

**Impacto de la suplementación con harina
de raigrás (*Lolium multiflorum*) sobre el
crecimiento e histología de juveniles de
tilapias del Nilo (*Oreochromis niloticus*)
alimentados con dos dietas comerciales.**

**TRABAJO FINAL DE GRADO (TFG) PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERO
ZOOTECNISTA.**

Estudiante: Peñalba Julián

Director: Dr. Ing. Zoot. MSc. Luciano Montenegro Gallazzi

Co-Directora: Ing. Agr. MSc. Gisela Dioguardi

Lomas de Zamora, Buenos Aires, Argentina.

Agradecimientos

Primeramente, a los Profesores Luciano Montenegro Gallazzi, mi Director de TFG y Gisela Dioguardi, mi Codirectora por su acompañamiento y por la predisposición para aclararme dudas, consultas y por las correcciones correspondientes, que enriquecieron no sólo este trabajo sino también mi formación durante todo el trayecto

Agradezco también a Brenda Fernández, de la cátedra de Anatomía animal. Por la colaboración y acompañamiento en el área de histología. Por ayudarme a conocer mejor las técnicas de laboratorio y ayudarme a ajustarlas a los requerimientos del ensayo.

A todos aquellos colaboradores, que estuvieron presentes en la parte inicial del proyecto, durante la alimentación, controles y monitoreos diarios e incluso en los procesos de muestreo.

Finalmente, a la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Lomas de Zamora como institución. Este trabajo fue posible gracias y por medio de ustedes.

Dedicatoria

Quiero dedicar este trabajo:

A mis padres, pilares fundamentales quienes, cada uno a su manera, me impulsaron a esforzarme para alcanzar mis objetivos. La compañía y cariño que me brindaron durante todo este trayecto fue la piedra angular que dió sustento a esta hazaña.

A mis hermanos, que me enseñaron el valor del trabajo en equipo y cada uno me supo aconsejar desde su experiencia.

A mi pareja, que siempre estuvo en todo momento dándome fuerzas aun en momentos de incertidumbre.

A mis amigos y compañeros con los cuales compartí horas de estudio, mates y buenos momentos.

A Sandra y Germán que me mostraron el mundo de la acuicultura y me alentaron a seguir esta hermosa carrera.

Índice general

Agradecimientos.....	2
Dedicatoria.....	3
Índice general.....	4
Índice de tablas.....	5
Índice de figuras.....	6
Resumen.....	7
Abstract.....	8
Introducción.....	9
Estado de la acuicultura a nivel mundial.....	9
La acuicultura en Argentina.....	11
Raigrás anual (<i>Lolium multiflorum</i> Lam).....	14
Generalidades sobre la tilapia del Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	15
Requerimientos nutricionales de las tilapias del Nilo.....	19
Descripción anatómica e histológica del tejido hepático en peces.....	21
Hipótesis.....	24
Objetivo general.....	24
Objetivos específicos.....	24
Materiales y métodos.....	25
Descripción, localización y condiciones ambientales.....	25
Tratamientos.....	26
Elaboración de las dietas experimentales.....	27
Variables respuesta.....	28
Muestreo y sacrificio de los peces.....	29
Determinación de los índices biométricos.....	30
Análisis histológico.....	30
Evaluación cualitativa de alteraciones microscópicas en el hepatopáncreas.....	32
Determinación de la composición bioquímica de las dietas experimentales.....	34
Resultados.....	36
Análisis de composición centesimal de las dietas experimentales.....	36
Índices biométricos.....	38
Alteraciones microscópicas en hepatopáncreas.....	52
Mediciones de área de hepatocitos.....	58
Discusión.....	60
Análisis de la composición química de las dietas.....	60
Índices biométricos.....	61
Análisis histológico.....	64
Consideraciones finales.....	68
Bibliografía.....	69

Índice de tablas

Tabla 1	Descripción de las dietas respectivas a cada tratamiento.....	26
Tabla 2	Composición química de las dietas experimentales para la alimentación de juveniles de Tilapias del Nilo.....	37
Tabla 3	Composición centesimal de las dietas.....	38
Tabla 4	Índices biométricos de tilapia de nilo, día 30 a 120.....	40
Tabla 5	Índices biométricos de tilapia de nilo, día 150 a 210.....	41
Tabla 6	IMS, IVS e IHS de juveniles de tilapias del Nilo, días 30 a 120.....	47
Tabla 7	IMS, IVS e IHS de juveniles de tilapias del Nilo, días 150 a 210.....	48

Índice de figuras

Figura 1	Producción mundial de pesca y acuicultura 1990 a 2022.....	10
Figura 2	Las 10 principales especies producidas a nivel mundial.....	11
Figura 3	Producción acuícola argentina, por especie al año 2019.....	13
Figura 4	Composición química del raigrás anual.....	15
Figura 5	Clasificación taxonómica de la tilapia del nilo.....	16
Figura 6	Ejemplar juvenil de la tilapia del nilo.....	17
Figura 7	Curvas de crecimiento de tilapia para varias temperaturas.....	18
Figura 8	Tabla de relaciones óptimas proteína/energía según distintos autores.....	20
Figura 9	Corte histológico de hepatopáncreas de tilapia	23
Figura 10	Evolución del peso total por tratamiento.....	42
Figura 11	Evolución de la ganancia de peso por tratamiento.....	42
Figura 12	Evolución de la tasa de crecimiento específico por tratamiento.....	43
Figura 13	Evolución del aumento de peso porcentual por tratamiento.....	44
Figura 14	Evolución de la tasa de eficiencia proteica por tratamiento	46
Figura 15	Evolución de la tasa de conversión alimenticia por tratamiento.....	46
Figura 16	Evolución del índice viscerosomático por tratamiento.....	51
Figura 17	Evolución del Índice hepatosomático por tratamiento.....	51
Figura 18	Evolución del Índice Mesenterosomático por tratamiento.....	52
Figura 19	Comparación de grado de alteraciones histológicas en tejido hepático entre tratamientos por instancia de muestreo.....	54
Figura 20	Comparación de instancias de muestreo.....	55
Figura 21	Patrones morfológicos de lesión por degeneración vacuolar.....	56
Figura 22	Patrones morfológicos de lesión por degeneración vacuolar 2.....	57
Figura 23	Promedio y desvío estándar de mediciones del área de hepatocitos diferenciados por tratamiento y por instancia de muestreo.....	59

Resumen

En la actualidad, una de las especies más producidas a nivel mundial es la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*). Esta especie es omnívora con tendencia a la herbivoría por lo que la utilización de ingredientes vegetales es una alternativa viable para disminuir los costos sin afectar necesariamente la respuesta productiva. El presente trabajo tuvo como objetivo estudiar el impacto de la inclusión de harina de raigrás anual (*Lolium multiflorum*) como suplemento en la alimentación de juveniles de tilapia nilótica. El estudio se realizó en el módulo de acuicultura de la FCA-UNLZ. Los peces fueron distribuidos por tratamiento y alimentados con seis tipos de dietas formuladas a base de alimentos comerciales con una suplementación creciente de harina de raigrás. Se evaluó el impacto de cada tratamiento en los principales índices zootécnicos: peso final (FM), ganancia de peso (GP), tasa de crecimiento específico (SGR), tasa de conversión alimenticia (FCR), tasa de eficiencia proteica (PER), índice viscerosomático (IVS), índice hepatosomático (IHS) e índice mesenterosomático (IMS). Adicionalmente, se evaluó el impacto a nivel histológico en el hepatopáncreas mediante mediciones del área de hepatocitos y un análisis cualitativo del grado de alteraciones histopatológicas. Los resultados mostraron un menor aumento de peso, eficiencia en la conversión alimenticia y aprovechamiento de la proteína en las dietas con mayores porcentajes de inclusión de harina de raigrás. Asimismo, en estos tratamientos se registraron los menores valores de IVS, IMS e IHS. Por otro lado, los grados de alteraciones histopatológicas disminuyeron desde el primer al segundo muestreo en todos los tratamientos. Las mediciones del área de hepatocitos mostraron diferencias entre tratamientos, aunque estas no fueron concluyentes.

Palabras clave: Tilapia, raigrás, histología, hepatopáncreas, crecimiento.

Abstract

Currently, one of the most widely produced species worldwide is the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). This species is omnivorous with a tendency toward herbivory, making the use of plant-based ingredients in its diet a viable alternative to reduce costs without necessarily affecting productive performance. The objective of this study was to evaluate the impact of including annual ryegrass (*Lolium multiflorum*) meal as a supplement in the diet of Nile tilapia juveniles. The study was conducted in the aquaculture module of FCA-UNLZ. The fish were distributed by treatment and fed six types of diets formulated with commercial feeds supplemented with increasing levels of ryegrass meal. The impact of each treatment on the main zootechnical indices was evaluated: final weight (FW), weight gain (WG), specific growth rate (SGR), feed conversion ratio (FCR), protein efficiency ratio (PER), viscerosomatic index (VSI), hepatosomatic index (HSI), and mesenterosomatic index (MSI). Additionally, the histological impact on the hepatopancreas was assessed through measurements of hepatocyte area and a qualitative analysis of the degree of histopathological alterations. The results showed lower weight gain, feed conversion efficiency, and protein utilization in diets with higher inclusion percentages of ryegrass meal. Likewise, the lowest values of VSI, MSI, and HSI were recorded in these treatments. On the other hand, the degrees of histopathological alterations decreased from the first to the second sampling in all treatments. Measurements of hepatocyte area showed differences between treatments, although these differences were not conclusive.

Keywords: Nile tilapia, ryegrass, histology, hepatopancreas, growth.

Introducción

Estado de la acuicultura a nivel mundial

La acuicultura ha adquirido una creciente relevancia a nivel mundial. La tendencia en los últimos años marca un crecimiento constante y sostenido. Siendo así, en 2022 la producción mundial de animales acuáticos alcanzó un máximo de 185 millones de toneladas de los cuales el 51 % correspondió a la acuicultura en tanto que el 49 % restante provino de la pesca comercial. Teniendo en cuenta los datos históricos, lo anteriormente expuesto es de gran relevancia debido a que, por primera vez, la producción mediante acuicultura ha superado al correspondiente a la pesca de captura (FAO, 2024). En ese contexto la flota pesquera mundial que había alcanzado un máximo de 5,3 millones de embarcaciones en el año 2019, se vio reducida a 4,9 millones de embarcaciones en el año 2022. Sin embargo, la pesca de captura mundial se mantuvo relativamente estable desde finales de la década de 1980, oscilando entre los 86 y los 94 millones de toneladas por año (FAO, 2024). Por otra parte, se ha producido en los últimos años, una creciente demanda en calidad higiénico-sanitaria y de trazabilidad en los alimentos por parte de los consumidores. Esto, marca una oportunidad de diferenciación en valor agregado de los productos de acuicultura debido a la posibilidad de controlar los parámetros productivos en todas las etapas de desarrollo, contando además con la capacidad de estandarizar las tallas de cosecha según los requerimientos del mercado destino (Espinosa, 2020).

	1990s	2000s	2010s	2020	2021	2022
	Promedio anual					
	(millones de toneladas, equivalente en peso vivo)					
Producción						
Pesca de captura:						
Continental	7,1	9,3	11,3	11,5	11,4	11,3
Marina	81,9	81,6	79,8	78,3	80,3	79,7
Total pesca de captura	88,9	90,9	91,1	89,8	91,6	91,0
Acuicultura						
Continental	12,6	25,6	44,8	54,5	56,4	59,1
Marina	9,2	17,9	26,7	33,2	34,7	35,3
Total acuicultura	21,8	43,4	71,5	87,7	91,1	94,4
Total pesca y acuicultura mundiales	110,7	134,3	162,6	177,5	182,8	185,4

Figura 1. Producción mundial de pesca y acuicultura mundial desde 1990 a 2022.
Fragmento de tabla extraído de FAO (2024)

Lo anteriormente expuesto destaca el estancamiento de la pesca extractiva y el creciente rol que toma la producción acuícola como abastecedora mundial de proteína animal de elevado valor biológico. En este sentido, dentro de este crecimiento la tilapia de nilo (*Oreochromis niloticus*) toma un rol clave debido a que es una de las especies de peces más producidas a nivel mundial, con 5,3 millones de toneladas en el año 2022, solo superada por la carpa herbívora (*Ctenopharyngodon idella*) con una producción de 6,2 millones de toneladas en el mismo año (FAO, 2024). A continuación, en la **figura 2** al excluirse las especies no ictícolas, pueden observarse las principales especies de peces producidas a nivel mundial hasta el año 2022.

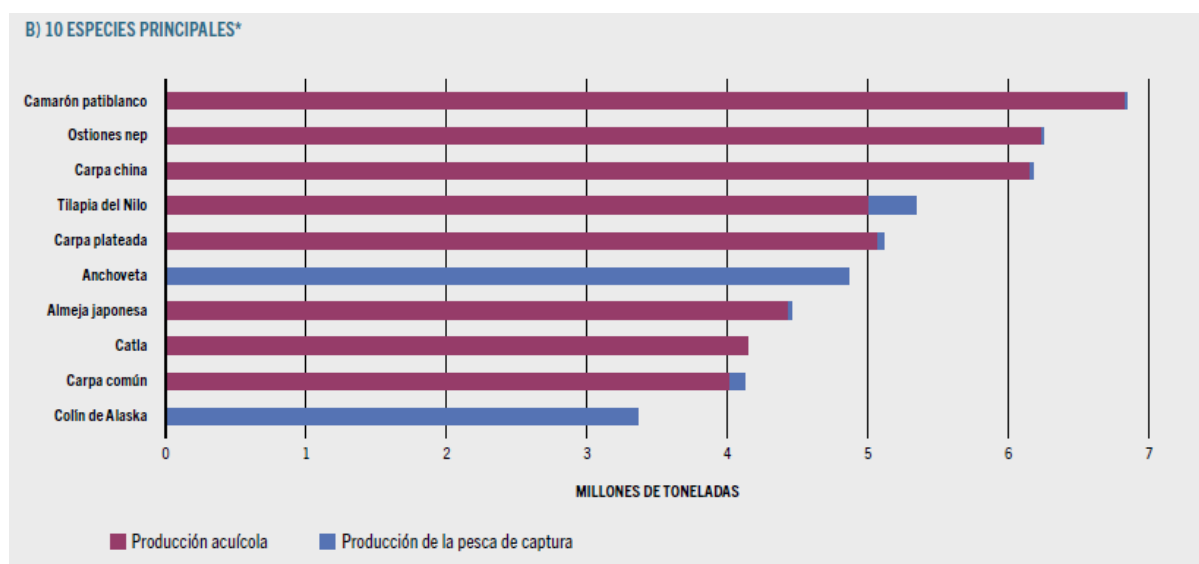


Figura 2. Las 10 principales especies acuícolas producidas mundialmente. Extraído de FAO, (2024)

La acuicultura en Argentina

El territorio Argentino tiene un gran potencial para la producción acuícola. Lo antes expuesto se fundamenta en el hecho que el país cuenta con un elevado desarrollo latitudinal. Esto, por su parte, determina que a lo largo del territorio se den distintos tipos de climas permitiendo el cultivo de especies de clima templado cálido en la región del Noreste (NEA), especies de clima templado en el Centro y especies templado-frías en el Sur. Sin embargo, a pesar de este gran potencial productivo la acuicultura argentina aún no supera una fase de crecimiento incipiente (Carciofi & Rossi, 2021). Durante los últimos años ha tenido procesos de expansión y crecimiento con una producción máxima de 4000 toneladas en 2014 para luego descender a 2592 toneladas en 2019. (Carciofi & Rossi, 2021).

El estancamiento en la producción acuícola Argentina se podría deber a varios factores. Dentro de los principales se destacan el poco desarrollo de infraestructura, la escasez de semilla (término comúnmente utilizado para nombrar a los juveniles

de peces que se adquieren para su siembra y posterior engorde) de calidad y variedad genética y la falta de especialización en la elaboración de dietas balanceadas. Dentro de esta problemática particularmente se engloban distintos aspectos como por ejemplo la escasez de materia prima específica para la elaboración de alimento balanceado y la falta de sustitutos a la harina de pescado como fuente proteica, lo cual deriva en la utilización de formulaciones que muchas veces no cubren correctamente los requerimientos nutricionales específicos de cada especie. (Sarmiento *et al.*, 2019).

Particularmente las tilapias (*Oreochromis spp*) están siendo cultivadas principalmente en la región del NEA donde se ha logrado adaptar a las condiciones climáticas y su producción se realiza en estanques en tierra. Este tipo de sistemas responden a una acuicultura extensiva ya que hay poco control de las condiciones del agua y alimentación. Secundariamente en las provincias de Buenos Aires y Entre Ríos se han establecido producciones de carácter intensivo en sistemas de recirculación (RAS) (MAGyP, 2022). Los sistemas RAS corresponden a producciones intensivas en las cuales se fijan y mantienen estables las condiciones fisicoquímicas del agua dentro de los rangos óptimos para las distintas especies. Esto, permite un aumento en la densidad de cultivo a la vez que incrementa los márgenes brutos y disminuye el impacto ambiental por un menor recambio y descarte de agua.

En términos comerciales la tilapia es una especie muy valorada debido a que presenta filetes de alta calidad, ya que carecen de espinas, no tienen las características organolépticas de otras especies, y ostenta una gran versatilidad gastronómica (Luchini, 2004). Sin embargo y pese a todo lo mencionado, la tilapia

solo representa el 1 % de la producción nacional de pescado de acuicultura. (Carciofi & Rossi, 2021)

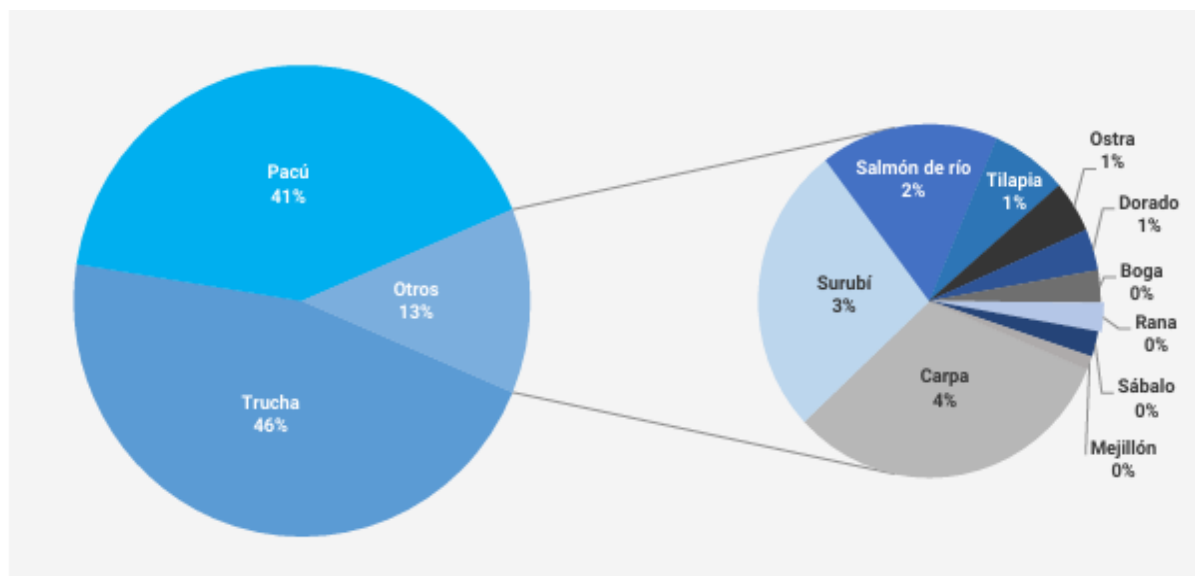


Figura 3. Producción acuícola argentina, por especie al año 2019. Extraído de Carciofi & Rossi (2021) basado en datos de Subsecretaría de Pesca y Acuicultura (MAGyP)

En este escenario resulta primordial lograr una formulación de dietas apropiada al contexto de cada situación productiva, sobre todo entendiendo que la creciente industrialización e intensificación de los procesos productivos, ha rematado en un incremento de patologías de las cuales las nutricionales son las principales. En el caso de la tilapia (*Oreochromis niloticus*) el hígado graso es una alteración muy común, debida entre otros factores a deficiencias nutricionales a causa de dietas que no suplen los requerimientos específicos para la especie y también a alteraciones en el alimento provisto asociadas a grasas oxidadas y peroxidación lipídica (Triana Garcia, 2013). En muchos casos, estas situaciones se producen porque los ingredientes que se utilizan no son aquellos que se ajustan al metabolismo de las distintas especies. Como se indicó anteriormente, la tilapia es una especie omnívora con tendencia a la herbivoría. Esto es importante ya que

permite la inclusión en sus dietas de ingredientes de origen vegetal los cuales son de menor costo en comparación con aquellos de origen animal como el caso de la harina de pescado.

