



"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"

UNIVERSIDAD DE SONORA

FACULTAD INTERDISCIPLINARIA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE SALUD
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y
TECNOLÓGICAS

POSGRADO EN BIOCENCIAS

EVALUACIÓN DE LA INCLUSIÓN DE PROTEÍNA DE ORIGEN UNICELULAR EN DIETAS DE INICIACIÓN PARA JUVENILES DE TILAPIA DEL NILO (*Oreochromis niloticus*)

TESIS

que para obtener el grado de:

MAESTRA EN BIOCENCIAS

presenta:

REYNA DAYHANA FÉLIX BERUMEN

Hermosillo, Sonora, México

2 de agosto de 2023

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

Hermosillo, Sonora a 2 de agosto de 2023.

Asunto: Licencia de uso no exclusiva

**UNIVERSIDAD DE SONORA
P R E S E N T E.**

Por este conducto hago constar que soy autor y titular de la obra denominada "**Evaluación de la inclusión de proteína de origen unicelular en dietas de iniciación para juveniles de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*)**" (LA OBRA), que realicé como trabajo terminal siendo estudiante de Maestría, como requisito para obtener el Grado de **Maestra en Biociencias** en la Universidad de Sonora (UNISON), y en justa retribución autorizo a la UNISON, para que divulgue total o parcialmente LA OBRA mediante repositorios, bibliotecas, distribución electrónica y reproducción, así como la digitalización de la misma, con fines educativos, de investigación, de extensión y de difusión de la cultura, las veces que se requieren y en cualquiera otra forma en que a juicio de la UNISON sea necesario utilizarla, sin fines de lucro, en el entendido de que habrá de respetar en todo momento mi autoría y a otorgarme el crédito correspondiente en todas las actividades mencionadas anteriormente.

De la misma manera, manifiesto que el contenido académico, literario, la edición y en general cualquier parte de LA OBRA son de mi entera responsabilidad, por lo que deslindo a la UNISON por cualquier violación a los derechos de autor y/o propiedad intelectual y/o cualquier responsabilidad relacionada con la OBRA del que suscribe, frente a terceros.

Esta autorización es gratuita y la otorgo por un tiempo de cinco años, renovable automáticamente por el mismo periodo, reservándome el derecho de manifestar, en un plazo de cuando menos treinta días naturales previos a su vencimiento, su revocación por escrito dirigido a la Rectoría de la Universidad de Sonora.

Así mismo, esta autorización no es exclusiva y no implica la cesión de mis derechos patrimoniales.

A T E N T A M E N T E

Nombre completo y firma: Reyna Dayhana Félix Berumen

Departamento Académico: Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas

Dirección: Luis Donald Colosio s/n, entre Sahuaripa y Reforma. Col Centro, C.P. 83000. Hermosillo, Sonora, México.

Correo electrónico y teléfono: posgrado.biociencias@unison.mx Tel. (662) 2592169.

**EVALUACIÓN DE LA INCLUSIÓN DE PROTEÍNA DE ORIGEN UNICELULAR
EN DIETAS DE INICIACIÓN PARA JUVENILES DE TILAPIA DEL NILO
(*Oreochromis niloticus*)**

T E S I S

**que para obtener el grado de:
MAESTRA EN BIOCENCIAS**

presenta:

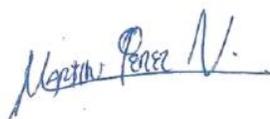
REYNA DAYHANA FÉLIX BERUMEN

Hermosillo, Sonora, México.

2 de agosto del 2023

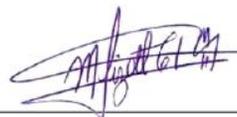
APROBACIÓN

Los miembros del Comité designado para revisar la tesis titulada EVALUACIÓN DE LA INCLUSIÓN DE PROTEÍNA DE ORIGEN UNICELULAR EN DIETAS DE INICIACIÓN PARA JUVENILES DE TILAPIA DEL NILO (*Oreochromis niloticus*) presentada por Reyna Dayhana Félix Berumen, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestra en Biociencias.



Dr. Martín Pérez Velázquez

Director



Dra. Mayra Lizett González Félix

Co-directora



Dr. Ramón Héctor Barraza Guardado
Sinodal interno



Dr. Misael Rosales Leija
Sinodal externo

DEDICATORIA

A la vida, que nos ha permitido disfrutarla, estudiarla e intentar entenderla.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por brindar apoyo económico a programas de maestría, doctorado y demás proyectos de investigación, principalmente gracias por concederme dicho apoyo durante mi maestría.

Al Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora y al Posgrado en Biociencias por recibirme y permitirme realizar investigación en sus instalaciones, así como proporcionar apoyo económico para las actividades realizadas durante la maestría y para material necesario en el experimento.

Un enorme agradecimiento a mis directores de tesis, el Dr. Martín Pérez Velázquez y la Dra. Mayra Lizett González Félix, por toda su paciencia y tiempo invertido, por su apoyo y asesoramiento en todo momento, gracias por compartir su valiosa experiencia y conocimiento.

A mis sinodales el Dr. Ramón Héctor Barraza Guardado y el Dr. Misael Rosales Leija, por el tiempo, la dedicación y el apoyo que brindaron y enriquecieron el presente trabajo.

A todo el equipo de la Unidad Experimental Kino (UEK), especialmente a Jesús Isidro Vázquez Cota quien siempre aportó su apoyo durante el desarrollo de la fase experimental del estudio.

A mis compañeros de laboratorio, a los maestros Pokémon Jesús Encinas Mungarro y Hugo Cañedo Orihuela, por el tiempo compartido, por su amistad, sus consejos, y apoyo durante estos dos años.

Por último y no menos importante, un agradecimiento a mi familia: abuela, papá, hermanas y mamá con quienes compartí muchas veces reuniones de café y tiempo de calidad que se convirtieron en momentos de motivación. Agradezco enormemente a mis mejores amigos de licenciatura y demás amistades quienes me brindaron su compañía, su sincera amistad y confortantes tardes compartidas, las cuales proporcionaron felicidad al igual que motivación. Un agradecimiento con mucho cariño a mi mejor amiga Lourdes Canizales por siempre estar ahí, por brindar apoyo en todo momento y compartir su tiempo conmigo.

RESUMEN

Depender de la harina y aceite de pescado para la producción de alimentos balanceados es ecológicamente insostenible para el futuro desarrollo de la acuicultura. Por consiguiente, se ha intensificado la búsqueda de fuentes alternativas de proteína como las harinas de proteína unicelular producidas a partir de bacterias o Single Cell Protein (SCP), cuya producción se considera sostenible y ambientalmente amigable. En el presente estudio, en dos experimentos simultáneos de 42 días de duración, se evaluó el efecto de la inclusión de harina de SCP bacteriano MRD-Pro® para reemplazar 0% (control), 50% y 100% de harina de pescado (Experimento 1) o 0% (control), 50% y 100% de harina de soya (Experimento 2) en dietas de iniciación de juveniles (0.12 g de peso inicial) de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*). Al final del Experimento 1, los peces alimentados con la dieta control (sin SCP) y con la dieta con 50% de reemplazo tuvieron un desempeño significativamente mejor que los peces que recibieron la dieta con 100% de reemplazo. Esta tendencia fue muy clara tanto para todos los parámetros de crecimiento (peso final, peso ganado, porcentaje de peso ganado, ganancia diaria de peso y tasa de crecimiento específico) como de evaluación del uso del alimento (factor de conversión de alimento, eficiencia alimenticia, alimento consumido y tasa de eficiencia proteica), así como para la supervivencia y el factor de condición. El reemplazo total de harina de pescado por harina de SCP también originó, con respecto a la dieta control, un incremento significativo del contenido de humedad y disminuciones significativas de los contenidos de grasa cruda y de los aminoácidos lisina y fenilalanina en el músculo de los organismos. En el Experimento 2, cuya finalidad fue incorporar mayores cantidades de harina de SCP en sustitución de harina de soya, alcanzando niveles de inclusión de SCP de 0% (control), 14.5% (50% de reemplazo) y hasta 21.0% (100% de reemplazo), el desempeño de los organismos alimentados con cualquiera de estas tres dietas fue muy pobre en todos los parámetros de crecimiento y uso del alimento evaluados. En su conjunto, el presente estudio revela que es factible sustituir hasta el 50% de la harina de pescado por harina de SCP bacteriano MRD-Pro® sin alterar el crecimiento de la tilapia y que, en general, la harina de SCP bacteriano es un útil y efectivo ingrediente alternativo, pero que existen límites en su nivel de inclusión. Se discuten los factores que posiblemente juegan un papel determinante en dichos límites.

ABSTRACT

Relying on fishmeal (FM) and fish oil for the manufacturing of feeds is ecologically unsustainable for the future of aquaculture. Therefore, the search for alternative protein sources, such as bacterial-based Single Cell Protein (SCP), which is considered sustainable and environmentally friendly, has intensified. In the present study, two 42-day simultaneous experiments were conducted to evaluate the use of the bacterial SCP MRD-Pro® to replace 0% (control), 50%, and 100% FM (Experiment 1) or 0% (control), 50%, and 100% soybean meal (SBM) (Experiment 2) in diets for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry (0.12 g of initial weight). At the end of Experiment 1, fish fed the control diet and the diet with 50% FM replacement by SCP had significantly better performance than those fed the diet with 100% FM replacement. This trend was observed across all parameters evaluating growth (final weight, weight gain, percent weight gain, daily weight gain, and specific growth rate), feed utilization (food conversion ratio, feed efficiency, feed intake, and protein efficiency ratio), survival, and the condition factor. Complete FM replacement by SCP also caused a significant increase of moisture, and significant reductions of crude fat and of the essential amino acids lysine and phenylalanine in fish muscle tissue. In Experiment 2, which aimed at incorporating greater SCP levels in place of SBM, reaching SCP levels of 0% (control), 14.5% (50% FM replacement), and up to 21.0% (100% FM replacement), the performance of fish fed all three diets was very poor for all growth and feed utilization parameters, as well as for survival and the condition factor. To sum up, the present study reveals that up to 50% dietary FM can be replaced by the bacterial SCP MRD-Pro® without compromising growth and survival of tilapia fry and that, in general, bacterial-based SCP is a useful and efficient alternative feedstuff, but that there are limits to its inclusion in fish diets. The factors that possibly play a role determining such limits are discussed.

ÍNDICE GENERAL

APROBACIÓN.....	i
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
RESUMEN.....	iv
ABSTRACT	v
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
INTRODUCCIÓN	1
I. ANTECEDENTES	6
I.1. Tilapia del Nilo (<i>O. niloticus</i>).....	6
I.1.1. Clasificación taxonómica y descripción de <i>O. niloticus</i>	6
I.1.2. Descripción biológica de la especie	7
I.1.3. Hábitat y reproducción.....	8
I.1.4. Producción y ciclo de vida.....	9
I.2. Alimento acuícola.....	11
I.2.1. Proteína	14
I.2.2. Aminoácidos	15
I.3. Harina de pescado.....	18
I.4. Harina de soya	21
I.5. SCP bacteriano.....	23
II. HIPÓTESIS	28
III. OBJETIVOS	29
III.1. Objetivo general.....	29
III.2. Objetivos específicos	29
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	30
IV.1. Obtención de organismos.....	30
IV.2. Sistema de cultivo experimental	31
IV.3. Diseño experimental, formulación y preparación de dietas	32
IV.4. Siembra, alimentación y mantenimiento de los organismos.....	36
IV.5. Calidad del agua.....	37

IV.6. Parámetros de producción.....	37
IV.7. Análisis proximal.....	38
IV.7.1. Humedad.....	40
IV.7.2. Ceniza.....	40
IV.7.3. Contenido de energía.....	41
IV.7.4. Contenido de fibra cruda.....	42
IV.7.5. Grasa cruda.....	42
IV.7.6. Proteína cruda.....	42
IV.8. Perfil de aminoácidos.....	43
IV.9. Análisis estadístico.....	44
V. RESULTADOS.....	45
V.1. Calidad del agua.....	45
V.2. Desempeño biológico y eficiencia en el uso del alimento.....	46
V.3. Composición proximal del músculo de juveniles de tilapia.....	50
V.4. Composición de aminoácidos del músculo de juveniles de tilapia.....	52
VI. DISCUSIÓN.....	55
VI.1. Calidad del agua.....	55
VI.2. Desempeño biológico y eficiencia en el uso del alimento.....	55
VI.3. Composición proximal del músculo de juveniles de tilapia.....	62
VI.4. Composición de aminoácidos del músculo de juveniles de tilapia.....	63
VII. CONCLUSIONES.....	66
VIII. RECOMENDACIONES.....	67
IX. LITERATURA CITADA.....	68

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Imagen de <i>O. niloticus</i> (tilapia del Nilo). Imagen de Schüür (2015).....	7
Figura 2. Imagen del ciclo del cultivo de <i>O. niloticus</i> . Imagen de FAO, 2009.....	10
Figura 3. Jaulas del cultivo de tilapia del Nilo en el Laboratorio CRILAP S.P.R de R.L, ubicado en San Pedro el Saucito, Sonora, México.	30
Figura 4. Juveniles de tilapia con peso promedio individual de 0.12 g.	31
Figura 5. Sistema de cultivo de recirculación en el Laboratorio Húmedo de Nutrición Acuícola, Unidad Experimental Kino.....	32
Figura 6. Diagrama del diseño experimental, tratamientos experimentales y réplicas por tratamiento. Abreviaciones: HP = harina de pescado; HS = harina de soya.	33
Figura 7. Preparación de las dietas experimentales: a) mezcla de ingredientes, b) producción de pellets en extrusor, c) secado de pellets.	35
Figura 8. Proceso de secado: a) músculo de tilapia b) horno (IC602 - Yamato Scientific) c) crisoles con muestras secas.	40
Figura 9. Proceso de incineración: a) muestras de músculo seco, b) mufla (F62700- Thermolyne Furnace), c) ceniza de las muestras incineradas.....	41
Figura 10. Determinación del contenido de energía de las dietas experimentales. a) Dieta compactada en forma de pastilla por la prensa de Brick, b) calorímetro IKA-Werke C5003.....	41
Figura 11. Analizador de nitrógeno DUMAS (Modelo 702 NDA).	43
Figura 12. HPLC (Varian 9012, Walnut Creek, CA, USA).....	44
Figura 13. Valores promedio de temperatura, concentración de oxígeno disuelto y pH del agua de cultivo de <i>O. niloticus</i> durante el periodo experimental.	45
Figura 14. Valores promedio de la concentración de compuestos nitrogenados y salinidad del agua de cultivo de <i>O. niloticus</i> durante el periodo experimental.....	46

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Requerimientos proteicos porcentuales de la dieta en las diferentes etapas de desarrollo para la tilapia del Nilo (<i>O. niloticus</i>).....	13
Tabla 2. Requerimientos de aminoácidos en una dieta completa para la tilapia del Nilo (<i>O. niloticus</i>) (Santiago y Lovell, 1988; NRC, 2011).	17
Tabla 3. Composición de ingredientes y proximal de dietas experimentales para tilapia del Nilo (<i>O. niloticus</i>) para el reemplazo de harina de pescado y harina de soya por harina de SCP bacteriano MRD-Pro®.....	34
Tabla 4. Composición de aminoácidos (g/100 g de dieta seca) de dietas experimentales para tilapia del Nilo (<i>O. niloticus</i>) con diferentes niveles de inclusión de harina de SCP bacteriano MRD-Pro® en sustitución de harina de pescado y de soya.	36
Tabla 5. Composición proximal de dietas experimentales para tilapia del Nilo (<i>O. niloticus</i>) con diferentes niveles de inclusión de harina de SCP bacteriano MRD-Pro® en sustitución de harina de pescado y de soya.....	39
Tabla 6. Parámetros de producción de juveniles de tilapia (<i>O. niloticus</i>) alimentados con dietas con diferentes niveles de inclusión de harina de SCP bacteriano en sustitución de harina de pescado y de soya.	48
Tabla 7. Composición proximal del músculo de juveniles de tilapia (<i>O. niloticus</i>) alimentados con dietas con diferentes niveles de inclusión de harina de SCP bacteriano en sustitución de harina de pescado y de soya.....	51
Tabla 8. Composición de aminoácidos (g/100 g de tejido seco) de músculo de juveniles de <i>O. niloticus</i> alimentados con dietas con diferentes niveles de inclusión de harina de SCP bacteriano en sustitución de harina de pescado y de soya.	53

INTRODUCCIÓN

El aumento de la población mundial requiere de una mayor producción de alimentos para garantizar bienestar y calidad de vida. Por consiguiente, ha aumentado la investigación de nuevas fuentes de producción alimenticia que puedan hacer frente a esta creciente demanda, con cantidades suficientes de alimentos de alta calidad en el futuro (UNDESA, 2021).

La acuicultura es una actividad milenaria que consiste en el cultivo de organismos acuáticos y es considerada una de las industrias productoras de alimento de mayor crecimiento en el mundo. Tiene como objetivo la conservación de los recursos naturales y poblaciones de organismos acuáticos, de tal forma que satisfaga las necesidades actuales y futuras del ser humano. La acuicultura ha ido en constante crecimiento ya que representa una solución a la demanda mundial de alimentos, específicamente de proteína animal, suministrando más de la mitad del pescado para consumo humano en el mundo. La acuicultura es considerada como uno de los principales y más importantes sectores de producción de alimentos de origen animal que contribuyen a la seguridad alimentaria (Smárason *et al.*, 2019; FAO, 2022).

En 2020, la producción mediante acuicultura y pesca tuvo un récord de 214 millones de toneladas, donde 178 millones de toneladas comprenden a animales acuáticos. La contribución de la acuicultura a la producción mundial de animales acuáticos alcanzó un récord de 49.2% en el mismo año, con una producción de 87.5 millones de toneladas, casi equiparable a la producción de la pesca, con 90.3 millones de toneladas, la cual ha disminuido en 5.1% con respecto a años anteriores (FAO, 2022). De hecho, mientras que la acuicultura aumentó su producción en los últimos años, la producción pesquera se ha mantenido estancada desde 1990 debido al agotamiento de los recursos naturales marinos, considerándose que casi el 90% de las especies marinas que se pescan están a punto de la sobrexplotación (FAO, 2022).

El crecimiento de la acuicultura depende de suministros de ingredientes proteicos y lipídicos que provienen en su mayoría de recursos marinos utilizados para la elaboración de alimentos acuícolas, lo que ha incrementado la demanda tanto de harina como de aceite de pescado (Gatlin *et al.*, 2007). La importancia del uso de harina de pescado en las dietas recae en los beneficios que aporta a la nutrición de los organismos acuáticos y de las personas que

los consumen, ya que es un ingrediente óptimo que provee proteína y aminoácidos esenciales, además de ácidos grasos Omega 3, todos ellos macronutrientes fundamentales en la acuicultura (Turchini *et al.*, 2009). Por lo tanto, los excelentes beneficios que este recurso aporta a la nutrición y al buen desarrollo de los organismos en cultivo aumentan su demanda en la industria acuícola, dando como resultado un crecimiento progresivo de la presión pesquera y la concomitante disminución de los recursos naturales disponibles. Debido a esto, la harina de pescado resulta insuficiente para cubrir el requerimiento de la acuicultura y, por ende, depender de este insumo es considerado ecológicamente insostenible (Tacon y Metian, 2008). A su vez, la creciente demanda de harina de pescado ha creado una gran competencia por su uso, convirtiéndose en los últimos años en el ingrediente más caro para alimentos acuícolas (El-Sayed, 2004).

La harina de pescado, además de considerarse un ingrediente insostenible debido a su limitada disponibilidad, tiene un gran efecto negativo sobre el medio ambiente, ya que su producción entra en varias categorías típicas de impacto, tales como calentamiento global, acidificación, eutrofización, agotamiento de la capa de ozono y ecotoxicidad acuática y terrestre (Avadí y Fréon, 2013). Debido a lo anterior, se ha intensificado la búsqueda de nuevas materias primas e ingredientes sostenibles que puedan incorporarse en los alimentos acuícolas (Naylor *et al.*, 2009). Existen ya una gran variedad de alternativas disponibles en el mercado, comúnmente basadas en plantas y animales, cada una con características particulares. Entre la gran variedad de ingredientes alternativos, los más estudiados han sido las harinas de origen vegetal y de origen animal, así como los subproductos de diferentes industrias, ingredientes que normalmente cuentan con un alto contenido proteico (Piñeros-Roldan *et al.*, 2014).

La harina de soya es comúnmente utilizada en alimentos acuícolas como reemplazo de la harina de pescado y desde 1950 ha incrementado su demanda, proviniendo de cadenas de producción agrícola bien establecidas (Gatlin *et al.*, 2007). Esto es debido a que la soya, además de ser un ingrediente de bajo costo, es un recurso que provee alta cantidad de proteína con una favorable composición de aminoácidos y una digestibilidad aceptable, comparado con la harina de pescado. Sin embargo, la harina de soya puede presentar deficiencias en el contenido de ciertos aminoácidos importantes para el desarrollo del organismo, además de contener antinutrientes que pueden causar irritación e inflamación del tracto digestivo,

afectando negativamente la digestión y el aprovechamiento de nutrientes (NRC, 1993; Romarheim *et al.*, 2010).

