

CRECIMIENTO DE TILAPIAS ROJAS *Oreochromis mossambicus* x *O. niloticus* CON DIETAS SEMI-HÚMEDAS A BASE DE ENSILADOS DE RESIDUOS PESQUEROS

(Growth of red tilapias *oreochromis mossambicus* x *o. Niloticus* with semi-humid diets from fish waste silages)

José E. Llanes Iglesias¹, José Toledo Pérez¹, Lourdes Savón Valdés², Odilia Gutiérrez Borroto²

¹ Empresa Desarrollo Tecnologías Acuícolas. Carretera Central Km 20 ½. Loma de Tierra. Cotorro. La Habana. Cuba. jose@edta.alinet.cu

² Instituto Ciencia Animal. Apartado postal 24, San José de las Lajas Mayabeque. Cuba.

RESUMEN

Se determinó la composición físico-química y microbiológica, así como la digestibilidad *in vivo* de los ensilados químicos y biológicos de residuos pesqueros y su efecto al sustituir la harina de pescado en dietas semi-húmedas para tilapias rojas *Oreochromis mossambicus* x *O. niloticus*. Los experimentos se realizaron según diseños completamente aleatorizados con tres repeticiones. Los ensilajes presentaron valores de pH menores a 4.3, con incrementos del nitrógeno no proteico y la licuación durante 30 días de almacenamiento. La composición química mostró altos contenidos de proteína bruta (hasta 43 g/100 g materia seca) con una calidad acorde a los requerimientos de la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) y altos tenores de grasa (hasta 22 g/100 g materia seca), con mayor proporción de ácidos grasos insaturados (60,0 %) que aportaron 16,8% de ácido linoleico. No obstante, los valores de peróxidos fueron bajos e indicaron una menor oxidación en los residuos fermentados. Se verificó la buena calidad microbiológica de los ensilajes cuando se almacenan por 30 días a temperatura ambiente. La digestibilidad *in vivo* de los ensilajes reveló que la proteína digestible fue mayor para el químico, mientras la materia seca, calcio y fósforo lo fue para el biológico. Las dietas semi-húmedas presentaron satisfactoria estabilidad física en el agua y altas digestibilidades (mayor que 80%) de la proteína y energía, no afectando los indicadores productivos en comparación a los peces que recibieron alimento con harina de pescado.

Palabras clave: Dieta semi-húmeda, ensilado de pescado, tilapia.

ABSTRACT

The chemical-physical and microbiological composition, as well as the *in vivo* digestibility of

chemical and biological silages made of fish wastes were determined and their effect when substituting fish meal in semi-humid diets for red tilapias *Oreochromis mossambicus* x *O. niloticus*. The experiments were carried out according to totally randomized designs with three repetitions. The silages presented pH values smaller than 4.3 with increase of the non-protein nitrogen and liquation during 30 days of storage. The chemical composition showed high contents of crude protein (up to 43 g /100 g dry matter) with an appropriate quality for the requirements of the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), and high tenors of fat (up to 22 g/100 g dry matter) with a higher proportion of unsaturated fatty acids (60.0 %) that contributed 16.8 % of linoleic acid. Nevertheless, the values of peroxides were low and they indicated a smaller oxidation in the fermented residuals. The good microbiological quality of the silages was verified when they are stored for 30 days at room temperature. The *in vivo* digestibility revealed that the digestible protein was higher for the chemical silage, whereas dry matter, calcium and phosphorus were higher for the biological one. The semi-humid diets presented satisfactory physical stability in water, high digestibility (> 80 %) of the protein and energy, not affecting the productive indicators in comparison with those of fish that received food with fish meal.

Key words: Semi-humid diet, fish silage, tilapia.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de tilapias rojas es de interés en Cuba para suplir la demanda de los mercados nacionales y la exportación, pero a pesar de los esfuerzos que se realizan no se han logrado las producciones estimadas, debido a los altos precios (\$ 2 000.0 USD/t)¹ y los pocos ingredientes suplentes de la

harina de pescado (HP), principal fuente de proteína en las dietas de los organismos acuáticos. Además de las limitaciones en la producción de granos y cereales y no disponer de los medios financieros para sustentar la adquisición en el exterior de estos alimentos.

Una alternativa para compensar estas limitaciones puede ser la utilización de los residuos pesqueros procesados con técnicas sencillas como el ensilaje, dado que no se justifica una planta harinera por la poca disponibilidad de desechos que se generan diariamente en el país. Esto permitiría sustituir la HP y aumentar la disponibilidad de alimentos *in situ* y elevar la producción de esta especie con recursos propios.

Numerosos trabajos^{2,3,4} en especies omnívoras como el bagre africano (*Clarias gariepinus*), pacú (*Piaractus mesopotamicus*) y carpa común (*Cyprinus carpio*) revelaron el buen comportamiento productivo y económico al utilizar dietas a base de ensilados de residuos pesqueros (EP).

Los objetivos de este trabajo fueron determinar la composición físico-química y microbiológica, así como la digestibilidad *in vivo* de los ensilados químicos y biológicos de residuos pesqueros y su efecto al sustituir totalmente la harina de pescado en dietas semi-húmedas en tilapias rojas *Oreochromis mossambicus* x *O. niloticus*.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en la Planta de Alimentos no convencionales (Fotografía 1) de la Empresa Desarrollo de Tecnologías Acuícolas en la Habana, Cuba. Se utilizaron desechos del fileteado de tilapias que se molieron en un molino de carne de calibre 32 (JAVAR, Colombia) a un tamaño de 1 cm. El ensilaje químico (EQ) se preparó con ácido sulfúrico 98 % (20 ml/kg) y ácido fórmico (10 ml/kg) y el ensilaje biológico (EBL) con miel final (150 g/kg) y yogurt comercial (30 g/kg) como medio de cultivo para las bacterias ácido lácticas (*Lactobacillus acidophilus*)⁵. Ambos ensilados se triplicaron y se almacenaron en recipientes



Fotografía 1. Sala de proceso de la Planta de alimentos no convencionales

plásticos de 10 l con tapas a temperatura ambiente durante 30 días, donde se midieron los valores de pH con un potenciómetro digital (HANNA,

TABLA I. COMPOSICIÓN DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES (g/100 g)

Ingredientes	D1 Control	D2 Ensilado químico	D3 Ensilado biológico
Harina de pescado	15	10,42	10,42
Harina de soya	45	31,22	31,22
Harina de trigo	32,75	22,72	22,72
Aceite de soya	2	1,39	1039
Fosfato dicálcico	2	1,39	1,39
Cloruro de sodio	0,25	0,17	0,17
Carboximetil celulosa	1	0,69	0.69
Mezcla vit- mineral	1	1	1
Oxido crómico III	1	1	1
Ensilado químico	-	30	-
Ensilado biológico	-	-	30
Materia seca	91,21	90,26	91,53
Proteína bruta	33,52	35,10	33,55
Energía bruta (MJ/kg)	16,91	17,74	17,99

Rumania), el nitrógeno no proteico por la metodología de Backhoff, H., *et al*⁶ y la licuación por los procedimientos descritos por los autores⁷. Al final, se tomaron muestras de cada silo para las determinaciones de bromatología, perfil de aminoácidos, ácidos grasos, identificación y calidad de los aceites y análisis microbiológicos.