Raigrás anual (*Lolium multiflorum* Lam)

El raigrás anual (*Lolium multiflorum*) es una especie gramínea forrajera originaria de la cuenca del Mediterráneo y naturalizada en América, comúnmente utilizada como pastura en regiones templadas debido a su capacidad de adaptación al frío (Nunes *et al*, 2012). Su composición química es variable según su etapa fenológica, condiciones del suelo, situación climática y momento de corte. Por eso mismo, ante un primer corte, cuando la planta está principalmente compuesta por láminas, ésta tiene un elevado contenido en agua (76 %), un nivel de extracto etéreo del 4 % de la MS, un nivel de proteína bruta oscilante entre 15 a 19 % de la MS y un porcentaje de FDN aproximado de 40 a 45 % de la MS. Conforme la planta avanza en su estadio fenológico, tanto el valor energético como el proteico disminuye. Por contrapartida se observa un aumento del porcentaje de fibra a costa de una disminución de los carbohidratos no estructurales (FEDNA).

Su utilización tanto como verdeo de invierno como henificado para ganado bovino es ampliamente difundido en Argentina debido a su capacidad de adaptación a distintos tipos de ambiente y gracias a poseer una gran capacidad de rebrote. A su vez cuenta con un período de utilización más prolongado en comparación con otros verdeos, lo que resulta un beneficio aun entendiendo que el crecimiento inicial de este forraje resulta más lento que el de otros verdeos invernales (Kloster *et al*, 2003). En este sentido, una de las alternativas que podrían emplearse para evitar el cambio fenológico y su impacto sobre la composición nutricional es la elaboración

de harina. Mediante esta práctica, el forraje es cortado y deshidratado rápidamente en condiciones controladas de modo que mantiene su composición nutricional. A pesar de esto, su utilización como harina es una práctica poco difundida en la alimentación animal y existen muy pocos estudios sobre su utilización en la alimentación de peces. Por lo tanto, el raigrás podría considerarse un candidato potencial para la innovación en alimentación debido a sus características agronómicas y nutricionales destacando su fácil dispersión y adaptación a distinta clase de suelos de baja y mediana fertilidad, así como su resistencia a plagas (Lima *et al*, 2023).

VRF ¹	Humedad	Cenizas	PB	EE	FB	FND	FAD	LAD
Excelente (>151)	76.2	12.4	19.7	3.99	19.1	40.5	22.6	2.34
Primera (125-151)	76.7	12.8	14.4	3.23	23.3	46.0	27.8	2.57
Segunda (103-124)	73.9	13.2	12.0	2.56	26.6	52.1	31.3	3.23
Tercera (87-102)	70.3	12.4	10.4	2.29	30.4	59.3	35.3	4.06
Cuarta (75-86)	69.2	14.4	8.00	2.33	32.3	65.2	38.0	5.24

¹Valor relativo del forraje = $[(88.9 - (0.779 \times \text{FAD}\%)) \times (120 / \text{FND}\%)] / 1.29$

Figura 4 Composición química del raigrás anual (*Lolium multiflorum*) en distintos estadíos.

VRF= valor relativo del forraje. Fuente: FEDNA

Generalidades sobre la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*)

La tilapia nilótica (*Oreochromis niloticus*) es un pez teleósteo de la familia Cichlidae oriundo de África. En la **Figura 5** puede visualizarse su clasificación taxonómica. Es una especie de agua dulce y clima templado cálido que se destaca en la acuicultura y la producción de alimentos a nivel mundial debido a su rápido crecimiento y

adaptabilidad a diversos entornos acuáticos. (Meyer & Meyer, 2007). En adición a esto, Kaneshima Gonzalez, *et al* (2022) recomiendan una temperatura de 28 a 32°C en el agua para el óptimo crecimiento y desarrollo de la especie. En la **figura 7** se observan las curvas de crecimiento de tilapia para distintas temperaturas, encontrándose el mayor crecimiento a 28°C.

Reino	<i>Animalia</i>
Filo	<i>Chordata</i>
Clase	<i>Actinopterygii</i>
Orden	<i>Perciformes</i>
Familia	<i>Cichlidae</i>
Género	<i>Oreochromis</i>
Especie	<i>Niloticus</i>
Nombre común	Tilapia de nilo

Figura 5 Clasificación taxonómica de la tilapia del Nilo. fuente: CONABIO (2017)

En este sentido la tilapia se considera una especie eurihalina, es decir, una especie que tiene amplia tolerancia a distintos rangos de salinidad. Esto se evidencia por su capacidad para crecer y reproducirse en aguas con una salinidad de hasta 24 gr/l. A su vez se desarrolla correctamente aun con bajas concentraciones de Oxígeno disuelto, es decir concentraciones de 3 mg/l y se reproduce correctamente bajo niveles de transparencia de 20 a 100 cm, medida a partir del disco Secchi (Meyer & Meyer, 2007).

Anatómicamente presenta una coloración grisácea y verde metalizada en la mayoría del cuerpo, mientras que la región ventral muestra una coloración gris clara. Presenta un cuerpo aplanado lateralmente, cubierto de escamas cicloides y aleta caudal de tipo redondeada. Además posee una boca protráctil cuyas mandíbulas presentan dientes cónicos (Saavedra Martinez, 2006). El perfil dorsal es convexo a diferencia de las otras especies de tilapias principales (*Oreochromis mossambicus* y *Oreochromis hornorum*) que presentan un perfil cóncavo. En condiciones óptimas de producción puede alcanzar pesos de 4,2 kg aproximadamente.



Figura 6. Ejemplar juvenil de Tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*)

En condiciones naturales, la tilapia del Nilo tiene un régimen de alimentación omnívoro con tendencia a herbívoro (Boscolo *et al*, 2005). Es un pez capaz de filtrar el alimento por medio de mucus secretado por las branquias que le permite atrapar el plancton. Este moco enriquecido con plancton es luego ingerido. (Forouhar Vajargah, 2021). Luego de dicho procesamiento, los nutrientes son absorbidos a nivel intestinal. La especie, además, cuenta con un intestino delgado que supera al

menos 6 veces el largo total del pez. (Forouhar Vajargah, 2021) Estas características determinan la clasificación como especie omnívora/herbívora.

En términos reproductivos, las tilapias no presentan dimorfismo sexual marcado. Su reproducción ocurre normalmente a temperaturas superiores a los 23°C alcanzando la madurez sexual tempranamente a los 4 meses con 15 cm de largo total (Meyer & Meyer, 2007). Una particularidad de la especie es que incuba los huevos en la boca y realiza cuidados parentales de las larvas y juveniles durante los primeros días en la mencionada cavidad.

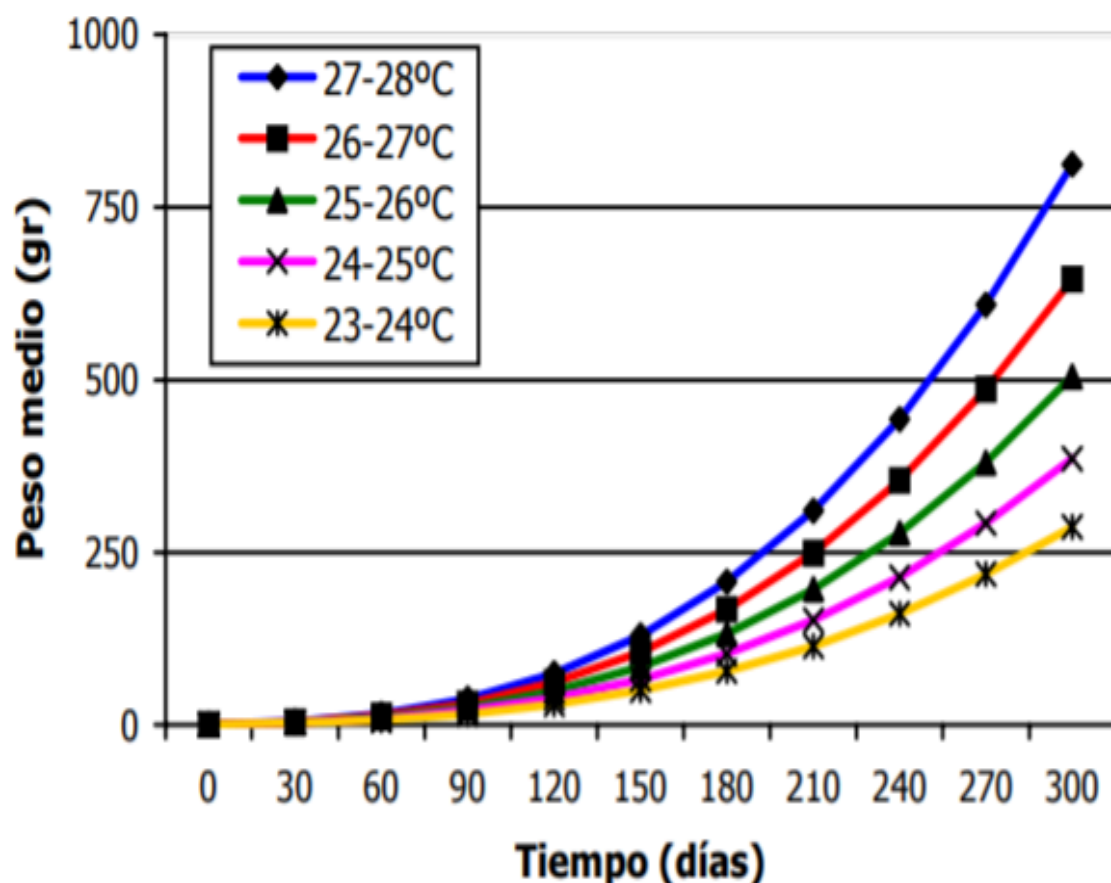


Figura 7. Curvas de crecimiento de tilapia para varias temperaturas del agua. Fuente: (Jover et al., 2003).

Requerimientos nutricionales de las tilapias del Nilo

Como se ha mencionado anteriormente, la tilapia es un pez omnívoro con tendencia herbívora. Durante la fase de reversión sexual presenta una alta demanda proteica alcanzando un 41,3 % disminuyendo hasta 29,7 % post reversión sexual y manteniéndose en 26,8 % al superar los 100 gr de peso total (Hayashi *et al.*, 2002; Furuya, 2010). A nivel general, la tilapia nilótica crece sostenidamente con alimentos balanceados con bajo contenido de proteínas y a su vez, es capaz de tolerar mayores niveles de carbohidratos que la mayoría de las especies carnívoras de cultivo (FAO, 2009). Sumado a esto, la tilapia nilótica tolera en mayor medida alimentos con un mayor porcentaje de aporte de proteína vegetal (FAO, 2009). Forouhar Vajargah, (2021) menciona al respecto que la tilapia absorbe bien la proteína vegetal, especialmente si es rica en fibra. A su vez menciona que la cantidad de proteína requerida para el crecimiento máximo de la tilapia depende de la calidad de la proteína y del tamaño del pez. En base a esto se ha informado una tasa de conversión de hasta el 50 % en sus alevines. Por otra parte, las tilapias aprovechan los lípidos como fuente energética eficientemente hasta un 5 % en la inclusión, así como mejoran la conversión alimenticia y el consumo de alimento. Sin embargo, la energía proveniente de los lípidos tiene poca influencia en el crecimiento de las tilapias (Boscolo *et al.*, 2005). En este sentido, se debe tener en cuenta una relación adecuada entre proteína y energía, encontrando los valores óptimos en relaciones de 81-117 mg/Kcal ED, necesarios para la biosíntesis proteica requerida para la formación de tejido en estadios de crecimiento (NRC, 1993). En la **figura 8** se observa una tabla con las relaciones óptimas de proteína/energía según distintos autores citados en la misma.

Proteína digestible (%)	Energía Digestible kcal/g	Relación PB/ED (mg/kcal)	Respuesta	Referencias
30	3.30	85.49	Ganancia de peso	Boscolo <i>et al.</i> (2006)
32	3.00	90.90		NRC (1993)
38.6	3.80	101.57*		Hayashi <i>et al.</i> (2002)

Figura 8. Tabla de relaciones óptimas proteína/energía según distintos autores, fuente: (Torres, et al 2012)

Los minerales revisten gran importancia en el metabolismo y desarrollo general. En el caso del calcio, muestra funciones principales en la contracción muscular, transmisión de impulsos nerviosos, formación de eritrocitos, equilibrio ácido base y como activador enzimático. En el caso de la tilapia, el calcio es incorporado principalmente de forma directa desde el medio externo por vía branquial y las escamas son un depósito importante del mismo. El fósforo por su parte es, al igual que en los mamíferos, un componente tanto de los ácidos nucleicos como de la membrana plasmática y participa en las reacciones bioquímicas de producción del ATP (Torres, 2012). A su vez desempeña funciones en los sistemas buffer de fluidos corporales para la mantención del equilibrio ácido base. En el caso particular del fósforo presenta una menor tendencia a ser absorbido a nivel de las branquias y requiere un mayor aporte dietario. En ese sentido es valorada su presencia en alimentos en forma de fosfato monocálcico o bicálcico en porcentajes de 0,75 a 0,45%. En este contexto Torres (2012) menciona que el fósforo presente en dietas con base vegetal ostenta una menor biodisponibilidad en peces debido a que se encuentran en forma de ácido fítico, molécula que la tilapia no puede desdoblar debido a su incapacidad de producir la enzima fitasa.

En cuanto al aprovechamiento de la fibra, los reportes no parecen ser concluyentes, Yong, *et al* (1989) reportaron una menor eficiencia alimenticia con valores mayores a 3,6% de fibra en dietas para tilapia nilótica. En este sentido Lanna *et al.* (2004) reportaron que es posible utilizar niveles de fibra cruda en el alimento que no superen el 9% de inclusión, debido a que porcentajes mayores pueden provocar una reducción significativa en la digestibilidad proteica.

Descripción anatómica e histológica del tejido hepático en peces

En la mayoría de los teleósteos se observa el hígado ubicado en la región abdominal anterior con un tamaño y forma adaptado al espacio disponible entre los demás órganos viscerales. Por otro lado, el páncreas es un órgano que puede dividirse en su porción endocrina y exocrina. La primera, conformada por los islotes de Langerhans se encuentra normalmente alojada en el mesenterio (Sierra *et al* 2003). Por otra parte, la porción exocrina está conformada por las células acinares puede aparecer mayormente en islotes dispersos en el intestino o en el parénquima hepático, delimitado por tejido conectivo (Nejedli & Tlak Gajger, 2013; Vicentini, 2005). En el caso de la tilapia nilótica se encuentra disperso dentro del hígado, rodeado por hepatocitos, conformando un hepatopáncreas (Vicentini, 2005). Dicho órgano cumple funciones similares a las descritas para el hígado y páncreas en los mamíferos. Por otro lado, la arquitectura hepática de los peces suele diferenciarse de la de los mamíferos por su menor predisposición a organizarse en lobulillos hepáticos (López Cepeda, 2020). Siendo así, su estructura general puede dividirse en estroma y parénquima claramente diferenciados.

El estroma consta de una cápsula que cubre e individualiza el órgano y de tabiques que parten de la misma hacia el interior dando sustento al parénquima que se divide en 2 unidades funcionales: el hígado propiamente dicho y regiones pancreáticas dispersas dentro de él. El parénquima hepático en la tilapia está organizado por una porción endocrina y una exocrina. La primera consta de hileras de hepatocitos dispuestos en cordones anastomosados y rodeados por los sinusoides, por otra parte la región exocrina hepática consta de un sistema de conductos que drenan la bilis y la comunican con el intestino (Rezende, 2019).

El hepatocito de tilapia normalmente ostenta una forma poliédrica redondeada con un núcleo redondo ubicado en el centro del citoplasma. Metaboliza sustancias que difunden hacia el espacio de Disse que comunica la célula hepática con el sinusoide, y de allí dichas sustancias drenan por la vena central del lobulillo que llega a la circulación general vía vena hepática. (Torres *et al.*, 2010). Los procesos de infiltración lipídica a nivel hepático generan un aumento de la vacuolización del hepatocito con movilización del núcleo hacia la periferia citoplasmática con la pérdida de su típica forma esférica. Esto es especialmente evidente en peces criados en cautiverio alimentados con dietas comerciales (Wolf *et al.*, 2005). Sin embargo Wolf & Wolfe (2005) y Boorman *et al* (1997) mencionan que también pueden presentarse este tipo de alteraciones en casos de hipoxia prolongada y ante el uso inadecuado de fármacos en la producción.

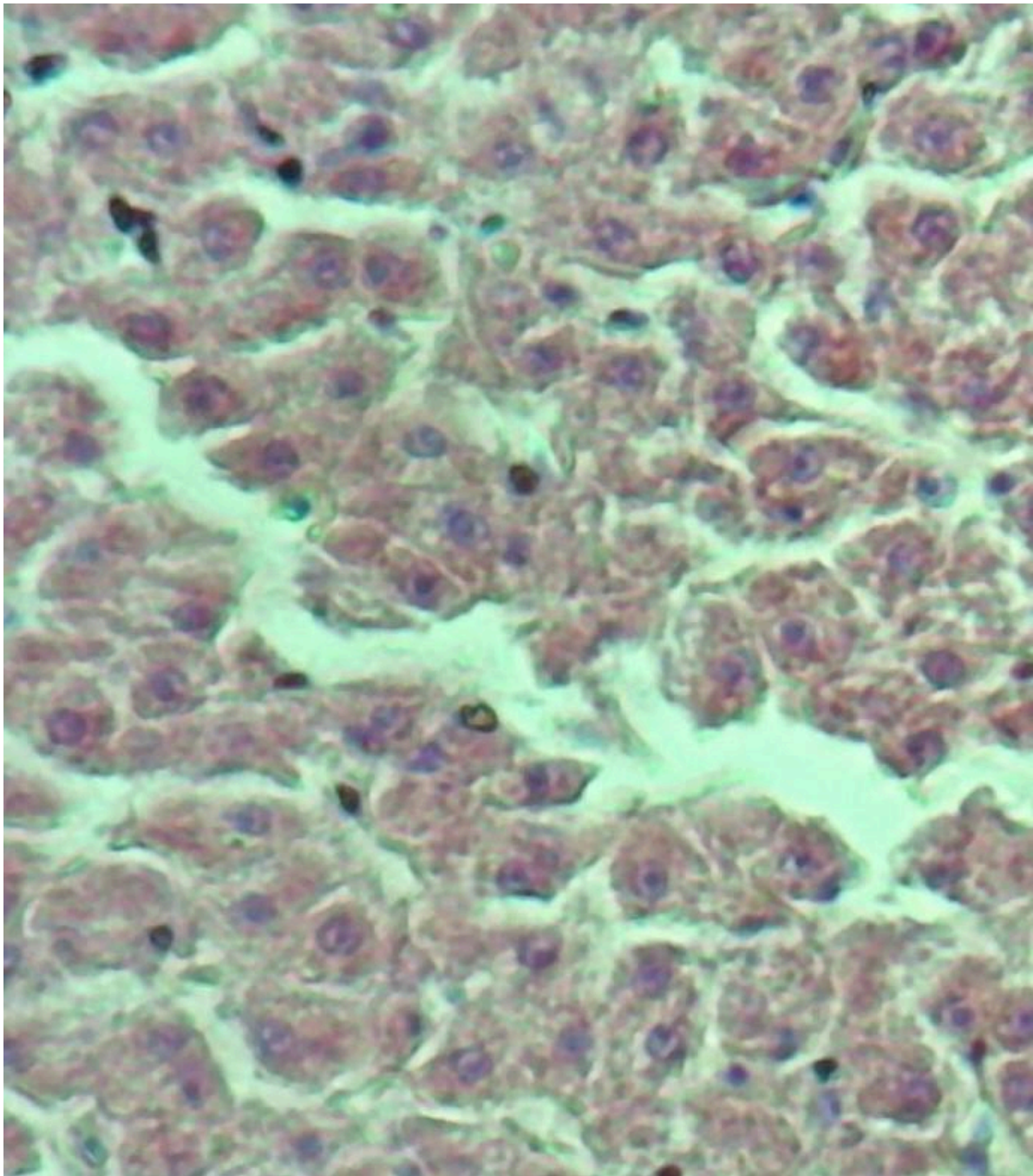


Figura 9. Corte histológico de hepatopáncreas de Tilapia. Puede observarse la hilera de hepatocitos divididos por sinusoides. Tinción hematoxilina-Picrosirius (100X). Fuente: elaboración personal.