Como resultado de las desventajas presentadas por insumos de origen vegetal, recientemente se ha incrementado el estudio de ingredientes ecológicamente sostenibles y sumamente nutritivos para reemplazar la harina de pescado, enfocándose en el cumplimiento de ciertas características, tales como una alta disponibilidad, bajo costo, facilidad de obtención, manejo y almacenamiento, además de tener altos valores nutricionales y buena palatabilidad para los organismos (Hardy y Barrows, 2002). Todas estas características han sido encontradas en fuentes de proteínas de origen unicelular (SCP, por sus siglas en inglés), cuya producción incluso valoriza los subproductos de otros sectores o remedia las descargas de nutrientes, convirtiéndolas en una de las mejores opciones sostenibles (Glencross *et al.*, 2020).

Las SCP son células muertas y secas de microorganismos como levaduras, bacterias y algas, que crecen con diferentes fuentes de carbono en condiciones fermentativas donde la biomasa generada es usada como fuente de proteínas, lípidos y otros componentes nutricionales para la fabricación de alimentos (Nasseri *et al.*, 2011; Glencross *et al.*, 2020). Particularmente, la harina de SCP derivada de bacterias ha llamado fuertemente la atención como ingrediente alternativo debido a su alto contenido de proteína cruda, aminoácidos esenciales, ácidos nucleicos libres, vitaminas y minerales, además de no contener niveles nocivos de toxinas, antinutrientes y otros factores que limiten su uso en la acuicultura, lo que la hacen una alternativa nutritiva y atractiva para la producción de pellets en la industria acuícola (Schulz y Oslage, 1976; Logan *et al.*, 2010). Adicionalmente, la harina de SCP bacteriano puede producirse en grandes cantidades en muy cortos tiempos de generación utilizando sustratos de bajo costo o incluso desechos industriales (Strong *et al.*, 2015; Jones *et al.*, 2020). Debido a sus excelentes características, la harina de SCP bacteriano ha sido reconocida durante mucho tiempo como un ingrediente sostenible y completo como fuente proteica para animales (Naylor *et al.*, 2009), que con nuevas investigaciones y regulaciones puede facilitar el camino hacia una acuicultura sostenible, es decir, una actividad que no agota los mares, si no que los protege.

Actualmente, los peces conforman el 46.9% de todos los organismos acuáticos cultivados, y entre ellos, la carpa herbívora (*Ctenopharyngodon idella*) se sitúa en el primer lugar, con una producción de 5.8 millones de toneladas, seguida por la carpa plateada (*Hypophthalmichthys molitrix*), con 4.9 millones de toneladas. Y ocupando el tercer lugar mundial de producción por volumen se encuentra la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*), con un poco más de 4.4 millones de toneladas en el año 2020 (FAO, 2022). La producción comercial de tilapia del Nilo continúa creciendo a pasos agigantados en todo el mundo, su cultivo se ha popularizado debido a las cualidades que presenta, por ejemplo, el buen sabor de su carne, rápido crecimiento, alta capacidad reproductora y el ser una especie muy tolerante que se adapta a vivir en condiciones de cautiverio con alta densidad de organismos (Chavan y Yakupitiyage, 2012).

Por su carácter omnívoro y por tener requerimientos relativamente bajos de proteína en su dieta, comparado con los peces carnívoros, la tilapia ha aceptado una amplia gama de tipos de alimento, lo que hace que resulte factible la sustitución de harina de pescado en su dieta (Watanabe *et al.*, 2002). Es importante considerar que los requerimientos nutricionales de la tilapia, así como de muchos otros peces, varían según la etapa de desarrollo, teniendo una alta demanda de proteína en etapas tempranas, misma que va disminuyendo conforme el organismo crece. Es por esta razón que la harina de pescado se suministra a la tilapia solamente en las dietas de iniciación, siendo sustituida por harina de soya, principalmente, en dietas de engorda hasta llegar a una talla comercial (Chavan y Yakupitiyage, 2012). Además de la cantidad de proteína en la dieta, es importante considerar el perfil de sus constituyentes estructurales, los aminoácidos, ya que éstos no solo son cruciales para el correcto desarrollo de los organismos en cultivo, sino que invariablemente llegarán al consumidor final, el ser humano (Wilson, 2002). Por consiguiente, cuidar la nutrición de los peces es indispensable, ya que el pescado es considerado una de las principales fuentes saludables de proteína animal y nutrientes esenciales en la dieta humana, además de ser delicioso y de fácil digestión. El pescado tiene un papel importante en la seguridad alimentaria, tanto que se estima que alrededor del 60% de las personas en países en desarrollo dependen del pescado, mismo que contribuye con más del 30% de su suministro de proteína animal (Osibona *et al.*, 2009).

Dado lo anterior, es de interés estudiar el uso de harina de SCP bacteriano como ingrediente alternativo en la dieta para la tilapia del Nilo, ya que ésta podría sustituir la proteína dietaria de ingredientes como la harina de pescado y de soya. Su uso representa una opción sostenible que puede contribuir a mitigar la degradación ambiental porque su producción utiliza diversos tipos de subproductos de actividades agropecuarias, comerciales o industriales, es más económica y rápida y no compite con alimentos para consumo humano, al mismo tiempo que satisface la calidad proteica requerida en dietas para peces.

I. ANTECEDENTES

I.1. Tilapia del Nilo (*O. niloticus*)

La tilapia del Nilo (*O. niloticus*) es una de las especies más importantes para la acuicultura, encontrándose posicionada en el tercer lugar mundial por volumen de producción, debido a su facilidad de cultivo y bajo costo de producción, ambos derivados de ciertas características positivas con las que cuenta la especie, como una alta resistencia a enfermedades, un rápido crecimiento, alta tolerancia a diferentes condiciones ambientales y la capacidad de aceptar una amplia variedad de tipos de alimentos, lo que ha permitido un gran rendimiento productivo y económico (Chavan y Yakupitiyage, 2012).

Actualmente la tilapia se produce ampliamente en todo el mundo en regiones tropicales y subtropicales, incluso en algunos países forma un componente principal en la dieta (Fitzsimmons, 2000; Osibona *et al.*, 2009). El cultivo de tilapia también es considerado una de las actividades agrícolas de acelerado crecimiento, por ejemplo, en 1995 se produjeron 659,000 toneladas y para el año 2020 la producción alcanzó un poco más de 4.4 millones de toneladas, lo que representa aproximadamente el 9% del total de peces cultivados (FAO, 2022).

I.1.1. Clasificación taxonómica y descripción de *O. niloticus*

Clase: Actinopterygii

Orden: Perciformes

Familia: Cichlidae

Género: *Oreochromis*

Especie: *O. niloticus* Linnaeus, 1758

(CONABIO, 2014).

I.1.2. Descripción biológica de la especie

Las tilapias tienen un cuerpo profundo, alargado y comprimido lateralmente, presentan una coloración grisácea oscura que puede variar a uno más claro cómo se observa en la Figura 1. Así mismo, tienen barras verticales en su cuerpo que contrastan en respuesta al estrés (Morales-Díaz, 1974). La aleta dorsal cuenta con 16 o 17 espinas y entre 11 y 15 radios, mientras que la aleta anal tiene 3 espinas con 10 u 11 radios, presentan aleta caudal truncada y tienen escamas cicloideas. Las tilapias tienen los órganos sensoriales bien desarrollados, representados por narinas prominentes y una línea lateral claramente visible, también tienen ojos relativamente grandes, lo que proporciona al pez una excelente visión (El-Sayed, 2006).

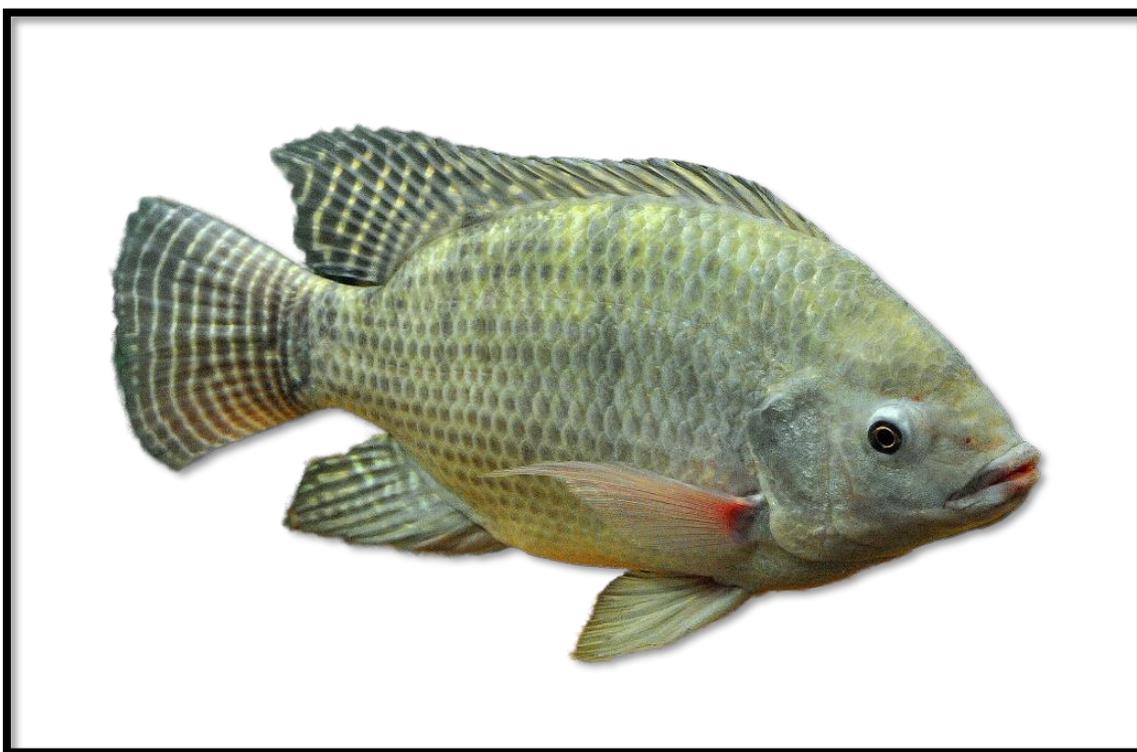


Figura 1. Imagen de *O. niloticus* (tilapia del Nilo). Imagen de Schüür (2015).

I.1.3. Hábitat y reproducción

La tilapia del Nilo es nativa de África, es una especie tropical de agua dulce y estuarina que puede habitar una amplia diversidad de ecosistemas acuáticos como ríos, embalses, arroyos y lagos. Su hábitat natural también comprende cuerpos de agua estancada o con poca corriente, encontrando refugio en pantanos y riberas donde permanecen en zonas poco profundas (El-Sayed, 2006).

La diversidad de hábitats que puede ocupar la tilapia del Nilo incluye una amplia variedad de profundidades, velocidades de corriente y turbidez, así como una temperatura que puede oscilar entre 28 y 36°C, considerándose letales valores inferiores a 12°C y superiores a 42°C (Worthington, 1932; Morales-Díaz, 1974). También existe una amplia variación de otros parámetros químicos que puede tolerar como la salinidad, pH, contenido de minerales y gases, así como las concentraciones de oxígeno disuelto y compuestos nitrogenados. Sin embargo, las condiciones óptimas para su desarrollo incluyen intervalos de pH entre 7.8 y 8.0, concentraciones de oxígeno disuelto de 4 a 6 mg O₂/L, concentraciones de nitritos debajo de 0.5 mg NO₂-N/L y de nitrógeno amoniacal total debajo de 0.1 mg NH₄-N/L (El-Sayed, 2006; Santos *et al.*, 2013).

En su hábitat natural la tilapia del Nilo puede consumir fitoplancton como parte dominante de su dieta (El-Sayed, 2006). Sin embargo, es una especie omnívora que se alimenta de plantas acuáticas, pequeños invertebrados, pequeños peces, crustáceos, rotíferos, anélidos y biopelículas bacterianas asociadas al detrito. También puede filtrar alimentos tales como partículas suspendidas, incluyendo bacterias que atrapa con las mucosas de la cavidad bucal (Morales-Díaz, 1974; Bwanika *et al.*, 2004). En su entorno natural y dependiendo de las condiciones ambientales, la madurez sexual se alcanza a los 20-30 cm de longitud o 150-200 g de peso corporal, siendo los machos de mayor tamaño que las hembras. Durante la época de reproducción los machos suelen exhibir colores más brillantes o contrastantes que las hembras, además, establecen un territorio y cavan un nido donde la hembra realiza el desove. El número de huevos es proporcional al tamaño de la hembra y son de tamaño relativamente grande (2 a 7.9 mm) (Trewavas, 1983; Hinostroza-Canturín, 2017). Las tilapias del Nilo son incubadoras bucales, ya que inmediatamente después de que los huevos son fertilizados por el macho, la hembra los colecta y coloca dentro de su boca, incubándolos de 7 a 17 días, dependiendo de la temperatura, hasta que los alevines hayan consumido su saco

vitelino y puedan salir de la boca para alimentarse, pudiendo regresar a la misma en caso de amenaza (Worthington, 1932).

I.1.4. Producción y ciclo de vida

En estanques, la tilapia alcanza la madurez sexual a los 5 o 6 meses de edad. El número de huevos es proporcional al peso del cuerpo de la hembra, por ejemplo, una hembra de entre 600 y 1000 g podrá producir entre 1000 y 1500 huevos (Beveridge y McAndrew, 2000). El monocultivo es la forma predominante de producción de tilapia, aunque también se le produce en policultivos. El cultivo puede llevarse a cabo en diferentes tipos de infraestructura, tales como jaulas flotantes, raceways, tanques, estanques y lagos, entre otros, siendo los estanques los más utilizados. Para la reproducción en estanques, la tilapia se siembra comúnmente en una proporción de dos a tres hembras por macho. Después de 10 a 15 días del desove y la fertilización, las larvas nadan en la superficie a la orilla del estanque y son colectadas con redes para llevarse a tanques en donde se realiza la reversión sexual. Otra técnica de obtención de larvas consiste en la colecta de huevos de la boca de la hembra, para ser llevados a incubadoras. Una vez eclosionados, los alevines son trasladados a tanques o charolas donde terminan de absorber su saco vitelino, como se observa en la Figura 2 (El-Sayed, 2006).

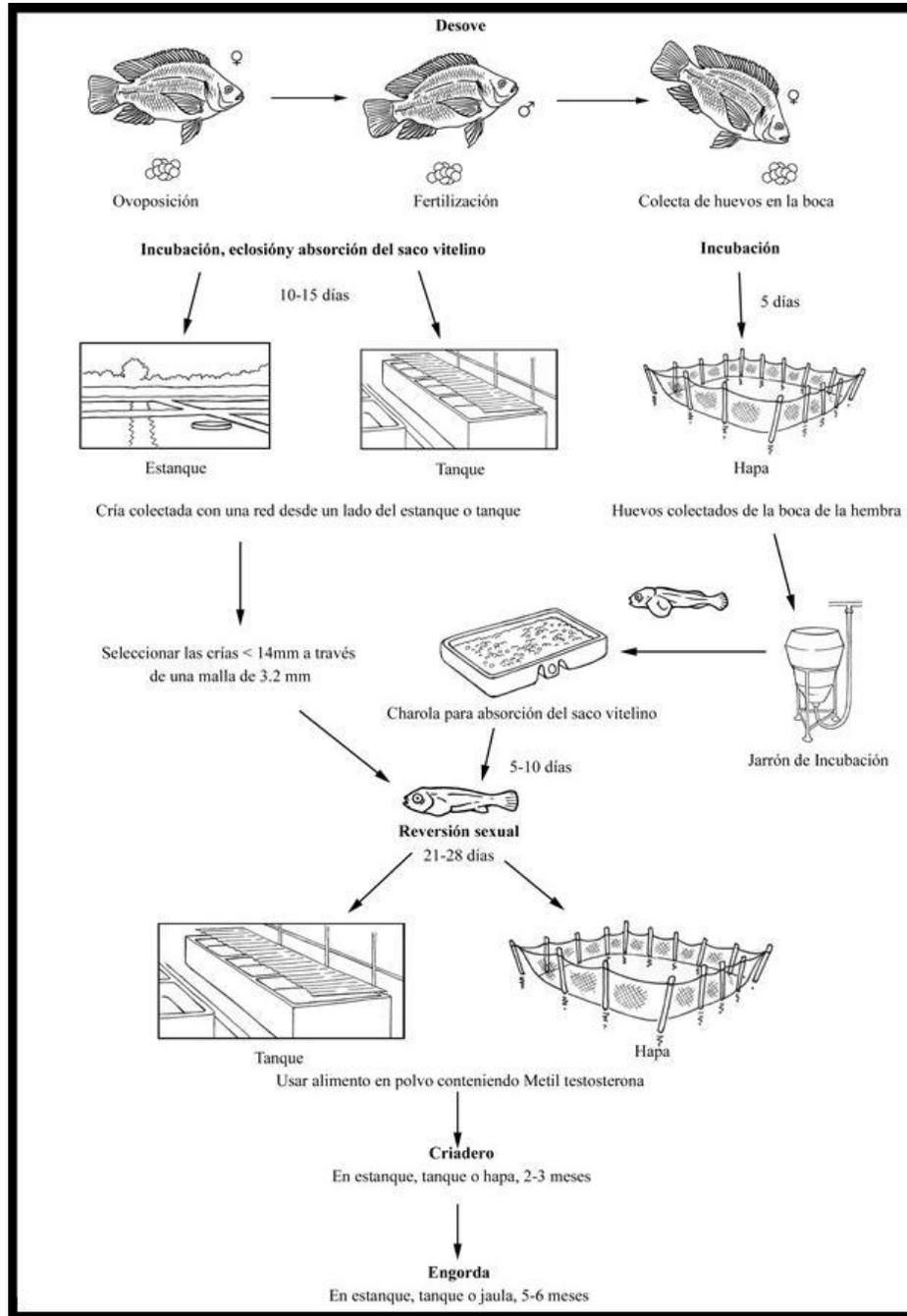


Figura 2. Imagen del ciclo del cultivo de *O. niloticus*. Imagen de FAO, 2009.

En el cultivo en estanques la tilapia presenta una reproducción precoz que desencadena varios problemas para el cultivo comercial. En primer lugar, detiene el crecimiento somático de las hembras, que no alcanzan tallas comerciales. Y en segundo,

origina grandes poblaciones de peces de distintas tallas dentro del mismo estanque, ocasionando competencia por el alimento, impidiendo que los peces alcancen tallas comerciales (Velasco-Falconí, 1991). Además de lo anterior, los machos naturalmente crecen más rápido y a un mayor tamaño que las hembras, contribuyendo a una disparidad de tallas que afecta su comercio. Por todas estas razones se realiza la reversión sexual de hembras a machos. Este proceso es posible debido a que la tilapia adquiere su diferenciación sexual varios días después de la absorción del saco vitelino, razón por la que debe llevarse a cabo en larvas que inician la natación, con un tamaño menor a 12 mm. Después de esta talla las larvas están demasiado desarrolladas y el éxito de reversión disminuye (Pérez-Atencia, 2002). El proceso de reversión sexual consiste en el suministro de alimento balanceado comercial para larvas que contiene la hormona masculina 17-alfa metiltestosterona a una concentración de 60 mg/kg de alimento (Vera-Cruz y Mair, 1994). Tras aproximadamente un mes, los organismos que consumen este alimento se desarrollan fenotípicamente como machos con una eficacia de 97% (Guerrero y Guerrero, 1988; Pérez-Atencia, 2002). Tras la reversión sexual, los peces son criados hasta su segundo o tercer mes de desarrollo para después sembrarse en cultivos de engorda durante 3 meses más, alimentándose hasta llegar a la talla comercial (Watanabe *et al.*, 2002).

I.2. Alimento acuícola

La alimentación de los organismos es la parte más importante y costosa del cultivo (El-Sayed, 2004). Se han realizado numerosas investigaciones en el área de nutrición acuícola con el objetivo de desarrollar dietas que aporten los micro y macronutrientes indispensables para el crecimiento y buen desarrollo de los organismos (El-Sayed, 2004), sin perder de vista los nutrientes que aportarán al consumidor final, el ser humano (Osibona *et al.*, 2009).

La formulación de dietas es un proceso complejo que incluye la selección de ingredientes en cantidades adecuadas para crear una mezcla que sea palatable, nutritiva, económica y fácil de almacenar. Las dietas son formuladas específicamente para cada especie dependiendo del tipo de alimentación, su comportamiento y sus necesidades. Los ingredientes se eligen sobre la base del costo, la disponibilidad y la composición nutricional, tomando en cuenta sus contenidos de proteína, lípidos, carbohidratos, vitaminas y minerales

(Hardy y Barrows, 2002), ya que utilizar un alimento muy costoso no sería factible para la producción comercial.

Entre los ingredientes mayormente utilizados se encuentran los de origen animal, como la harina de pescado y los subproductos de industrias avícola, porcícola y ganadera, que debido a su alta demanda tienen un costo elevado, además de considerarse insumos ecológicamente insostenibles (Tacon y Metian, 2008; Piñeros-Roldan *et al.*, 2014). También se utilizan ampliamente ingredientes de origen vegetal como la harina de soya, maíz, semilla de algodón y canola, entre otras, que tienen un menor costo. Sin embargo, algunos de estos ingredientes pueden contener factores antinutricionales (NRC, 1993; Gatlin *et al.*, 2007). Tanto para los ingredientes de origen animal como vegetal, el contenido de proteína y aminoácidos esenciales es un criterio importante para su elección, resaltando en este sentido la harina de pescado, que es usada en dietas de iniciación y de engorda de peces y crustáceos, debido a que posee entre 60 y 72% de proteína cruda y un perfil óptimo de aminoácidos esenciales, particularmente lisina y metionina (NRC, 2011), además de ser una fuente muy rica de ácidos grasos omega 3 que promueven la salud de los peces (Turchini *et al.*, 2009).