Digestibilidad *in vivo* de los ensilajes de pescado

Se formularon tres dietas balanceadas: Una control (D1) similar a la que utilizó Köprücü, K, *et al*⁸ en tilapias del Nilo (*Oreochromis niloticus*) y dos experimentales (D2 y D3) con cada EP (Tabla I). El óxido crómico se añadió en una proporción de 10 g/kg de alimento y los EP para el experimento se secaron en una estufa a 60 °C durante 48 h.

Un total de 270 tilapias rojas *O. mossambicus* x *O. niloticus* de 45,43 ± 8,35 g de peso promedio, se distribuyeron según modelo de clasificación simple con tres repeticiones, en nueve piscinas



Fotografía 2. Preparación de las dietas semi-húmedas

rectangulares de cemento de 700 l de agua (30 animales/piscina). Los animales tuvieron una semana de adaptación a las dietas experimental y posteriormente se comenzó la recolección de las heces fecales minuciosamente por medio de un sifón durante 6 días. Se recogieron antes de proceder a cada alimentación y se secaron (estufa a 60°C) y molieron para su posterior análisis químico.

Los valores de digestibilidad aparente (DA) de los nutrientes de los ensilajes se calcularon con las siguientes ecuaciones:

$$DA_{\text{total}} (\%) = (DA_{\text{test}} - 0,7) \times DA_{\text{control}} / 0,3.$$

$$DA_{\text{nutriente}} (\%) = (DA_{\text{test}} \times \text{Nutriente}_{\text{test}} - (DA_{\text{control}} \times \text{Nutriente}_{\text{control}} \times 0,7)) / (0,3 \times \text{Nutriente}_{\text{ingrediente}}).$$

Bioensayo de crecimiento con las dietas semi-húmedas a base de ensilaje de pescado

Se utilizó como control un alimento comercial para tilapias. Las dietas semi-húmedas se prepararon con 40 % de ensilado (de forma húmeda) y 60% de pienso vegetal y se pelletizaron en el molino de carne a 2 mm de diámetro (Fotografía 2), almacenándose a -10°C en recipientes plásticos con tapas. La composición de las dietas se muestra en la Tabla II. La estabilidad física de las dietas

TABLA II. COMPOSICIÓN PORCENTUAL Y QUÍMICA DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES (g/100 g)

Ingredientes	Pienso vegetal	Dieta Control	Dieta (ensilado químico)	Dieta (ensilado biológico)
Harina de pescado	-	20	-	-
Ensilado químico	-	-	40	-
Ensilado biológico	-	-	-	40
Harina de soya	58,33	40	-	-
Harina de maíz	11,25	10	-	-
Salvado de Trigo	24,84	21,75	-	-
Aceite de soya	1,00	3	-	-
Mezcla Vitam-mineral	1,66	1	-	-
Sal común	0,42	0,25	-	-
Fosfato dicálcico	2,5	2	-	-
Carboximetil celulosa	.	2	-	-
Pienso vegetal	-	-	60	60
Materia seca	88,1	91,9	64,4	65,1
Proteína bruta	31,1	35,3	23,6	22,7
Energía bruta (MJ/Kg)	16,2	17,4	11,9	12,1

semi-húmedas se determinó por la pérdida de materia seca (PMS) y lixiviación de la proteína total (LPT) conforme a la metodología de ⁹. La PMS se calculó por la diferencia de porcentaje del peso seco de la muestra después de la inmersión en el agua y se expresó como % PMS y la lixiviación de la proteína total (LPT) se expresó como porcentaje remanente básico, según la expresión:

$LPT (\% \text{ remanente}) = (g \text{ proteína remanente} / g \text{ pellets remanente}) / (g \text{ proteína nutriente} / g \text{ pellets inicial}) \times 100$.

La digestibilidad *in vivo* se realizó adicionando 1 % de óxido crómico como marcador y se siguió el mismo procedimiento del bioensayo anterior. Los valores de digestibilidad aparente (DA) de los nutrientes de las dietas se calcularon con la siguiente ecuación:

$DA_{\text{nutriente}} (\%) = 100 - 100 \times (\text{Nutriente heces} / \text{Nutriente dieta} \times Cr_2O_3 \text{ dieta} / Cr_2O_3 \text{ heces})$.

Para el ensayo de crecimiento se utilizaron 270 alevines revertidos (todos machos) de tilapias rojas (*O. niloticus* x *O. mossambicus*) de $6,00 \pm 0,01$ g de peso promedio que se distribuyeron al azar en nueve piscinas rectangulares de cemento de 700 l (tres por tratamiento). El flujo de agua en las piscinas se estandarizó a 1.2 l/min durante las 24 h y diariamente se midieron el oxígeno disuelto y la temperatura con un oxímetro digital (HANNA, Rumania). Los alimentos se ofrecieron en dos raciones diarias (9:30 y 16:30 h) durante 60 días, ajustándose la cantidad de alimento cada 15 días.

Dadas las diferencias de proteína digestible entre

las dietas experimentales, la tasa de adición de alimento (Tabla III) se calculó en función del alimento a ingerir con los requerimientos de gramos de proteína digestible (PD)/100 g de peso vivo (PV) para tilapias¹⁰.

La tasa de adición de alimento/día se determinó por la siguiente fórmula:

$Tasa \text{ de adición de alimento/día} = \text{Requerimiento (g PD/100 g PV)} / (\% \text{ PD de la dieta}) \times 10^2$

Proteína digestible (PD) = Proteína bruta (PB) de la dieta x Digestibilidad/100.

Al final del bioensayo se realizó un pesaje individual a todos los animales para el cálculo de los siguientes indicadores nutricionales: Tasa de crecimiento específica (TCE) = $100 \times (\ln \text{ Peso final, PF} - \ln \text{ Peso inicial, PI}) / \text{días de cultivo}$; Incremento de peso diario (IPD) = $PF - PI / \text{días de cultivo}$; Factor de Conversión del Alimento (FCA) = $\text{Alimento añadido} / \text{Ganancia en peso}$; Supervivencia = $\text{Número de peces finales} / \text{Número de peces iniciales} \times 100$; Tasa de eficiencia proteica (TEP) = $\text{Ganancia en peso} / \text{Proteína adicionada}$; Eficiencia de retención de proteína (ERP, %) = $(PB \text{ corporal final} \times PF) - (PB \text{ corporal inicial} \times PI) / PB \text{ adicionada}$; Porcentaje de proteína en ganancia de peso (PGP, %) = $(PB \text{ corporal final} \times PF) - (PB \text{ corporal inicial} \times PI) / PF - PI$.

Además, se tomaron al azar 12 animales al inicio del bioensayo y 4 por piscina (12 por tratamiento) al final, los que se anestesiaron con benzocaína y se les extrajo sangre para la determinación de hematocrito (Hc) por la técnica de micro hematocrito y el nivel de hemoglobina (Hb) por el método de cianometahemoglobina¹¹.

