticus***, que presenta el alumno **LUIS FERNANDO CRUZ GARCÍA**, mismo que constituye un requisito parcial para obtener el grado de **MAESTRO EN MANEJO DE RECURSOS NATURALES**, lo encuentro *satisfactorio por lo que emito mi VOTO DE APROBACIÓN* para que el alumno continúe con los trámites necesarios para presentar el examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento, quedo de usted.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia



Dr. José Guadalupe Granados Ramírez
Catedrático de la UAEM