Las proteínas y aminoácidos constituyen los nutrientes más caros en alimentos balanceados para producción animal, pues cerca del 70% del costo de producción corresponde a ellos (Wu, 2021). El porcentaje de proteína y aminoácidos en la dieta dependerá del hábito alimenticio del organismo (herbívoro, carnívoro, omnívoro, etc.) y, como se indicó anteriormente, de la etapa de desarrollo en la que se encuentre (Cowey, 1994). Sin embargo, cuando los peces consumen una dieta excesiva en proteína, los organismos dejan de utilizarla en la formación de tejido y es usada como fuente de energía metabólica, este proceso se da a través de la desaminación, en donde se descomponen los aminoácidos eliminando el grupo amino el cual es convertido en amoníaco y es desechado directamente por las branquias y la orina del pez, la molécula resultante se compone principalmente de carbono e hidrógeno, los cuales se reciclan u oxidan para la obtención de energía (Rodwell y Kennelly, 2000; NRC, 2011).

Cuando las larvas de tilapia han agotado las reservas de nutrientes del vitelo, inician la búsqueda de su primer alimento exógeno. Es en este momento que sus requerimientos de proteína, aminoácidos y demás nutrientes se encuentran en el nivel más alto, pues su

crecimiento es muy acelerado e implica la síntesis y desarrollo de tejidos, órganos internos y huesos (Chavan y Yakupitiyage, 2012). Por esta razón, las dietas comerciales de tilapia para larvas y para las etapas tempranas subsecuentes (dietas de iniciación) son formuladas para contener altos niveles de proteína, de entre 45 y 50% (Wilson, 2002), utilizándose, entre otros ingredientes, harina de pescado debido a las exigencias nutricionales antes mencionadas (Tacón y Metian, 2008; FAO, 2022). Esto implica que las dietas larvarias y de iniciación son también las más costosas y por ello cobra sentido el reemplazar la harina de pescado con fuentes de proteína alternativas, tales como la harina de SCP bacteriano. En la etapa juvenil el requerimiento de proteína de la tilapia disminuye a 30-40% (El-Sayed, 2004), y para los peces adultos en la fase de engorda el alimento contiene entre 27 y 35% de proteína cruda, la cual proviene comúnmente de harina de soya u otros cereales, ya que en esta etapa el requerimiento de proteína es relativamente bajo debido a que el crecimiento es menos acelerado y la energía metabólica la obtienen mayoritariamente a partir de lípidos y carbohidratos (Kaushik y Seiliez, 2010; Chavan y Yakupitiyage, 2012). Para peces reproductores se utilizan dietas de alto contenido proteico, con 40-44%, aproximadamente, ya que una excelente nutrición de los reproductores es indispensable para tener éxito en la obtención de huevos y larvas de alta calidad (Bhujel, 2000). Los requerimientos de proteína de la tilapia del Nilo en sus distintas etapas de cultivo se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Requerimientos proteicos porcentuales de la dieta en las diferentes etapas de desarrollo para la tilapia del Nilo (*O. niloticus*).

Etapas de desarrollo	Proteína (%)	Referencia
Larvaria	45-50	El-Sayed, 2006
Juvenil	30-40	Wilson, 2002
Adulto (etapa de engorde)	25-28	Lovell, 2002
Reproductores	35-45	Bhujel, 2000

I.2.1. Proteína

Las proteínas son componentes esenciales de todos los organismos vivos, son las macromoléculas biológicas más abundantes y de elevado peso molecular, formadas básicamente por carbono, hidrogeno, oxígeno y nitrógeno. Las unidades estructurales de las proteínas son los aminoácidos, que están unidos por enlaces peptídicos covalentes entre el extremo α -carboxilo de un aminoácido y el extremo α -amino de otro, formando péptidos (Nelson y Cox, 2005). Los péptidos están compuestos por dos o más aminoácidos, denominándose polipéptidos si hay más de 20 aminoácidos unidos (NRC, 2011; Buxbaum, 2015).

Las cadenas polipeptídicas que constituyen las proteínas son lineales y no contienen ramificaciones, pero sí pueden contener grupos de azúcar, lípidos o un metal específico unidos a los aminoácidos, recibiendo el nombre de proteínas conjugadas. Con base en 20 aminoácidos disponibles, unidos en muchas combinaciones y secuencias para la biosíntesis, éstos forman proteínas con propiedades y funciones distintas. El orden y la disposición de los aminoácidos dependen del código genético de cada organismo (Nelson y Cox, 2005) y son estas características las que hacen que cada proteína tenga un papel específico en las funciones biológicas de cada ser vivo, por ejemplo, como parte estructural en tejidos y membranas de las células, como enzimas que catalizan reacciones que sintetizan y degradan biomoléculas y generan energía, o como reguladoras de la expresión de genes y la división celular. No menos importante es su función como hormonas que regulan el metabolismo o facilitan el transporte de moléculas importantes, e.g., la hemoglobina que transporta el oxígeno en la sangre. También se encuentran las proteínas del sistema inmune que tienen una función de defensa creando anticuerpos, además de las proteínas que cumplen con funciones contráctiles, como la actina y miosina, que constituyen las miofibrillas responsables de la contracción muscular (Rodwell y Kennelly, 2000; Buxbaum, 2015). Los peces no son la excepción en cuanto a la importancia de las proteínas como componentes corporales, siendo éstas las macromoléculas más abundantes, constituyendo aproximadamente del 65 al 75% del peso total seco (Wilson, 2002) y son también las más importantes en el crecimiento somático (Wu, 2021).

En general, los peces tienen requerimientos nutricionales de proteína más altos que los animales terrestres (Kaushik y Seiliez, 2010). A su vez, la exigencia nutricional de

proteína es más alta en peces carnívoros que en peces omnívoros y herbívoros (Gunasekera *et al.*, 2000). Los peces pueden obtener energía a partir de las proteínas, lípidos y carbohidratos de la dieta. Sin embargo, si se suministra una cantidad insuficiente de energía o proteína en la dieta puede ocurrir una reducción o interrupción del crecimiento y pérdida de peso a causa de la utilización de proteína de los tejidos como fuente de energía (Wilson, 2002; NRC, 2011). Por otra parte, si se suministran niveles excesivos de proteína, parte de ésta podrá ser utilizada como fuente de energía para uso metabólico o será excretada (Wu, 2021). Lo anterior pone de manifiesto la importancia de maximizar el uso de la proteína dietaria que es retenida, como biomasa, en el cuerpo de los organismos (Davies y Wareham, 1988). Este índice, denominado tasa de eficiencia proteica, ha sido estimado para diversas especies de peces, variando en un intervalo de 1.22 a 3.44 g de peso ganado/g de proteína ingerida, reportándose para la tilapia del Nilo valores de 1.25 a 2.50 g de peso ganado/g de proteína ingerida (Bowen, 1987).

I.2.2. Aminoácidos

Los aminoácidos son moléculas orgánicas que se unen entre sí para formar proteínas y son la unidad básica de las proteínas. Un aminoácido está conformado por un carbono alfa, al cual se une un hidrógeno, un grupo amino, un grupo carboxilo y un grupo químico que varía, denominado grupo radical (R), lateral o grupo R, debiéndose las diferencias entre los aminoácidos y su comportamiento químico a la estructura de sus grupos R (Nelson y Cox, 2005). Existen más de 300 aminoácidos en la naturaleza, pero solamente 20 se utilizan en la biosíntesis de proteínas y otras biomoléculas de seres vivos (Rodwell y Kennelly, 2000).

Los aminoácidos se obtienen a través de las proteínas de los alimentos. Para peces con estómago y, por consiguiente, con digestión ácida, después de la ingestión del alimento se secreta ácido clorhídrico (HCl) y pepsinógeno por las células oxinticopépticas de la pared estomacal. El HCl desnaturaliza la proteína y activa el pepsinógeno convirtiéndose a pepsina, la cual hidroliza parcialmente a las proteínas produciendo péptidos y aminoácidos libres (Holmgren y Oisson, 2009). La digestión de las proteínas continúa en el intestino y es realizada por endo y exopeptidasas producidas por el páncreas, como la tripsina, la carboxipeptidasa A y B, la quimotripsina, la carboxipeptidasa y las elastasas (NRC, 2011).

Tras la acción de las enzimas pancreáticas, las cadenas peptídicas cortas son hidrolizadas por las aminopeptidasas y una gran proporción de los aminoácidos libres son absorbidos por los enterocitos del intestino y distribuidos por la sangre a los órganos y tejidos (Rodwell y Kennelly, 2000; Wu, 2021). Posteriormente estos aminoácidos son utilizados en los tejidos para sintetizar proteínas durante el crecimiento y la reproducción o para el mantenimiento de proteínas, renovándolas (Wilson, 2002). Los aminoácidos pueden no ser utilizados en la deposición proteica corporal y servir como fuente de energía o servir como precursores para la síntesis de una variedad de otros compuestos nitrogenados como la creatina, las hormonas peptídicas y algunos neurotransmisores (Cowey, 1994; Li *et al.*, 2020).

Los aminoácidos se clasifican en tres categorías, los aminoácidos no esenciales, esenciales y esenciales condicionales. Los aminoácidos no esenciales son todos aquellos que el organismo puede sintetizar a partir de precursores, como: la alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, ácido glutámico, glutamina, glicina, prolina, serina y tirosina (NRC, 2011). Por el contrario, los aminoácidos esenciales son aquellos que los organismos no pueden sintetizar y necesitan ingerirlos a través de la dieta. Las dietas para los peces a menudo son formuladas agregándoles mezclas de aminoácidos esenciales (NRC, 2011). La tilapia requiere los mismos 10 aminoácidos esenciales que otras especies de peces y animales terrestres: arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina (NRC, 1993; Lovell, 2002; Kaushik y Seiliez, 2010). Actualmente ya se conocen los requerimientos de aminoácidos en la dieta para un máximo desarrollo de la tilapia, dichos requerimientos se muestran en la Tabla 2 (El-Sayed, 2006; Torres-Novoa y Hurtado-Nery, 2012). También están los aminoácidos esenciales condicionales o semiesenciales, los cuales son importantes para algunas especies de peces en ciertas etapas de vida, como durante la fase de rápido crecimiento, así como en momentos de enfermedad y estrés o bajo deficiencias nutricionales. Entre los aminoácidos semiesenciales conocidos se encuentra la taurina y la tirosina, que puede ser sintetizada a partir de la fenilalanina, y la cisteína, que puede ser sintetizada a partir de la metionina (NRC, 2011).

Tabla 2. Requerimientos de aminoácidos en una dieta completa para la tilapia del Nilo (*O. niloticus*) (Santiago y Lovell, 1988; NRC, 2011).

Aminoácidos	% de dieta total
Lisina	1.43
Arginina	1.18
Histidina	0.48
Treonina	1.05
Valina	0.78
Leucina	0.95
Isoleucina	0.87
Metionina	0.75
Cisteína	0.53
Fenilalanina	1.05
Tirosina	1.79
Triptófano	0.28

Encontrar ingredientes sostenibles y de bajo costo que cumplan con el requerimiento total de aminoácidos en la dieta de los peces es uno de los objetivos de la acuicultura. Sin embargo, esto no es tarea fácil, ya que, para un gran número de ingredientes, especialmente aquellos de origen vegetal, existen aminoácidos que se encuentran en cantidades insuficientes o nulas, convirtiéndose en aminoácidos limitantes (Gatlin *et al.*, 2007). La falta de cualquier aminoácido esencial en la dieta de organismos en crecimiento conduce a una deficiencia nutricional, que generalmente desencadena una rápida disminución de peso, pérdida de apetito, e incluso conduce a la muerte (NRC, 2011).

A este respecto, la lisina es frecuentemente el principal aminoácido limitante en dietas de peces. Es utilizada por los organismos para construir tejido muscular y colágeno. Inicialmente, se pensaba que el gran contenido de lisina en el musculo de los peces era proporcional a su requerimiento en la dieta, pero al realizar varios experimentos se observó que no existía dicha relación. De hecho, el suministro excesivo perjudicaba el crecimiento de los peces, demostrando que es importante no solamente proveer un gran porcentaje de proteína y aminoácidos en la dieta, si no hacerlo en las cantidades adecuadas (Dabrowski y

Guderley, 2002). En orden de importancia de los aminoácidos limitantes, la lisina es seguida por los aminoácidos azufrados como la metionina y la cistina (Dabrowski y Guderley, 2002; Kaushik, y Seiliez, 2010; NRC, 2011). Se ha observado que la metionina tiene propiedades quelantes y antioxidantes y que en dietas para peces deficientes en metionina el crecimiento del pez disminuye y aumentan las patologías (Dabrowski y Guderley, 2002). La treonina es el tercer aminoácido limitante, requerida debido a su importancia en el mantenimiento de los tejidos y es utilizada por los peces para producir mucina, una glicoproteína mucosa necesaria para las secreciones intestinales y cutáneas (Li *et al.*, 2009). Se ha observado que la metionina tiene propiedades quelantes y antioxidantes, y en dietas deficientes en metionina el crecimiento del pez disminuye y aumentan las patologías (Dabrowski y Guderley, 2002).

La harina de pescado contiene todos los aminoácidos limitantes requeridos por los peces, lo que la hace un ingrediente muy atractivo, mientras que los cereales tienen un perfil de aminoácidos incompleto, casi siempre deficientes en aminoácidos esenciales como la lisina y la metionina (Gatlin *et al.*, 2007; Osibona *et al.*, 2009; Cho y Kim, 2010). La harina de subproductos animales es una buena fuente de lisina, pero pobres en metionina y cistina (Hardy y Barrows, 2002). Para varias especies de peces se ha tenido éxito en la sustitución parcial o total de la harina de pescado en la dieta con ingredientes proteicos alternativos para los que algunos aminoácidos son limitantes, siempre y cuando las dietas sean suplementadas con aminoácidos libres para subsanar las deficiencias. Por ejemplo, para algunas especies de peces, la harina de pescado ha sido sustituida completamente con harina de soya cuando la dieta es suplementada con metionina (Kaushik, y Seiliez, 2010).

I.3. Harina de pescado

Los peces pelágicos menores, como la sardina y la anchoveta, entre otros, provenientes de las pesquerías mundiales, son reducidos para obtener harina de pescado, que constituye uno de los ingredientes más utilizados en los alimentos acuícolas (Mendoza *et al.*, 2000). En el año 2020, un total de 16 millones de toneladas de peces pelágicos menores fueron destinados para la producción de harina de pescado, de la cual 86% se utilizó para la elaboración de alimentos para acuicultura. Otras industrias que utilizan la harina de pescado para la elaboración de alimentos son la porcícola, avícola y la de mascotas (FAO, 2022). El uso

extensivo de la harina de pescado en alimentos para acuicultura se debe a que cuenta con un elevado porcentaje de proteína cruda y un perfil óptimo de aminoácidos esenciales, además de ser una rica fuente de ácidos grasos omega 3 y minerales, así como tener una alta palatabilidad y digestibilidad para los peces (Turchini *et al.*, 2009; Kaushik y Seiliez, 2010).

A causa de su gran demanda, el precio de la harina de pescado se ha elevado tanto que su uso se ha vuelto más selectivo, incluyéndose solamente en ciertas etapas del ciclo de vida de los peces, por ejemplo, en dietas para larvas, juveniles y reproductores, que son las fases en que los organismos tienen un requerimiento alto de proteína y aminoácidos esenciales (Bhujel, 2000; El-Sayed, 2004; Tacon y Metian, 2008; Smárasón *et al.*, 2019). Su uso en dietas de engorda ha disminuido considerablemente, pudiendo sustituirse con harinas más económicas, lo que es posible debido a que en esta etapa los peces suelen tener un requerimiento relativamente bajo de proteína (Chavan y Yakupitiyage, 2012).

La harina de pescado es un recurso finito, proveniente de una producción pesquera que se ha estancado desde 1990 y que no se prevé que incremente en el futuro, ya que cerca del 90% de las especies marinas que se pescan están sobrexplotadas, colocando a la pesca, bajo su forma actual, como una actividad ecológicamente insostenible (Mendoza *et al.*, 2000; Gatlin *et al.*, 2007; Tacon y Metian, 2008; FAO, 2020). Además de la insostenibilidad, el uso de harina de pescado en alimentos para animales puede poner en riesgo la seguridad alimentaria humana, por ejemplo, en países de África occidental, donde es cada vez mayor el porcentaje de peces utilizados para harina de pescado para exportación que para consumo humano (FAO, 2022). No puede dejar de mencionarse el efecto contaminante de los desechos tanto de la flota pesquera como de la industria de producción de harina de pescado, los cuales tienen un impacto negativo sobre el calentamiento global, acidificación y eutrofización de los mares, agotamiento de la capa de ozono y ecotoxicidad acuática y terrestre (Naylor *et al.*, 2009; Avadí y Fréon, 2013). Por otra parte, el arrastre de redes devasta los fondos marinos e incrementa la captura incidental de especies vulnerables o en peligro de extinción, afectando negativamente la abundancia de estos recursos naturales (Turner *et al.*, 1999; Hornborg *et al.*, 2012).

Dada la situación mundial de la pesca y la producción de harina de pescado, actualmente se hacen grandes esfuerzos para disminuir el uso de este insumo en alimentos

para acuicultura, intensificándose la búsqueda de ingredientes proteicos alternativos sostenibles que satisfagan los requerimientos nutricionales de los peces en cultivo y que, además, no compitan con el alimento humano (Gatlin *et al.*, 2007). Aunque se han identificado algunos ingredientes con altos niveles de proteína similares a los de la harina de pescado, a menudo tienen perfiles de aminoácidos deficientes. Por el momento, son pocos los ingredientes que pueden sustituir completamente la harina de pescado en el alimento de algunas especies de peces, casi siempre adicionando aminoácidos limitantes para igualar los niveles observados en la harina de pescado y así satisfacer los requerimientos nutricionales del pez (Kaushik y Seiliez, 2010).

Entre los insumos más estudiados se encuentran los de origen animal, como el subproducto de la industria avícola, que fue utilizado por Piñeros-Roldan *et al.* (2014), quienes lograron sustituir la harina de pescado de la dieta de alevines de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) sin adicionar aminoácidos limitantes. También se ha utilizado harina de sangre bovina sin éxito, en términos de crecimiento, al intentar reemplazar 50 y 100% de la harina de pescado en la dieta de alevines de tilapia del Nilo, pero resaltando el menor costo de las dietas con este ingrediente alternativo (Kiriimi *et al.*, 2016). Se ha utilizado harina de insecto como sustituto de harina de pescado en la tilapia del Nilo, tal como Amer *et al.* (2021), quienes observaron un crecimiento adecuado de tilapia alimentada con diferentes niveles de inclusión, desde 5 a 15%, de harina de polilla rosquilla (*Spodoptera littoralis*). También se han utilizado subproductos de pescado para producir harina y así aprovechar los desperdicios de esta industria. Sin embargo, estos subproductos no contienen las mismas propiedades nutricionales que el pescado entero (FAO, 2022). En cuanto a ingredientes alternativos de origen vegetal, se ha estudiado el uso de harina de soya, cebada, canola, maíz y trigo, entre otros (Gatlin *et al.*, 2007). La harina de soya es un ingrediente alternativo de origen vegetal investigado desde varios años atrás, por ejemplo, en 1988, Viola *et al.* lograron reemplazar hasta el 100% de la harina de pescado en la dieta para tilapia del Nilo con peso inicial de 165gr, utilizando 60% de harina de soya y adhiriendo 3% de fosfato di cálcico y 2% de aceite proveniente de la industria avícola, obteniendo un excelente rendimiento en el crecimiento de los organismos. Mientras que, para alevines de tilapia, Ogunji y Wirth (2001) lograron sustituir hasta el 17% de harina de pescado utilizando un 18% de harina de soya, sin afectar la tasa de crecimiento específico y el factor de conversión

alimenticio. Por otro lado, Llanes y Toledo (2011) reemplazaron hasta el 3% de la de harina de pescado en la dieta, incluyendo 55% de harina de soya sin encontrar diferencias significativas con la dieta control en parámetros como el peso final, factor de conversión alimenticia y la eficiencia proteica. Se continúa investigando la sustitución de harina de pescado con diversos ingredientes alternativos de origen vegetal, respecto a esto Al-Thobaiti *et al.* (2018) reemplazaron harina de pescado con una mezcla de harina de gluten de maíz, harina de gluten de trigo y harina de bagazo de kenna en alimento para tilapia del Nilo, observando que puede sustituirse al menos 20% de la harina de pescado sin alterar el crecimiento de los peces.

I.4. Harina de soya

Reducir la dependencia de la harina de pescado como componente proteico en los alimentos para peces ha sido una meta largamente buscada y la harina de soya ha sido históricamente la alternativa más común y factible para este fin, dado su alto contenido proteico y menor costo de producción con respecto a la harina de pescado y a otras industrias de producción de proteína de origen animal (Gatlin *et al.*, 2007). Se han hecho innumerables investigaciones del uso de harina de soya en sustitución de harina de pescado, e incluso, actualmente ya se utiliza mayormente en dietas para peces adultos o en etapa de engorda, habiendo logrado la completa sustitución de harina de pescado en la dieta de algunas especies (El-Sayed, 2004).

Dadas sus atractivas características nutricionales, la harina de soya ha sido ampliamente utilizada en la dieta de la tilapia. Por ejemplo, Viola *et al.* (1988) reemplazaron el 100% de la harina de pescado por harina de soya adicionada con aminoácidos esenciales como lisina, metionina y cisteína, así como fosfato dicálcico, en dietas para la tilapia híbrida (*O. niloticus* x *O. aureus*). Por otro lado, Llanes y Toledo (2011) lograron incluir hasta 55% de harina de soya en la dieta de alevines de tilapia, obteniendo buenos resultados en cuanto a crecimiento y supervivencia.