Hipótesis y Objetivos

Hipótesis

- La inclusión de harina de raigrás en la dieta produce mejoras en los parámetros zootécnicos de tilapias del Nilo (*Oreochromis niloticus*).

Objetivo general

- Evaluar la respuesta productiva e histológica de tilapias del Nilo a la suplementación con harina de raigrás anual.

Objetivos específicos

- Estudiar el impacto de la suplementación con harina de raigrás anual sobre el crecimiento de juveniles de tilapias del Nilo alimentados con dos dietas comerciales.
- Evaluar el impacto de la suplementación con harina de raigrás anual sobre parámetros biométricos de juveniles de tilapia nilótica alimentados con dos dietas comerciales.
- Evaluar el impacto de la suplementación con harina de raigrás anual sobre el hepatopáncreas a nivel histológico de juveniles de tilapias del Nilo alimentadas con dos dietas comerciales.

Materiales y métodos

Descripción, localización y condiciones ambientales

Para la realización del ensayo se utilizaron como material biológico, 360 juveniles de *Oreochromis niloticus* (tilapias del Nilo) de 2 meses de edad con un peso aproximado de 18 g. Los peces no fueron sexados para el ensayo.

Los mismos se distribuyeron de manera homogénea en nueve tanques circulares de 1000 litros cada uno y en nueve peceras de 250 litros que se encuentran en el módulo experimental de Acuicultura de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Lomas de Zamora, Buenos Aires, Argentina. En cada uno de los tanques y peceras se colocaron 20 peces.

Cada uno de los tanques se encuentra integrado a un sistema de recirculación por lo que están provistos de un sistema de oxigenación y filtrado físico-biológico para mantener estables las características físico-químicas del agua. De este modo, se pueden establecer y mantener a lo largo del ensayo las condiciones físico-químicas del agua de manera estable. Las peceras, por su parte, se encuentran también integradas a un sistema de recirculación igual al descrito en los tanques. Por lo tanto, tanto los peces que se alojaron en los tanques como los que se alojaron en las peceras recibieron las mismas condiciones ambientales.

Previo al inicio de los tratamientos, los juveniles fueron sometidos a un periodo de acostumbramiento de dos semanas en el cual recibieron una dieta control comercial formulada para la especie. Dicha dieta contiene 32 % de proteínas. Transcurrido dicho lapso se iniciaron los tratamientos. El periodo de

acostumbramiento mencionado es muy importante en los peces para permitir que se adapten no solo a las instalaciones sino también a la rutina del módulo y a las personas que trabajan en el mismo.

Tratamientos

Los tratamientos consistieron en la implementación de dos dietas comerciales que varían, fundamentalmente en el contenido de proteínas, una formulada para peces carnívoros (C) y otra formulada para peces omnívoros (O) las cuales fueron utilizadas como dietas control. A su vez, cada una de las dietas mencionadas fue suplementada con un 10 y 20 % de harina de raigrás anual (*Lolium multiflorum*). De este modo, las dietas experimentales (seis en total) quedaron definidas de la siguiente manera:

Dietas de base carnívora	Dietas de base omnívora
Dieta carnívoro control (CC)	Dieta omnívoro control (OC)
Dieta carnívoro + 10% harina de raigrás (C1)	Dieta omnívoro + 10% harina de raigrás (O1)
Dieta carnívoro + 20% harina de raigrás (C2)	Dieta omnívoro + 20% harina de raigrás (O2)

Tabla 1. Descripción de las dietas respectivas a cada tratamiento.

Cada una de las dietas fue aplicada a tres tanques o peceras (repeticiones) las cuales fueron asignadas al azar. Cada uno de los tanques circulares o peceras fue individualizado con el rótulo correspondiente para evitar confusión en la administración de los tratamientos. A los dos meses de edad, y durante siete meses,

los juveniles de *O. niloticus* fueron sometidos a los tratamientos de alimentación mencionados con las dietas descritas previamente.

Las dietas experimentales mencionadas fueron entregadas a los animales dos veces al día, a las 9 hs y a las 17hs hasta evidenciar signos de saciedad. Luego, se retiraron los restos de alimento ya que con el mismo se determinó el consumo diario de alimento de cada tratamiento. Previo a cada alimentación, se midieron en el agua los parámetros físico-químicos de la misma. Para tal fin se emplearon reactivos comerciales para determinar concentración de Amoniacó (ppm), Nitratos (ppm), salinidad y dureza (°d), oxímetro para la determinación de la concentración de oxígeno (ppm) y pH-metro para medir el pH. Además, se midió la temperatura del agua en los momentos mencionados.

Elaboración de las dietas experimentales

El proceso de elaboración de las dietas consistió en tres etapas. Durante la primera etapa se obtuvo la harina de raigrás. Para tal fin, se sembraron 2 parcelas experimentales de 36 m² con dicho forraje en el mes de febrero. La densidad de siembra utilizada fue calculada en base al poder germinativo de las semillas para alcanzar una cantidad de 300 plantas por metro cuadrado. Las semillas utilizadas para el ensayo fueron del cultivar tetraploide Bill Max. En el mes de mayo se realizó la cosecha del forraje fresco y se deshidrató a 60 °C durante 72 h con la finalidad de mantener la integridad de los compuestos bioactivos (ácidos grasos y vitaminas) los cuales son termosensibles. Posteriormente, el forraje fue molido para la obtención de la harina la cual fue almacenada en un freezer a -20 °C en bolsas plásticas oscuras para evitar la acción de la luz.

La segunda etapa consistió en la elaboración de las dietas experimentales suplementadas. Dicha elaboración se realizó cada 15 días. Para tal fin se molieron las dietas control (omnívoro y carnívoro) y se les adicionó 10 y 20 % de harina de raigrás. Luego, todo el polvo fue mezclado y posteriormente fue adicionada agua destilada en cantidad suficiente para elaborar una pasta cuya textura permita su amasado. Finalmente, la masa de todas las dietas se colocó en una moledora manual de carne para la obtención del pellet en un proceso sin adición de temperatura.

La tercera etapa consistió en la deshidratación de los pellets en estufa de secado a 60 °C durante 48 h. Dado que las dietas contenían elevado contenido de humedad, durante el secado en estufa se monitorearon cada 6 horas y se removieron para favorecer un secado homogéneo y evitar sectores de fermentación. Una vez que todas las dietas fueron secadas, se colocaron en bolsas ziploc © y se cerraron de manera hermética para evitar al máximo posible el ingreso de oxígeno. Además, dichas bolsas se colocaron dentro de bolsas de nylon negras para evitar el daño por la luz.

Variables respuesta

Se determinó el consumo diario de alimento, la ganancia de peso (GP), índices biométricos tales como el peso final (FM), aumento de peso porcentual (BW%) tasa de crecimiento específico (SGR), tasa de eficiencia proteica (PER), tasa de conversión alimenticia (FCR). A su vez fueron evaluados los índices viscerosomático (IVS), hepatosomático (IHS) y mesenterosomático (IMS). Por otra parte se estudió el impacto a nivel histológico del hepatopáncreas a través de la medición del área de hepatocitos y estudio cualitativo de la arquitectura hepática.

Muestreo y sacrificio de los peces

A lo largo del ensayo, los peces se muestrearon cada 30 días durante siete meses con la finalidad de analizar de manera periódica los cambios producidos y durante un lapso que cubre casi la totalidad del ciclo productivo de la especie. En cada muestreo, se extrajeron de cada tanque o pecera 2 peces. Por lo tanto, en cada momento de muestreo, se analizaron seis individuos por cada tratamiento. Durante las 24 horas previas al sacrificio los animales fueron mantenidos en ayunas. La captura fue realizada mediante redes y los peces se colocaron inmediatamente en recipientes de 20 litros con agua provista por los mismos tanques con el objetivo de evitar diferencias de temperatura y calidad de agua. Posteriormente, los peces fueron transportados hasta el laboratorio donde se realizaron los controles finales y sacrificio.

Previo al sacrificio los peces fueron insensibilizados mediante inmersión en agua a 0°C. Una vez que los animales se mostraban inmóviles fueron sacrificados a partir de punción cervical. En ese momento, fueron medidos y pesados para luego calcular los índices biométricos. Posteriormente, se produjo el desangrado a partir de un corte en la región caudal. Una vez completada la anterior etapa, los peces fueron eviscerados y se registraron los pesos del hepatopáncreas, intestino y peso de la carcasa eviscerada a fin de evaluar índices biométricos. La carne obtenida se retiró y almacenó en un freezer inmediatamente ya que el presente trabajo de tesis se encuentra articulado a otro proyecto de calidad bioquímica de la carne de las tilapias suplementadas.

Determinación de los índices biométricos

A partir de los datos de largo total y peso tomados al momento de la faena sumado a los datos recopilados sobre el consumo diario de alimento se calcularon los siguientes índices biométricos:

- Ganancia de peso (GP)= peso final - peso inicial
- Ganancia de peso porcentual (%BW)= (peso final – peso inicial)/ peso inicial x 100
- Tasa de crecimiento específico (SGR)= (Ln peso final – Ln peso inicial) x 100/días

Donde: Ln: Logaritmo natural.

- Conversión alimenticia (FCR)= alimento consumido (g)/ ganancia de peso (g)
- Eficiencia proteica (PER)= ganancia de peso (g) /consumo de proteínas (g)

A partir del peso de las vísceras y el peso total se determinaron los siguientes índices:

- Índice hepatosomático (IHS) = $100 \times (\text{peso del hígado} / \text{peso corporal})$
- Índice visceral somático (IVS) = $100 \times (\text{peso de las vísceras} / \text{peso corporal})$
- Índice mesentero somático (IMS)= $100 \times (\text{peso de intestino} / \text{peso corporal})$

Análisis histológico

A partir de los filetes y vísceras obtenidas durante el muestreo de los 30 y 60 días se obtuvieron muestras de hepatopáncreas. Los tejidos destinados al procesamiento histológico fueron rotulados y se fijaron por inmersión en una

solución de formol al 4% tamponada a pH 7,5 con una solución reguladora de fosfato 0,05 M (PBS, Phosphate Buffer Solution) durante 6 hs a temperatura ambiente, respetando la proporción recomendada de fijador/muestra (20:1) para permitir una adecuada conservación morfológica del tejido. Luego se realizaron dos lavados con PBS (pH 7,5) de 10 min cada uno y se mantuvieron los tejidos en una solución de alcohol 70° a temperatura ambiente. Las muestras fueron deshidratadas en concentraciones graduales de etanol y aclaradas por inmersión en xilol. Seguidamente fueron incluidas en parafina formando tacos de 1,5 cm de lado. Posteriormente se cortaron secciones de 7 µm de espesor mediante un microtomo rotativo manual. Los cortes se montaron en portaobjetos pretratados con adhesivo tisular (3-aminopropil trietoxisilano, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) y se secaron en estufa a 37°C durante 24 hs. . Dichas secciones fueron desparafinadas en xilol, hidratadas en etanol y posteriormente fueron teñidas con hematoxilina-picrosirius. Se tomaron micrografías con una cámara adaptada al microscopio óptico observando las muestras en 4x, 10x, 40x y 100x. El procesamiento de las imágenes obtenidas fue realizado utilizando el software Image Pro Plus 5.0.

En las micrografías obtenidas de los tejidos del hepatopáncreas se efectuó la medición del área de hepatocitos. Paralelamente se realizó una caracterización de cambios morfológicos en la arquitectura hepática siguiendo los lineamientos descritos por Triana Garcia, *et al* (2013) en el cual se discriminaron 7 grados diferentes en base al nivel de infiltración lipídica, desplazamiento del núcleo hacia la periferia y estado de conservación del contorno celular. Por otro lado, para la medición del área de hepatocitos se tomaron 3 micrografías con un aumento de

100x en sectores aleatorios de cada muestra y se midieron 10 hepatocitos en cada caso, obteniéndose un total de 30 mediciones por tratamiento en cada muestreo.

Evaluación cualitativa de alteraciones microscópicas en el hepatopáncreas.

Para la evaluación, se utilizó la escala de grados de infiltración lipídica diseñada por Triana Garcia, *et al* (2013) siguiendo los criterios establecidos por Wolf & Wolfe, (2005) y Boorman et al., (1997). A continuación, se describen dichas escalas:

Grado 0 (sin infiltración aparente)

- Hepatocitos con su contorno visible.
- Núcleos celulares en posición central dentro del citoplasma.
- Vacuolas pequeñas que no afectan la arquitectura celular.

Grado 1 (multifocal leve)

- Hepatocitos con un contorno claramente visible.
- Múltiples focos de hepatocitos con sus núcleos ligeramente desplazados a la periferia.
- Vacuolas intracitoplasmáticas evidentes de tamaño homogéneo sin alteración de la arquitectura celular.

Grado 2 (multifocal moderada)

- Hepatocitos con contorno visible en su mayoría.

-Múltiples focos de hepatocitos con núcleo desplazado a la periferia.

-Múltiples vacuolas intracitoplasmáticas de tamaño homogéneo sin distorsión de la arquitectura celular.

Grado 3 (multifocal severa)

-Hepatocitos con pérdida de contorno celular en múltiples focos del área examinada.

-Núcleo severamente desplazado a la periferia o imperceptible.

-Vacuolas intracitoplasmáticas en múltiples focos del área examinada formando un citoplasma homogéneo con distorsión completa de la arquitectura celular.

Grado 4 (generalizada leve)

-Hepatocitos con contorno visible.

-Núcleo ligeramente desplazado a la periferia.

-Vacuolas intracitoplasmáticas evidentes en toda el área examinada de tamaño homogéneo sin alteración de la arquitectura celular.

Grado 5 (Generalizada moderada)

-Hepatocitos con contorno visible.

-Núcleo claramente desplazado a la periferia.

-Múltiples vacuolas intracitoplasmáticas en toda el área examinada de tamaño homogéneo sin distorsión de la arquitectura celular.

Grado 6 (Generalizado severo)

-Hepatocitos sin contorno celular evidente.

-Núcleo claramente desplazado a la periferia o imperceptible.

-Vacuolas intracitoplasmáticas en toda el área examinada formando un citoplasma homogéneo con distorsión completa de la arquitectura celular.

Determinación de la composición bioquímica de las dietas experimentales

Las seis dietas experimentales fueron analizadas al inicio del ensayo. Se determinó la composición centesimal (humedad, cenizas, lípidos totales, fibra bruta, proteínas e hidratos de carbono por diferencia). Todas las determinaciones se realizaron por duplicado.

- *Cuantificación de lípidos totales por extracto etéreo*: Se tomaron 2 g de muestras secas de cada dieta para extraer la grasa total mediante una unidad de extracción modelo Tecator Soxtec system HT 1043. Posteriormente, se llevó a la estufa a 100°C durante 4 horas. Luego la muestra resultante fue enviada a un secador durante 20 minutos para finalmente ser pesada.

- *Cuantificación de proteínas totales*: Se llevó a cabo a través de la determinación de nitrógeno por el método de Kjeldahl según Price CG. (AOAC, 1994) utilizando un equipo automático modelo Foss Tecator 2200 Kjelttec. El valor de Nitrógeno obtenido a partir de la digestión sulfúrica se multiplicó por el factor 6.25 para la obtención del porcentaje de proteína bruta.

- *Determinación del porcentaje de humedad y cenizas por un método gravimétrico*: Se llevó a cabo según Kolar (1992, AOAC). Para la determinación de humedad las

muestras fueron colocadas en estufa de secado a 100 °C durante 24 h. Posteriormente se pesaron y por diferencia se obtuvo la cantidad de agua. Para las cenizas, las muestras provenientes de la determinación de humedad fueron colocadas en una mufla a 550°C durante 12 h y luego se pesó el residuo.

- *Determinación del porcentaje de fibra bruta:* La determinación de fibra bruta se realizó mediante hidrólisis ácida con un 1,25% de H₂SO₄ seguida de una hidrólisis alcalina con 1,25% de NaOH. El material resultante se llevó a incineración, y se calculó la diferencia de peso.

Resultados.

Análisis de composición centesimal de las dietas experimentales

Con la finalidad de conocer la respuesta productiva de los juveniles de tilapias, se determinó la composición química de las dietas experimentales (**tabla 2**)

A su vez, a los efectos de evaluar las dietas de forma comparativa, se elaboró la **tabla 3** donde se muestran los valores de composición química expresados en gramos por kilogramo de la materia seca a partir de los resultados expresados en la **tabla 2**.

Según puede observarse, se obtuvieron valores de proteína bruta significativamente más elevados para el conjunto de dietas con base carnívora en general. El porcentaje de proteína, a su vez disminuyó en concomitancia con el aumento de inclusión de harina de raigrás (HR). Por otro lado, la interacción entre la dieta y el nivel de HR también fue significativa para PB (proteína bruta) y EE (extracto etéreo) ($p < 0,0001$) lo que podría indicar que el efecto del nivel de HR en la proteína bruta varía según la dieta. En cuanto a los valores de lípidos, también se observó un mayor porcentaje en las dietas de base carnívora respecto a las dietas del grupo base omnívoro. A su vez, se observó una disminución con el aumento de la inclusión de harina de raigrás, siendo 7,81% para el control (OC), 7,27% para O1 y 6,72% para O2. En el caso de las dietas base carnívora, los resultados fueron de 15,56% para el control (CC), 14,01% para C1 y 12,57% para C2. En cuanto a los valores de FB, resultaron en 2,16% y 2,96% para los tratamientos control omnívoro y carnívoro respectivamente. Por otra parte, las dietas suplementadas con un 10%

de harina de raigrás arrojaron valores de 5,99% y 7,76% para las dietas omnívoras y carnívoras respectivamente. Por último, los valores para las dietas suplementadas con 20% de harina de raigrás se obtuvieron valores de 9,86% para base omnívora y 12,24% para base carnívora. Tras el análisis estadístico del efecto de la base de la dieta y el efecto de suplementación se observa un claro aumento del contenido de FB en concomitancia con la suplementación con harina de raigrás independientemente del tipo de dieta base. ($p < 0,0001$) A su vez, ambas dietas comerciales presentaban niveles de fibra bruta similares. Por otra parte, los valores obtenidos para almidón arrojaron diferencias estadísticas significativas entre las dietas formuladas con alimento base carnívoro y omnívoro ($P < 0,0001$). Siendo sensiblemente mayor para estas últimas. Fueron hallados valores de 39,12% de almidón como porcentaje de la materia seca para la dieta Omnívoro control (OC), 37,79% para la dieta Omnívoro con 10 % de suplementación con harina de raigrás y 36,46% para la dieta O2. Por otro lado, no se encontraron valores significativos de almidón para la dieta Carnívoro control (CC). A su vez, fueron hallados valores de 3,73% para C1 y 7,20% para C2. Sin embargo no se encontraron diferencias significativas debidas a la inclusión de harina de raigrás en el alimento.