TABLA III. PORCENTAJES DE ADICIÓN DE ALIMENTOS UTILIZADOS DURANTE EL PERIODO EXPERIMENTAL

Peso (g)	Requerimientos (g proteína digestible /100g peso vivo)	Dieta control	Dieta (ensilado químico)	Dieta (ensilado biológico)
5	1,72	5,56	8,09	8,67
10	1,54	5,00	7,24	7,76
15	1,40	4,53	6,58	7,35
20	1,35	4,36	6,35	6,80

Análisis químicos

La composición química proximal de las muestras de ensilajes, dietas, heces y las determinaciones de cromo se hicieron de acuerdo a los procedimientos de la AOAC¹². El perfil de aminoácidos se obtuvo por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con una columna de intercambio iónico de sodio y derivatización post-columna con ninhidrina en un detector UV visible según la norma 994.12 de la AOAC¹². Para cuantificar los aminoácidos, las muestras se hidrolizaron con ácido clorhídrico 6 N, por 22 h a 110 °C, según el método descrito por los autores¹³. Para el triptófano, las muestras se hidrolizaron con hidróxido de litio 4N, según la metodología descrita por Lucas, B *et al.*¹⁴. Los ácidos grasos (AG) se determinaron en un cromatógrafo de gases Hewlett Packard modelo HP6890 GC System, equipado con un detector FID y una columna SP2380, con helio como gas transportador, después de la esterificación en metanol / ácido sulfúrico¹⁵.

El valor peróxido se determinó iodométricamente por la técnica 965,33, el contenido de ácidos grasos libres se expresó en porcentaje de ácido oleico y se determinó por la técnica 940,28, el índice de Iodo por la 920,159 y el índice de saponificación por la 920,160 según los procedimientos de la AOAC¹².

Análisis microbiológicos

Se determinaron bacterias mesófilos aeróbicos¹⁶, Coliformes totales y fecales¹⁷, la detección de *Salmonella* spp. se realizó mediante la metodología descrita en las normas ISO¹⁸ y la determinación de hongos¹⁹.

El procesamiento de los datos se realizó mediante análisis de varianza con verificación previa de homocedasticidad. Cuando fue necesario se determinaron las diferencias entre medias a través de pruebas *a posteriori* de Duncan. Se utilizó para los análisis estadísticos el sistema de cómputo de datos INFOSTAT versión 1²⁰.

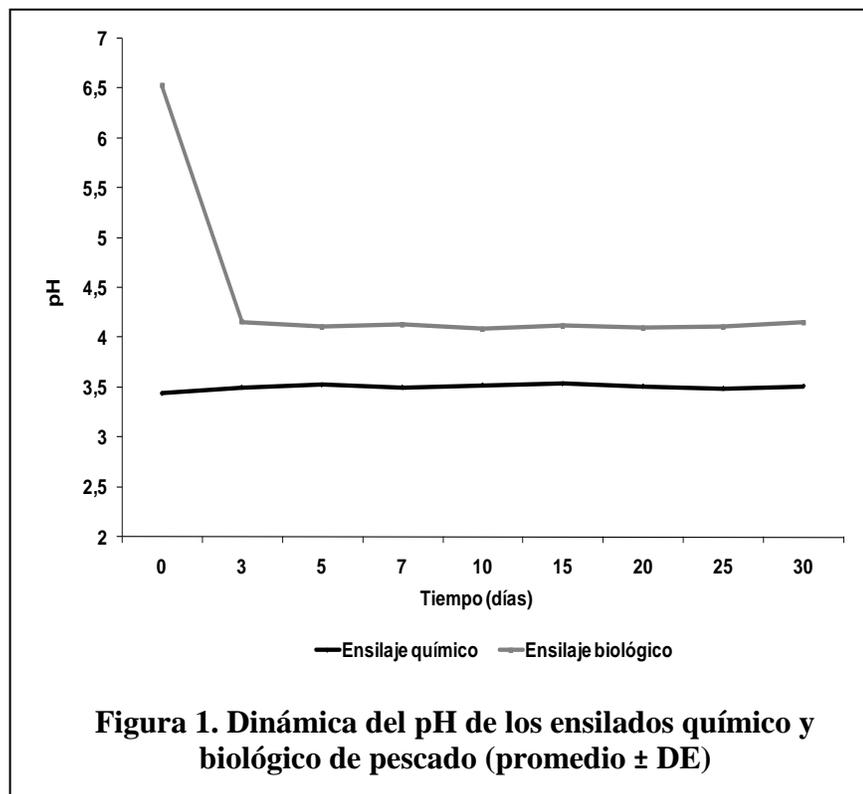


Figura 1. Dinámica del pH de los ensilados químico y biológico de pescado (promedio ± DE)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores de pH de los ensilados durante los 30 días (Fig. 1) variaron de 4,10 a 4,16 para el EBL y de 2,73 a 3,01 para el EQ, los cuales fueron satisfactorios para la conservación de los residuos de pescados⁵.

Las determinaciones de nitrógeno no proteico, NNP (Fig. 2) mostraron un incremento para ambos EP como lo describieron²¹; lo que resultó más alto en el EQ por la adición directa de los ácidos que puede destruir parte de la proteína^{22,23}, mientras que en el EBL puede influir la adsorción de las enzimas y proteínas por la miel, la cual impide su interacción²⁴.

De igual forma, la licuación (Fig. 3) reveló un incremento en el tiempo. Los cambios de consistencia incrementan a la par de los cambios de nitrógeno no proteico debido a que la acidez del medio favorece la actividad proteolítica de las enzimas endógenas del pescado (pepsina, tripsina) las que actúan sobre las proteínas del tejido muscular y producen cambios en la solubilidad de las proteínas y consistencia del producto²¹.

Los resultados de la composición química de los EP (Tabla IV) arrojaron que los procesos de acidificación y fermentación láctica hicieron variar los valores porcentuales de nutrientes respecto a la materia prima (MP), resultados que coinciden con diversos autores^{4,22}. Esta variación se debe a la adición de los diferentes ingredientes en la formulación. La fermentación redujo los contenidos de proteína y grasa por la adición de miel final (fuente rica en carbohidratos) y yogurt, lo cual diluyó las concentraciones de estos nutrientes en el producto final. Por otro lado, la disminución de proteína en el EQ fue consecuencia de la hidrólisis y los efectos autolíticos en la degradación de las proteínas y nucleoproteínas que se transforman en componentes más simples como amonio que se volatiliza²².

Diversos trabajos^{4, 22, 23} informaron diferencias en la composición química de varios EP, los que a su vez discrepan de este trabajo. Estas divergencias se relacionan con la composición química de las MP que pueden variar con la especie, sexo, época de captura, alimentación, estado reproductivo e inclusive de acuerdo al tipo de corte industrial en el procesamiento²⁴.

La composición de aminoácidos de los residuos frescos y los ensilados (Tabla V) mostró la buena calidad proteica respecto a las exigencias de aminoácidos esenciales²⁵ para la Tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*).