A pesar de los buenos resultados del uso de harina de soya en dietas para peces, actualmente su costo de producción ha aumentado significativamente, por lo que cada vez es menos rentable su uso, a pesar de ser el principal remplazo de la harina de pescado (Le *et al.*, 2023). Dada esta situación, se han realizado estudios encaminados a reemplazar la harina de

soya con otros ingredientes alternativos. Por ejemplo, Hardy *et al.* (2018) encontraron que al incorporar harina de SCP, producido a partir de la bacteria *Methylobacterium extorquens*, hasta en un nivel de inclusión de 10% en el alimento de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) en sustitución de harina de soya, no se encontraron diferencias significativas en cuanto al crecimiento, con respecto a una dieta control, concluyendo que este SCP es una alternativa segura y efectiva para la trucha en los niveles de inclusión estudiados. Los autores advirtieron de una ligera disminución del consumo de alimento cuando el nivel de inclusión de SCP fue de 10%, atribuible a una menor palatabilidad, sugiriendo que este aspecto pudiera ser contrarrestado mediante la inclusión de atractantes, siendo necesaria más investigación en este tema. Por su parte, Le *et al.* (2023) reportaron que es posible reemplazar desde 15 hasta 45% de la harina de soya de la dieta de tilapia (*O. niloticus*) por harina de larva de *Tenebrio molitor* sin afectar el crecimiento de los organismos. Sin embargo, al analizar las propiedades de los filetes, encontraron que el más alto nivel de reemplazo (45%) afectó negativamente la calidad, reduciendo significativamente, entre otras cosas, su capacidad antioxidante, lo que pudiera hacer que la carne sea susceptible a la rancidez.

Si bien la harina de soya tiene características nutricionales favorables, también es cierto que tiene aspectos negativos, entre los que pueden citarse la concentración de los aminoácidos esenciales como la lisina, metionina, treonina y tirosina, normalmente más baja que en la harina de pescado, lo que obliga a suplementar las dietas con dichos aminoácidos, elevando el costo de producción (El-Sayed, 2004; Gatlin *et al.*, 2007). Otro aspecto negativo es la presencia de factores antinutricionales en la harina de soya, como algunos inhibidores de la tripsina y el ácido fítico, que puede reducir la disponibilidad de zinc y la digestibilidad de las proteínas (Hardy y Barrows, 2002; Hendricks, 2002). Especialmente en peces carnívoros, la harina de soya puede provocar enteritis, i.e., irritación e inflamación del tracto digestivo que afecta negativamente la digestión y el aprovechamiento de nutrientes (Hardy y Barrows, 2002; Romarheim *et al.*, 2010; Valdez-González *et al.*, 2013). Además, se ha señalado que el uso de harina de soya se ha convertido en una opción insostenible, dado que su producción genera gran presión ambiental debido al uso de la tierra y el agua en todo el mundo. En su conjunto, lo anterior justifica la evaluación de harinas de SCP bacteriano, descritas a continuación, ya que no generan el mismo daño ambiental (Kupferschmidt, 2015).

I.5. SCP bacteriano

Debido al aumento en el costo tanto de la harina de pescado como de soya, aunado a la presión ambiental que ambos generan sobre el planeta, ha generado la necesidad de buscar opciones más ecológicas y económicas que logren satisfacer los requerimientos de aminoácidos esenciales limitantes en las dietas para organismos acuáticos (Gatlin *et al.*, 2007; Hardy, 2010).

Desde hace algunas décadas ha existido interés en el uso de microorganismos pertenecientes a diversos grupos, tales como bacterias, hongos y microalgas, como fuente de proteína. Dicho interés ha renacido recientemente con el fin de encontrar insumos más sostenibles (Smárason *et al.*, 2019). Este grupo de microorganismos son llamados SCP. El término se refiere a células muertas y secas de organismos unicelulares tales como levaduras, bacterias y algas, que tienen la capacidad de crecer en diferentes fuentes de carbono en condiciones fermentativas donde la biomasa generada es usada como fuente de proteínas, lípidos y componentes nutricionales para la fabricación de alimentos (Nasseri *et al.*, 2011; Glencross *et al.*, 2020).

Por sus características nutricionales, la harina de SCP de origen bacteriano ha destacado recientemente como fuente alternativa en sustitución de harina de pescado. Entre las propiedades de mayor importancia pueden citarse altos contenidos de proteína cruda, aminoácidos, incluyendo aminoácidos esenciales, ácidos nucleicos libres, vitaminas y minerales. De acuerdo con Strong *et al.* (2015), tanto la digestibilidad como el perfil de aminoácidos de la harina de SCP bacteriano son similares a la de la harina de pescado, mostrando contenidos de proteína cruda entre 50 y 83%, mientras que Nasseri *et al.* (2011) reportan valores de 50 a 65% de proteína cruda. Como es de esperarse, el porcentaje de proteína en harinas de SCP bacteriano puede variar debido a varios factores, tales como la especie de microorganismo seleccionado y el medio de cultivo utilizado como sustrato, además de la tecnología de preparación de la biomasa resultante en el proceso de fermentación (Schulz y Oslage, 1976). Finalmente, se considera que la harina de SCP bacteriano no contiene niveles nocivos de toxinas, antinutrientes y otros factores que limiten su uso en la acuicultura como otros ingredientes (Logan *et al.*, 2010).

En cuanto al impacto ambiental derivado de su producción, la harina de SCP bacteriano es decisivamente una buena alternativa ante fuentes de proteína vegetal como la harina de soya, la más utilizada actualmente, ya que la harina de SCP bacteriano no requiere tanta agua para su producción y no depende de las variaciones estacionales y climáticas, pudiéndose producir durante todo el año (Vermeulen *et al.*, 2012). Una significativa ventaja adicional es que se requiere una relativamente pequeña cantidad de espacio para la producción de SCP. Por ejemplo, se estima que una instalación de 40.5 ha para la producción de SCP a partir de la bacteria *M. extorquens* puede producir la misma cantidad de proteína que 4,047 ha dedicadas a la producción de soya, lo que reduce drásticamente la huella ambiental de la producción (Tlustý *et al.*, 2017).

Otra de las características positivas que presenta el uso de harina de SCP bacteriano es que los microorganismos son cultivados utilizando sustratos tales como subproductos o residuos orgánicos de origen animal y vegetal desechados por actividades agrícolas, comerciales e industriales, los cuales han mostrado un alto rendimiento con condiciones óptimas de desarrollo ya establecidas, además de tener un alto valor nutricional y un bajo o inexistente costo. Aunado a esto, la conversión de residuos a SCP tiene un doble propósito, ya que mitiga la degradación ambiental producto de la acumulación de desechos y, a la vez, proporciona una buena fuente de proteína (Chalón *et al.*, 2013; Chacón-Olivares *et al.*, 2016). Por lo tanto, es posible introducir proteína unicelular bacteriana para la producción de alimento acuícola utilizando recursos renovables y fuentes de residuos para disminuir el impacto ambiental en el planeta, esto representa una gran alternativa sostenible en el uso de residuos agrícolas e industriales, los cuáles, de no ser manejados adecuadamente, son un importante problema de contaminación ambiental (Mejías-Brisuelas *et al.*, 2016).

El uso de harina de SCP bacteriano ofrece ventajas y retos particulares, por lo que, aunque en la actualidad algunas de ellas ya se comercializan, otras siguen siendo estudiadas. Entre los retos que presenta la producción de SCP bacteriano pueden mencionarse que ciertas especies de bacterias pueden producir toxinas que limitan su uso en los alimentos, estas toxinas pueden ser exotoxinas o endotoxinas, y afortunadamente, pueden ser destruidas por calentamiento (Rudravaram *et al.*, 2009). Debido a la rápida proliferación bacteriana, estos insumos poseen un alto contenido de ácidos nucleicos que pueden afectar negativamente a los consumidores, por lo que solo se recomienda su uso en animales con una vida corta, ya

que los ácidos nucleicos podrían causar cálculos renales y vesicales en el consumidor (Strong *et al.*, 2015). Afortunadamente, los niveles de ácidos nucleicos pueden reducirse con un previo tratamiento térmico o de hidrólisis (Yazdian *et al.*, 2005). Así mismo, es latente el riesgo de contaminación con metales pesados y sustancias nocivas que pudieran estar presentes en los sustratos utilizados como fuente de carbono para el cultivo de las bacterias, sin embargo, esto es completamente controlable cuando se asegura la pureza del medio de cultivo (Ritala *et al.*, 2017).

El valor nutricional de harinas de SCP bacteriano ha sido explorado en especies de organismos tan diversas como cerdos, pollos, perros e incluso zorros (*Alopex lagopus*) (Øverland *et al.*, 2010) y, por supuesto, en organismos acuáticos. Entre éstos, puede mencionarse al camarón blanco del Pacífico (*Litopenaeus vannamei*), para el que Hamidoghli *et al.* (2019) realizaron un estudio utilizando el producto PROTIDE, derivado de la bacteria *Corynebacterium ammoniagenes*, como sustituto de la harina de pescado, alimentando larvas de camarón durante nueve semanas. Se formularon cinco dietas para reemplazar 0, 10, 20, 30 y 40% de la harina de pescado de la dieta con PROTIDE. Los resultados indicaron un nivel óptimo de reemplazo de harina de pescado con PROTIDE entre 10 y 20%, resultando en crecimiento adecuado y en un aumento en el contenido de proteína cruda del músculo, sin agregar aminoácidos suplementarios. En cuanto al uso de harinas de SCP para peces de cultivo, la harina de SCP proveniente de la bacteria metanótrofa *Methylococcus capsulatus* ha sido utilizada como fuente de proteína para salmón del Atlántico (*Salmo salar*), la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) y el halibut del Atlántico (*Hippoglossus hippoglossus*) (Aas *et al.*, 2006a,b; Aas *et al.*, 2007). Como se indicó, esta bacteria utiliza metano como sustrato de cultivo, el cual es desechado por refinerías y centrales eléctricas, siendo aprovechado por las bacterias como fuente de carbono y energía (Øverland *et al.*, 2010). La harina de SCP de esta misma especie de bacteria fue utilizada por Zhang *et al.* (2022), quienes la incluyeron en niveles de 0, 4.3, 8.6, 12.9, 17.2 y 21.5% de la dieta para lobina (*Micropterus salmoides*), en sustitución de harina de pescado. Después de 10 semanas de cultivo encontraron que fue posible incluir efectivamente hasta 12.9% de harina de SCP sin detrimento del crecimiento de los peces, pero en niveles de reemplazo más altos observaron una disminución del crecimiento y daño en cuanto al grosor de la pared intestinal y la altura de las microvellosidades intestinales. Por su parte, Zamani *et al.* (2020) realizaron un estudio con

diferentes niveles de inclusión (0, 25, 50, 75 y 100%) de harina de SCP bacteriano (PL68, Intraco Ltd., Bélgica) sustituyendo harina de pescado en dietas para alevines de trucha arcoíris (*O. mykiss*), reportando un reemplazo exitoso, en cuanto al crecimiento de los peces, de hasta el 50%. El SCP empleado en este estudio es un subproducto de la producción de ácido glutámico monosódico, realizada a partir de la fermentación microbiana de materias primas de origen vegetal obtenidas de la agricultura. Los autores observaron que, al utilizar niveles de reemplazo superiores, de 75 y 100%, el consumo de alimento y el crecimiento de los organismos fue afectado negativamente, además de un aparente desbalance del perfil de aminoácidos y de ácidos grasos del músculo.

En cuanto a las investigaciones del uso de SCP bacteriano en dietas para tilapia del Nilo, éstas son muy escasas, pero pueden mencionarse, en orden cronológico, el trabajo de Viola y Zohar (1984), quienes observaron crecimientos similares en tilapia del Nilo alimentada con una dieta control formulada a base de harina de pescado y dietas en las que dicha harina fue sustituida, hasta en 50%, por harina de SCP producido con la bacteria *Methylophilus methylotrophus*, un producto denominado Pruteen con contenido de proteína cruda de 70%. Sin embargo, al intentar el reemplazo total de harina de pescado con este producto, el crecimiento se redujo significativamente. Davies y Wareham (1988) incorporaron exitosamente hasta 10% de harina de SCP de *Micrococcus glutamicus* en reemplazo de harina de pescado en la dieta de juveniles de tilapia. Se observó que en niveles de inclusión de harina de SCP de 15 y 20% hubo una reducción en la eficiencia del uso del alimento y crecimiento de los peces. Hamunjo-Chama *et al.* (2021) utilizaron harina de SCP de *M. capsulatus* para reemplazar la harina de pescado de la dieta de juveniles de tilapia de la variedad GIFT. Los organismos fueron alimentados durante 56 días con niveles de inclusión de SCP de 0 (control), 1.7, 3.4, 5.1, 6.8 y 8.5% de la dieta. Los resultados mostraron que todos los niveles de reemplazo ensayados fueron exitosos, sin producir diferencias en crecimiento, con respecto a la dieta control, además, de que se mejoró la respuesta inmune de los peces.

Las harinas de SCP de bacterias parecen estar destinadas a formar una parte muy importante del futuro de la nutrición de especies de interés en acuicultura, ayudando a disminuir y evitar la contaminación del mar, así como a lograr una utilización más eficiente y sostenible de los recursos naturales con los que aún se cuenta. Actualmente el interés por

la producción de harina de SCP bacteriano está tomando un nuevo auge, siendo cada vez mayor el número de empresas que producen este tipo de insumos (Jones *et al.*, 2020). Ejemplo de ello es la harina de SCP bacteriano MRD-Pro® de la empresa Meridian Biotech, LLC, Tejas, EUA., producido mediante el concepto de “Energía a partir de residuos”, que utiliza sistemas de digestión anaeróbica junto con sistemas de tratamiento aeróbico. MRD-Pro® fue utilizado recientemente en diferentes niveles de inclusión, en sustitución de la harina de pescado, como fuente de proteína para el camarón *Litopenaeus vannamei*, produciendo un crecimiento mayor, así como mayor contenido de proteína en musculo (Lawrence *et al.*, 2022). Este es un interesante insumo cuyos resultados son muy prometedores. Sin embargo, su uso como sustituto de la harina de pescado o de soya en la dieta de la tilapia del Nilo no ha sido investigado. A este respecto, su inclusión en dietas de iniciación es de particular interés por ser una de las fases de mayor exigencia nutricional por parte de los peces, siendo este precisamente el tema que se aborda en la presente investigación.

II. HIPÓTESIS

Es factible realizar el reemplazo parcial o total de harina de pescado y/o de harina de soya por harina de SCP bacteriano en dietas de iniciación para juveniles de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) sin afectar su desempeño biológico.

III. OBJETIVOS

III.1. Objetivo general

Evaluar la inclusión de proteína de origen unicelular en dietas de iniciación para juveniles de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*).

III.2. Objetivos específicos

- a) Formular y elaborar dietas para juveniles de tilapia del Nilo (*O. niloticus*) utilizando harina de SCP bacteriano, en reemplazo de harina de pescado y de soya.
- b) Evaluar el efecto de las dietas experimentales sobre parámetros de producción de la tilapia del Nilo.
- c) Evaluar el efecto de las dietas experimentales sobre la composición proximal y perfil de aminoácidos de la tilapia del Nilo.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se llevó a cabo en el Laboratorio Húmedo de Nutrición Acuícola de la Unidad Experimental Kino (UEK), Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora (DICTUS), ubicado en Bahía de Kino, Sonora, México.

IV.1. Obtención de organismos

Se obtuvieron aproximadamente 500 juveniles de tilapia del Nilo (*O. niloticus*) con un peso promedio individual de 0.12 g, provenientes del Laboratorio CRILAP S.P.R de R.L, ubicado en San Pedro el Saucito, Sonora, México (Figura 3). Los organismos fueron transportados al Laboratorio Húmedo de Nutrición Acuícola en la UEK y posteriormente fueron aclimatados a condiciones de laboratorio (Figura 4).



Figura 3. Jaulas del cultivo de tilapia del Nilo en el Laboratorio CRILAP S.P.R de R.L, ubicado en San Pedro el Saucito, Sonora, México.



Figura 4. Juveniles de tilapia con peso promedio individual de 0.12 g.

IV.2. Sistema de cultivo experimental

Los experimentos se llevaron a cabo en un sistema de cultivo de recirculación que constó de 24 tanques circulares con una capacidad de 250 litros cada uno (Figura 5), llenados con agua dulce proveniente de la red pública, a un volumen aproximado de 150 litros cada uno. Cada tanque contó con un suministro de aire constante mediante mangueras y piedras aireadoras, el aire fue suministrado por un soplador de 1.0 HP (Fuji, Modelo VFC40, Saddle Brook, New Jersey, EUA). El sistema de cultivo contó con una bomba centrífuga de 1.5 HP (Jacuzzi, Modelo 150 MF-T, Little Rock, Arkansas, EUA) con la que el agua recirculó a través de un filtro biológico, un filtro de arena (Jacuzzi, modelo L-190-7, Little Rock, Arkansas, EUA) y una cámara de luz ultravioleta de 12' watts (Rainbow salvavidas, Modelo UV97, El Monte, California, EUA).



Figura 5. Sistema de cultivo de recirculación en el Laboratorio Húmedo de Nutrición Acuícola, Unidad Experimental Kino.

IV.3. Diseño experimental, formulación y preparación de dietas

Se llevaron a cabo dos experimentos de 42 días de duración de forma simultánea, ambos basados en diseños experimentales completamente aleatorios. En el primer experimento (Experimento 1) se evaluó la sustitución de harina de pescado (HP) por harina de SCP bacteriano MRD-Pro®. Para este propósito, se formuló una dieta control con contenido de proteína cruda (PC) de 45% y grasa cruda (GC) de 15% utilizando como fuente de proteína una mezcla de harina de soya, aislado de proteína de soya y harina de chícharo, pero también conteniendo HP a un nivel de inclusión de 8% de la dieta. Con base en esta dieta control, se prepararon dos dietas experimentales en las que se reemplazó el 50 y 100% de la proteína aportada por la harina de pescado por MRD-Pro® (Tabla 2). En el segundo experimento (Experimento 2) se evaluó la sustitución de harina de soya por MRD-Pro®. Con base en otra dieta control, también con contenidos de PC y GC de 45 y 15%, respectivamente, pero que no contenía harina de pescado, sino soya como principal fuente de proteína, se reemplazaron 50 y 100% de la proteína aportada por la harina de soya por MRD-Pro® (Tabla 2). El perfil de aminoácidos de cada dieta se muestra en la Tabla 3. Para ambos estudios, las dietas experimentales fueron isoproteicas e isolipídicas y cada tratamiento experimental contó con

4 réplicas. Una representación visual del diseño experimental, tratamientos y réplicas empleados en estos estudios se presenta en el diagrama de la Figura 6.

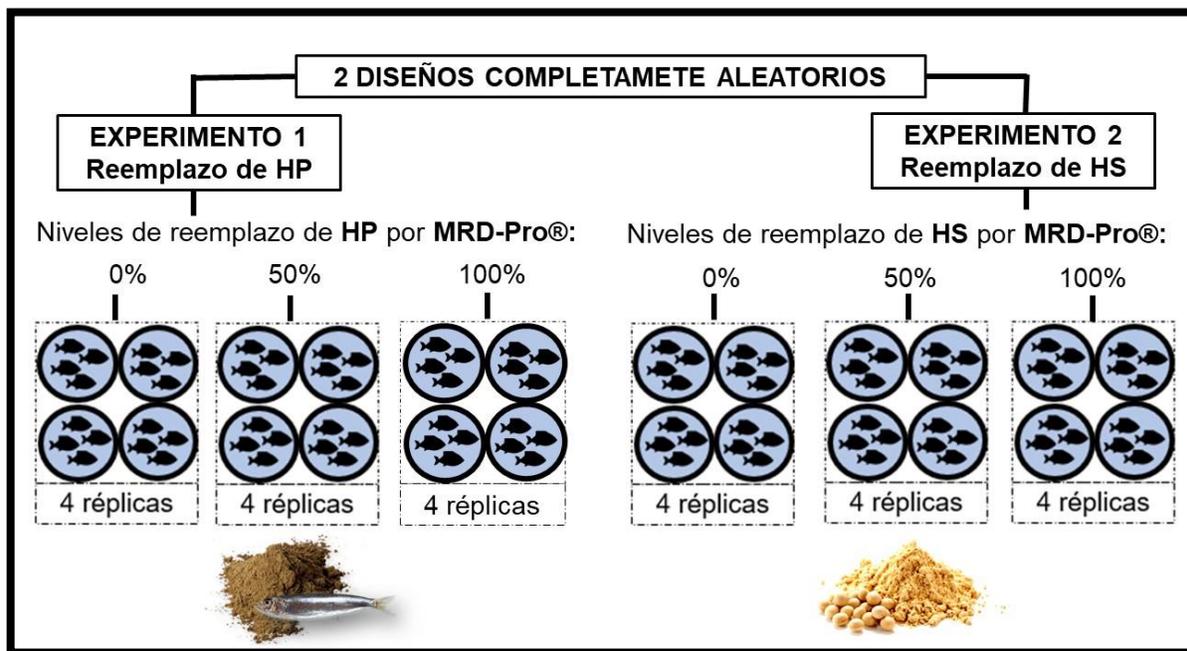


Figura 6. Diagrama del diseño experimental, tratamientos experimentales y réplicas por tratamiento. Abreviaciones: HP = harina de pescado; HS = harina de soya.