Los valores energéticos resultantes para cada dieta fueron de 3611 Kcal EM/Kg MS (OC), 3478 Kcal EM/Kg MS (O1), 3344 Kcal EM/Kg MS (O2) mientras que para las dietas de formulación base carnívora los valores fueron 5135 Kcal EM/Kg MS (CC), 4789 Kcal EM/Kg MS (C1) y 4465 Kcal EM/Kg MS (C2). Se observa una clara disminución con el aumento de suplementación con harina de raigrás y se observan valores sensiblemente mayores para todas las dietas base carnívora.

Finalmente, la relación PB/ED en mg/Kcal ED resultante de cada formulación fue de 102,60 (OC), 102,16 (O1), 101,65 (O2), 120,37 (CC), 117,47 (C1) y 114,39 para C2.

Tabla 2. Composición química (g/Kg MS) de las dietas experimentales para la alimentación de juveniles de Tilapias del Nilo (*O. niloticus*)

Variable	OC	O1	O2	CC	C1	C2	d	s	d*s
PB	347,83 ± 10.3 ^d	332.15 ± 9.5 ^e	316.47 ± 7.3 ^f	434.78 ± 5.1 ^a	410.13 ± 7.2 ^b	385.47 ± 9.5 ^c	<0.0001	<0.0001	<0.0001
EE	68,48 ± 2.1 ^d	63.45 ± 1.5 ^e	58.41 ± 2.2 ^e	102.17 ± 1.3 ^a	95.36 ± 2.1 ^b	88.54 ± 1.5 ^c	<0.0001	<0.0001	<0.0001
FB	18,91 ± 1.1 ^c	52.28 ± 2.3 ^b	85.64 ± 1.5 ^a	19.46 ± 0.4 ^c	52.83 ± 1.1 ^b	86.21 ± 2.3 ^a	NS	<0.0001	NS
Almidón	342,83 ± 1.2 ^a	329.79 ± 4.1 ^a	316.75 ± 9.9 ^a	-	25.35 ± 1.2 ^b	50.71 ± 4.1 ^b	<0.0001	NS	0.0003
Ceniza	98,26 ± 2.3 ^a	94.92 ± 0.9 ^b	91.58 ± 1.5 ^c	100.11 ± 1.2 ^a	96.80 ± 2.3 ^b	93.49 ± 0.9 ^c	0.0206	0.0001	NS
EB (Kcal)/ kg MH	4.520	4.335	4.151	4.816	4.655	4.493	-	-	-

¹. 10%HR: Dieta suplementada con 10 % de harina de raigrás; ². Dieta suplementada con 20 % de harina de raigrás. NS: No significativo. Se presenta la media ± desvío estándar (n=3). Letras distintas entre columnas indican diferencias estadísticamente significativas (P < 0,01)

Tabla 3. Composición centesimal de las dietas. Datos expresados en gramos por kilogramo de materia seca.

Variable	OC	O1	O2	CC	C1	C2
PB gr/kg MS	396,93	380,65	364,24	662,25	602,72	547,22
EE gr/kg MS	78,15	72,71	67,23	155,62	140,14	125,69
Fibra gr/kg MS	21,58	59,91	98,57	29,64	77,64	122,38
Almidón gr/kgMs	391,22	377,94	364,56	0,00	37,25	71,99
Ceniza gr/kg MS	112,13	108,78	105,40	152,49	142,25	132,72

Índices biométricos

Los resultados obtenidos pueden observarse en la **Tabla 4** y **Tabla 5**. Además, a partir de los resultados obtenidos se construyeron las curvas correspondientes a la dinámica de cada uno de los parámetros a lo largo del ensayo (**Figuras 10 a 18**). En primer lugar se observa el peso final, ganancia de peso, ganancia de peso porcentual, tasa de crecimiento específico, Tasa de conversión alimenticia e índice de eficiencia proteica. En la **figura 10** pueden observarse las variaciones en el peso total (FM) en cada una de las instancias de muestreo por tratamiento. La dieta CC mantuvo el mayor peso en cada una de las instancias de muestreo (peso final 547 ± 6.66 g) seguido por el tratamiento OC con un peso final 495 ± 6.35 g. Por otra parte, los tratamientos O2 y C2 evidenciaron menores FM a lo largo del ensayo alcanzando en la última instancia un peso final de 406 ± 5.98 g y 409 ± 10.1 g respectivamente. El análisis estadístico arrojó diferencias significativas ($p < 0,0001$) entre los tratamientos para FM. Se observa una disminución del peso

total ante el aumento de suplementación con harina de raigrás en ambos tipos de dieta. En el mismo sentido, en la **Figura 11** se observa la curva de ganancia de peso (GP) para los distintos tratamientos. Todas las dietas muestran un claro aumento de la misma desde el día 30 hasta aproximadamente el día 120. Asimismo, todos los tratamientos alcanzaron su valor máximo a los 90 días, con excepción de O2 que se obtuvo a los 120 días. La ganancia de peso (GP) fue mayor para el tratamiento CC en casi todas las instancias de muestreo alcanzando un valor máximo de 103 ± 7.64 . A los 150 días de muestreo predominó la ganancia de peso obtenida por las dietas OC y O1. Después de los 120 días, las dietas muestran una tendencia hacia la disminución de ganancia de peso, siendo más pronunciada en C1 y C2 entendiéndose esta etapa como una fase de declive. Sin embargo, OC y CC parecen mantener niveles altos hasta el día 150, con cierta estabilidad hasta los 210 días.

Las curvas correspondientes al avance de la tasa de crecimiento específico (SGR) en %/día, entre los distintos tratamientos puede observarse en la **Figura 12**. El tratamiento CC presentó la mayor SGR a los 30 días. (4.85 ± 0.50) mientras que la menor fue registrada por la dieta C1 (2.34 ± 0.50) Sin embargo, en los momentos posteriores de muestreo se vio disminuida, siguiendo la tendencia general obtenida en las demás dietas. A su vez las diferencias entre los valores fueron disminuyendo, acompañando una misma curva de decrecimiento para todos los tratamientos. Siendo así, el mayor valor encontrado para la última instancia de muestreo (día 210) para la dieta CC (0.47 ± 0.08) mientras que el menor valor hallado fue para la dieta C1 (0.28 ± 0.08) El análisis estadístico de la SGR ($p= 0,0058$) arroja diferencias significativas entre los tratamientos.

Tabla 4. Índices biométricos de juveniles de tilapias del Nilo (*O. niloticus*) suplementadas con distintos niveles de inclusión de harina de raigrás desde el día 0 al 120

días	Grupo	FM	GP	BW	SGR	FCR	PER
30	OC	45.1 ± 0.50	30.1 ± 0.55	200 ± 6.31	3.67 ± 0.50	0.86 ± 0.15	3.63 ± 0.20
	O1	43.5 ± 0.50	28.5 ± 1.10	190 ± 5.40	3.55 ± 0.50	1.45 ± 0.10	2.25 ± 0.50
	O2	39.4 ± 1.01	24.5 ± 0.75	162 ± 2.35	3.22 ± 0.65	2.06 ± 0.50	1.53 ± 0.45
	CC	64.3 ± 1.00	49.3 ± 0.73	328 ± 6.45	4.85 ± 0.50	0.47 ± 0.01	4.85 ± 0.75
	C1	36.2 ± 0.88	18.2 ± 0.96	101 ± 5.50	2.34 ± 0.50	1.66 ± 0.48	1.46 ± 0.05
	C2	36.3 ± 1.85	21.3 ± 0.10	142 ± 4.03	2.95 ± 0.10	2.01 ± 0.10	1.29 ± 0.06
60	OC	110 ± 7.50	64.9 ± 1.01	144 ± 2.35	2.97 ± 0.52	1.09 ± 0.10	2.85 ± 0.10
	O1	105 ± 1.30	61.5 ± 0.85	141 ± 8.90	2.94 ± 0.50	1.76 ± 0.45	1.85 ± 0.33
	O2	89.5 ± 0.75	50.1 ± 0.80	127 ± 6.30	2.74 ± 0.11	2.57 ± 0.10	1.23 ± 0.10
	CC	132 ± 6.88	67.6 ± 1.33	105 ± 3.87	2.40 ± 0.02	0.93 ± 0.01	2.45 ± 0.07
	C1	109 ± 4.66	72.7 ± 2.10	200 ± 5.66	3.67 ± 0.10	1.12 ± 0.05	2.16 ± 0.07
	C2	97.3 ± 3.40	60.9 ± 4.55	167 ± 4.02	3.28 ± 0.10	1.73 ± 0.10	1.49 ± 0.15
90	OC	199 ± 7.80	88.9 ± 3.02	80.7 ± 1.98	1.97 ± 0.22	1.73 ± 0.04	1.80 ± 0.15
	O1	195 ± 9.77	90.1 ± 6.66	85.7 ± 4.82	2.06 ± 0.30	1.95 ± 0.45	1.67 ± 0.10
	O2	167 ± 8.85	77.6 ± 5.30	86.6 ± 3.46	2.08 ± 0.65	3.25 ± 0.50	0.97 ± 0.01
	CC	235 ± 7.55	103 ± 7.64	78.6 ± 3.10	1.93 ± 0.51	1.37 ± 0.40	1.67 ± 0.32
	C1	197 ± 6.78	88.6 ± 2.45	81.3 ± 3.15	1.98 ± 0.15	1.93 ± 0.10	1.26 ± 0.25
	C2	181 ± 10.3	83.8 ± 4.66	86.1 ± 5.41	2.07 ± 0.35	2.61 ± 0.41	0.99 ± 0.03
120	OC	284 ± 5.50	85.7 ± 4.44	43.1 ± 2.74	1.19 ± 0.15	2.86 ± 0.70	1.09 ± 0.12
	O1	273 ± 6.77	78.7 ± 3.85	40.4 ± 1.56	1.13 ± 0.13	3.56 ± 0.25	0.92 ± 0.10
	O2	250 ± 4.86	83.1 ± 2.40	49.6 ± 1.77	1.34 ± 0.08	4.78 ± 0.33	0.66 ± 0.02
	CC	336 ± 6.85	100 ± 5.11	42.6 ± 2.45	1.18 ± 0.31	2.39 ± 0.50	0.95 ± 0.09
	C1	280 ± 4.82	83.2 ± 4.35	42.1 ± 1.30	1.17 ± 0.15	3.21 ± 0.50	0.76 ± 0.03
	C2	260 ± 5.50	79.3 ± 5.15	43.7 ± 3.45	1.21 ± 0.10	4.36 ± 0.27	0.59 ± 0.04

Masa final (FM); ganancia de peso (GP); tasa de conversión alimenticia (FCR); tasa de crecimiento específico (SGR); índice de eficiencia proteica (PER); aumento de peso porcentual (BW). Los valores son medias ± desviación estándar, n=6 por tratamiento. (prueba de Tukey, P < 0,05).

Tabla 5 Índices biométricos de juveniles de tilapias del Nilo (*O. niloticus*) suplementadas con distintos niveles de inclusión de harina de raigrás desde el día 150 al 210

dias	Grupo	FM	GP	BW	SGR	FCR	PER
150	OC	372 ± 5.35	87.2 ± 5.66	30.6 ± 2.40	0.89 ± 0.11	3.75 ± 0.81	0.83 ± 0.10
	O1	357 ± 6.55	83.7 ± 3.50	30.5 ± 1.35	0.89 ± 0.21	4.44 ± 0.12	0.73 ± 0.02
	O2	315 ± 4.85	65.4 ± 4.32	26.1 ± 2.05	0.78 ± 0.15	8.18 ± 0.86	0.39 ± 0.02
	CC	405 ± 9.46	68.6 ± 3.33	20.3 ± 1.56	0.62 ± 0.10	4.52 ± 1.01	0.50 ± 0.04
	C1	347 ± 10.3	66.5 ± 5.87	23.7 ± 2.74	0.71 ± 0.15	5.26 ± 1.44	0.46 ± 0.10
	C2	325 ± 9.45	64.7 ± 4.66	24.8 ± 2.55	0.74 ± 0.09	7.08 ± 0.88	0.37 ± 0.07
180	OC	440 ± 7.82	68.1 ± 2.45	18.2 ± 0.75	0.56 ± 0.10	5.77 ± 0.25	0.54 ± 0.03
	O1	415 ± 5.44	57.3 ± 1.03	16.1 ± 1.10	0.50 ± 0.10	7.69 ± 0.45	0.42 ± 0.05
	O2	366 ± 4.65	50.7 ± 1.10	16.2 ± 0.62	0.50 ± 0.08	12.5 ± 0.55	0.25 ± 0.08
	CC	475 ± 6.31	70.6 ± 1.15	17.4 ± 1.01	0.54 ± 0.05	4.89 ± 0.83	0.47 ± 0.05
	C1	396 ± 5.41	49.1 ± 2.02	14.1 ± 0.92	0.44 ± 0.07	8.43 ± 0.65	0.29 ± 0.02
	C2	364 ± 6.65	38.9 ± 1.10	11.9 ± 1.05	0.38 ± 0.10	13.8 ± 0.50	0.19 ± 0.05
210	OC	495 ± 6.35	55.1 ± 2.01	12.5 ± 0.55	0.39 ± 0.05	8.02 ± 0.25	0.39 ± 0.11
	O1	465 ± 4.82	50.2 ± 1.35	12.2 ± 1.02	0.38 ± 0.05	10.2 ± 0.85	0.32 ± 0.05
	O2	406 ± 5.98	39.6 ± 1.00	10.8 ± 0.98	0.34 ± 0.10	18.4 ± 1.05	0.17 ± 0.05
	CC	547 ± 6.66	71.4 ± 1.50	15.1 ± 0.92	0.47 ± 0.08	5.42 ± 0.77	0.42 ± 0.10
	C1	431 ± 7.05	34.5 ± 2.01	8.72 ± 0.95	0.28 ± 0.08	13.2 ± 0.52	0.18 ± 0.05
	C2	409 ± 10.1	45.1 ± 3.45	12.3 ± 1.15	0.39 ± 0.10	13.4 ± 1.05	0.19 ± 0.01
Factor		FM	GP	BW	SGR	FCR	PER
Dieta (d)		<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.0058	<0.0001	<0.0001
Tiempo (t)		<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
(d)x(t)		<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001

. Masa final (FM); ganancia de peso (GP); tasa de conversión alimenticia (FCR); tasa de crecimiento específico (SGR); índice de eficiencia proteica (PER); aumento de peso porcentual (BW). Los valores son medias ± desviación estándar, n=6 por tratamiento. (prueba de Tukey, P < 0,05).

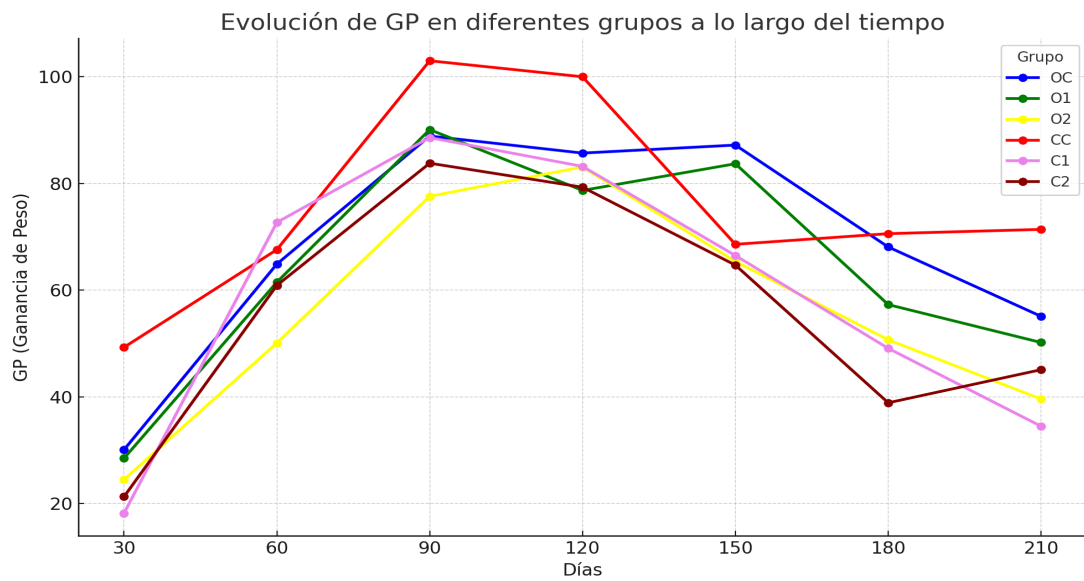


Figura 10 Evolución del peso total por tratamiento. Valores en gramos.