De los aminoácidos esenciales, el EBL presentó las mayores concentraciones (> 6g/100 g PB) de lisina, valina y leucina, mientras que en el EQ fueron de lisina,

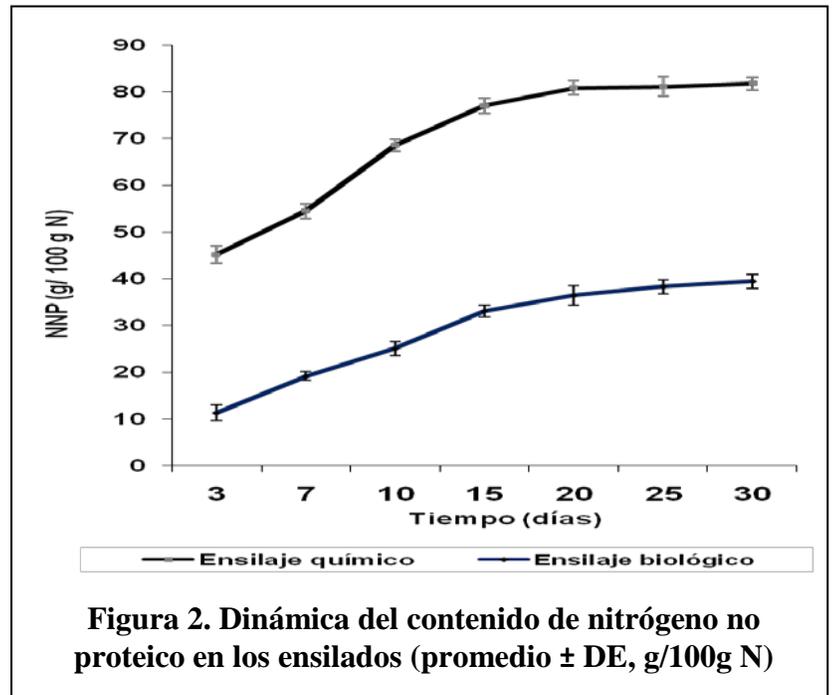


Figura 2. Dinámica del contenido de nitrógeno no proteico en los ensilados (promedio \pm DE, g/100g N)

arginina y leucina (Tabla V). Ningún EP satisfizo completamente los requerimientos de triptófano. Estos resultados coinciden con otros autores al ensilar residuos de tilapias^{22,24}. En el caso del triptófano, se consideró un aminoácido lábil en condiciones ácidas²⁴.

Por otro lado, los EP presentaron todos los AG prevalentes en la MP y muestran la buena

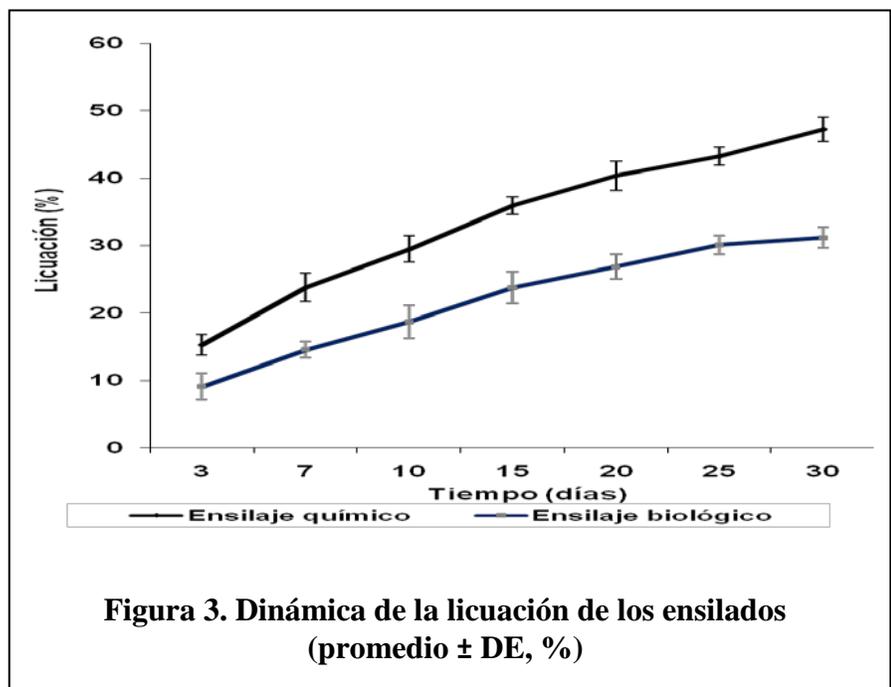


Figura 3. Dinámica de la licuación de los ensilados (promedio \pm DE, %)

calidad de la fracción lipídica aunado por las altas concentraciones de AG insaturados (60%), importantes en la nutrición de peces (Tabla VI).

En cuanto a las altas concentraciones de AG de la serie ω -6, se puede relacionar con la composición de las dietas de las tilapias que contienen ingredientes derivados de oleaginosas (harina y aceite de soya), ricos en este ácido graso. La importancia de los ω -6 para la tilapia se estudió²⁵, pero aún está por determinar la de los ácidos grasos ω -3 en la dieta de estos peces. Un trabajo anterior²⁶ evidenció que las tilapias del Nilo tienen requerimientos de ambos, aunque los ω -6 parecieron tener mejor efecto promotor del crecimiento que los ω -3.

El yodo y la saponificación de la fracción lipídica (Tabla VII) tuvieron composiciones afines para ambos EP dado que se utilizó la misma MP y no hubo influencia de las metodologías de ensilado. Los valores encontrados son característicos de peces de agua dulce y coinciden con los informados por los autores²⁷ en aceites extraídos de ensilados de residuos de tilapias (880 mg/g de Iodo y 197 mg KOH/g de saponificación).

Los índices de calidad como ácidos grasos libres (AGL) y peróxido variaron en función del procesamiento (Tabla VII). Los residuos fermentados sufrieron un proceso hidrolítico más intenso que resultó con un mayor contenido de AGL y se puede relacionar con una ruptura más efectiva de las cadenas de triglicéridos por la acción de los microorganismos del medio que libera grandes cantidades de AG que están dispersos en toda la fracción lipídica. Por su parte, los acidificados (EQ), a pesar que hubo una mayor ruptura de las estructuras celulares y micelas lipídicas por la adición directa de los ácidos, los triglicéridos se preservaron mejor por el bajo valor del pH.

Se conoce que los aceites de pescado de buena calidad deben tener valores de peróxidos menores que 10 meqO₂/kg de aceite. De ahí que los valores que se encontraron en este trabajo fueron

TABLA IV. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LOS RESIDUOS Y LOS ENSILAJES (g/100 g MATERIA SECA)

Indicadores	Residuos frescos	Ensilado químico	Ensilado biológico	EE(±) Niv. sig
Materia seca	34,2 ^a	30,0 ^b	32,0 ^b	0,77**
Proteína bruta	45,9 ^a	43,3 ^b	36,7 ^c	0,26***
Extracto etéreo	21,6 ^a	22,1 ^a	18,6 ^b	0,30**
Cenizas	21,1 ^c	24,5 ^a	23,1 ^b	0,55**
Calcio	7,1	6,4	6,3	0,20
Fósforo	4,4 ^a	4,1 ^{ab}	3,5 ^b	0,17*

Letras diferentes en la misma fila, difieren estadísticamente para P<0,05
***P<0,001 **P<0,01 *P<0,05

satisfactorios y se puede atribuir a que las grasas en los EP están inmersas en el agua y por tanto se reduce el contacto con el oxígeno del aire. Las diferencias significativas que se encontraron (P<0,01) entre los EP evidencia que las condiciones de anaerobiosis del medio (EBL) retardan el proceso oxidativo de los AG poliinsaturados.