Tabla 3. Composición de ingredientes y proximal de dietas experimentales para tilapia del Nilo (*O. niloticus*) para el reemplazo de harina de pescado y harina de soya por harina de SCP bacteriano MRD-Pro®.

Ingredientes (% de la dieta)	EXPERIMENTO 1			EXPERIMENTO 2		
	Nivel de reemplazo de HP			Nivel de reemplazo de HS		
	(Control) 0%	50%	100%	(Control) 0%	50%	100%
Aislado de proteína de soya ¹	23.96	23.93	23.93	23.93	23.93	23.93
Harina de soya (48%) ¹	21.35	21.30	21.30	35.75	11.06	-
Harina de pescado ²	8.00	4.00	-	-	-	-
Harina de SCP bacteriano ³	-	4.25	8.50	-	14.50	21.00
Proteína de chícharo ⁴	7.60	7.60	7.60	7.60	7.60	7.60
Harina de trigo ⁵	12.30	11.715	11.115	5.285	15.28	19.735
Almidón de trigo ⁶	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Aceite de soya ⁷	9.00	9.06	9.12	9.25	9.025	8.875
Aceite de pescado ²	3.50	3.56	3.62	3.75	3.525	3.475
Lecitina de soya ⁸	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Premezcla de vitaminas y minerales ⁹	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
CaP dibásico ¹⁰	2.73	3.65	4.54	4.38	4.67	4.80
NaCl ¹⁰	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35
Metionina ¹¹	0.625	0.665	0.70	0.705	0.70	0.695
Lisina ¹¹	0.015	0.14	0.255	0.115	0.35	0.46
Vitamina C ¹²	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Celulosa ¹³	0.785	0.795	0.79	0.01	1.34	1.95
Tierra de diatomeas ¹⁰	2.685	1.855	1.05	1.745	0.54	-
Total (%)	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

¹Procesadora de ingredientes, S.A. de C.V., Guadalajara, Jalisco, México.

²Productos Pesqueros de Guaymas S.A. de C.V., Guaymas, Sonora, México.

³MRD-Pro®, 57.70% proteína cruda, 3.12% grasa cruda, Meridian Biotech, LLC, Tejas, EUA.

⁴HABACUQ Comercializadora Química S.A. de C.V., Guadalajara, Jalisco, México.

⁵Los Gallos, Molino La Fama S.A. de C.V., Hermosillo, Sonora, México.

⁶Gluten y Almidones Industriales, S.A. de C.V., Ciudad de México, México.

⁷Ragasa Industrias S.A. de C.V. Monterrey, Nuevo León, México.

⁸Golden Harvest, Impulsora Golden, S.A. de C.V., Ciudad de México, México.

⁹Rovimix, Insumos Nubiot, Obregón City, Sonora, México.

¹⁰Fagalab, Mocorito, Sinaloa, México.

¹¹Alfa, Aesar, Ward Hill, Massachusetts, EUA.

¹²Stay C® (L-ascorbyl-2-polyphosphate 35% active C), Roche Vitamins Inc., Parsippany, New Jersey, EUA.

¹³Sigachi Industries Pvt. Ltd., Madinaguda, Hyderabad, India.

Abreviaciones: HP = harina de pescado; HS = harina de soya; SPC = Proteína unicelular bacteriana.

Para la preparación de las dietas experimentales, los ingredientes fueron pesados y mezclados hasta lograr su homogenización. Posteriormente, se agregó agua hirviendo para obtener una mezcla húmeda apropiada para la peletización, misma que se realizó con un equipo extrusor Hobart A-200 (Hobart Corporation, Troy, OH, EUA). Los pellets se secaron con aire a contracorriente a 40°C durante 24 horas (Figura 7), para luego almacenarse en congelación hasta su uso.

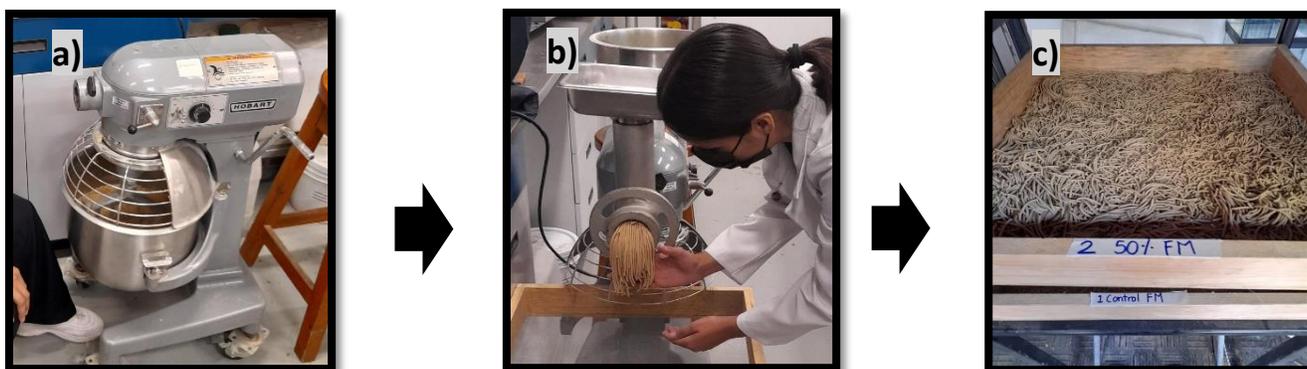


Figura 7. Preparación de las dietas experimentales: a) mezcla de ingredientes, b) producción de pellets en extrusor, c) secado de pellets.

Tabla 4. Composición de aminoácidos (g/100 g de dieta seca) de dietas experimentales para tilapia del Nilo (*O. niloticus*) con diferentes niveles de inclusión de harina de SCP bacteriano MRD-Pro® en sustitución de harina de pescado y de soya.

Aminoácidos (% de la dieta)	EXPERIMENTO 1			EXPERIMENTO 2		
	Nivel de reemplazo de HP			Nivel de reemplazo de HP		
	(Control) 0%	50%	100%	(Control) 0%	50%	100%
Aminoácidos esenciales						
Arginina	8.90	8.65	7.37	8.80	7.87	7.27
Histidina	1.97	2.10	2.65	3.10	2.57	2.00
Isoleucina	1.90	2.10	2.25	1.65	1.85	2.20
Leucina	3.30	3.20	3.07	3.30	3.50	3.75
Lisina	2.00	1.80	1.60	1.70	1.60	1.45
Metionina	1.30	1.50	1.65	1.37	1.43	1.60
Fenilalanina	1.55	1.70	2.05	1.55	1.70	1.90
Treonina	2.56	3.50	3.70	3.23	3.67	3.95
Valina	2.43	2.90	3.35	2.80	3.27	3.40
Aminoácidos no esenciales						
Alanina	3.05	2.90	2.75	2.70	2.95	3.25
Ácido aspártico	2.55	2.30	2.05	3.05	2.70	2.57
Ácido glutámico	5.10	4.93	4.55	5.10	4.80	4.60
Glicina	2.70	1.80	1.60	1.40	1.20	1.00
Serina	3.15	2.65	2.35	1.65	1.85	2.05
Taurina	2.15	1.93	1.77	1.45	1.40	1.40
Tirosina	2.13	2.07	2.03	1.93	2.35	2.53

Los valores son promedios de cuatro réplicas por tratamiento. Abreviaciones: HP = harina de pescado; HS = harina de soya; SPC = Proteína unicelular bacteriana.

IV.4. Siembra, alimentación y mantenimiento de los organismos

Se sembraron grupos de 10 peces en cada tanque de cultivo, seleccionadas aleatoriamente y con un peso global individual promedio de 0.12 g. La cantidad de peces en cada tanque fue equivalente a una densidad de siembra de 50 peces/m³.

El alimento del primer día de estudio correspondió a una ración equivalente al 10% del peso corporal húmedo grupal por tanque. A partir del segundo día y hasta la finalización del estudio los peces se alimentaron a saciedad aparente recibiendo tres porciones de alimento cada día, suministradas a las 07:30, 13:30 y 19:00 horas. Diariamente, antes de la primera

alimentación del día, las heces fueron retiradas mediante sifoneo para mantener una buena calidad del agua.

IV.5. Calidad del agua

Diariamente se realizaron mediciones de los siguientes parámetros de la calidad de agua: oxígeno disuelto, temperatura y salinidad utilizando un oxímetro multifuncional (YSI, Model Pro2030, Yellow Springs, OH, USA); también se midió el pH dos veces por semana con un potenciómetro (Meter pH/ISE, Thermo Scientific, Model Orion 4-Star pH/ISE, Beverly, MD, USA), así como las concentraciones de nitrógeno amoniacal total y nitritos con un espectrofotómetro Hach (Model DR3900, Loveland, CO, USA).

IV.6. Parámetros de producción

Al finalizar el experimento los organismos fueron colectados, contados, pesados grupalmente y colocados en bolsas etiquetadas individualmente por tanque, manteniéndolos en hielo con agua (aguanieve) para su transporte al Laboratorio de Nutrición Acuícola del DICTUS, Hermosillo, e inmediatamente después almacenarse en congelación para los análisis posteriores.

Los parámetros para evaluar el desempeño biológico y la eficiencia en el uso del alimento fueron los siguientes:

- Peso final (g) (PF).
- Peso ganado (g) (PG) = (peso final, g – peso inicial, g).
- Peso ganado diario (g/día) (PGD) = peso ganado, g / tiempo, días.
- Supervivencia (%) (SUP) = (No. final de organismos \times 100 / No. inicial de organismos).
- Tasa de crecimiento específico (%/día) (TCE) = $(\ln(\text{peso final/peso inicial}) \times 100) / \text{tiempo, días}$.
- Alimento consumido (g/individuo/día) = (alimento total consumido / total de individuos supervivientes) / días.

- Factor de conversión de alimento (FCA) = alimento consumido, g / peso ganado, g.
- Eficiencia alimenticia (EA) = peso ganado, g / alimento consumido, g.
- Factor de condición (K) = (peso, g / longitud³, cm).
- Tasa de eficiencia proteica (TEP) = (peso ganado, g / proteína cruda consumida, g).

IV.7. Análisis proximal

El análisis de composición proximal se realizó en el músculo de los peces en cuatro muestras compuestas por tratamiento, cada una consistió del músculo de 3 peces colectados aleatoriamente de cada tanque, mientras que, para las dietas experimentales, el análisis proximal se realizó por triplicado para cada tratamiento. El análisis proximal incluyó las determinaciones de humedad, ceniza, grasa, cruda y proteína cruda para músculo y dietas experimentales mostradas en la Tabla 5, y adicionalmente las determinaciones de fibra cruda y contenido de energía para las dietas experimentales.

Tabla 5. Composición proximal de dietas experimentales para tilapia del Nilo (*O. niloticus*) con diferentes niveles de inclusión de harina de SCP bacteriano MRD-Pro® en sustitución de harina de pescado y de soya.

	Humedad (%)	Ceniza (%)	Proteína cruda (%)	Grasa cruda (%)	Fibra (%)	Cont. Energía (kJ/g⁻¹)	ELN (%)
EXPERIMENTO 1							
Nivel de reemplazo de HP							
0% (Control)	5.42 ± 0.11	12.25 ± 0.08	45.37 ± 0.21	14.26 ± 0.19	2.02 ± 0.01	19.82 ± 0.74	20.64 ± 1.74
50%	5.41 ± 0.04	12.08 ± 0.08	45.17 ± 0.14	14.27 ± 0.16	2.52 ± 0.08	19.80 ± 0.40	20.54 ± 0.04
100%	6.28 ± 0.06	11.92 ± 0.01	45.31 ± 0.16	14.24 ± 0.12	2.86 ± 0.01	19.58 ± 0.41	19.38 ± 0.41
EXPERIMENTO 2							
Nivel de reemplazo de HS							
0% (Control)	6.17 ± 0.04	11.99 ± 0.04	45.02 ± 0.34	14.16 ± 0.22	1.69 ± 0.01	19.50 ± 0.12	21.48 ± 0.41
50%	7.43 ± 0.17	11.65 ± 0.02	44.14 ± 0.26	14.58 ± 0.27	2.34 ± 0.04	19.37 ± 0.01	19.96 ± 0.26
100%	5.57 ± 0.15	11.66 ± 0.03	43.82 ± 0.05	14.61 ± 0.22	2.68 ± 0.10	19.50 ± 0.01	21.48 ± 0.14

Los valores son promedios ± E.E. de tres réplicas por tratamiento. Abreviaciones HP = Harina de pescado, SPC = Proteína unicelular bacteriana; HS = Harina de soya; ELN = Extracto libre de nitrógeno.

IV.7.1. Humedad

El porcentaje de humedad fue determinado por el método cuantitativo gravimétrico 930.15 de la Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2005a). Se colocó aproximadamente 1 g de músculo o 2 g de dieta en un crisol y se secaron en un horno (IC602 - Yamato Scientific) durante 6 horas a una temperatura de 105°C (Figura 8). Los crisoles con la muestra seca se dejaron enfriar en un desecador por 30 minutos y se pesaron. El porcentaje de humedad se calculó con base en la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Humedad} = 100 - \frac{(\text{peso muestra seca} \times 100)}{\text{peso muestra húmeda}}$$



Figura 8. Proceso de secado: a) músculo de tilapia b) horno (IC602 - Yamato Scientific) c) crisoles con muestras secas.

IV.7.2. Ceniza

El porcentaje de ceniza se determinó siguiendo el método cuantitativo 942.05 (AOAC, 2005a). Los crisoles con muestra seca se incineraron en una mufla (Maeca Barnstead Thermolyne 62700, Modelo F62735, Dubuque, Iowa, EUA) a 550°C durante 6 horas (Figura 9). Los crisoles con la muestra incinerada se dejaron enfriar en un desecador por 30 minutos y se pesaron en una balanza analítica. El porcentaje de ceniza en la muestra se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{\text{Peso de la ceniza} \times 100}{\text{Peso de la muestra}}$$



Figura 9. Proceso de incineración: a) muestras de músculo seco, b) mufla (F62700-Thermolyne Furnace), c) ceniza de las muestras incineradas.

IV.7.3. Contenido de energía

El contenido de energía de las dietas experimentales se determinó por duplicado mediante un calorímetro adiabático por combustión de la muestra (Modelo IKA C5003, IKA-Werke GmbH, Staufen, Alemania), utilizando aproximadamente 1 g de cada dieta (Figura 10).

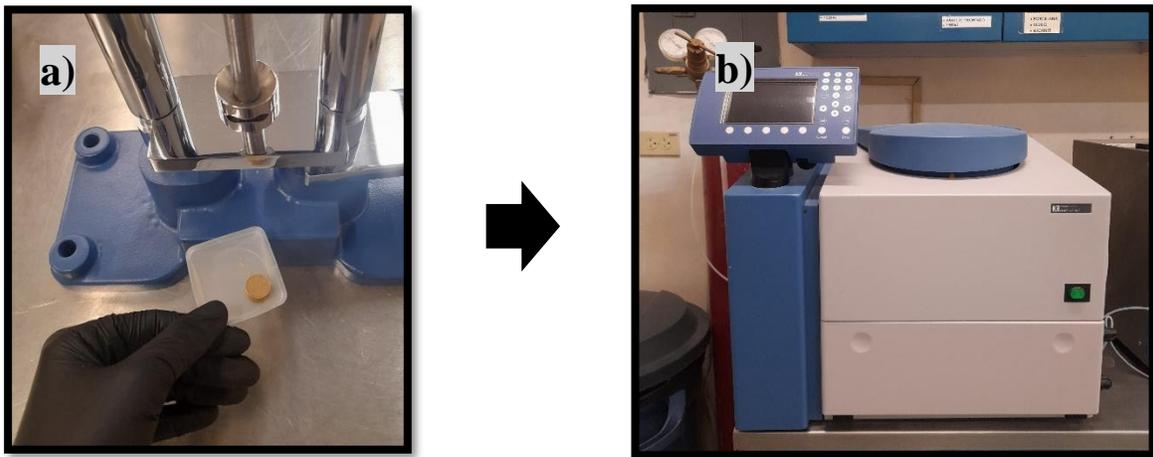


Figura 10. Determinación del contenido de energía de las dietas experimentales. a) Dieta compactada en forma de pastilla por la prensa de Brick, b) calorímetro IKA-Werke C5003.

IV.7.4. Contenido de fibra cruda

La determinación del contenido de fibra cruda en las dietas experimentales se realizó por duplicado siguiendo el método 978.10 WENDEE (AOAC, 2005b). Se pesaron aproximadamente 0.4 g de muestra seca para cada dieta y se colocó en un filtro utilizando el equipo analizador de fibra (Velp Scientifica FIWE). El proceso utiliza sulfúrico (H₂SO₄), metanol, lavados con agua desionizada, hidróxido de potasio (KOH), finalizando con lavado con agua desionizada y acetona. Los filtros se secaron, posteriormente se incineran en una mufla a 550°C por 3 horas. Después de enfriarlos se calcula el porcentaje de fibra cruda por diferencia de peso.

IV.7.5. Grasa cruda

El análisis de grasa cruda se realizó siguiendo el método descrito por Folch *et al.* (1957) homogenizando una muestra de aproximadamente 2 g en cloroformo/metanol (2:1), filtrando y separando la muestra en 2 fases. Posteriormente, el sobrenadante se remueve y una alícuota de 5 ml se llevó a completa evaporación con nitrógeno. Los tubos se pesaron nuevamente en una balanza analítica para calcular el porcentaje de grasa cruda por diferencia de peso.

IV.7.6. Proteína cruda

El análisis de proteína cruda se realizó mediante el método 986.06 (AOAC, 2005a) por combustión de la muestra en un analizador de nitrógeno DUMAS (Modelo 702 NDA, VELP Scientifica, Usmate, Italia) (Figura 11). El porcentaje de proteína cruda se determinó mediante la multiplicación del contenido de nitrógeno por el factor 6.25.



Figura 11. Analizador de nitrógeno DUMAS (Modelo 702 NDA).

IV.8. Perfil de aminoácidos

El perfil de aminoácidos de las dietas experimentales y muestras de músculo se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución o HPLC, por sus siglas en inglés (High performance liquid chromatography), de acuerdo con el método descrito por Vázquez-Ortiz *et al.* (1995). Se utilizaron las muestras previamente desgrasadas, aproximadamente 4.0 mg se hidrolizó en tubos de hidrólisis al vacío con ácido clorhídrico (HCl) durante 6 h a 150°C en un módulo de calentamiento (Thermo Scientific Reacti-Therm™ Heating Module, Modelo TS-18822). Las muestras se recuperaron y se evaporaron en un rotavapor (IKA HB 10 Digital, IKA Works Inc., Wilmington, NC, USA) a 65°C, realizando dos enjuagues. Al finalizar se suspendieron en un 1 mL de buffer de citrato de sodio (pH 2.2). Para la inyección en el HPLC, se utilizó 70 µL de muestra, 30 µL de estándar interno (ácido α -aminobutírico) y 100 µL de solución OPA, y se inyectó en la columna (Microsorb 100 C18, Agilent Technologies, Middleburg, Holanda) del cromatógrafo HPLC (Varian 9012, Walnut Creek, CA, USA), equipado con un detector de fluorescencia (Varian Pro-Star Fluorescence Detector) (Figura 12). Los aminoácidos se identificaron mediante comparación con los tiempos de retención de un estándar de aminoácidos (Cat. 20,088, Amino Acid Standard H,

Thermo Scientific Pierce, Bothell, WA, USA). Los valores se expresaron en g/100 g de dieta seca para las dietas experimentales, y g/100 g de tejido seco para muestras de músculo.

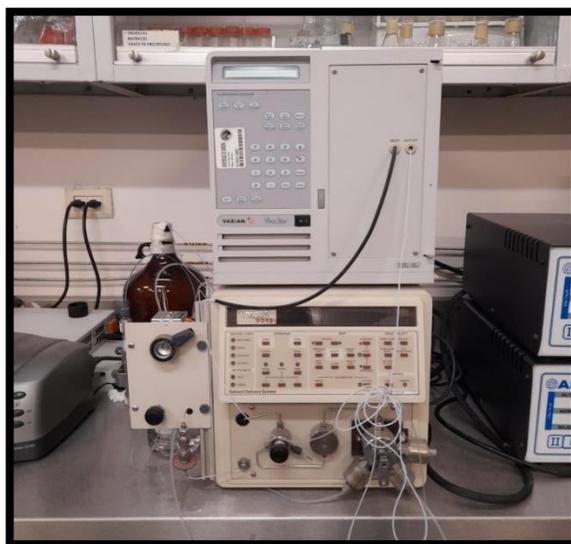


Figura 12. HPLC (Varian 9012, Walnut Creek, CA, USA).

IV.9. Análisis estadístico

Todos los análisis estadísticos se realizaron con el paquete estadístico SAS (*Statistical Analysis System*, Institute Inc., 2013, Software Release 9.4). La homocedasticidad y normalidad de los datos se evaluó con las pruebas de Bartlett y Shapiro-Wilk, respectivamente. Una vez que se confirmó que los datos cumplen con los supuestos de normalidad y homocedasticidad, se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía a todos los datos de parámetros de producción, análisis proximal y perfil de aminoácidos de los peces. Se utilizó un nivel de probabilidad de $P \leq 0.05$ para establecer diferencias significativas. Cuando se observaron diferencias significativas entre tratamientos, se utilizó la prueba de Tukey como método de separación por promedios.