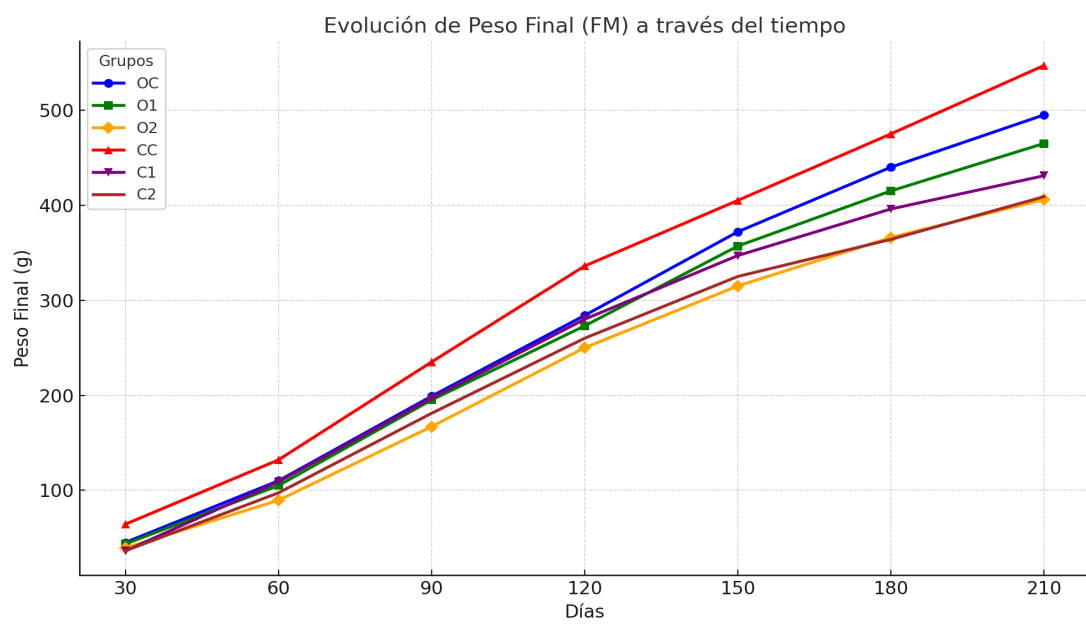


Figura 11 Evolución de la ganancia de peso por tratamiento. (Valores en gramos)

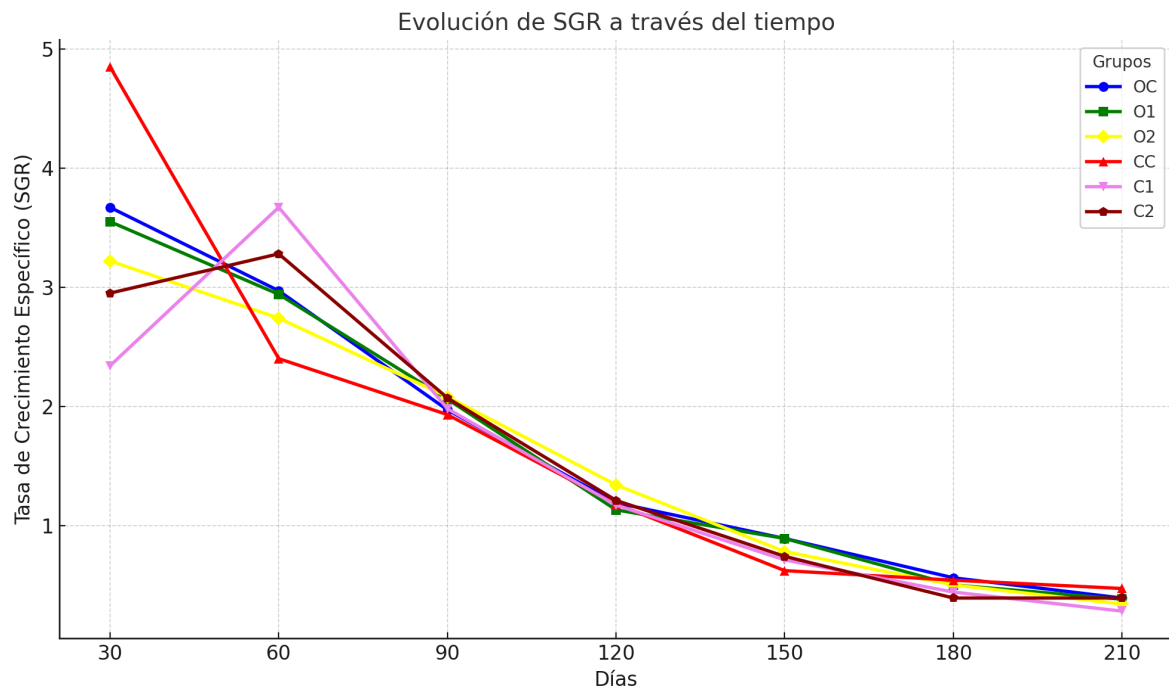


Figura 12 Evolución de la tasa de crecimiento específico por tratamiento (en %)

En el mismo sentido, la ganancia de peso porcentual (%BW) cuya gráfica representativa puede observarse en la **Figura 13**, mostró resultados concordantes con la tasa de crecimiento específico, observándose el mismo patrón descendente mencionado para la SGR. Partiendo de lo anteriormente expuesto, el mayor crecimiento porcentual se obtuvo en el tratamiento CC a los 30 días ($328\% \pm 6.45$) mientras que para el mismo estadio de muestreo, el menor valor obtenido fue para el tratamiento C1 ($101\% \pm 5.50$). Las demás dietas mostraron valores intermedios, siendo $200\% \pm 6.31$ para la dieta OC, $190\% \pm 5.40$ para la dieta C1, $162\% \pm 2.35$ para O2 y $142\% \pm 4.03$ para C2.

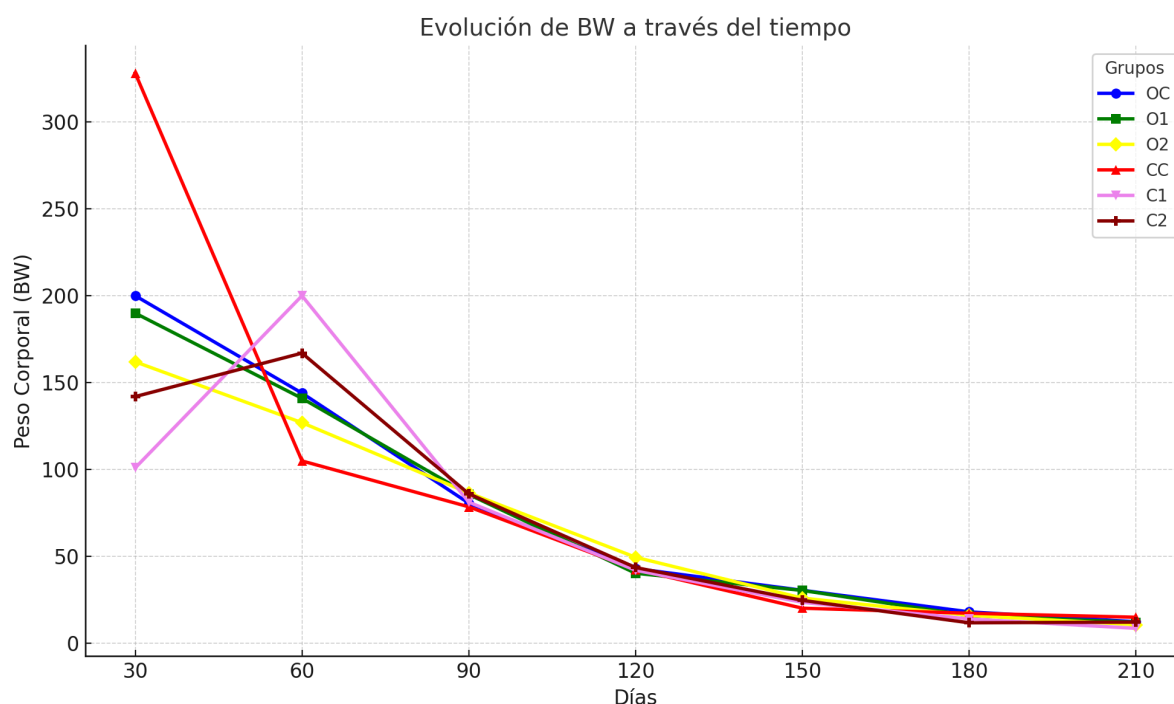


Figura 13 Evolución del aumento de peso porcentual por tratamiento (en %)

Los valores de eficiencia proteica (PER) a lo largo del ensayo pueden visualizarse en la **Figura 14**. En la misma se puede observar que los resultados fueron disímiles entre los tratamientos principalmente en las primeras 2 etapas de muestreo. Todos los tratamientos siguieron una curva descendente que tiende a estabilizarse a partir de los 90 días. Inicialmente el grupo CC obtuvo la mayor eficiencia proteica (4.85 ± 0.75) mientras que el menor valor obtenido fue el arrojado por el tratamiento O2 (1.29 ± 0.06) siendo los valores restantes 3.63 ± 0.20 (OC), 2.25 ± 0.50 (O1), 1.53 ± 0.45 (O2) y 1.46 ± 0.05 para C1. Coincidiendo estos parcialmente con los valores obtenidos para SGR. El análisis estadístico arrojó diferencias significativas para los distintos tratamientos ($p < 0.0001$). En base a esto, se observó una disminución en la eficiencia proteica conforme se incluye mayor porcentaje de harina de raigrás en la dieta. Por otra parte, los valores de cada tratamiento tendieron a estabilizarse con el avance del tiempo, reduciendo

sus diferencias hacia el final del ensayo aunque manteniendo diferencias significativas entre ellos, a saber: 0.39 ± 0.11 (OC); 0.32 ± 0.05 (O1); 0.17 ± 0.05 (O2); 0.42 ± 0.10 (CC); 0.18 ± 0.05 (C1) y 0.19 ± 0.01 (C2).

En adición a lo anteriormente expuesto, la tasa de conversión alimenticia (FCR) la cual puede observarse en la **Tabla 4 y 5** y de forma gráfica en la **Figura 15**, arrojó valores crecientes a lo largo del ensayo para todos los tratamientos. Sin embargo, las diferencias en entre tratamientos fueron significativas ($p < 0.0001$). En este caso, la FCR fue creciente acompañando el aumento de inclusión de harina de raigrás. Siendo así, a los 30 días se obtuvieron valores de 0.86 ± 0.15 (OC); 1.45 ± 0.10 (O1); 2.06 ± 0.50 (O2); 0.47 ± 0.01 (CC); 1.66 ± 0.48 (C1) y 2.01 ± 0.10 para el tratamiento C2. Finalmente a los 210 días de tratamiento los resultados se mantuvieron con diferencias apreciables, siendo 8.02 ± 0.25 (OC); 10.2 ± 0.85 (O1); 18.4 ± 1.05 (O2); 5.42 ± 0.77 (CC); 13.2 ± 0.52 (C1) y 13.4 ± 1.05 para C2. En adición a esto, en la dieta comercial carnívora sin inclusión de harina de raigrás (CC), se observó un aumento más discreto de la tasa de conversión con el avance del ensayo con mayor estabilidad hacia el final del mismo.

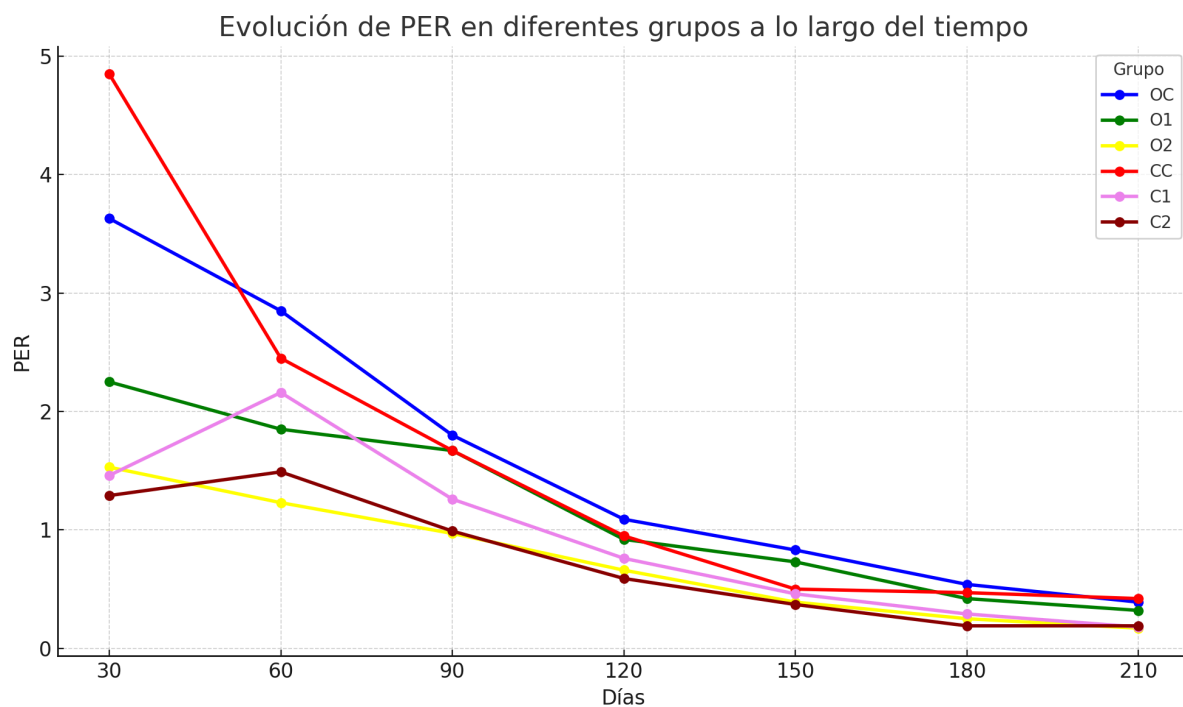


Figura 14 Evolución de la tasa de eficiencia proteica (PER) por tratamiento (valores expresados en porcentaje)

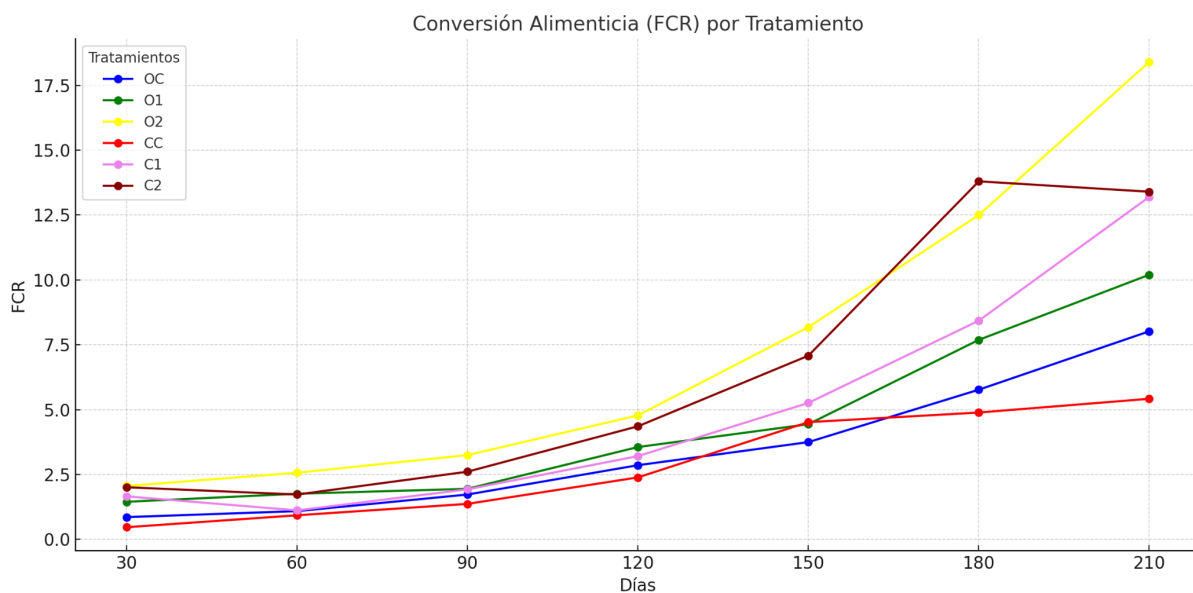


Figura N°15. Evolución de la tasa de conversión alimenticia por tratamiento (Valores expresados como coeficiente)

Tabla 6 Índices IMS, IVS e IHS de juveniles de tilapias del Nilo (*O. niloticus*) suplementadas con distintos niveles de inclusión de harina de raigrás por etapas de muestreo (30;60;90 y 120 días)

Día	Dieta	IVS	IHS	IMS
30	OC	0.47 ± 0.10	0.21 ± 0.10	0.12 ± 0.05
	O1	0.45 ± 0.05	0.20 ± 0.05	0.12 ± 0.01
	O2	0.41 ± 0.10	0.18 ± 0.03	0.11 ± 0.01
	CC	0.67 ± 0.03	0.29 ± 0.05	0.18 ± 0.02
	C1	0.38 ± 0.01	0.17 ± 0.04	0.10 ± 0.01
	C2	0.38 ± 0.01	0.17 ± 0.01	0.10 ± 0.00
60	OC	1.20 ± 0.10	0.54 ± 0.01	0.33 ± 0.01
	O1	1.14 ± 0.50	0.51 ± 0.05	0.32 ± 0.01
	O2	0.97 ± 0.03	0.44 ± 0.01	0.27 ± 0.02
	CC	1.43 ± 0.05	0.64 ± 0.05	0.40 ± 0.01
	C1	1.18 ± 0.02	0.56 ± 0.01	0.33 ± 0.02
	C2	1.06 ± 0.06	0.47 ± 0.02	0.29 ± 0.01
90	OC	2.29 ± 0.50	1.09 ± 0.05	0.68 ± 0.00
	O1	2.24 ± 0.50	1.05 ± 0.11	0.67 ± 0.01
	O2	1.92 ± 0.50	0.93 ± 0.01	0.57 ± 0.03
	CC	2.71 ± 0.48	1.29 ± 0.15	0.81 ± 0.06
	C1	2.27 ± 0.15	1.07 ± 0.33	0.68 ± 0.01
	C2	2.08 ± 0.15	0.98 ± 0.05	0.62 ± 0.02
120	OC	3.57 ± 0.44	1.73 ± 0.15	1.17 ± 0.23
	O1	3.43 ± 0.50	1.68 ± 0.10	1.13 ± 0.15
	O2	3.14 ± 0.10	1.54 ± 0.15	1.03 ± 0.07
	CC	4.22 ± 0.54	2.05 ± 0.45	1.38 ± 0.02
	C1	3.52 ± 0.15	1.72 ± 0.25	1.16 ± 0.05
	C2	3.27 ± 0.16	1.56 ± 0.21	1.07 ± 0.41

IMS: Índice mesenteriosomático, IVS: índice viscerosomático, IHS: Índice hepatosomático)

Tabla 7 Índices biométricos de juveniles de tilapias del Nilo (*O. niloticus*) suplementadas con distintos niveles de inclusión de harina de raigrás por etapas de muestreo (150;180 y 210 días)

Día	Dieta	IVS	IHS	IMS
150	OC	4.82 ± 0.25	2.49 ± 0.17	1.63 ± 0.15
	O1	4.63 ± 0.32	2.41 ± 0.55	1.57 ± 0.10
	O2	4.09 ± 0.55	2.11 ± 0.21	1.39 ± 0.11
	CC	5.25 ± 0.87	2.71 ± 0.40	1.78 ± 0.33
	C1	4.50 ± 0.91	2.31 ± 0.50	1.52 ± 0.46
	C2	4.21 ± 1.01	2.19 ± 0.45	1.43 ± 0.55
180	OC	5.98 ± 0.35	3.35 ± 0.10	2.11 ± 0.10
	O1	5.64 ± 0.20	3.14 ± 0.62	1.99 ± 0.15
	O2	4.98 ± 0.37	2.78 ± 0.20	1.76 ± 0.65
	CC	6.46 ± 0.40	3.62 ± 0.15	2.28 ± 0.10
	C1	5.38 ± 0.85	3.02 ± 0.15	1.91 ± 0.11
	C2	4.95 ± 0.75	2.78 ± 0.80	1.74 ± 0.25
210	OC	7.24 ± 0.96	4.52 ± 0.75	2.71 ± 0.33
	O1	6.78 ± 1.01	4.27 ± 0.67	2.55 ± 0.42
	O2	5.94 ± 0.25	3.79 ± 0.25	2.23 ± 0.16
	CC	8.01 ± 0.55	4.83 ± 0.55	3.02 ± 0.18
	C1	6.30 ± 0.89	3.95 ± 0.22	2.37 ± 0.20
	C2	5.68 ± 0.50	3.75 ± 0.45	2.22 ± 0.80
Dieta		<0.0001	<0.0001	<0.0001
Tiempo		<0.0001	<0.0001	<0.0001
(d)x(t)		<0.0001	<0.0001	<0.0001

IMS: Índice mesenterio somático, IVS: Índice viscerosomático, IHS: Índice hepatosomático)

En la **Tabla 6** y **Tabla 7** pueden observarse los valores obtenidos para las variables IVS, IHS e IMS a lo largo de las instancias de muestreo en el ensayo. Los valores de IVS reflejados en la **Figura 16**, muestran a lo largo de todo el proceso una tendencia sostenida de los tratamientos OC y CC a presentar los mayores valores en cada instancia de muestreo (7.24 ± 0.96 y 8.01 ± 0.55 respectivamente al final del ensayo). En contraposición, los menores valores fueron hallados en los tratamientos O2 y C2 a lo largo de todas las instancias de muestreo (5.94 ± 0.25 y 5.68 ± 0.50 respectivamente al final del ensayo). Por su parte el análisis estadístico para los valores IVS arrojó diferencias significativas ($p < 0,0001$) para los tratamientos. En base a lo anteriormente expuesto se observa un descenso en los valores del índice viscerosomático con el aumento de inclusión de harina de raigrás en el alimento. Por otra parte, se observa un mayor IVS para la dieta control base carnívora respecto a la análoga omnívora a lo largo del ensayo. Sin embargo, al inicio del ensayo se observa que las dietas carnívoras al suplementarse con harina de raigrás presentan un mayor valor que las de mismo porcentaje de suplementación con base omnívora, efecto que se revierte a partir del día 150 de muestreo.