TABLA V. COMPOSICIÓN DE LOS AMINOÁCIDOS EN LOS ENSILAJES DE RESIDUOS DE TILAPIAS (g/100 g PB) Y LOS REQUERIMIENTOS EXIGIDOS POR LA NRC (1993) PARA TILAPIA DEL NILO

Aminoácidos	Ensilado químico	Ensilado biológico	tilapias*
Lisina	7,69	6,98	5,12
Triptófano	0,58	0,72	1,00
Histidina	2,60	2,53	1,72
Arginina	7,81	4,67	4,20
Valina	5,61	6,14	2,80
Metionina	3,92	4,76	2,68
Isoleucina	4,86	4,61	3,11
Leucina	6,35	7,36	3,39
Treonina	4,28	3,92	3,75
Fenilalanina	3,65	3,44	3,75

* Exigencias de aminoácidos esenciales establecidas para Tilapia del Nilo por la NRC (1993)

Se encontró que los conteos de bacterias mesófilas aerobias en la MP (Tabla VIII) coincidieron con los recuentos (6,0 y 7,0 Log UFC/g) reportados por otros autores²⁸ en residuos del fileteado y eviscerados de diferentes pescados cultivados en agua dulce. En cuanto a los EP, este indicador disminuyó en el EQ aunque presentó mayor carga para el EBL lo que se puede atribuir a la incorporación del inóculo. Los *Lactobacillus* sp son microorganismos aerotolerantes y pueden vivir en condiciones microaerófilas, las cuales fueron propicias en el ensilado biológico debido a la textura del pescado molido que no se puede pisonear para crear condiciones estrictas de anaerobiosis al inicio de la fermentación.

Los límites microbiológicos que estableció la Comisión Internacional de Microbiología de los Alimentos²⁹ para pescado crudo, fresco y congelado están entre 5,69 y 7,00 Log UFC/g para mesófilos aerobios y de 4 a 400 NMP/g para coliformes totales y fecales, lo que indica que los EP están dentro de los límites exigidos y por lo tanto están aptos para el consumo animal.

Las digestibilidades aparentes de los EQ y EBL (Tabla IX), que se obtuvieron por el método de recolección de heces a través de sifón y óxido crómico fue de forma general satisfactoria respecto a otros reportes que se consultaron. El EBL presentó menor digestibilidad ($P < 0,01$) de la proteína respecto al EQ y se puede relacionar con el aumento de los contenidos de bases volátiles totales como resultado de la desaminación oxidativa de los aminoácidos libres, componentes del "pool" de nitrógeno no proteico. Esto es debido a un número de bacterias que causan su reducción y al mismo

TABLA VI. COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS (g/100g DE GRASA) DE LOS RESIDUOS DE TILAPIAS Y SUS ENSILAJES

Nombre	Fórmula	Residuos frescos	Ensilado químico	Ensilado biológico
Acido mirístico	C14:0	3,32	3,56	3,26
Acido n-pentadecanoico	C15:0	0,66	0,59	0,51
Acido palmítico	C16:0	26,52	29,19	25,53
Acido palmitoleico	C16:1	8,46	8,94	8,42
Acido margárico	C17:0	0,72	0,56	0,90
Acido esteárico	C18:0	5,93	7,01	5,82
Acido oleico	C18:1 (n-9)	31,15	28,96	31,49
Acido linoleico	C18:2 (n-6)	15,20	16,32	17,38
α Acido linolénico	C18:3 (n-3)	2,11	2,12	2,76
Acido linolénico	C18:3 (n-6)	0,62	0,71	0,80
Acido araquídico	C20:0	1,12	1,30	0,98
Acido di-homolinolenico	C20:3 (n-3)	0,58	0,24	0,79
Acido eicosapentanoico	C20:5 (n-3)	<0,01	<0,01	<0,01
Acido docosahexaenoico	C22:6 (n-3)	0,26	0,12	0,23
Ácidos grasos saturados	-	38,27	42,21	37,00
Ácidos grasos insaturados	-	58,39	57,42	62,63

Los valores presentados corresponden a una muestra/ingrediente

tiempo generan amonio; lo que puede traer consecuencias negativas en el valor nutricional de este tipo de ensilaje³⁰. No obstante, los valores para ambos EP están dentro del intervalo (75 a 95%) que se consignaron para ingredientes ricos en proteínas.⁸

Por otra parte, la digestibilidad aparente de las grasas (Tabla IX) no mostró diferencias entre los ensilados ($P > 0,05$) y se encontraron valores similares a los que se reportaron en las harinas de pescado, soya, gluten de maíz, gammarido y exoesqueleto de cangrejo (72 a 97%) en tilapias del Nilo⁸.

Por otro lado, la digestibilidad de la energía (Tabla IX) tampoco difirió entre los EP y los valores fueron próximos a los reportados para tilapias del Nilo y bagres africanos³¹. Estos resultados pueden

atribuirse a las altas concentraciones de ácidos grasos insaturados del aceite de los ensilajes que son mejor absorbidos que los saturados.

La digestibilidad del fósforo (Tabla IX) fue superior a los obtenidos en harinas de anchoveta (27,8%), gluten de maíz (28.2%), soya (30,1%) para Tilapia del Nilo⁸. Referente a esto, varios autores³² opinaron que la acidificación dietética para especies gástricas es efectiva ya que incrementa la disponibilidad de minerales en los huesos de peces y HP. De ahí que los EP pueden ser fuentes de minerales dietéticas que permiten sustituir suplementos inorgánicos como fosfatos mono y di cálcico.

La estabilidad física de las dietas semi-húmedas (Tabla X) mostró una menor pérdida porcentual de materia seca ($P<0,001$) para la dieta control, debido a la inclusión de aglutinantes y los procesos industriales (compresión, calentamiento y adhesión) en la fabricación de los pellets comerciales versus la pelletización en un molino de carne y los altos porcentajes de humedad de las dietas con EP.

De hecho, se encontró menor lixiviación de la proteína ($P<0,01$) para el control (4,7 %) por la mayor resistencia a los impactos físicos de estos pellets que fue efectivo para la retención de los nutrientes e impedir mayores pérdidas de proteína total. Las dietas con EP tuvieron similares pérdidas porcentuales de materia seca (Tabla X) y lavado de proteína (16,4 y 15,9 %), que se pueden considerar aceptables para pellets semi-húmedos⁹.