V. RESULTADOS

V.1. Calidad del agua

Los valores promedio (\pm error estándar) de temperatura, concentración de oxígeno disuelto, salinidad, pH, así como las concentraciones de nitrógeno amoniacal total y nitritos para todo el periodo del experimento fueron de $29.05 \pm 0.09^\circ\text{C}$, $5.61 \pm 0.07 \text{ mg O}_2/\text{L}$, $0.21 \pm 0.06\%$, 8.07 ± 0.21 , $0.08 \pm 0.03 \text{ mg NH}_4\text{-N/L}$ y $0.05 \pm 0.02 \text{ mg NO}_2\text{-N/L}$, respectivamente. Las variaciones de estos parámetros de calidad del agua a través del tiempo de cultivo se presentan en las Figuras 13 y 14.

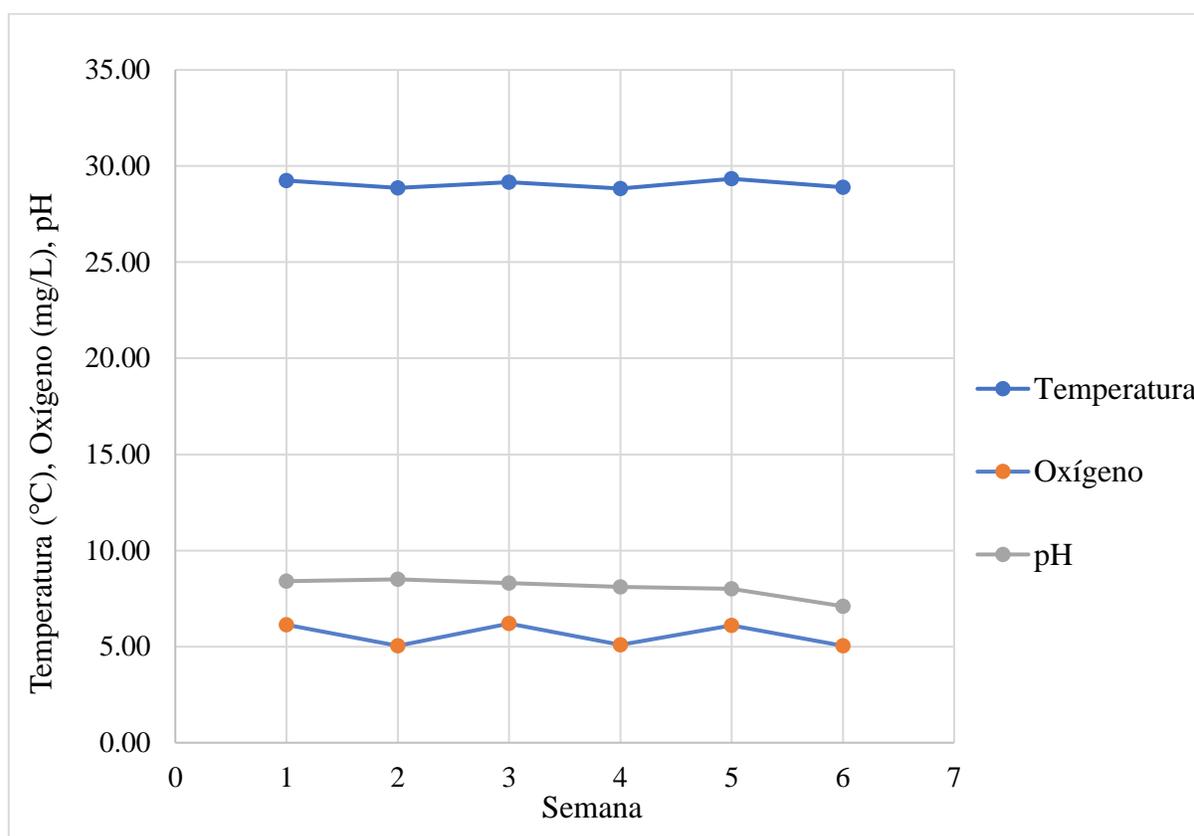


Figura 13. Valores promedio de temperatura, concentración de oxígeno disuelto y pH del agua de cultivo de *O. niloticus* durante el periodo experimental.

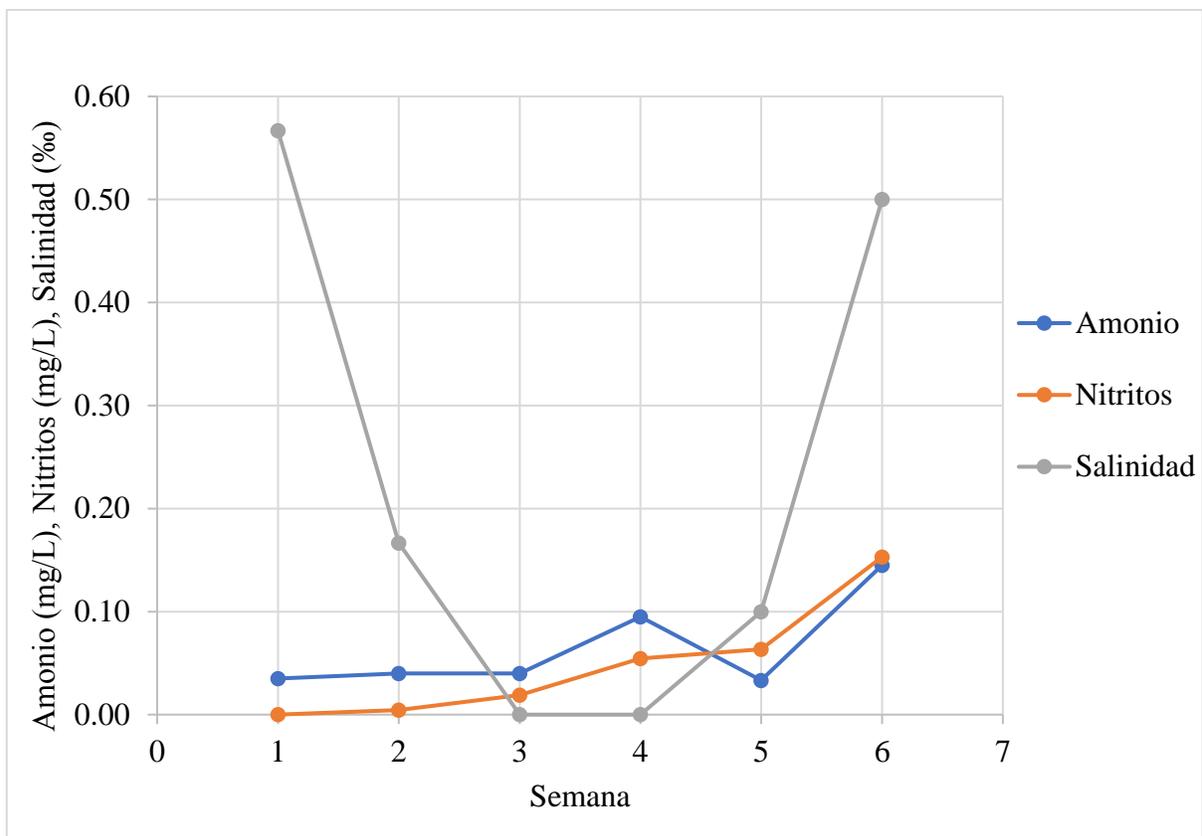


Figura 14. Valores promedio de la concentración de compuestos nitrogenados y salinidad del agua de cultivo de *O. niloticus* durante el periodo experimental.

V.2. Desempeño biológico y eficiencia en el uso del alimento

Los estudios dieron inicio con peces de peso homogéneo, sin diferencias significativas entre tratamientos ($P > 0.05$) (Tabla 6). Al concluir los estudios, en el Experimento 1, en el que se evaluó la sustitución de harina de pescado por harina de SCP bacteriano MRD-Pro®, no se detectaron diferencias estadísticas ($P > 0.05$) entre los peces alimentados con la dieta control y aquellos que recibieron la dieta con una sustitución de 50% de harina de pescado, en términos de todos los parámetros de crecimiento (peso final, peso ganado, porcentaje de peso ganado, ganancia diaria de peso y tasa de crecimiento específico). En comparación con las dos dietas anteriores, el reemplazo total de harina de pescado por MRD-Pro® provocó un decremento significativo ($P < 0.05$) en todos los parámetros de crecimiento (Tabla 6). Por ejemplo, pesos finales de 27.38 y 21.73 g para peces que consumieron las dietas control y 50% de reemplazo de harina de pescado, respectivamente, ambos significativamente mayores

($P = 0.0002$) que el de los peces en los que la harina de pescado fue reemplazada totalmente (10.57 g) (Tabla 6). La misma tendencia de un desempeño estadísticamente superior de las dietas control y 50% de reemplazo de harina de pescado, con respecto al reemplazo total, se observó para todos los parámetros de evaluación de la eficiencia en el uso del alimento (factor de conversión de alimento, eficiencia alimenticia y tasa de eficiencia proteica). Por ejemplo, valores de la tasa de eficiencia proteica de 1.81 g/g para peces de la dieta control y de 1.76 g/g para peces de la dieta de 50% de reemplazo, ambos significativamente mayores ($P = 0.0007$) que 1.13 g/g registrada en peces de la dieta de 100% de reemplazo (Tabla 6). El factor de condición disminuyó de manera significativa ($P = 0.0002$) a medida que se incrementó el nivel de reemplazo de harina de pescado, en el siguiente orden 2.15 (control) > 1.93 (50% reemplazo) > 1.71 (100% reemplazo) (Tabla 6). La supervivencia de los organismos osciló entre 73 y 95% y no se vio afectada por los tratamientos ($P = 0.0544$).

En el Experimento 2, en el que se sustituyó harina de soya por harina de SCP bacteriano MRD-Pro® en niveles de 0% (tratamiento control), 50% y 100%, no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos para los parámetros de crecimiento, evaluación de la eficiencia en el uso del alimento, factor de condición o supervivencia (Tabla 6). Sin embargo, cabe destacar que, en general, la magnitud de los valores de estos parámetros fueron inferiores numéricamente comparados con los del Experimento 1. Por ejemplo, el peso final en el Experimento 1 osciló entre 10.57 y 27.38 g y en el Experimento 2 varió de 7.40 a 12.61 g. Así mismo, la supervivencia en el Experimento 1 varió de 73 a 95%, mientras que en el Experimento 2 varió de 58 a 73%.

Tabla 6. Parámetros de producción de juveniles de tilapia (*O. niloticus*) alimentados con dietas con diferentes niveles de inclusión de harina de SCP bacteriano en sustitución de harina de pescado y de soya.

EXPERIMENTO 1				
Nivel de reemplazo de HP				
	(Control) 0%	50%	100%	ANOVA P > F
Peso inicial (g)	0.12 ± 0.00	0.12 ± 0.00	0.12 ± 0.00	0.2318
Peso final (g)	27.38 ^a ± 1.08	21.73 ^a ± 2.71	10.57 ^b ± 0.63	0.0002
Peso ganado (g)	27.26 ^a ± 1.08	21.61 ^a ± 2.71	10.45 ^b ± 0.63	0.0002
Porcentaje de peso ganado (%)	22720.54 ^a ± 891.04	18032.80 ^a ± 2223.76	8858.58 ^b ± 551.97	0.0002
Ganancia diaria de peso (g/día)	0.65 ^a ± 0.03	0.52 ^a ± 0.06	0.25 ^b ± 0.01	0.0002
Tasa de crecimiento específico (%/día)	12.92 ^a ± 0.09	12.33 ^a ± 0.30	10.69 ^b ± 0.15	<.0001
Supervivencia (%)	95.00 ± 5.00	93.00 ± 4.79	73.00 ± 8.54	0.0544
Alimento consumido (g/individuo/día)	0.78 ^a ± 0.04	0.64 ^{ab} ± 0.06	0.50 ^b ± 0.06	0.0206
Factor de conversión de alimento	1.20 ^b ± 0.01	1.26 ^b ± 0.05	1.99 ^a ± 0.24	0.0054
Eficiencia Alimenticia	0.84 ^a ± 0.01	0.80 ^a ± 0.03	0.53 ^b ± 0.06	0.0007
Tasa de Eficiencia Proteica (g/g)	1.84 ^a ± 0.02	1.76 ^a ± 0.06	1.13 ^b ± 0.14	0.0007
Factor de condición	2.15 ^a ± 0.03	1.93 ^b ± 0.06	1.71 ^c ± 0.04	0.0002

Tabla 6. Continuación.

EXPERIMENTO 2				
Nivel de reemplazo de HS				
	(Control) 0%	50%	100%	ANOVA <i>P</i> > <i>F</i>
Peso inicial (g)	0.12 ± 0.00	0.12 ± 0.00	0.12 ± 0.00	0.6798
Peso final (g)	12.71 ± 3.61	11.66 ± 1.84	7.40 ± 0.72	0.2936
Peso ganado (g)	12.61 ± 3.61	11.54 ± 1.84	7.28 ± 0.72	0.2936
Porcentaje de peso ganado (%)	10565.55 ± 3044.72	9658.97 ± 1552.81	6063.92 ± 630.65	0.2938
Ganancia diaria de peso (g/día)	0.30 ± 0.09	0.28 ± 0.04	0.18 ± 0.02	0.3042
Tasa de crecimiento específico (%/día)	10.87 ± 0.61	10.80 ± 0.43	9.78 ± 0.24	0.2161
Supervivencia (%)	58.00 ± 8.54	73.00 ± 11.81	73.00 ± 6.29	0.4364
Alimento consumido (g/individuo/día)	0.50 ± 0.11	0.56 ± 0.12	0.43 ± 0.03	0.6549
Factor de conversión alimenticia	1.97 ± 0.22	1.93 ± 0.13	2.38 ± 0.24	0.2748
Eficiencia Alimenticia	0.53 ± 0.07	0.53 ± 0.03	0.44 ± 0.04	0.3803
Tasa de Eficiencia Proteica (g/g)	1.12 ± 0.16	1.14 ± 0.09	0.93 ± 0.12	0.4822
Factor de Condición	1.60 ± 0.09	1.72 ± 0.01	1.68 ± 0.04	0.3830

Los valores son promedios ± E.E. de cuatro réplicas por tratamiento. Los promedios con superíndices diferentes en el mismo renglón son significativamente diferentes ($P < 0.05$). Abreviaciones HP = Harina de pescado, SPC = Proteína unicelular bacteriana; HS = Harina de soya.

V.3. Composición proximal del músculo de juveniles de tilapia

En el Experimento 1, los contenidos de proteína cruda y ceniza del músculo de los organismos no fueron afectados significativamente por el reemplazo de harina de pescado por harina de SCP bacteriano MRD-Pro® (Tabla 7). Sin embargo, para el contenido de grasa cruda se observó una tendencia de una disminución a medida que se incrementó el nivel de reemplazo, siendo los contenidos de grasa cruda de los peces alimentados con la dieta control (4.59%) y con 50% de reemplazo (4.48%) no diferentes entre sí, pero sí significativamente superiores al de los peces que recibieron la dieta con 100% de reemplazo (3.46%) (Tabla 7). Por el contrario, el contenido de humedad se incrementó de manera proporcional con el nivel de reemplazo, registrándose, para los peces que recibieron la dieta control y las dietas con 50% y 100% de reemplazo, valores de 75.36, 76.62 y 77.67%, respectivamente, sin existir diferencias estadísticas entre los primeros dos tratamientos. No obstante, el contenido de humedad de los peces alimentados con la dieta control fue significativamente menor al de peces alimentados con la dieta con 100% de reemplazo (Tabla 7).

En el Experimento 2, el reemplazo de harina de soya por harina de SCP bacteriano MRD-Pro® no afectó de forma significativa ninguno de los parámetros de la composición proximal (Tabla 7). Sin embargo, en comparación con el Experimento 1, se observaron algunas diferencias. Por ejemplo, los valores del contenido de grasa cruda en el Experimento 2, que variaron de 3.12 a 3.41%, fueron menores a los del Experimento 1, que variaron de 3.46 a 4.59% (Tabla 7).

Tabla 7. Composición proximal del músculo de juveniles de tilapia (*O. niloticus*) alimentados con dietas con diferentes niveles de inclusión de harina de SCP bacteriano en sustitución de harina de pescado y de soya.

	Proteína cruda (%)	Grasa cruda (%)	Humedad (%)	Ceniza (%)
EXPERIMENTO 1				
Nivel de reemplazo de HP				
0% (Control)	23.03 ± 0.46	4.59 ^a ± 0.19	75.36 ^b ± 0.11	1.18 ± 0.01
50%	22.95 ± 0.22	4.48 ^a ± 0.16	76.62 ^{ab} ± 0.51	1.12 ± 0.04
100%	23.19 ± 0.50	3.46 ^b ± 0.19	77.67 ^a ± 0.31	1.09 ± 0.04
ANOVA <i>P</i> > F	0.9163	0.0081	0.0039	0.2063
EXPERIMENTO 2				
Nivel de reemplazo de HS				
0% (Control)	23.48 ± 0.70	3.20 ± 0.18	76.39 ± 0.36	1.10 ± 0.03
50%	23.01 ± 0.29	3.41 ± 0.18	77.29 ± 0.39	1.14 ± 0.02
100%	23.37 ± 0.22	3.12 ± 0.06	77.49 ± 0.17	1.15 ± 0.04
ANOVA <i>P</i> > F	0.7529	0.4301	0.0861	0.4866

Los valores son promedios ± E.E. de cuatro réplicas por tratamiento. Los promedios con superíndices diferentes en el mismo renglón son significativamente diferentes (*P* < 0.05). Abreviaciones: HP = Harina de pescado; SPC = Proteína unicelular bacteriana; HS = Harina de soya.

V.4. Composición de aminoácidos del músculo de juveniles de tilapia

Se observaron efectos significativos del reemplazo de harina de pescado por harina de SCP bacteriano MRD-Pro® (Experimento 1) únicamente para los aminoácidos esenciales lisina y fenilalanina. En el caso de la lisina, no se detectaron diferencias estadísticas entre el contenido del músculo de los peces que consumieron la dieta control (2.15 g/100 g de tejido muscular seco) y los que consumieron la dieta con 50% de reemplazo (2.03 g/100 g). Sin embargo, ambos contenidos fueron significativamente mayores que el de los peces que recibieron la dieta con 100% de reemplazo (1.80 g/100 g) (Tabla 8). En el caso de la fenilalanina, los peces alimentados con la dieta control tuvieron un contenido significativamente mayor (4.28 g/100 g) que aquel de los peces que recibieron la dieta con 100% de reemplazo (2.13 g/100 g), pero no mayor al de los peces de la dieta con 50% de reemplazo (3.15 g/100 g) (Tabla 8). En el experimento 2, el perfil de ninguno de los aminoácidos del músculo de la tilapia, ya sea esenciales o no esenciales, se vio afectado significativamente por el reemplazo de harina de soya por harina de SCP bacteriano MRD-Pro® (Tabla 8). De manera general, puede observarse que la arginina fue el mayor constituyente cuantitativo del perfil de aminoácidos del músculo de los peces, oscilando entre 12.58 y 14.30 g/100 g en el experimento de reemplazo de harina de pescado por harina de SCP bacteriano MRD-Pro® (Experimento 1) y entre 14.43 y 15.53 g/100 g en el experimento de reemplazo de harina de soya por harina de SCP bacteriano MRD-Pro® (Experimento 2). Otros aminoácidos importantes cuantitativamente, pero en menor magnitud con respecto a la arginina, fueron la taurina, que varió de 8.20 a 9.50 g/100 g en el Experimento 1 y de 7.47 a 8.63 g/100 g en el Experimento 2, y la treonina, que varió de 6.20 a 10.00 g/100 g en el Experimento 1 y de 8.20 a 9.30 g/100 g en el Experimento 2 (Tabla 8).

Tabla 8. Composición de aminoácidos (g/100 g de tejido seco) de músculo de juveniles de *O. niloticus* alimentados con dietas con diferentes niveles de inclusión de harina de SCP bacteriano en sustitución de harina de pescado y de soya.

EXPERIMENTO 1				
Nivel de reemplazo de harina de pescado				
	0% (Control)	50%	100%	ANOVA <i>P</i> > F
Aminoácidos				
esenciales				
Arginina	12.58 ± 1.47	14.05 ± 2.39	14.30 ± 1.53	0.7803
Histidina	6.83 ± 1.10	6.50 ± 1.00	6.00 ± 0.84	0.8189
Isoleucina	3.03 ± 0.63	2.90 ± 0.20	2.80 ± 0.00	0.9636
Leucina	6.33 ± 1.18	6.10 ± 1.40	5.56 ± 0.25	0.8897
Lisina	2.15 ^a ± 0.05	2.03 ^a ± 0.03	1.80 ^b ± 0.06	0.0106
Metionina	2.70 ± 0.58	2.75 ± 0.05	2.80 ± 0.06	0.9876
Fenilalanina	4.28 ^a ± 0.36	3.15 ^{ab} ± 0.44	2.13 ^b ± 0.28	0.0076
Treonina	6.20 ± 0.64	8.30 ± 1.53	10.00 ± 1.10	0.1176
Valina	5.63 ± 1.23	5.43 ± 0.44	4.77 ± 0.09	0.7132
Aminoácidos no				
esenciales				
Alanina	6.08 ± 0.50	6.10 ± 0.32	6.15 ± 0.58	0.9937
Ácido aspártico	4.25 ± 0.51	3.80 ± 1.20	3.65 ± 0.12	0.6685
Ácido glutámico	9.63 ± 0.96	9.35 ± 0.71	8.80 ± 0.80	0.8273
Glicina	8.10 ± 1.06	6.40 ± 1.40	6.25 ± 1.15	0.5047
Serina	4.15 ± 0.78	2.60 ± 0.31	2.40 ± 0.12	0.0615
Taurina	8.20 ± 0.31	9.20 ± 0.60	9.50 ± 0.65	0.2609
Tirosina	4.63 ± 1.03	5.30 ± 0.32	5.45 ± 1.09	0.8014

Tabla 8. Continuación.