Sumado a lo anterior, en la **Figura 17** se ven graficados los resultados correspondientes al IHS en las distintas instancias de muestreo para cada una de las dietas. Los valores fueron creciendo conforme avanzó el ensayo. Los tratamientos CC y OC mostraron los índices más elevados en contraposición con C2 y O2 que arrojaron los menores valores para IHS a lo largo del ensayo. En

adición a esto, los datos demuestran una disminución de los valores con el aumento de la suplementación de las dietas con harina de raigrás. siendo así en la primera instancia de muestreo se obtuvieron los siguientes resultados 0.21 ± 0.10 (OC); 0.20 ± 0.05 (O1); 0.18 ± 0.03 (O2); 0.29 ± 0.05 (CC); 0.17 ± 0.04 (C1) y 0.17 ± 0.01 para C2. Dichas diferencias se mantuvieron constantes durante el ensayo. Siendo así, los valores obtenidos en el día 210 para IHS fueron: 4.52 ± 0.75 (OC); 4.27 ± 0.67 (O1); 3.79 ± 0.25 (O2); 4.83 ± 0.55 (CC); 3.95 ± 0.22 (C1); 3.75 ± 0.45 (C2).

En el mismo sentido, los valores de IMS han mostrado la misma tendencia que la mencionada para los valores de IVS e IHS. En la **Figura 18** se grafican los resultados obtenidos para IMS en cada tratamiento a lo largo del ensayo. Los mayores valores en este caso también fueron los registrados por los tratamientos CC y OC, aunque, a diferencia de los índices anteriores, el IMS a los 30 días no arrojó una diferencia tan marcada con el aumento de harina de raigrás. siendo los valores en el primer muestreo: 0.12 ± 0.05 (OC); 0.12 ± 0.01 (O1); 0.11 ± 0.01 (O2); 0.18 ± 0.02 (CC); 0.10 ± 0.01 (C1); 0.10 ± 0.00 (C2). Sin embargo, en las instancias de muestreo subsiguientes los valores toman gradualmente la tendencia mencionada. El incremento de los valores en estos tres índices mencionados presenta un crecimiento aparentemente lineal, al menos hasta el último periodo muestreado.

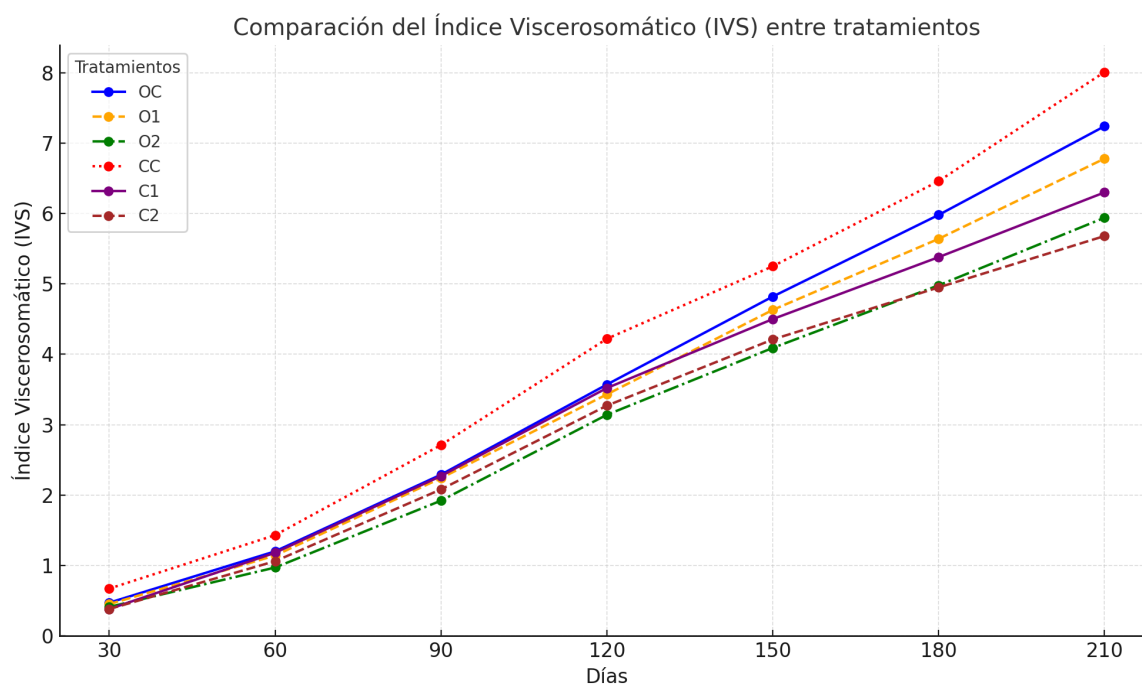


Figura N°16. Evolución del índice viscerosomático por tratamiento (valores en porcentaje)

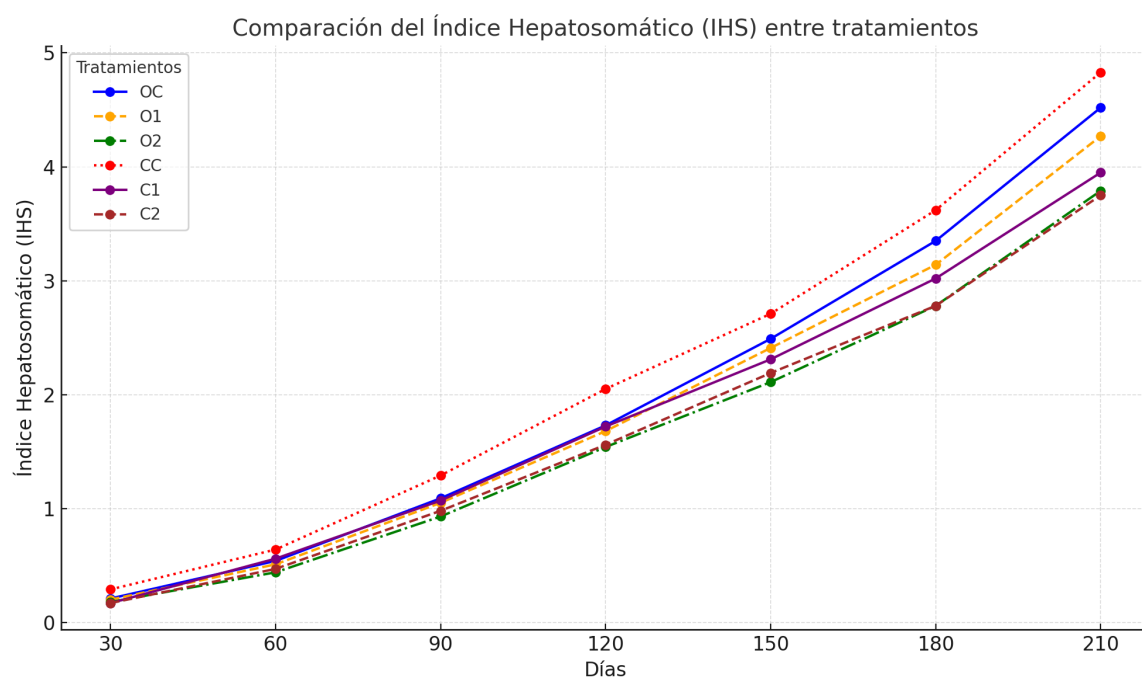


Figura N°17. Evolución del Índice hepatosomático por tratamiento (valores en porcentaje).

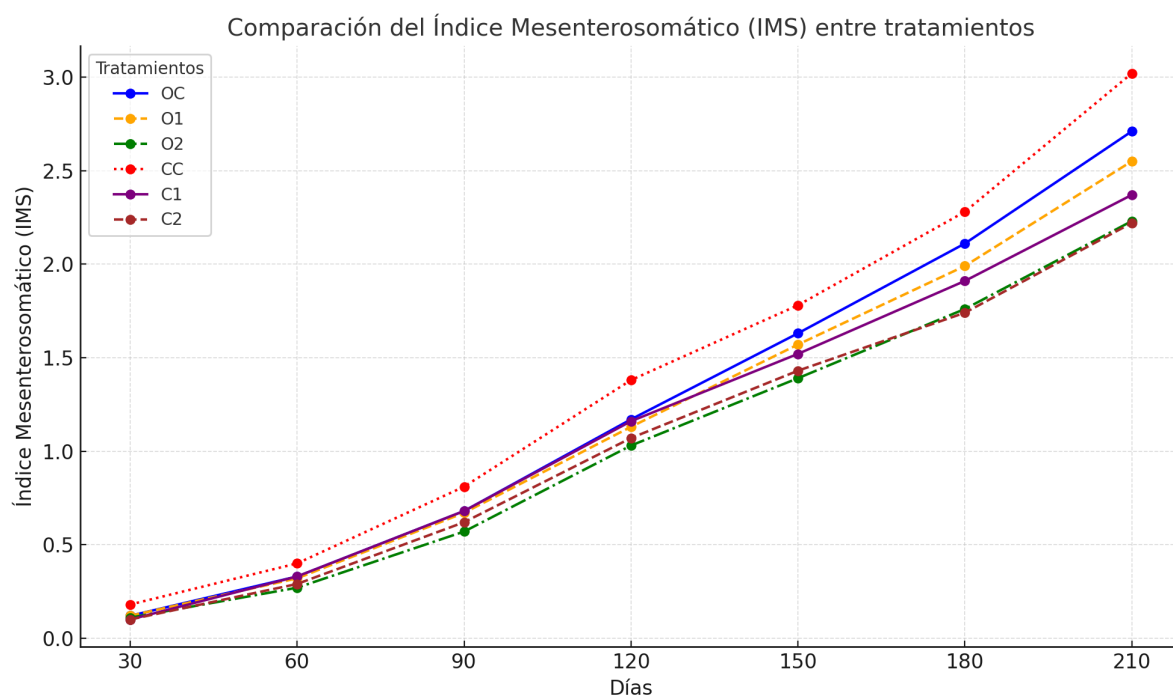


Figura N°18. Evolución del Índice Mesenterosomático por tratamiento (valores expresados en porcentaje).

Alteraciones microscópicas en hepatopáncreas

El análisis cualitativo de las alteraciones histológicas en la arquitectura hepática ha mostrado diferencias notables entre las distintas instancias de muestreo bajo el sistema de clasificación trabajado. En la **Figura 20** se observan las micrografías de cada uno de los tratamientos en la primera y segunda instancia de muestreo. Los tratamientos C1, O1 y OC mostraron en el primer muestreo una estructura de hepatocitos con una presencia generalizada de vacuolas grandes intracitoplasmáticas formando un citoplasma homogéneo que desplaza completamente los núcleos celulares hacia la periferia y en algunos casos imperceptibles. dichas alteraciones coincidieron con las descritas en la escala de grado 6. En los tratamientos C2 y O2 se observan hepatocitos con un

contorno visible, núcleos celulares generalmente desplazados hacia la periferia citoplasmática, a su vez se detectó la presencia de múltiples vacuolas en el área examinada pero conservando la estructura de los cordones hepáticos, todas estas, alteraciones coincidentes con el grado 5 de la escala. Por último, en CC se observó una estructura con contorno visible, múltiples focos de hepatocitos ligeramente desplazados y múltiples vacuolas intracitoplasmáticas de tamaño homogéneo sin distorsión de la arquitectura celular, resultados comparables a un grado 2 en la escala. Por otro lado, en la segunda instancia de muestreo, se observó en los tratamientos C2 y OC una estructura hepática sin lesiones visibles, coincidente con un grado 0 en la escala. Puede observarse claramente el contorno celular, citoplasma con presencia de vacuolas de tamaño pequeño que no afectan a la arquitectura y núcleos celulares en posición central dentro del citoplasma. Por otro lado, en los tratamientos CC, O1 y O2 se notaron alteraciones ligeras en algunos focos dispersos y núcleos ligeramente desplazados hacia la periferia, coincidentes con un grado 1 en la escala. Finalmente, en el tratamiento C1 se observaron alteraciones de grado 3. En la micrografía puede observarse claramente la presencia de hepatocitos con pérdida del contorno celular en múltiples focos del área, vacuolas intracitoplasmáticas grandes multifocales con distorsión de la estructura celular y núcleos severamente desplazados a la periferia en múltiples zonas de la superficie muestreada.

En la **Figura 19** se grafican los resultados obtenidos donde puede visualizarse claramente el contraste entre resultados obtenidos desde el primer al segundo muestreo. Puede observarse una disminución general del grado de alteraciones morfológicas presentes en el tejido hepático desde el primer al segundo muestreo, independientemente del tipo de dieta suministrada.

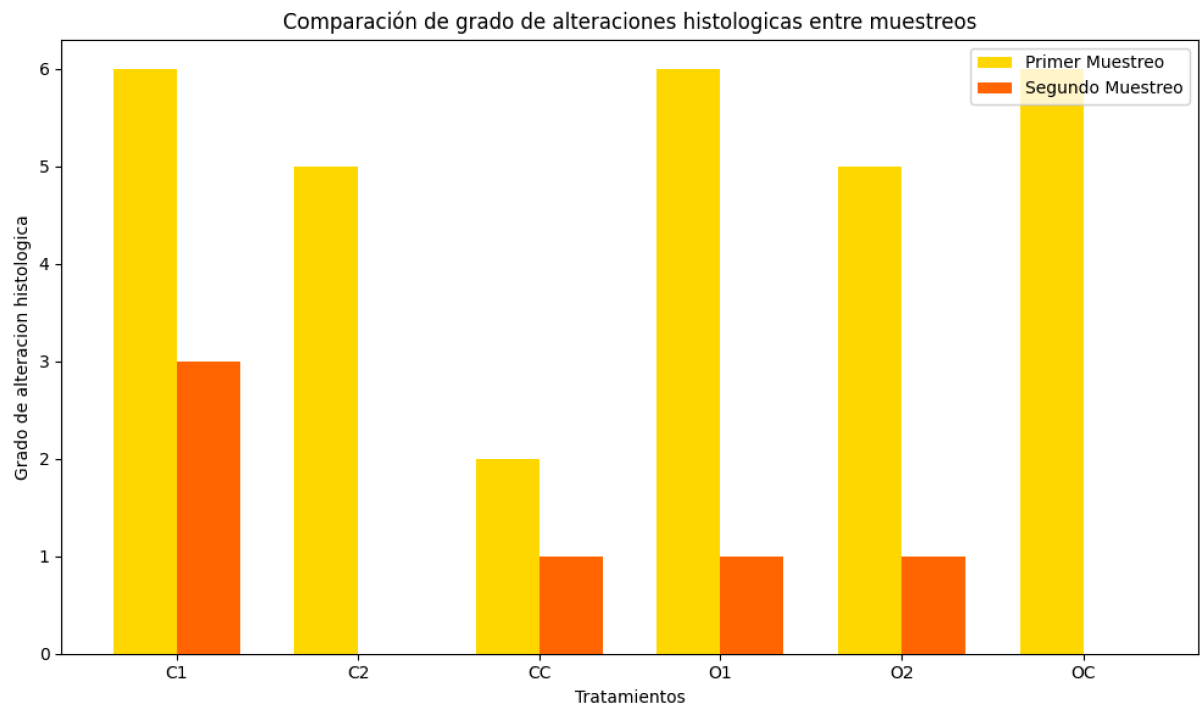


Figura 19. Comparación de grado de alteraciones histológicas en tejido hepático entre tratamientos por instancia de muestreo, utilizando el método de graduación descrito por Triana García, *et al* (2013).

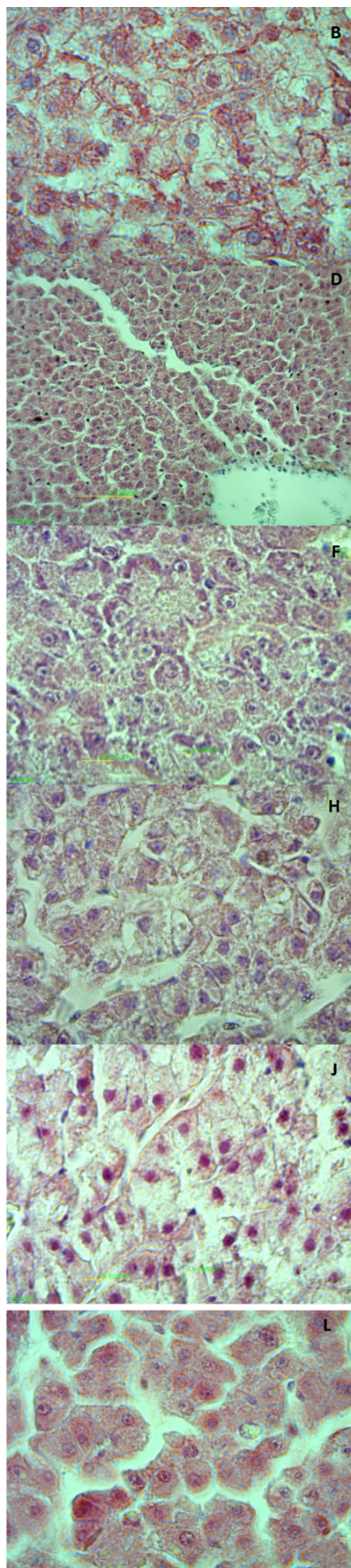
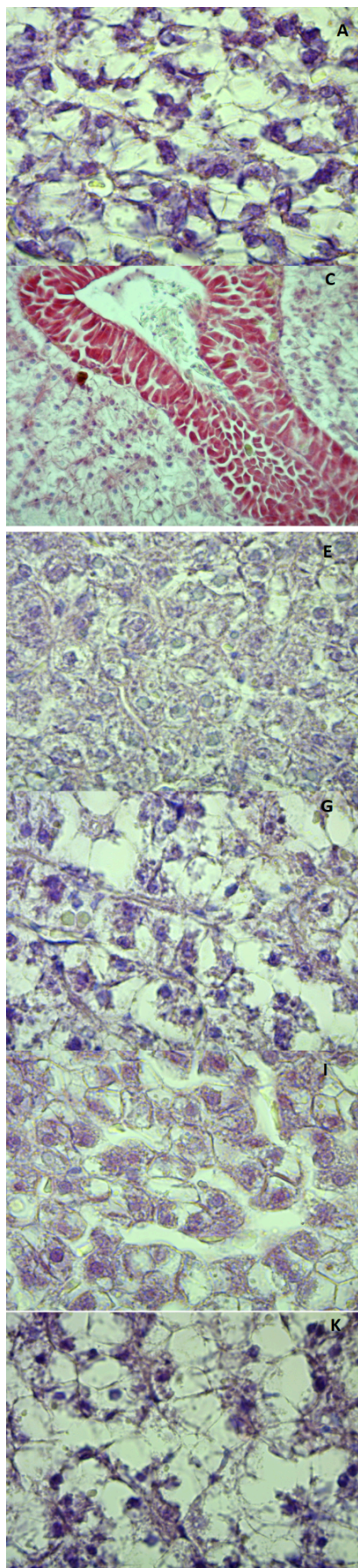


Figura 20.
Comparación de
instancias de
muestreos.