Estos resultados confirman la capacidad aglutinadora de la miel final, almidón del maíz y el aceite

TABLA VII. ÍNDICES DE IDENTIFICACIÓN Y CALIDAD DEL ACEITE DE LOS ENSILADOS

Índices de calidad	Ensilado químico	Ensilado biológico	EE (±) Niv. Sig.
Índice de Iodo (mg/g)	871	887	0,02 NS
Índice de saponificación (mg KOH/g)	195	194	0,02 NS
Ácidos grasos libres (g/100g)	2,8	3,9	0,07 *
Índice de peróxido (meqO ₂ / kg)	4,9	0,9	0,84 **
Olor	No rancio	No rancio	-
**P<0,01 *P<0,05 NS- no significativo			

de los EP que contribuyen con la estabilidad física de los pellets semi-húmedos^{2,9}. Además, revisten importancia desde el punto de vista práctico, ya que sugiere que mezclas simples de harinas y subproductos de pescado se pueden procesar en forma de pastas o pellets y se minimizan las pérdidas por dispersión.

La digestibilidad de la proteína de las dietas semi-húmedas (Tabla X) difirió significativamente ($P<0,05$) y el menor valor se presentó en el ensilaje biológico (EBL) y puede relacionarse con lo planteado por³⁰. Los valores que se obtuvieron fueron similares a los que se informaron para la

TABLA VIII. DETERMINACIONES MICROBIOLÓGICAS DE LOS DESECHOS DE PESCADO Y SUS ENSILADOS

Componentes	Desechos frescos	Ensilado químico	Ensilado biológico	EE (±) Niv. Sig.
Mesofilos aerobios Log UFC/g	6,3 ^a	3,9 ^c	5,2 ^b	0,10 *
<i>Salmonella sp</i> Log UFC/g	Negativo	Negativo	Negativo	-
Hongos Log UFC/g	1,2	<0,3	<0,3	-
Coliformes totales NMP/g	61,9	<3	<3	-
Coliformes fecales NMP/g	19,7	<3	<3	-
Letras diferentes en la misma fila, difieren estadísticamente para $P<0,05$				

misma fuente de proteína (83,5 a 86,6 %) en tilapia del Nilo⁹. Sin embargo, valores de 80,6 % para la misma especie³¹ y 76,4 % en pacú³³, se reportaron al deshidratar el EP con harina de soya, lo que puede indicar una disminución de la biodisponibilidad de algunos aminoácidos por las reacciones de Maillard durante el proceso de secado.

Por otra parte, la digestibilidad de la energía no difirió entre las dietas (Tabla X) y sus valores fueron próximos a los reportados por otros autores⁹.

El comportamiento de las tilapias rojas con las dietas semi-húmedas (Tabla XI), mostró que los indicadores de crecimiento (PF, TCE e IPD) no se afectaron por el tipo y nivel de sustitución de EP. Esto concuerda con otros estudios^{2,33} que no encontraron diferencias significativas en el crecimiento de pacú y bagres africanos que recibieron dietas con EP, como única fuente de proteína animal, comparada a una ración comercial con HP.

La metodología de alimento semi-húmedo que se propone con la inclusión de 40% EP (base húmeda), lo cual equivalía a incorporar 5,6% de PB y sustituir toda la HP, las TCE fueron iguales al tratamiento control y a las informadas para dietas formuladas con harinas de diferentes subproductos pesqueros (2,7 y 2,8) en tilapias del Nilo³⁴.

Por otro lado, con las dietas semi-húmedas el FCA en base húmeda (Tabla XI) empeoró significativamente en 700 y 800 g más de alimento por cada kg de incremento de peso vivo, debido a los contenidos de humedad de estas dietas (35%) respecto a la ración comercial (10%). Esto se corroboró con los FCA en base seca que no difirieron y coincide con otros estudios^{2,33} que no encontraron diferencias significativas en el FCA entre los peces alimentados

TABLA IX. DIGESTIBILIDAD APARENTE DE LOS NUTRIENTES Y ENERGÍA DE LOS ENSILAJES DE RESIDUOS PESQUEROS PARA TILAPIA ROJA (g/100g)

Nutrientes	Ensilado químico	Ensilado biológico	EE(±) Niv. Sig.
Total	79,14	82,21	0,64 *
Proteína bruta	89,92	81,74	0,89 **
Lípidos	86,50	87,76	0,54 NS
Cenizas	60,63	6,85	1,19 NS
Calcio	41,40	51,55	0,89 **
Fósforo	56,06	65,12	0,88 **
Energía	85,10	86,28	0,45 NS

EE- Error estándar **P<0,01 *P<0,05 NS- no significativo

con ensilados y HP.

No se observaron diferencias significativas (P>0,05) en las tasas de eficiencia proteica, TEP (Tabla XI), por el alto valor nutricional de los EP y la adición de iguales cantidades de proteína digestible entre los tratamientos (Tabla III). También, pudo influir la acción de las proteasas endógenas de los tejidos del pescado que se activan en medio ácido y aumentan la solubilidad de las proteínas, lo que pudo favorecer una mejor absorción y utilización de las mismas.

TABLA X. ESTABILIDAD Y DIGESTIBILIDAD DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES EN TILAPIAS ROJAS

Indicadores	Dieta control	Dieta (ensilado químico)	Dieta (ensilado biológico)	EE(±) Niv. Sig.
Pérdida de Materia Seca %	5,1 ^a	11,4 ^b	10,9 ^b	0,76 ***
Proteína total, % remanente	95,3 ^a	83,6 ^b	84,1 ^b	1,34 **
Digestibilidad de la proteína, %	88,7 ^a	89,4 ^a	86,8 ^b	0,49 *
Digestibilidad de la energía, %	83,8	83,7	84,7	0,32 NS

Letras diferentes en la misma fila, difieren estadísticamente para P<0,05
***P<0,001 **P<0,01 *P<0,05 NS- no significativo

Los buenos resultados que se alcanzaron en los

indicadores de utilización de la proteína (TEP, ERP y PGP) (Tabla XI) no solo se deben explicar en función del valor nutricional de los EP, sino también en una posible capacidad de estos peces de utilizar eficientemente los altos contenidos (13%) de ácido glutámico presentes en estos subproductos pesqueros²² como fuente de aminoácidos no esenciales.

Según Tacon, A. *et al.*³⁵, una parte de la proteína dietética se utiliza por los peces con fines energéticos y existe cierta predisposición de los mismos a utilizar las cadenas carbonadas de los aminoácidos como sustrato energético. De ahí, que la existencia de una elevada proporción de ácido glutámico en los EP podría representar un “ahorro” importante en la síntesis de aminoácidos no esenciales a partir de los esenciales, además de poderse utilizar en la síntesis de ácidos grasos y el crecimiento, lo que contribuiría con un mejor aprovechamiento general de la energía dietética.

La composición de las canales (Tabla XII) mostró que los peces que consumieron ambas dietas (HP y EP) tuvieron niveles superiores ($P < 0,001$) de proteínas y lípidos respecto al inicio, no así los contenidos de cenizas que disminuyeron ($P < 0,05$) con el crecimiento de los animales.

No se halló influencia en las canales de los peces por el tipo y nivel de sustitución de EP en relación a la HP, aunque con el EBL aumentó la deposición de grasa corporal, probablemente por la menor relación proteína- energía de esta dieta (18,7 g/MJ) respecto al control (20,3 g/MJ) y al mayor consumo de alimento (Tabla III) y por tanto de energía que realizaron los peces de este tratamiento.