EXPERIMENTO 2				
Nivel de reemplazo de harina de soya				
	0% (Control)	50%	100%	ANOVA <i>P</i> > F
Aminoácidos				
esenciales				
Arginina	15.53 ± 1.10	15.47 ± 0.12	14.43 ± 1.07	0.6391
Histidina	5.55 ± 0.21	6.63 ± 0.99	6.83 ± 0.27	0.3237
Isoleucina	2.93 ± 0.62	3.35 ± 0.05	3.73 ± 0.81	0.6998
Leucina	5.70 ± 0.91	5.90 ± 0.76	6.68 ± 0.94	0.7171
Lisina	2.00 ± 0.06	1.93 ± 0.03	1.98 ± 0.34	0.9833
Metionina	3.23 ± 0.14	2.90 ± 0.00	3.03 ± 0.46	0.7496
Fenilalanina	2.88 ± 0.60	3.30 ± 0.00	2.87 ± 1.12	0.3725
Treonina	8.20 ± 0.20	9.10 ± 0.30	9.30 ± 1.20	0.5803
Valina	5.88 ± 0.51	5.30 ± 0.60	5.27 ± 0.81	0.7496
Aminoácidos no				
esenciales				
Alanina	7.30 ± 0.79	7.43 ± 0.56	7.50 ± 1.40	0.9875
Ácido aspártico	4.43 ± 0.25	3.88 ± 0.39	3.75 ± 0.42	0.4041
Ácido glutámico	8.30 ± 1.11	7.88 ± 0.25	6.73 ± 0.14	0.2701
Glicina	6.23 ± 0.94	5.83 ± 1.56	5.57 ± 1.60	0.9448
Serina	3.57 ± 0.47	3.45 ± 0.25	3.53 ± 0.77	0.9917
Taurina	8.63 ± 0.41	8.13 ± 0.89	7.47 ± 0.09	0.5378
Tirosina	3.70 ± 0.60	3.45 ± 0.15	2.73 ± 0.42	0.3441

Los valores son promedios ± E.E. de cuatro réplicas por tratamiento. Los promedios con superíndices diferentes en el mismo renglón son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

VI. DISCUSIÓN

VI.1. Calidad del agua

Los valores de temperatura, concentración de oxígeno disuelto y pH del agua del sistema de cultivo se comportaron estables (Figura 13), los cuales se mantuvieron dentro de los rangos recomendados para el cultivo de tilapia del Nilo (Worthington, 1932; Morales-Díaz, 1974; El-Sayed, 2006). En cuanto a las concentraciones de los compuestos nitrogenados, tanto el nitrógeno amoniacal total como los nitritos se mantuvieron dentro de un intervalo entre 0.0 y 0.3 mg/L (Figura 14), concentraciones bajas que no representan un riesgo para la salud de esta especie (El-Sayed, 2006; Santos *et al.*, 2013). La salinidad del agua varió de 0.20 a 0.5‰, siendo este intervalo aceptable para el desarrollo del cultivo (El-Sayed, 2006). En resumen, puede afirmarse que el presente estudio se llevó a cabo bajo condiciones adecuadas de calidad del agua.

VI.2. Desempeño biológico y eficiencia en el uso del alimento

En el Experimento 1, en el que se evaluó la sustitución de harina de pescado por harina de SCP bacteriano MRD-Pro®, se pone de manifiesto el valor nutricional de este ingrediente alternativo en dietas de iniciación para juveniles de tilapia del Nilo, indicando que es factible sustituir hasta el 50% de la harina de pescado sin alterar el crecimiento, la eficiencia en el uso del alimento o la supervivencia. Tomando en cuenta la gran importancia comercial de la tilapia en acuicultura, es un tanto sorprendente que la literatura sobre el uso de harina de SCP bacteriano en la dieta de esta especie no sea muy abundante. El primer antecedente del uso de este tipo de ingredientes es el estudio de Viola y Zohar (1984), quienes también lograron reemplazar el 50% de la harina de pescado por harina de SCP de la bacteria *Methylophilus methylotrophus* en la dieta de tilapia. Por su parte, Davies y Wareham (1988) incorporaron harina de SCP de la bacteria *M. glutamicus* en niveles de 0 (control), 5, 10, 15 y 20% de la dieta de tilapia, encontrando resultados adecuados al utilizar hasta 10% de este ingrediente, pero observando una disminución significativa del crecimiento al utilizar niveles mayores. Subsecuentemente, Banerjee *et al.* (2000) incorporaron harina de SCP de la bacteria *Rhodovulum sulfidophilum* a un alimento balanceado comercial, el cual primero fue molido y luego peletizado nuevamente junto con la harina de SCP en una proporción 1:2 alimento

balanceado:harina de SCP (peso:peso), reportando que esta mezcla mejoró el crecimiento de la tilapia, en comparación con el alimento comercial solo (control). En otro estudio, Schneider *et al.* (2004) observaron crecimientos similares de tilapias alimentadas ya sea con una harina de SCP consistente de una mezcla de levadura y de la bacteria *Lactobacillus* sp., agregada a un nivel único de 15% de la dieta, o una dieta control. Recientemente, Hamunjo-Chama *et al.* (2021) utilizaron niveles de inclusión de 0 (control), 1.7, 3.4, 5.1, 6.8 y 8.5% de harina de SCP de la bacteria *Methylococcus capsulatus* en reemplazo de harina de pescado en la dieta de tilapia. Todos los niveles de reemplazo produjeron crecimiento adecuado y se observó que la harina de SCP bacteriano mejoró la respuesta inmune de los peces. Finalmente, en un par de estudios también recientes, Maulu *et al.* (2021a, b) alimentaron tilapias con harina de SCP de la bacteria *Clostridium autoethanogenum*, agregada en niveles de 0 (control), 5, 10, 15 y 20% de la dieta. Todos los niveles de inclusión de harina de SCP utilizados produjeron mejor crecimiento comparados con la dieta control, que contenía harina de soya como fuente principal de proteína. Sin embargo, la absorción intestinal de nutrientes y la respuesta inmune de los peces se vieron afectados negativamente a niveles de inclusión de SCP superiores a 10%. En su totalidad, los estudios anteriores revelan que la harina de SCP bacteriano es un útil y efectivo ingrediente en la dieta de la tilapia como alternativa a la harina de pescado, pero que existe un límite en su nivel de inclusión, ya que en general el crecimiento de la tilapia disminuyó al exceder 20% de la dieta. En el presente estudio, tomando en cuenta que la dieta control contenía un nivel basal de harina de pescado de 8%, el remplazo exitoso del 50% de este componente corresponde a un nivel de inclusión de harina de SCP bacteriano de 4.25% (nivel que es mayor numéricamente debido a que se reemplazó con base en el contenido de proteína de los ingredientes), que puede parecer relativamente bajo comparado con el recientemente mencionado límite de 20% para estudios previos con esta especie. Sin embargo, es importante considerar que el enfoque del presente estudio fue diseñar dietas de iniciación, es decir, dietas para peces en etapa muy temprana de desarrollo, con un peso inicial promedio de 0.12 g, mientras que en los estudios previos se utilizaron peces de mayor talla, con pesos iniciales que oscilaron entre 0.70 a 55 g. Una excepción es el estudio de Banerjee *et al.* (2000), quienes utilizaron larvas de tilapia (0.078 g), pero cuyo diseño de dietas tuvo serias deficiencias al tratarse de un alimento balanceado comercial (control) que fue molido y luego peletizado nuevamente junto con harina de SCP

bacteriano en una proporción 1:2 (alimento balanceado:harina de SCP). De acuerdo con los autores, esta manipulación mejoró el crecimiento de la tilapia. Sin embargo, las dietas resultantes no fueron ni isoproteicas ni isolipídicas y tampoco tuvieron una misma cantidad de fibra cruda, por lo que el diseño no sistemático de este estudio obliga a tomar con muchas reservas los resultados observados. Remitiéndonos nuevamente a las diferencias en las tallas de peces utilizados en este y los estudios previos, es bien conocido que los requerimientos nutricionales de proteína y aminoácidos en la dieta son más altos en peces jóvenes y que disminuyen paulatinamente con la edad. Por ejemplo, para dietas de iniciación en tilapia, el requerimiento de proteína cruda (35->50%) es mayor que en juveniles (30-40%) y adultos (20-30%) (El-Sayed, 2004). En vista de las mayores exigencias nutricionales de la talla de peces empleados en el presente estudio, no es sorprendente que hayan tolerado un relativamente menor nivel de inclusión de harina de SCP bacteriano en su dieta. Lejos de ser poco prometedores, estos resultados son alentadores, ya que reemplazar el 50% de la costosa harina de pescado por harina de SCP puede representar ahorros significativos en el costo de producción del alimento, tomando en cuenta que la harina de pescado sigue utilizándose, en niveles que van de 3 a 10%, en alimentos balanceados comerciales para tilapia, especialmente durante las primeras etapas del cultivo (Sarker *et al.*, 2020). Y lo que es probablemente más importante, la harina de SCP bacteriano representa un ingrediente alternativo de baja huella ecológica, *i.e.*, de bajo impacto en cuanto al área biológicamente productiva y agua necesarias para su producción (Matassa *et al.*, 2016), al mismo tiempo que se reduce la dependencia en la harina de pescado, un insumo ecológicamente insostenible (Tacon y Metian, 2008). En cuanto al uso de harina de SCP bacteriano para otras especies de peces, se han reportado resultados comparables. Por ejemplo, para el salmón del Atlántico (*Salmo salar*) se han podido incorporar harina de SCP bacteriano en niveles desde 4.0 hasta 36.0% de la dieta, en sustitución de harina de pescado, sin alterar el crecimiento (Storebakken *et al.*, 1998, 2004; Berge *et al.*, 2005; Aas *et al.*, 2006a). Para la trucha arcoíris (*O. mykiss*), la harina de pescado ha sido sustituida con buenos resultados de crecimiento agregando niveles de SCP bacteriano de 4 a 28% de la dieta (Kaushik y Luquet, 1980; Kiessling y Askbrandt, 1993; Aas *et al.*, 2006b; Zamani *et al.*, 2020). Para los peces planos turbot (*Scophthalmus maximus*) y halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) se han utilizado exitosamente niveles de harina de SCP bacteriano de 9 a 18.37% para reemplazar harina de pescado en la dieta. Otras especies de

peces en las que ha sido posible reemplazar parcialmente la proteína en la dieta por harina de SCP bacteriano incluyen a la carpa común (*Cyprinus carpio*), la lobina (*M. salmoides*), el jurel (*Seriola quinqueradiata*), el barramundi (*Lates calcarifer*) y el sargo (*Acanthopagrus schlegelii*) (Delamare-Deboutteville *et al.*, 2019; Biswas *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2021; Xu *et al.*, 2021; Yu *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2022; Zhu *et al.*, 2022).

Es conveniente resaltar que los buenos resultados obtenidos en el uso de harina de SCP bacteriano en dietas para tilapia y otras especies de peces obedecen a una serie de características positivas de este tipo de ingredientes. En general, las harinas de SCP bacteriano se caracterizan por su elevado contenido de proteína cruda (50-80% del peso seco) y bajo contenido de grasa cruda, así como por un perfil de aminoácidos que a menudo incluye a todos los aminoácidos esenciales, además de una alta digestibilidad y un amplio contenido de vitaminas y minerales (Øverland *et al.*, 2010; Suman *et al.*, 2015; Garimella *et al.*, 2017; Glencross *et al.*, 2020; Bratosin *et al.*, 2021). Por otro lado, como se ilustró en los diversos estudios previos, el crecimiento y desempeño de los peces disminuye al exceder ciertos límites máximos de inclusión de harinas de SCP bacterianos en la dieta, sugiriendo que también existen algunas características nutricionales negativas en estos insumos, siendo una de ellas la alta concentración de ácidos nucleicos, considerado un factor antinutricional por algunos autores (Pereira *et al.*, 2022). Aunque los ácidos nucleicos han sido objeto de interés por sus posibles efectos nutracéuticos, mejorando el crecimiento y respuesta inmune de peces al ser añadidos en la dieta en bajas concentraciones, *e.g.*, 500 mg/kg de alimento (Pelusio *et al.*, 2023), su presencia en cantidades altas ha despertado preocupación, sobre todo para consumo humano, porque pueden provocar un incremento y precipitación de ácido úrico en plasma que, a su vez, puede originar gota y cálculos renales y reacciones alérgicas (Nasseri *et al.*, 2011; Pereira *et al.*, 2022). En efecto, las harinas de SCP bacteriano ostentan los valores más altos en su contenido de ácidos nucleicos (15 a 16%), en comparación con otras fuentes de harinas de SCP como, por ejemplo, levaduras (7.1 a 12%) o microalgas (3 a 8%) (Nasseri *et al.*, 2011; Jannathulla *et al.*, 2021). Si bien es cierto que las concentraciones de ácidos nucleicos en harinas de SCP bacteriano puede disminuirse mediante tratamiento térmico o hidrólisis, con los que es posible volverlas aptas para consumo humano (Yazdian *et al.*, 2005), esto implica un incremento en su costo de producción (Bratosin *et al.*, 2021). Otra desventaja potencial de las harinas de SCP bacteriano es su palatabilidad. De acuerdo con

Pereira *et al.* (2022), para algunas harinas de SCP, ciertos aminoácidos como la metionina y lisina aparecen en proporciones muy distintas a las de la harina de pescado, de manera que su palatabilidad no es la misma que la de la harina de pescado. Por su parte, Jones *et al.* (2020) también manifiestan que existe una menor palatabilidad de las harinas de SCP bacteriano. A este respecto, Hardy *et al.* (2018) observaron una ligera reducción del crecimiento de la trucha arcoíris al incrementar, de 5 a 10% de la dieta, el nivel de inclusión de harina de SCP de la bacteria *Methylobacterium extorquens*. Los organismos que recibieron la dieta con 10% de SCP mostraron una clara reducción en el consumo de alimento, que fue atribuida a una menor palatabilidad. Esta es también una explicación factible del reducido crecimiento observado en el Experimento 1 del presente estudio, ya que se observó una reducción progresiva significativa del consumo de alimento en respuesta al incremento del nivel dietario harina de SCP bacteriano. Como lo sugirieron Hardy *et al.* (2018) en su estudio, la menor palatabilidad de harinas de SCP bacteriano podría contrarrestarse mediante la incorporación de aditivos atrayentes para alimentos balanceados, algo que debe ser tomado en cuenta en futuros estudios. Finalmente, no puede dejar de mencionarse que algunas especies de bacterias producen toxinas, que pueden ser liberadas al exterior (exotoxinas) o acumularse dentro de la propia bacteria (endotoxinas). Pueden mencionarse los casos de las bacterias *Pseudomonas* spp. y *Methylomonas methanica*, que han sido evaluadas como fuente de harina de SCP, pero que producen endotoxinas capaces de producir cuadros febriles en el hombre, pudiendo destruirse dichas toxinas, afortunadamente, mediante tratamiento térmico (Rudravaram *et al.*, 2009). En todo caso, para cada nueva especie de microorganismo con potencial como fuente de SCP, se recomienda realizar análisis toxicológicos para verificar la viabilidad de su uso (Yabaya y Ado, 2008). En su conjunto, los potenciales aspectos nutricionales negativos de las harinas de SCP bacteriano descritos anteriormente explican por qué existen límites máximos de inclusión en alimentos para peces. Lo anterior aplica igualmente a los resultados de crecimiento del Experimento 2 del presente estudio, cuya finalidad fue incorporar mayores cantidades de harina de SCP bacteriano MRD-Pro® en la dieta en sustitución de harina de soya, alcanzando niveles de inclusión de SCP de 0 (control), 14.5% (50% de reemplazo) y hasta 21.0% (100% de reemplazo). Tomando en cuenta que en el Experimento 1 los peces no toleraron más de 4.25% de harina de SCP en la dieta, es razonable que los niveles de inclusión de SCP de 14.5 y 21.0% hayan provocado un

pobre crecimiento. Debe mencionarse también que la dieta control (sin harina de SCP) del Experimento 2, a pesar de cumplir con los requerimientos nutricionales cuantitativos para la tilapia, tanto en términos de proteína como de aminoácidos esenciales, grasa cruda, vitaminas y minerales, no produjo un crecimiento adecuado. En dicha dieta se utilizaron harina y aislado de proteína de soya como principal fuente de proteína, alcanzando en combinación un nivel de 61.68%. La inclusión de altos niveles dietarios de soya para peces, sobre todo carnívoros, conlleva un riesgo dados los diversos factores antinutricionales de este ingrediente, tales como los inhibidores de proteasas, lectinas, ácido fítico, saponinas, fitoestrógenos, antivitaminas y fitoesteroles (Francis *et al.*, 2001). Sin embargo, dada la naturaleza omnívora de la tilapia, se esperaba que los organismos pudieran haber aprovechado adecuadamente esta fuente de proteína, pero es evidente que, al menos para tilapias en etapa temprana de desarrollo, los factores antinutricionales de la soya ejercen fuertemente sus efectos e inhiben el crecimiento. En las dos dietas subsecuentes de este experimento (con 14.5 y 21.0% SCP), los factores antinutricionales de la soya y de la propia harina de SCP bacteriano probablemente actuaron de forma conjunta para determinar el pobre crecimiento observado.

En lo concerniente a el uso del alimento en el Experimento 1 del presente estudio, los resultados reflejaron lo observado en el desempeño en crecimiento, es decir, los peces alimentados con la dieta control y con la dieta con 50% de reemplazo de harina de pescado por harina de SCP bacteriano MRD-Pro®, tuvieron un desempeño significativamente mejor que los peces que recibieron la dieta con reemplazo total. Los valores del FCA, EA, TEP y alimento consumido de los peces que consumieron las dietas control y con 50% de reemplazo de harina de pescado, oscilaron entre 1.20-1.26, 0.80-0.84, 1.76-1.84 g/g y 0.64-0.78 g/individuo/día, respectivamente, mientras que para los peces que recibieron la dieta con reemplazo de 100% fueron de 1.99, 0.53, 1.13 g/g y 0.50 g/individuo/día, respectivamente. En general, los valores cuantitativos aquí registrados para los diversos parámetros son similares a los obtenidos en otros estudios donde se ha observado crecimiento adecuado al sustituir parcialmente la harina de pescado por harina de SCP bacteriano en dietas para tilapia. Por ejemplo, valores de FCA que rondan entre 0.84 y 1.86, valores de TEP de 1.64-1.72 (Davies y Wareham, 1988; Schneider *et al.*, 2004; Hamunjo-Chama *et al.*, 2021). Se considera que, para la eficiencia alimenticia, que puede variar en valores mínimo de 0 y

máximo de 1, es recomendable obtener valores superiores a 0.50 (Zafra *et al.*, 2019), observándose en el presente estudio valores muy aceptables entre 0.80 y 0.84. Con respecto a la supervivencia observada en el Experimento 1 del presente estudio, ésta fue nuevamente un reflejo del adecuado crecimiento producido por la dieta control y la dieta con 50% de reemplazo de harina de pescado, con altos valores de supervivencia (93 a 95%), disminuyendo a 73% al realizar el reemplazo total. Se han observado altas tasas de supervivencia (92 a 100%) en otros estudios en los que se ha obtenido buen crecimiento al reemplazar parcialmente harina de pescado por harina de SCP bacteriano en dietas para tilapia (Banerjee *et al.*, 2000; Schneider *et al.*, 2004; Hamunjo-Chama *et al.*, 2021). En cuanto al factor de condición, K, las diferencias observadas siguieron nuevamente la misma tendencia que los resultados de crecimiento; mejor para la dieta control (2.15) y la dieta con 50% de reemplazo (1.93), y disminuyendo significativamente para la dieta con 100% de reemplazo (1.71). El factor de condición es una estimación del grado de robustez física de los peces, por lo que es de esperarse que haya reflejado los resultados de crecimiento. No se encontraron valores de K reportados para tilapia en otros estudios en los que se haya empleado harina de SCP bacteriano. El único antecedente es el del estudio de Millanes-Mora (2021), quien reportó valores de K de entre 2.18 y 2.55 para juveniles alimentados con distintos niveles de harina de mosca solado negro, siendo estos valores ligeramente mayores a los obtenidos en el Experimento 1 del presente estudio (1.71 a 2.15).

En el Experimento 2 del presente estudio, los parámetros que evalúan el uso del alimento, además de la supervivencia y el factor de condición, muestran valores bajos en general y son reflejo del pobre desempeño en crecimiento de los peces al recibir cualquiera de las tres dietas (0 (control), 50 y 100% de reemplazo). Estos resultados obedecen a los factores antinutricionales de la soya y de la propia harina de SCP bacteriano, pero, además, a otros factores derivados del análisis de la composición proximal del músculo de los peces, como se describe en la sección subsecuente.