- A)** C1 primera
instancia de
muestreo, 100x.
B) tratamiento C1
segunda instancia
de muestreo, 100x.
C2 primer
muestreo, 40x.
D) C2 segundo
muestreo, 40x.
E) CC primer
muestreo, 100x
F) CC segundo
muestreo 100x.
G) O1 primera
instancia de
muestreo, 100x.
H) O1 segundo
muestreo, 100x.
I) O2 primer
muestreo, 100x.
J) O2 segundo
muestreo, 100x.
K) OC primer
muestreo, 100x.
L) OC segundo
muestreo, 100x.

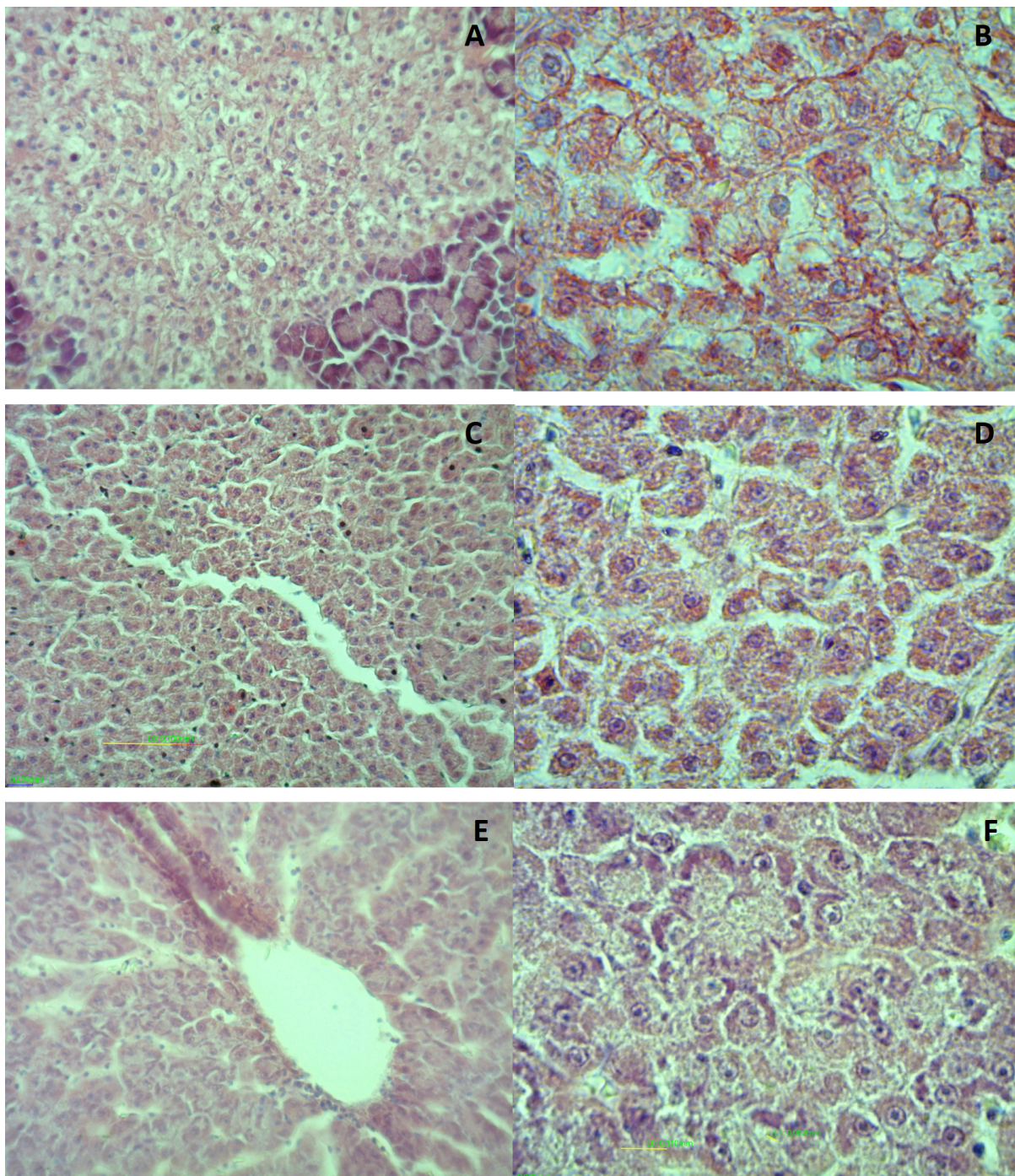


Figura 21. Patrones morfológicos de lesión por degeneración vacuolar, en hepatopáncreas de tilapias alimentadas con dietas con diferentes porcentajes de inclusión de harina de raigrás. **A)** C1 (40X) A su derecha se observa. **B)** Acercamiento en 100X del tratamiento C1 **C)** Hepatopáncreas correspondiente al tratamiento C2 (40X). **D)** Acercamiento de C2. (100X). **E)** Tratamiento CC. (40X). **F)** Acercamiento del tratamiento CC en 100X.

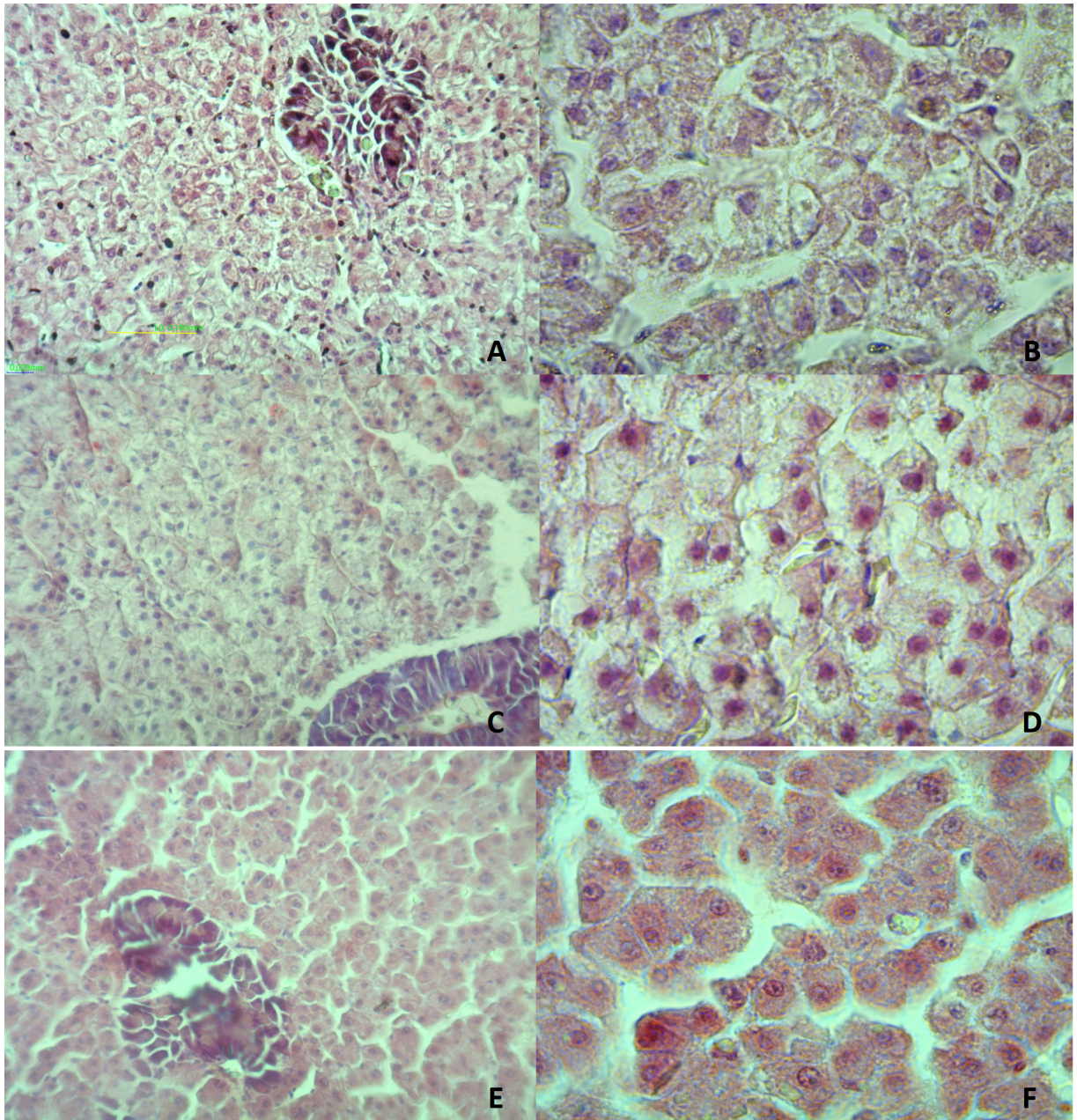


Figura 22. Patrones morfológicos de lesión por degeneración vacuolar, en hepatopáncreas de tilapias alimentadas con dietas con diferentes porcentajes de inclusión de harina de raigrás. Referencias: **A)** Tratamiento O1(40X) **B)** Acercamiento en 100X del tratamiento O1 **C)** Tratamiento O2. **D)** Acercamiento en 100X del tratamiento O2 **E)** Hepatopáncreas correspondiente al tratamiento OC (40X). **D)** Acercamiento de OC. (100X).

Mediciones de área de hepatocitos

Los resultados del área de hepatocitos arrojaron valores diversos para los distintos tratamientos. Una comparación entre tratamientos y muestreos puede observarse en la **figura 23**. Los valores promedio para el primer tratamiento fueron 148,9 μm^2 (C1), 165,2 μm^2 (C2), 86,6 μm^2 (CC) mientras que para las dietas de base omnívora fueron 192,8 μm^2 (O1), 119,9 μm^2 (O2) y 187,4 μm^2 (OC). Adicionalmente en la segunda instancia de muestreo los valores obtenidos fueron 154,8 μm^2 (C1), 151,3 μm^2 (C2), 126,2 μm^2 (CC), 103,9 μm^2 (O1), 142,6 μm^2 (O2) y 108,3 μm^2 (OC). Tal como puede observarse de los valores anteriormente expuestos, en el primer muestreo se observa el menor valor para CC y los mayores para las dietas omnívoras O1 y OC. Por otra parte, en el segundo muestreo los menores valores obtenidos son de los tratamientos O1 y OC mientras que los valores más elevados corresponden a las dietas carnívoras C1 y C2. En base a lo anteriormente expuesto, no se ha podido encontrar una respuesta clara de la inclusión de harina de raigrás en los tratamientos bajo evaluación sobre el área de los hepatocitos.

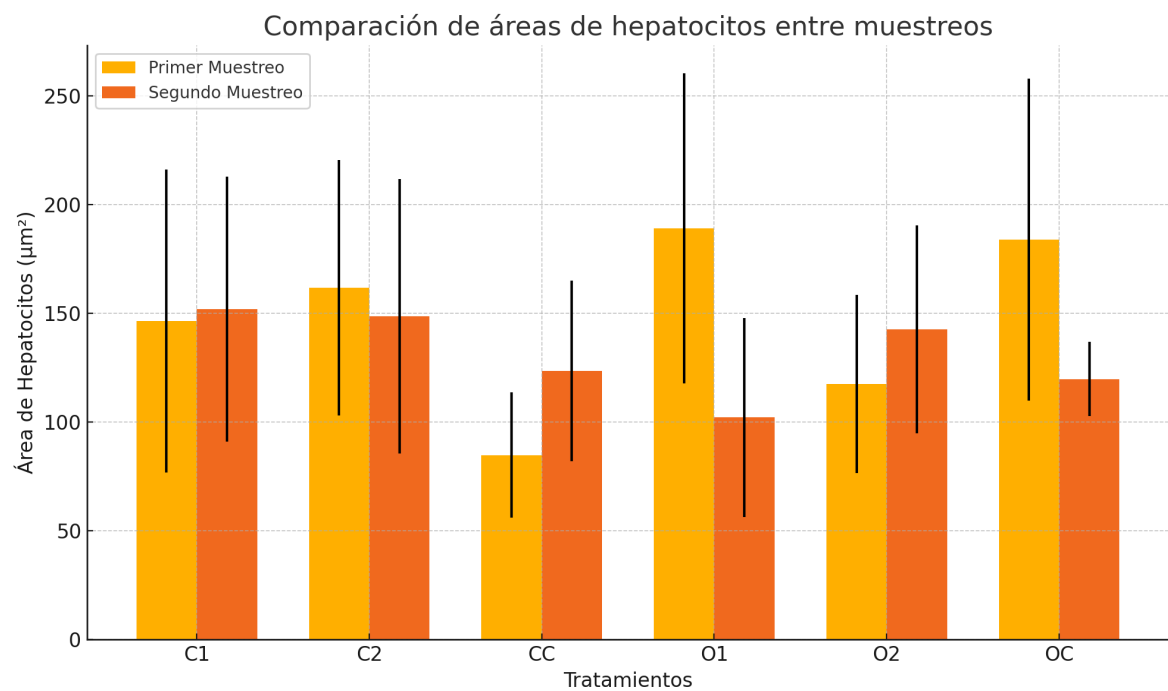


Figura N°23. Promedio y desvío estándar de mediciones del área de hepatocitos diferenciados por tratamiento y por instancia de muestreo.

Discusión

Análisis de la composición química de las dietas.

En base a los datos obtenidos en el análisis de composición química del alimento, puede observarse una clara disminución en el porcentaje de proteína bruta, en concomitancia con el aumento de la inclusión de harina de raigrás en la dieta. Estos resultados tienen sentido considerando la composición centesimal del raigrás (FEDNA). Sin embargo, debe tenerse en cuenta la variación en el valor nutricional dependiendo del estadio fenológico en el que se encuentre al momento de la cosecha, tal como reportaron Aganga, *et al* (2004). En adición a esto, el porcentaje de proteína bruta fue mayor en el conjunto de dietas carnívoras. Por otra parte, puede observarse, como es de esperar, un aumento en el porcentaje de fibra en las dietas con mayor adición de harina de raigrás. El contenido de fibra aumentó 3,3 gr/kg cada unidad porcentual de aumento de inclusión. Tal como se expresó en el apartado de resultados, las diferencias en el contenido de almidón no se ven explicadas de forma significativa por el aumento en la inclusión de harina de raigrás, sino principalmente por la formulación propia de las dietas comerciales, siendo notoriamente mayor en la dieta comercial base omnívora (OC) y nula en la dieta comercial base carnívora (CC). Si bien no se encontraron estudios similares en la bibliografía que permitan hacer un contraste con los resultados obtenidos, las características del raigrás como forraje (Aganga *et al*, 2004) en cuanto a su valor nutricional confirman los valores obtenidos.

Con respecto a la energía, las dietas presentaron valores diferenciados principalmente por la dieta comercial base, siendo mayor en las de base carnívora. Sin embargo, entendiendo que el porcentaje de humedad de las dietas

de base omnívora presentaron valores promedio de 12,75 % y que las de base carnívora presentaron valores de 31,95 % promedio, se debe tener en cuenta entonces que la energía aportada por kg de ración consumida se ve modificada por esta diferencia. De lo anterior se desprende que la energía presente es 3390 Kcal (OC) 3251 Kcal (O1) 3113 Kcal (O2) 3612 Kcal (CC) 3491 Kcal (C1) y 3370 Kcal (C2) como energía digestible por kilogramo de ración, valores similares a los trabajados por Boscolo, *et al* (2005). Por otro lado, la relación proteína/energía expresada en mg PB/Kcal ED mostraron resultados mayores para las dietas base carnívora, aunque decreciente en concomitancia con el aumento de inclusión de harina de raigrás. Los valores encontrados en este estudio se encuentran dentro del rango reportado por NRC (1993) y Boscolo *et al.* (2005) lo que sugiere concordancia en los resultados.

Índices biométricos

En base a los resultados obtenidos tras el análisis de los datos biométricos se puede establecer diferencias significativas entre los distintos tratamientos, en el caso de la ganancia de peso (GP) tanto la dieta CC como OC que presentan los menores porcentajes de fibra bruta son los tratamientos que observaron las mayores ganancias de peso, disminuyendo con el aumento del mismo. Estos resultados no coinciden con los obtenidos por Garcia, *et al* (2008) para salmón del paraná (*brycon orbignyanus*) ni con Zaroni (1996) que obtuvo mejores resultados de ganancia de peso en pacú (*Piaractus mesopotamicus*) con una dieta con 11% de fibra bruta. A su vez, dichos resultados no coinciden con lo expuesto por Forouhar Vajargah, (2021) que mencionó al respecto que la tilapia absorbe bien la proteína vegetal, especialmente si es rica en fibra. Por otro lado, en el caso de

la SGR resulta interesante observar que en las dietas de base omnívora se obtuvieron resultados que indicarían que un aumento en el porcentaje de inclusión de harina de raigrás deriva en una menor tasa de crecimiento específico. Lo anteriormente expuesto no sucede con las dietas de base carnívora, donde el menor SGR se obtiene a lo largo del ensayo en el tratamiento C1. Por otro lado, en base a los resultados obtenidos en conversión alimenticia, un FCR más alto en los tratamientos con 20% de harina de raigrás (C2 y O2) sugiere que estas dietas podrían ser menos eficientes en convertir el alimento en biomasa. Esto se debe posiblemente a la menor digestibilidad o calidad proteica de la harina de raigrás en comparación con las dietas comerciales. Otra explicación al respecto puede ser la presentada por Sanz (2002) que menciona que la fibra soluble en el alimento puede aumentar la viscosidad intestinal dificultando la digestión enzimática. Esto último tiene sentido atendiendo al mayor porcentaje de fibra presente en las dietas O2 y C2 respecto a las dietas restantes. Por otra parte, los tratamientos con 10% de harina de raigrás (C1 y O1) tienen un FCR intermedio, lo que podría indicar que la inclusión moderada de raigrás tiene un impacto menor, pero aún reduce la eficiencia en comparación con las dietas comerciales control (CC y OC), que son las más bajas en FCR y, por tanto, las más eficientes. En términos generales, cuando el FCR aumenta, el PER disminuye, lo que se observa claramente en los tratamientos con mayores niveles de harina de raigrás (O2 y C2). Estos tratamientos presentaron los valores más altos de FCR (18.4 ± 1.05 y 13.4 ± 1.05 , respectivamente) y los valores más bajos de PER (0.17 ± 0.05 y 0.19 ± 0.01). Esto, sumado a lo anteriormente mencionado indica que la adición de 20% de harina de raigrás reduce drásticamente la eficiencia en el uso de proteínas y en la conversión general del alimento. Estos resultados parecen

coincidir con lo expuesto por Yong, et al (1989) quienes reportaron que una inclusión mayor a 3.6% de fibra en dietas reduce la eficiencia alimenticia en la tilapia.