Los indicadores hematológicos para *O. mossambicus* x *O. niloticus* (Tabla XIII) no presentaron diferencias significativas entre los

TABLA XI. RESULTADOS DE LOS INDICADORES NUTRICIONALES PARA TILAPIAS ROJAS (*Oreochromis mossambicus* x *O. niloticus*) ALIMENTADAS CON LAS DIETAS EXPERIMENTALES

Indicadores	Dieta Control	Dieta (ensilado químico)	Dieta (ensilado biológico)	Niv. Sig.
Peso final, g	30,0± 0,74	29,9± 0,73	29,6± 0,75	NS
Indicadores	D1 Referencia	D2 E. químico	D3 E. biológico	EE (±) Niv. Sig.
TCE, %/día	2,7	2,6	2,7	0,07
IPD, g/día	0,4	0,4	0,4	0,02
FCA, BH	1,6 ^a	2,3 ^b	2,4 ^b	0,09 **
FCA, BS	1,5	1,5	1,6	0,07
Supervivencia, %	96,6	95,5	96,6	0,04
TEP	1,8	1,9	1,8	0,08
ERP, %	28,1	28,6	27,4	0,04
PGP, %	23,5	23,3	22,9	0,03

Letras diferentes en la misma fila, difieren estadísticamente para $P < 0,05$
 ** $P < 0,01$ NS- no significativo
 TCE (Tasa de crecimiento específica); IPD (Incremento de peso diario); FCA, BH y BS (Factor de conversión alimentaria, base húmeda y seca); TEP (Tasa de eficiencia proteica); ERP (Eficiencia de retención de proteína); PGP (Porcentaje de proteína en ganancia de peso).

tratamientos, lo que indicaron que el uso de los EP no comprometió la salud de los animales bajo condiciones experimentales.

Los resultados de este trabajo sugieren que los EP pueden ser una alternativa viable de alimentación en la producción de tilapias en Cuba y otros países de la región, dado el poco acceso a la adquisición de MP convencionales por la tendencia alcista de sus precios y por no poder contar con una planta harinera por la poca cantidad de subproductos que genera la industria pesquera. Además, se hace uso de los subproductos pesqueros, se disminuye la contaminación ambiental y se les garantiza a los productores raciones de calidad y relativamente estables, independientes de los defectos en el suministro y fluctuación de los precios de la harina de pescado.

CONCLUSIONES

1. Los ensilados de residuos de tilapias presentaron altos contenidos de proteína bruta (hasta 43 g/100g MS) y la presencia de todos los aminoácidos esenciales, con limitación para el triptófano respecto a los requerimientos de la Tilapia del Nilo *Oreochromis niloticus*, lo que ratifican su calidad y posibilitan su uso como ingrediente proteico en las raciones de tilapias.
2. Los ensilados tuvieron altos valores de grasa (hasta 22 g/100g MS), donde un 60,0% correspondieron a ácidos grasos insaturados que aportan 16.8% de ácido linoleico, lo cual permite garantizar las necesidades diarias de este nutriente esencial.
3. Se comprobó que no se afecta la calidad microbiológica de los ensilados químico y biológico almacenados por 30 días a temperatura ambiente.
4. Los ensilados químico y biológico, así como las raciones semi-húmedas elaboradas a base de los mismos, presentaron alta digestibilidad aparente de la proteína y energía, lo que corroboró su uso eficiente por la tilapia roja.

TABLA XII. COMPOSICIÓN PROXIMAL DE LAS CANALES DE LOS PECES EXPERIMENTALES (g/100g)

Indicadores	Inicio	D1 Control	D2 E. químico	D3 E. biológico	Niv. sig.
Humedad	76,8 ^b ±0,18	73,5 ^a ±0,18	73,3 ^a ±0,19	73,5 ^a ±0,26	***
Proteína bruta	13,5 ^a ±0,20	16,2 ^b ±0,20	15,9 ^b ±0,20	15,8 ^b ±0,29	***
lípidos	2,2 ^a ±0,13	3,9 ^b ±0,13	4,1 ^b ±0,13	4,8 ^c ±0,18	***
Cenizas	4,2 ^b ±0,08	3,8 ^a ±0,08	3,8 ^a ±0,08	3,7 ^a ±0,12	*

Letras diferentes en la misma fila, difieren estadísticamente para P<0,05

***P<0,001 *P<0,05

5. Los ensilados de residuos pesqueros mostraron ser una valiosa fuente de proteína que puede sustituir totalmente la harina de pescado en dietas semi-húmedas, sin afectar el crecimiento, utilización de la proteína e indicadores hematológicos de la tilapia roja.

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERESES

No existe ningún conflicto de interés, real o potencial, incluyendo cualquier relación financiera, personal o de otro tipo, con personas u organizaciones, lo cual pudiesen inapropiadamente influenciar o sesgar el contenido de este trabajo.

TABLA XIII. VALORES HEMATOLÓGICOS MEDIOS DE TILAPIAS ROJAS ALIMENTADAS CON LAS DIETAS EXPERIMENTALES. INTERVALO DE VALORES ENTRE PARÉNTESIS. N=12

Indicador	D1 Control	D2 E. químico	D3 E. biológico	Valores normales*	EE(±) Niv. sig
Hemoglobina (g/L)	67,1 (41,2 – 73,5)	63,3 (39,1-64,6)	65,1 (36,8 - 69,2)	50,0 (30,8-60,8)	3,15 NS
Hematocrito (%)	28,11 (23 - 35)	26,87 (22 -30)	27,25 (22 -32)	30,64 (19 - 42)	0,10 NS

Letras diferentes en la misma fila, difieren estadísticamente para P<0,05 NS- no significativo

* Parámetros sanguíneos normales de *Oreochromis aureus* según Silveira y Rigores (1989)

REFERENCIAS

- ¹ INDEX MUNDI. (Índices de precios) 2014. Fish meal Price Indices. June 2014. Disponible en: www.indexmundi.com. Consultado: 18/08/2014.
- ² TOLEDO, J.; BOTELLO, A.; LLANES, J. 2009. Evaluación de los ensilajes químicos de pescado en la alimentación de *Clarias gariepinus*. **Revista Cubana de Investigaciones Pesqueras** 26(1): 14-18.
- ³ WICKI, W.; MERINO, O. G.; CALÓ, P.; SAL, F. 2012. Use of High Content Fish Silage Wet Food in Final Growth out of Pacú (*Piaractus mesopotamicus*, Holmberg 1887) in Northeast Argentina. **Journal of Agricultural Science and Technology B** 2: 307-311.
- ⁴ RAMASUBBURAYAN, R.; IYAPPARAJ, P.; SUBHASHINI, K.; CHANDRANI, M. N.; PALAVESAM, A.; IMMANUEL, G. 2013. Characterization and Nutritional Quality of Formic Acid Silage Developed from Marine Fishery Waste and their Potential Utilization as Feed Stuff for Common Carp *Cyprinus carpio* Fingerlings. **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences** 13: 281-289.
- ⁵ TOLEDO, J.; LLANES, J. 2013. Alternativas para la alimentación de organismos acuáticos. En: **Nutrición y alimentación para la acuicultura de recursos limitados**. G. Dapello, E. Wiltchinsky, G. Wicki (eds). Memorias de los Talleres celebrados en el Centro Nacional de Desarrollo Acuícola. Argentina. CAP. 4: 57-74.
- ⁶ BACKHOFF, H. P. 1976. Some chemical changes in fish silage. **Int J. Food Sci** 11: 353-363.
- ⁷ VIANA, M.T.; NOVA, C.; SOLANA-SANSORES, R. 1993. Acid fish silage. Effect of preheating and addition of phosphoric and citric acid on the biochemical quality. **Ciencias del Mar** 19 (4): 415-433.
- ⁸ KÖPRUCÜ, K.; ÖZDEMİR, Y. 2005. Apparent digestibility of selected feed ingredients for Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture** 250: 308-316.
- ⁹ FAGBENRO, O.; JAUNCEY, K. 1998. Physical and nutritional properties of moist fermented fish silage pellets as a protein supplement for tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Anim. Feed Sci. Tech.** 71: 11-15.
- ¹⁰ LLANES, J.; TOLEDO, J.; LAZO DE LA VEGA, J.M. 2009. Tablas de composición de nutrientes y requerimientos de gramos proteína bruta/100g de peso vivo en tilapias. **AcuaCuba** 11(1): 5-6.
- ¹¹ HRUBEC, T.C.; SMITH, S. A. 2000. Hematology of fish. En: Feldman, B. F.; Zinkl, J. G; Jain, N. C. (eds). **Schalm Veterinary Hematology** 5th ed. Lippincott Williams and Wilkins, Canadá.
- ¹² AOAC. 1995. **Official Methods of Analysis** (16th Ed.). Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC.
- ¹³ MOORE, I.; STEIN, W.H. 1963. Chromatographic determination of amino acids by use of automatic recording equipment. **Methods in Enzymology** (6) (pp. 819-831). Academic Press, New York.
- ¹⁴ LUCAS, B.; SOTELO, A. 1980. Effect of different alkalis, temperature and hydrolysis on food. **Anal Biochemist** 109: 193-197.
- ¹⁵ HARTMAN, L.; LAGO, R. 1973. A rapid Preparation of fatty acid ethyl esters from lipids. **Laboratory Practice** 22 (8): 475-476.
- ¹⁶ NC 38-02-17.1989. Conteo total de bacterias mesófilas. Comité Estatal de Normalización. Nivel Central. La Habana. Cuba.

- ¹⁷ NC 38-02-14.1989. Determinación cuantitativa de coliformes totales y fecales. Comité Estatal de Normalización. Nivel Central. La Habana. Cuba.
- ¹⁸ ISO (International Standard Organization) Norm. 6579-2002. Microbiology of food and animal feeding stuffs- Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. Geneva. Switzerland: Pp. 2-16.
- ¹⁹ NC (Norma Cubana) 76-04-2. 1982. Determinación de levaduras y hongos filamentosos. Comité Estatal de Normalización. Nivel Central. La Habana. Cuba.
- ²⁰ BALZARINI, M.; CASANOVES, F.; DI RIENZO, J.A.; GONZÁLEZ, I.A.; ROBLEDO C.W.; TABLADA, M.E. 2001. **Software estadístico INFOSTAT. Manual de usuario** (1^a Ed.). Córdoba. Argentina.
- ²¹ FAGBENRO, O.; JAUNCEY, K. 1993. Chemical and nutritional quality of raw, cooked and salted fish silages. **Food Chemistry** 48: 331-335.
- ²² GERÓN, L, ZEOULA, L.; MEIRE, R.; MATSUSHIRA, M.; KASAMA, R.; FERREIRA, S. 2007. Chemical characterization, dry matter and crude protein ruminal degradability and in vitro intestinal digestion of acid and fermented silage from tilapia filleting residue. **Anim. Feed Sci. Tech.** 136: 226-239.
- ²³ SANTANA-DELGADO, H.; AVILA, E.; SOTELO, A. 2008. Preparation silage from Spanish mackerel (*Scomberomorus maculatus*) and its evaluation in broiler diets. **Anim. Feed Sci. Tech.** 141: 129-140.
- ²⁴ VIDOTTI, R. M.; MACEDO, E. M.; CARNEIRO, D. J. 2003. Amino acid composition of processed fish silage using different raw materials. **Anim. Feed Sci. Tech.** 105: 199-204.
- ²⁵ NRC (National Research Council). 1993. **Nutrient Requirements of Warmwater Fishes and Shellfishes**. National Academic Press, Washington D.C.
- ²⁶ LIM, C.; YILDIRIM-AKSOY, M.; ALLEN DAVIS, D.; KLESIUS, P. 2008. Effects of varied dietary lipid sources tested in tilapia study. **GLOBAL AQUACULTURE ADVOCATE** (May/June): 68-70.
- ²⁷ VIDOTTI, R. M.; SAMPAIO, G. S. 2006. Produção e caracterização de silagem, farinha e óleo de tilapia e sua utilização na alimentação animal. Disponible en: www.pesca.sp.gov.br. Consultado el 10/08/2012.
- ²⁸ ÁLVAREZ, J. D.; AGURTO, C. P. 2000. Bacterioflora Gram negativa aerobia de tilapias silvestres y cultivadas en la región central de Venezuela durante el período 1999-2000. **Veterinaria Trop.** 25(2):209-228.
- ²⁹ CIMA (Comisión Internacional de Microbiología para Alimentos). 1998. **Microorganismos de los alimentos**. Métodos de muestreo para análisis microbiológicos: Principios y aplicaciones específicas. Volumen II. Editorial Acribia. Zaragoza-España.
- ³⁰ ENES, M. L.; BATISTA, I.; NOUT, R., ROMBOUTS, F.; HOUBEN, J. 1998. Lipid and protein during the ensilage of blue whiting (*Micromesistius poutassou* Risso) by acid and biological methods. **Food Chemistry** 63: 97-103.
- ³¹ FAGBENRO, O.; JAUNCEY, K.; TAYLOR, G. 1994. Nutritive value of diets containing dried lactic acid fermented fish silage and soybean meal for juveniles *Oreochromis niloticus* and *Clarias gariepinus*. **Aquatic Living Resource** 7: 79-85.
- ³² SARKER, S. A.; SATOH, S., KIRON, V. 2007. Inclusion of citric acid and/or amino acid- chelated trace elements in alternate plant protein source diets affects growth and excretion of nitrogen and phosphorus in red sea bream (*Pagrus major*). **Aquaculture** 262: 436-443.
- ³³ VIDOTTI, R. M.; CARNEIRO, D. J.; MACEDO, E. M. 2002. Growth Rate of Pacu, *Piaractus*

mesopotamicus, fingerlings Fed Diets Containing Co-Dried Fish Silage as Replacement of Fish Meal. **J. Applied Aquac.** 12: 77-81.

³⁴ GODDARD, S.; AL-SHAGAA, G.; ALI, A. 2008. Fisheries by-catch and processing waste meals as ingredients in diets for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture Research** 39: 518-525.

³⁵ TACON, A. 1989. **Nutrición y Alimentación de peces y camarones cultivados**. Manual de Capacitación. Documento de campo No. 4. Proyecto Aquila II (GCP/RLA/102/ITA). Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación. Brasilia. Brasil.