Lo anteriormente expuesto nos permitiría inferir que dietas con inclusión de harina de raigrás no benefician la ganancia de peso ni la eficiencia en el aprovechamiento de las proteínas para la tilapia nilótica. Sin embargo, los individuos pertenecientes a los tratamientos con mayor peso total (CC y OC) son también los que presentaron mayores índices viscerosomático, hepatosomático y mesenterosomático. Estos valores podrían indicar tanto una mayor capacidad digestiva o un mayor porcentaje de deposición grasa a nivel visceral. Esto último podría deberse a que las dietas con alto contenido de harina de raigrás (O2 y C2) presentan una menor densidad energética, lo que reduce la capacidad de los peces para acumular reservas viscerales. No obstante, los valores obtenidos para IMS indican un mayor desarrollo intestinal en las dietas con menor aporte de harina de raigrás. Los resultados anteriores no concuerdan con los resultados obtenidos por Pineda Santis, *et al* (2012) en tilapia roja y tilapia nilótica, donde observaron una mayor longitud intestinal en animales alimentados con mayor aporte de fibra. Sin embargo, y en base a la metodología de evaluación trabajada por Pineda Santis, *et al* (2012) sería recomendable evaluar el desarrollo intestinal a través de su longitud debido a que los valores de IMS pueden verse sesgados por la presencia de grasa asociada al tejido intestinal. Por otro lado, si se tienen en cuenta los valores obtenidos en el análisis de composición centesimal de las dietas, los resultados obtenidos coinciden con los aportes realizados por Buhler & Halver (1961) quienes relacionan el descenso del crecimiento en juveniles de *Oncorhynchus tshawytscha* con el creciente aporte de celulosa debido

principalmente a que los valores de proteína y energía decrecientes no serían capaces de cubrir satisfactoriamente los requerimientos de la especie. Sin embargo, es importante aclarar que si bien la ganancia de peso (GP) y el peso final (FM) ($547\text{g} \pm 6.66$ y $495\text{g} \pm 6.35$ en peso final a los 210 días para los tratamientos CC y OC, respectivamente) fueron mayores para las dietas no suplementadas con harina de raigrás, esta diferencia de peso se explica en mayor medida por un aumento del peso visceral (valores obtenidos en IVS) no impactando en el peso de los filetes. En este sentido, los resultados obtenidos para IHS (4.52 ± 0.75 (OC); 4.27 ± 0.67 (O1); 3.79 ± 0.25 (O2); 4.83 ± 0.55 (CC); 3.95 ± 0.22 (C1); 3.75 ± 0.45 (C2)) parecen indicar que existe un decrecimiento de este factor con el aumento del porcentaje de inclusión de fibra en el alimento. Este resultado no coincide con el obtenido por García *et al* (2008) en salmón del Paraná (*brycon orbignyanus*) donde evaluaron la utilización de fibra bruta en niveles de 5%, 7%, 8% y 9% y al cabo de 105 días obtuvieron valores de IHS promedio de 0,951; 0,938; 0,882; 0,876 respectivamente. los cuales muestran un menor IHS con el aumento de la inclusión de fibra aunque los mismos no resultaron significativos ante el análisis estadístico.

Análisis histológico

Por otra parte, a partir de los resultados obtenidos tanto de las mediciones de área celular y observaciones de alteraciones histológicas pueden hacerse distintas observaciones. En el primer muestreo, el tratamiento CC muestra el menor grado de lesiones en el tejido hepático (grado 2) y a su vez se observa el menor valor de superficie celular ($86,6\mu\text{m}^2$), estos valores son coincidentes, ya que un mayor volumen celular está relacionado con un mayor grado de patología en la

actividad metabólica del hígado (Rašković et al. 2011). Sin embargo, en la segunda instancia de muestreo, se observa un mayor volumen celular acompañado de un ligero descenso de las alteraciones a nivel histológico. En este sentido, debe tenerse en cuenta que, en los tratamientos en los cuales se observaron elevados grados de alteración, con pérdida de la arquitectura hepática y de visibilidad del contorno celular (tratamiento C1, OC y O1), las mediciones de área de hepatocitos se vieron dificultadas debido a la falta de claridad en el perímetro celular. Entendiendo esto se puede tener en cuenta un mayor margen de error en las mediciones cuando los grados de lesiones celulares son más elevados.

Por otra parte, si se observa la tendencia general de las muestras histológicas de todos los tratamientos entre la primera y segunda instancia de muestreo, se puede corroborar un claro descenso de las alteraciones en los hepatocitos con el avance del ensayo. Teniendo en cuenta que los fenómenos patológicos causados por dietas con elevado contenido de lípidos e hidratos de carbono son reversibles ante un cambio en la composición nutricional de la dieta (Caballero *et al.*, 2004), podría inferirse que dicha disminución de las lesiones pudo deberse a que la dieta que los peces recibieron durante el ensayo se ajustó a los requerimientos nutricionales de la especie en mayor medida que aquella dieta que recibieron en el criadero antes del inicio del ensayo. Si bien lo anteriormente mencionado es plausible, para confirmarse debería conocerse la composición centesimal de la dieta previa a la adquisición de los ejemplares para el ensayo.

Las mediciones de área de hepatocitos y número de núcleos por superficie no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos. Además, la alta dispersión de los datos, con un desvío estándar cercano al 40 %, sugiere una considerable variabilidad individual. En consecuencia, la adición de harina de raigrás no parece estar asociada con cambios en el área de los hepatocitos ni con alteraciones en la arquitectura hepática de las tilapias.

Hasta el momento, no se han reportado estudios que analizan esta temática en tilapias con dietas similares. No obstante, Zhonga et al. (2019) describieron en lubina negra (*Micropterus salmoides*) una estructura hepática más organizada, con núcleos centralizados y lobulillos bien definidos, en dietas con un mayor contenido de fibra dietaria, hasta un nivel de inclusión del 8,5 %.

En este estudio, al no detectarse diferencias histológicas concluyentes entre tratamientos, los resultados sugieren que la dieta suministrada no tuvo un impacto significativo en la morfología hepática. Para profundizar en el impacto de la alimentación sobre la histología y su relación con el rendimiento productivo, sería recomendable extender el análisis a otros tejidos clave, como el tejido muscular e intestinal. En particular, el intestino juega un papel central en la eficiencia de absorción de nutrientes, y modificaciones en su estructura anatómica pueden afectar directamente el aprovechamiento de la dieta y el crecimiento de los peces (Aanyu et al., 2014).

Conclusiones

Los resultados del presente estudio indican que la suplementación con harina de raigrás en los niveles de inclusión evaluados afectó negativamente el crecimiento, peso final, eficiencia proteica y conversión alimenticia de tilapias del Nilo en comparación con aquellas alimentadas con dietas comerciales sin suplemento. No obstante, los valores de IVS, IHS e IMS sugieren que estas diferencias podrían estar parcialmente explicadas por un aumento en la proporción del peso de las vísceras con respecto al peso total. Dado que la composición y distribución del peso corporal pueden influir en la rentabilidad y aprovechamiento comercial del pescado, futuras investigaciones deberían incluir una evaluación detallada del índice muscular, así como un análisis del impacto de estas dietas en la composición tisular del músculo esquelético. En este sentido, los resultados obtenidos indican que las diferencias en el peso final no necesariamente se traducen en variaciones significativas en el peso del filete ni en el rendimiento comercial. Sin embargo, para una mejor comprensión del impacto productivo de la suplementación con harina de raigrás, sería recomendable complementar estos hallazgos con análisis adicionales de calidad de carne, eficiencia digestiva y metabolismo energético.

Consideraciones finales

Dado el impacto observado de la harina de raigrás en el crecimiento y eficiencia alimenticia de las tilapias del Nilo, sería pertinente ampliar el estudio hacia la composición nutricional del filete, particularmente en términos de su contenido de lípidos y proteínas. Evaluar estos parámetros permitiría determinar si la inclusión de este insumo en la dieta afecta la calidad del producto final y su valor comercial. A partir de los resultados obtenidos, se plantean dos líneas de investigación para optimizar el desempeño zootécnico. En primer lugar, sería necesario determinar el nivel óptimo de inclusión de harina de raigrás, asegurando que no comprometa el aporte proteico mínimo requerido por la especie ni su eficiencia en la conversión alimenticia. En segundo lugar, se recomienda explorar estrategias de procesamiento del forraje, como tratamientos térmicos, fermentación o hidrólisis enzimática, con el objetivo de mejorar su digestibilidad y disponibilidad de nutrientes.

Asimismo, resulta fundamental incorporar un análisis económico que permita cuantificar el impacto de la inclusión de harina de raigrás en el costo total de la formulación del alimento, así como en el rendimiento del filete. Estos factores son determinantes en la viabilidad de un insumo alternativo en la nutrición acuícola y su posible adopción en sistemas de producción comercial. En este sentido, futuras investigaciones deberían integrar un enfoque holístico que contemple no solo el desempeño productivo y la calidad del producto final, sino también la sostenibilidad económica y ambiental de la incorporación de harina de raigrás en dietas para tilapias.

Bibliografía

- Aganga, A.A., Omphile, U.J., Thema, T., & Wilson, L.Z. (2004). Chemical composition of ryegrass (*Lolium multiflorum*) at different stages of growth and ryegrass silages with additives. *Journal of Biological Sciences*, 4(5), 645-649. Asian Network for Scientific Information.
- Aanyu, M. Ondhoro, C. Gaanda, E. Kato, D. Basiita, R. K. (2014). Intestine histology, nutrient digestibility and body composition of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed on diets with both cotton and sunflower seed cakes. *African Journal of Biotechnology*, 13 (37), 3821-3839. recuperado de: [Http://doi.org/10.5897/AAJB12.1895](http://doi.org/10.5897/AAJB12.1895)
- Argentina. Dirección nacional de acuicultura (2022) Análisis del sector acuícola argentino.MAGyP. recuperado de: https://magyp.gob.ar/sitio/areas/acuicultura/cultivos/archivos/000000_Analisis%20del%20Sector%20Acuicola%20Argentino.pdf
- Boorman, G. A., Botts, S., Bunton, T. E., Fournie, J. W., Harshbarger, J. C., Hawkins, W. E., Hinton, D. E., Jokinen, M. P., Okihiro, M. S., & Wolfe, M. J. (1997). Diagnostic criteria for degenerative, inflammatory, proliferative nonneoplastic and neoplastic liver lesions in medaka (*Oryzias latipes*): consensus of a National Toxicology Program Pathology Working Group. *Toxicologic pathology*, 25(2), 202–210. <https://doi.org/10.1177/019262339702500210>
- Boscolo, W. R., Signor, A., Feiden, A., Bombardelli, R. A., Signor, A. A., & Reidel, A.. (2005). Energia digestível para larvas de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) na fase de reversão sexual. *Revista Brasileira De Zootecnia*, 34(6), 1813–1818. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982005000600003>
- Buhler, D. Halver, J. (1961) Nutrition of Salmonoid Fishes IX. Carbohydrate requirements of chinook salmon. *The Journal of Nutrition*. Volume 74, Issue 3, Pages 307-318, ISSN 0022-3166. DOI 10.1093/jn/74.3.307
- Caballero M.J., Izquierdo M.S., Kjorsvik E., Fernandez A.J. & Rosenlund G. (2004). Histological alterations in the liver of sea bream, *Sparus aurata* L., caused by short- or long-term feeding with vegetable oils. Recovery of

normal morphology after feeding fish oil as the sole lipid source. J. Fish Dis. 27:531-541.

- Carciofi, I. Rossi, L. (2021) Acuicultura en Argentina: red de actores, procesos de producción y espacios para el agregado de valor. En búsqueda del impulso exportador para los productos acuícolas. Documentos de Trabajo del CCE N° 13. Consejo para el Cambio Estructural - Ministerio de Desarrollo Productivo de la Nación. recuperado de: https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/2021/03/dt_13_-_acuicultura.pdf
- CONABIO. (2017). Evaluación rápida de invasividad de *Oreochromis niloticus*. Sistema de información sobre especies invasoras en México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México DF.
- Espinos, F. (2020) La acuicultura como activo económico y social. Mediterráneo económico, n33, 289-307.
- FAO. (2009) *Oreochromis niloticus*. In Cultured aquatic species fact sheets. Text by Rakocy, J. E. Edited and compiled by Valerio Crespi and Michael New. CD-ROM (multilingual).
- FAO. (2024). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2024. La transformación azul en acción. Roma. <https://doi.org/10.4060/cd0683es>
- FEDNA (s/d) Rye grass verde. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. Consultado en agosto 2024. extraído de: <https://www.fundacionfedna.org/forrajes/rye-grass-verde>
- Forouhar Vajargah, M. (2021). A review of the physiology and biology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture Research. 10. 244-246. 10.15406/jamb.2021.10.00328.
- Furuya WM. (2010). Tabelas Brasileiras para a nutrição de tilapias, Gráfica Editora, Toledo, p 100.
- Garcia, J. E., Pezzato, L. E., Zaniboni Filho, E., & Vicentini, C. A. (2008). Utilização da fibra bruta na nutrição da piracanjuba (*Brycon orbignyanus*). *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 21, 725-731. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v21i0.4337>
- Hayashi C, Boscolo WR, Soares CM, Meurer F. (2002) Exigência de Proteína Digestível para Larvas de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), durante a Reversão Sexual. R Bras Zootec.; 31(2):823-82.

- Jover, M. Martínez-Llorens, S. Tomás-Vidal, A. Pérez, L. (2003) Propuesta metodológica para el diseño de instalaciones piscícolas. AquaTIC: revista electrónica de acuicultura, ISSN 1578-4541, N°. 19, pags. 17-26.
- Kaneshima Gonzalez, K. De La Cruz Barrueto, K. Ponciano Quezada, M. Toledo Meza, N. Malpica, Z. (2022). Efecto de la temperatura en el crecimiento de juveniles de *Oreochromis niloticus* tilapia en un sistema de recambio acuícola (RAS). *Manglar*, 19(1), 39-44. Epub 15 de marzo de 2022. <https://doi.org/10.17268/manglar.2022.005>
- Kloster, A. M., Amigone, M. A., Latimori, N. J., Garis, M. H., & Navarro, C. (2007). Utilización de raigrás anual con alta eficiencia de transformación en carne. *Génesis*, 20(62), 27-29.
- Lanna E.A., Pezzato, L.U., Furuya, W.M., Vicentini, C.A., Cecon, P.R. y M.M. Barros. 2004. Fibra Bruta de Óleo em Dietas Práticas para Alevinos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*. 33 (6): 2177-2185.
- Lima, C.T.; Santos, T.M.; Neves, N.A.; Lavado-Cruz, A.; Paucar-Menacho, L.M.; Clerici, M.T.P.S.; Meza, S.L.R.; Schmieie, M. (2023) New Breakfast Cereal Developed with Sprouted Whole Ryegrass Flour: Evaluation of Technological and Nutritional Parameters. *Foods*, 12, 3902.
- López-Cepeda, José, Garrido, Nicolás, Núñez, Hipólito, Vilaxa-Olcay, Arnaldo. (2020). Descripción Morfológica e Histológica del Tejido Hepático de *Gambusia holbrooki* (Pisces: Poeciliidae) que Habita en la Provincia de Arica - Chile. *International Journal of Morphology*, 38(3), 645-649. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022020000300645>
- Luchini, L. (2004) Perspectivas en acuicultura: nivel mundial, regional y local. Argentina. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos (SAGPyA), Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, Dirección de Acuicultura.
- Meyer, D. Meyer, S. (2007) Reproducción y cría de alevines de tilapia, manual práctico. Publicación del ACRSP. Tegucigalpa. Honduras. Recuperado de: <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/18c3ce8b-2558-4d84-bb9d-cb203468e8a0/content>

- National Research Council, NRC. (1993) Nutrient requirements of warm water fishes and shellfishes. Washington, D.C., National Academy Press, 102p.
- Nejedli, S. Tlak Gajger, I. (2013). Hepatopancreas in some sea fish from different species and the structure of the liver in teleost fish, common pandora, *Pagellus erythrinus* (Linnaeus, 1758) and whiting, *Merlangius merlangus euxinus* (Nordmann, 1840). *Veterinary Archives*. 83. 441-452.
- Nunes, R. de C., Bustamante, F. de O., Techio, V. H., & Mittelman, A. (2012). *Morphology and pollen viability of Lolium multiflorum Lam. Ciência e Agrotecnologia*, 36(2), 180–188. doi:10.1590/s1413-70542012000200006
- Pineda Santis, H. R., Zuluaga Sepulveda, C. A., & Vertel Betancur, D. A. (2012). Evaluación de la morfometría y del hábito alimenticio en tilapia roja *Oreochromis sp.* y tilapia nilótica *Oreochromis niloticus* var. Chitralada bajo diferentes condiciones de manejo en dos granjas piscícolas del occidente antioqueño. *Revista Politécnica*, 8(14), 97-104.
- Rašković B.S., Stanković M.B., Marković Z.Z. & Poleksić V.D. (2011) Histological methods in the assessment of different feed effects on liver and intestine of fish. *J. Agricult. Sci.* 56(1):87-100.
- Rezende, S. B. (2019). Caracterização do teste de escolha alimentar e desempenho zootécnico da tilápia-do-Nilo em dietas com adição de prebiótico e probiótico [Dissertação de mestrado, Universidade Estadual do Oeste do Paraná]. Unioeste.
- Saavedra Martinez, M. (2006) Manejo del cultivo de tilapia. Universidad Agrícola, repositorio virtual. Managua, Nicaragua. Recuperado de: <https://universidadagricola.com/wp-content/uploads/2018/05/MANEJO-DEL-CULTIVO-DE-TILAPIA.pdf>
- Sanz, F. (2002.). La alimentación en piscicultura. TROUW ESPAÑA S.A. Cojobar - 09620 Burgos. recuperado de: https://www.produccion-animal.com.ar/produccion_peces/piscicultura/49-alimentacion.pdf
- Sarmiento, J. Niembro, A. Civitaresi, M. (2019) La producción piscícola en Patagonia Norte: Un primer análisis a partir del enfoque de cadenas de valor *Revista Pilquen - Sección Ciencias Sociales*, vol. 22, núm. 1. recuperado de: <https://www.redalyc.org/journal/3475/347562676002/347562676002.pdf>

- Sierra, E. M. Espinosa de los Monteros, A. Real, F. Herráez, P. Castro, P. Fernández, A. (2003) Histología y patología de los peces. Parte 1: Biología y necropsia de los peces. Revista canaria de las ciencias veterinarias. N°1. p44-510280574_00001_0007.pdf
- Tocher, D. R. (2003). *Metabolism and Functions of Lipids and Fatty Acids in Teleost Fish. Reviews in Fisheries Science*, 11(2), 107–184. doi:10.1080/713610925
- TORRES, R. G. A.; GONZÁLEZ, P. S. & PEÑA, S. E. (2010) Descripción anatómica, histológica y ultraestructural de la branquia e hígado de tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Int. J. Morphol.*, 28(3):703-712.
- Torres - Novoa, D. M., y Hurtado - Nery, V. L. (2012). Requerimientos nutricionales para Tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Orinoquia*, 16(1), 63–68. <https://doi.org/10.22579/20112629.266>
- Triana García, Pedro A, Gutierrez-Espinosa, Mariana C, Eslava-Mocha, Pedro R. (2013). Rendimiento productivo e hígado graso en tilapia híbrida (*Oreochromis* spp): Influencia de dos fuentes de lípidos. *ORINOQUIA*, 17(2), 183-196. Retrieved August 05, 2024, from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-3709201300200005&lng=en&tlng=es. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-37092013000200005&lng=en&tlng=es.
- Vicentini, C. A., Franceschini-Vicentini, I. B., Bombonato, M. T. S., Bertolucci, B., Lima, S. G., & Santos, A. S. (2005). Morphological Study of the Liver in the Teleost *Oreochromis niloticus*. *International Journal of Morphology*, 23(3), 211-216. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022005000300003>.
- Wolf J, Wolfe M. (2005) A Brief Overview of Nonneoplastic Hepatic Toxicity in Fish. *Toxicol Pathol.* 33:75-85.
- Yong, W.-Y., Takeuchi, T., & Watanabe, T. (1989). *Relationship between digestible energy contents and optimum energy to protein ratio in Oreochromis niloticus diet. NIPPON SUISAN GAKKAISHI*, 55(5), 869–873. doi:10.2331/suisan.55.869
- Zanoni, M.A. (1996) Níveis de fibra bruta em dietas de crescimento do pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Florianópolis, (Master's Thesis in Aquaculture) - Universidade Federal de Santa Catarina.

Zhonga, Y.-F., Shia, C.-M., Zhoua, Y.-L., Chena, Y.-J., Lina, S.-M., & Tang, R.-J. (2019). Optimum dietary fiber level could improve growth, plasma biochemical indexes and liver function of largemouth bass, *Micropterus salmoides*. *Aquaculture*. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734661>