VI.3. Composición proximal del músculo de juveniles de tilapia

El reemplazo total de harina de pescado por harina de SCP bacteriano MRD-Pro®, evaluado en el Experimento 1, originó un incremento significativo del contenido de humedad (77.67%) y una disminución significativa en el contenido de grasa cruda (3.46%) en el músculo de los peces, con respecto a la dieta control (75.36% de humedad y 4.59% de grasa cruda), mientras que los peces alimentados con un reemplazo de 50% tuvieron valores intermedios (76.62% de humedad y 4.48% de grasa cruda). Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Davies y Wareham (1988), quienes al sustituir hasta el 40% de la harina de pescado en la dieta de juveniles de tilapia por harina de SCP de la bacteria *M. glutamicus*, observaron que el contenido de grasa cruda disminuyó, aunque, contrariamente, el contenido de humedad también disminuyó. La disminución significativa en el contenido de grasa cruda, acompañada de un incremento del contenido de humedad, como consecuencia del consumo de altos niveles de harina de SCP bacteriano, ha sido reportado para diversas especies de peces como la trucha arcoíris (*O. mykiss*), el jurel (*S. quinquerediata*), la lobina (*M. salmoides*) y turbot (*S. maximus*) (Biswas *et al.*, 2020; Zamani *et al.*, 2020; Yang *et al.*, 2022; Zheng *et al.*, 2023). Este fenómeno ha sido reportado, mostrando numéricamente las mismas tendencias, aunque sin diferencias estadísticas, para el salmón del Atlántico (*S. salar*) (Berge *et al.*, 2005), el halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) (Aas *et al.*, 2007) y el sargo (*A. schlegelii*) (Chen *et al.*, 2019). Por otro lado, Zhang *et al.* (2022) no observaron el mismo efecto de disminución de grasa cruda y aumento de humedad en músculo de juveniles de lobina (*M. salmoides*) al incluir 21.5% de harina de la bacteria *M. capsulatus*, en sustitución de 54.35% de harina de pescado. No obstante, como puede advertirse, son más los casos en que dicho fenómeno ha podido observarse, y una posible explicación al mismo es la reducción en el consumo de alimento, generalmente asociado a la deficiente palatabilidad al utilizar altos niveles dietarios de SCP bacteriano, que obliga a los organismos a utilizar sus reservas de lípido. Una mayor evidencia experimental para explicar el fenómeno fue aportada por Chen *et al.* (2022), quienes observaron, para el camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*), que al reemplazar el 30% de harina de pescado por harina de SCP de la bacteria *M. capsulatus*, ocurrió una disminución significativa en la expresión del gen ácido graso sintasa (*fas*) y un incremento significativo de la expresión del gen carnitina palmitoiltransferasa 1 (*cpt-1*), cuyas enzimas resultantes se encargan de la síntesis de ácidos grasos para el primero,

y de la oxidación de ácidos grasos para el segundo. Es decir, la harina de SCP bacteriano tiene, de forma concomitante, un efecto lipolítico y una disminución de la actividad lipogénica, que resulta de forma conjunta en la disminución del contenido de grasa. La adición directa de L-carnitina al alimento de la tilapia de Mozambique (*Oreochromis mossambicus*) y lobina (*M. salmoides*) redujo el contenido de grasa cruda en ambas especies, confirmando el efecto lipolítico de esta enzima en peces de cultivo. Por lo tanto, el uso de harina de bacteria en las dietas debe controlarse dentro de un rango razonable, o complementarse con alguna fuente lipídica, para mejorar el almacenamiento de lípidos en los peces (Chen *et al.*, 2022).

En el experimento 2, la composición proximal del músculo de los organismos no reveló diferencias estadísticas entre tratamientos para ninguna de las evaluaciones (proteína cruda, grasa cruda, humedad o cenizas). Sin embargo, en comparación con el Experimento 1, se observó que el contenido de grasa cruda fue aún menor, variando de 3.46 a 4.59% en el Experimento 1 y de solamente 1.10 a 1.15% en el Experimento 2. Este resultado puede atribuirse al bajo consumo de alimento de las tres dietas (0 [control], 50 y 100% de reemplazo) y a las propiedades lipolítica y de disminución de la actividad lipogénica de la harina de SCP bacteriano, ya que fue utilizada en niveles más altos. En el caso de la dieta control de este experimento, sin harina de SCP, pero con un alto contenido de ingredientes provenientes de soya (61.68%; harina + aislado de proteína de soya), los inhibidores de la lipasa (que reducen el aprovechamiento de los lípidos de la dieta) presentes en la soya (Wang y Huang, 1984), aunado a los demás factores antinutricionales (referidos anteriormente) que contiene, y al bajo consumo de alimento, pudieron haber contribuido al resultado.

VI.4. Composición de aminoácidos del músculo de juveniles de tilapia

En el Experimento 1, los contenidos de lisina y fenilalanina en el músculo de los organismos disminuyeron significativamente, con respecto a la dieta control, al realizar el reemplazo total de harina de pescado por harina de SCP bacteriano MRD-Pro®, resultados que concuerdan con la reducción significativa del crecimiento de los peces al incrementar el nivel de inclusión de SCP. Un resultado similar fue reportado por Davies y Wareham (1988), quienes también detectaron una disminución significativa del crecimiento de tilapia (aunque en peces de

mayor talla inicial, 1.4 g vs. 0.12 g en el presente estudio), cuando el nivel dietario de harina de SCP de la bacteria *M. glutamicus* excedió 10% de la dieta. En aquel estudio, el resultado es atribuible a una reducción progresiva de los contenidos de los aminoácidos esenciales lisina y metionina en la dieta, conforme se incrementó el nivel de incorporación de SCP, tomando en cuenta que en dichas dietas los niveles de estos aminoácidos (0.89-0.95 g/100 g de dieta seca para lisina y 0.34-0.36 g/100 g de dieta seca para metionina) se encontraron por debajo de los requerimientos mínimos recomendados por Santiago y Lovell (1988) para esta especie, que son de 1.43 y 0.75 g/100 g de dieta seca para lisina y metionina, respectivamente. En el Experimento 1 del presente estudio, se cubrieron plenamente los requerimientos cuantitativos de todos los aminoácidos esenciales descritos para la especie (Santiago y Lovell, 1988). De hecho, como puede apreciarse en la composición de ingredientes de las dietas (Tabla 3), se utilizaron niveles suplementarios de lisina y metionina para igualar el contenido teórico de la dieta control, de modo que la disminución del crecimiento observada en respuesta al incremento del nivel de inclusión de SCP puede deberse a aspectos nutricionales negativos de la harina de SCP bacteriano, especialmente, como se señaló anteriormente, a una pobre palatabilidad, pero posiblemente también al alto contenido de ácidos nucleicos o la presencia de toxinas, pero no a una deficiencia dietaria en el contenido de aminoácidos esenciales.

En el caso de los peces del Experimento 2 de este estudio, cuyo crecimiento fue en general muy pobre tanto para los que recibieron la dieta control como para los alimentados con altos niveles de harina de SCP bacteriano (14.5 y 21.0% SCP), el resultado no puede atribuirse a deficiencias en el suministro de aminoácidos esenciales, puesto que los requerimientos de todos ellos fueron cubiertos. Más bien, el resultado es atribuible, nuevamente, a la mala palatabilidad de la harina de SCP bacteriano, que originó un pobre consumo de alimento, así como posiblemente a los mencionados factores antinutricionales tanto de la harina de SCP como de soya.

Los contenidos de aminoácidos esenciales y no esenciales en el músculo registrados en este estudio son consistentes con los reportados en otros estudios nutricionales con tilapia. Por ejemplo, en ambos experimentos del presente estudio, el contenido de metionina (un aminoácido esencial) en músculo varió de 2.20 a 3.23 g/100 g de tejido seco, mientras que

Millanes-Mora (2021), quien alimentó tilapias con niveles crecientes de harina de mosca soldado negro, reportó valores de 2.04 a 3.21 g/100 g de tejido seco. Para el aminoácido no esencial ácido glutámico, los valores observados en este estudio oscilaron entre 8.80 y 9.63 g/100 g de tejido seco, en tanto que Millanes-Mora (2021) reportó valores de 7.65 a 9.24 g/100 g de tejido seco. Así mismo, existen similitudes con respecto a la abundancia relativa de aminoácidos individuales, particularmente la arginina, taurina y treonina, que funcionan como componentes mayoritarios del músculo de la tilapia tanto en el presente estudio como en el estudio de Millanes-Mora (2021).

VII. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones experimentales del presente estudio se puede concluir que:

- Es posible reemplazar hasta un 50% de harina de pescado por harina de SCP bacteriano MRD-Pro® en dietas de iniciación de juveniles de tilapia del Nilo (*O. niloticus*) sin alterar su crecimiento, supervivencia, contenido de proteína cruda y perfil de aminoácidos en el músculo.
- Sin embargo, el reemplazo total de la harina de pescado por harina de SCP bacteriano MRD-Pro® disminuyó significativamente el desempeño biológico de la tilapia, además de disminuir significativamente los contenidos de lisina y fenilalanina en el músculo. Esto se debe a una serie de características antinutricionales presentes en harinas de SCP bacteriano.
- El uso de harina de SCP bacteriano MRD-Pro® en sustitución de harina de pescado y de soya alteró la composición proximal de la tilapia, disminuyendo el contenido de grasa y aumentando el de humedad en el músculo, efectos asociados a una inadecuada palatabilidad, y consecuentemente, menor consumo de alimento que obliga a los organismos a catabolizar sus reservas de lípido. Adicionalmente, las harinas de SCP bacteriano tienen efectos directos sobre el metabolismo de lípidos, aumentando la lipólisis y disminuyendo la lipogénesis que, junto sus altos contenidos de ácidos nucleicos contribuyen al resultado observado.
- Al sustituir harina de soya por harina de SCP bacteriano MRD-Pro®, en ausencia de harina de pescado, existe un decremento en el desempeño en cultivo de la tilapia, con pobres resultados de crecimiento, eficiencia en el uso del alimento y supervivencia. Esto se asocia principalmente a las características antinutrientes de la harina de SCP bacteriano, pero también a los bien conocidos factores antinutricionales de la harina de soya, que, de forma conjunta, determinaron el resultado.
- Los resultados obtenidos en el presente estudio representan un avance importante para la alimentación de tilapia del Nilo en etapa de iniciación utilizando harina de SCP bacteriano, un ingrediente de baja huella ecológica como alternativa a la harina de pescado.

VIII. RECOMENDACIONES

- En respuesta al incremento del nivel de inclusión de SCP bacteriano en la dieta de tilapia, se observó una reducción significativa del consumo de alimento, y consecuentemente, del crecimiento, atribuido, en parte, a una mala palatabilidad de este ingrediente. En futuros estudios nutricionales con SCP bacteriano, se recomienda el uso conjunto de aditivos atractantes y palatables en la dieta con el fin de mejorar el consumo del alimento. Esta recomendación puede ser de valor no solamente para el producto específico utilizado en este estudio, sino para todas las harinas de SCP bacteriano en general.
- En el Experimento 1 del presente trabajo se sustituyó exitosamente el 50% de harina de pescado por harina de SCP bacteriano y se observaron resultados desfavorables al reemplazar el 100%, pero no se utilizaron niveles de reemplazo intermedios. Se recomienda explorar el efecto de dichos niveles, por ejemplo, 60, 70 y 80%, para evaluar si también son efectivos para promover un buen desempeño de los organismos.

IX. LITERATURA CITADA

- Aas, T. S., B. Grisdale-Helland, B. F. Terjesen y S. T. Helland. 2006a. Improved growth and nutrient utilisation in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets containing a bacterial protein meal. *Aquaculture* 259:365–376. doi: 10.1016/j.aquaculture.2006.05.032
- Aas, T. S., B. Hatlen, B. Grisdale-Helland, B. F. Terjesen, A. M. Bakke-McKellep y S. J. Helland. 2006b. Effects of diets containing a bacterial protein meal on growth and feed utilisation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 261:357–368. doi: 10.1016/j.aquaculture.2006.07.033
- Aas, T. S., B. Hatlen, B. Grisdale-Helland, B. F. Terjesen, M. Penn, A. M. Bakke-McKellep y S. J. Helland. 2007. Feed intake, growth and nutrient utilization in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) fed diets containing a bacterial protein meal. *Aquaculture Research* 38:351–360. doi: 10.1111/j.1365-2109.2007.01672.x
- Al-Thobaiti, A., K. Al-Ghanim, Z. Ahmed, E. M. Suliman y S. Mahboob. 2018. Impact of replacing fish meal by a mixture of different plant protein sources on the growth performance in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) diets. *Brazilian Journal of Biology* 78(3):525-534. doi: 10.1590/1519-6984.172230
- Amer, A. A., E. M. El-Nabawy, A. H. Gouda y M. A. O. Dawood. 2021. The addition of insect meal from *Spodoptera littoralis* in the diets of Nile tilapia and its effect on growth rates, digestive enzyme activity and health status. *Aquaculture Research*. doi: 10.1111/are.15434
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2005a. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2005b. Official Method 978.10, Fiber (Crude) in Animal Feed and Pet Food. Official Methods of Analysis of AOAC International, 18th edition, Gaithersburg, MD.
- Avadí, A. y P. Fréon. 2013. Life cycle assessment of fisheries: A review for fisheries scientists and managers. *Fisheries Research* 143:21-38. doi: 10.1016/j.fishres.2013.01.006
- Banerjee, S., A. Azad, A. Vikineswary, O. S. Selvaraj y T. K. Mukherjee. 2000. Phototrophic Bacteria as Fish Feed Supplement. *Asian-Australian Journal of Animal Sciences* 13(7):991-994. doi: 10.5713/ajas.2000.991.
- Berge, G. M., G. Baeverfjord, A. Skrede y T. Storebakken. 2005. Bacterial protein grown on natural gas as protein source in diets for Atlantic salmon, *Salmo salar*, in saltwater. *Aquaculture*, 244(1-4):233–240. doi: 10.1016/j.aquaculture.2004.11.017
- Beveridge, M. C. M. y B. J. McAndrew. 2000. Tilapias: Biology and Exploitation. Fish and Fisheries. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Bhujel, R. C. 2000. A review of strategies for the management of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) broodfish in seed production systems, especially hapa-based systems. *Aquaculture* 181:37-59.

- Biswas, A., F. Takakuwa, S. Yamada, A. Matsuda, R. M. Saville, A. LeBlanc y H. Tanaka. 2020. Methanotroph (*Methylococcus capsulatus*, Bath) bacteria meal as an alternative protein source for Japanese yellowtail, *Seriola quinqueradiata*. *Aquaculture* 529: 735700. doi: 10.1016/j.aquaculture.2020.735700
- Bowen, S. H. 1987. Dietary Protein Requirements of fishes- A reassessment. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 44(11):1995-2001.
- Bratosin, B. C., S. Darjan y D. C. Vodnar. 2021. Single Cell Protein: A Potential Substitute in Human and Animal Nutrition. *Sustainability* 13:9284. doi: 10.3390/su13169284
- Buxbaum, E. 2015. *Fundamentals of Protein Structure and Function*. Springer. Kevelaer, Alemania.
- Bwanika, G. N., B. Makanga, Y. Kizito, L. J. Chapman y J. Balirwa. 2004. Observations on the biology of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L., in two Ugandan crater lakes. *African Journal of Ecology* 42(1): 93-101.
- Chacón-Olivares, M., A. Pacheco-Rivera, M. Cendejas-López y F. Ortega-Herrera. 2016. Tendencia del crecimiento en la cultura del reciclaje. *Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales* 2(5):63-72.
- Chalón, M., V. Terán, M. Arena, R. Oliszewki y S. González. 2013. Microbiological culture broth designed from food waste. *Journal of Environmental Management* 115:1-4. doi: 10.1016/j.jenvman.2012.10.005
- Chavan, B. R. y A. Yakupitiyage. 2012. An overview of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and low cost feed formulation technique for its culture. 264-284 p. En: Vishwas S. B. y P. R. De los Rios-Escalante (Eds.), *Advances in Aquatic ecology*, Daya publication house, Nueva Delhi.
- Chen, Y., G. Sagada, B. Xu, W. Chao, F. Zou, W. Ng, y Q. Shao. 2019. Partial replacement of fishmeal with *Clostridium autoethanogenum* single-cell protein in the diet for juvenile black sea bream (*Acanthopagrus schlegelii*). *Aquaculture Research* 51(3):1000-1011. doi: 10.1111/are.14446
- Chen, Y., S. Chi, S. Zhang, X. Dong, Q. Yang, H. Liu, B. Tan y S. Xie. 2022. Evaluation of Methanotroph (*Methylococcus capsulatus*, Bath) bacteria meal on body composition, lipid metabolism, protein synthesis and muscle metabolites of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture* 547:737517. doi: 10.1016/j.aquaculture.2021.737517
- Cho, J. H. y I. H. Kim. 2010. Fish meal-nutritive value. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 95:685-692. doi: 10.1111/j.1439-0396.2010.01109.x
- CONABIO. 2014. Ponderación de Invasividad de Especies Exóticas en México (SIEI) *Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758.
- Cowey, C. B. 1994. Amino acid requirements of fish: a critical appraisal of present values, *Aquaculture* 124: 1-11. doi: 10.1016/0044-8486(94)90349-2
- Dabrowski, K. y H. Guderley. 2002. Intermediary metabolism. 309-365 p. En: Halver J. E. y R. W. Hardy (Eds.), *Fish Nutrition*. Academic Press, Amsterdam, the Netherlands.

- Davies, S. J. y H. Wareham. 1988. A preliminary evaluation of an industrial single cell protein in practical diets for tilapia (*Oreochromis mossambicus* Peters). *Aquaculture* 73:189-199.
- Delamare-Deboutteville, J., D. J. Batstone, M. Kawasaki, S. Stegman, M. Salini, S. Tabrett, y T. Hülsen. 2019. Mixed culture purple phototrophic bacteria is an effective fishmeal replacement in aquaculture. *Water Research X* 4:100031. doi: 10.1016/j.wroa.2019.100031
- El-Sayed, A. F. M. 2004. Protein nutrition of farmed Tilapia: Searching for unconventional sources. Sixth International Symposium on Tilapia Aquaculture, 374-378 p. (<https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=a3dfb6b1fc808eb13d0a980233d5fab73d47ba07>).
- El-Sayed, A. F. M. 2006. *Tilapia Culture*. CABI publishing, CABI International Willingford, Oxfordshire, United Kingdom.
- Fitzsimmons, K. 2000. Future trends of tilapia aquaculture in the Americas. 252-264 p. En: Costa-Pierce B. A. y J. E. Rakocy (Eds.), *Tilapia Aquaculture in the Americas*. The World aquaculture Society. Bastón Rouge, Luisiana, Estados Unidos.
- Folch, J., M. Lees, y C. H. Sloane-Stanley. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry* 226:497-509.
- Food and Agriculture Organization (FAO). 2009. *Oreochromis niloticus*. In *Cultured aquatic species fact sheets*. (https://www.fao.org/fishery/docs/DOCUMENT/aquaculture/CulturedSpecies/file/en/en_niletilapia.htm).
- Food and Agriculture Organization (FAO). 2020. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sostenibilidad en acción*. Roma. doi: 10.4060/ca9229es
- Food and Agriculture Organization (FAO). 2022. *The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation*. doi: 10.4060/cc0461en
- Francis, G., H. P. S. Makkar y K. Becker. 2001. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture* 199(3):197-227. doi: 10.1016/S0044-8486(01)00526-9
- Garimella, S., K. R. Karunakar, K. Aruna y M. Ramchander. 2017. Current Status on Single Cell Protein (SCP) Production from Photosynthetic Purple Non Sulphur Bacteria. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences* 10(2):915-922.
- Gatlin, D. M., F. T. Barrows, P. Brown, K. Dabrowski, T. G. Gaylord, R. W. Hardy, E. Herman, G. Hu, A. Krogdahl, R. Nelson, K. Overturl, M. Rust, W. Sealey, D. Skonberg, E. J. Souza, D. Stone, R. Wilson y E. Wurtele. 2007. Expanding the utilization of sustainable plant products in aquafeeds: a review. *Aquaculture Research* 38:551-579. doi: 10.1111/j.1365-2109.2007.01704.x

- Glencross, B. D., D. Huyben y J. W. Schrama. 2020. The application of single-cell ingredients in aquaculture feeds- a review. *Fishes* 5(3):2-39. doi: 10.3390/fishes5030022
- Guerrero, R. D. y L. A. Guerrero. 1988. Feasibility of comercial production of se-reversed Nile Tilapia fingerlings in the Philippines. 183-186 p. En: Pullin, R. S. V., T. Bhukaswan, K. Tonguthai y J. L. Maclean (Eds.), *The Second International Symposium on Tilapia in Aquaculture*. Departamento de Pesca, Bangkok, Tailandia.
- Gunasekera, R. M., S. S. De Silva, R. A. Collins, G. Gooley y B. A. Ingram. 2000. Effect of dietary protein level on growth and food utilization in juvenile Murray cod *Maccullochella peelii peelii* (Mitchell) *Aquaculture Ressearch* 31:181-187. doi: 10.1046/j.1365-2109.2000.00417.x.
- Hamidoghli, A., H. Yun, S. Won, S. Kim., N. Farris y S. Bai. 2019. Evaluation of a single-cell protein as a dietary fish meal substitute for whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fisheries Science* 85:147-155.
- Hamunjo-Chama, M. K., D. Liang, X. Huang, X. Ge, M. Ren, L. Zhang, L. Wu y J. Ke. 2021. Methanotroph (*Methylococcus capsulatus*, Bath) as an alternative protein source for genetically improved farmed tilapia (GIFT: *Oreochromis niloticus*) and its effect on antioxidants and immune response. *Aquaculture Reports* 21:100872. doi: 10.1016/j.aqrep.2021.100872
- Hardy, R. W. 2010. Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fishmeal. *Aquaculture Research*, 41:770-776. doi: 10.1111/j.1365-2109.2009.02349.x
- Hardy, R. W. y Barrows. 2002. Diet formulation and manufacture. 506-596 p. En: Halver J. E. y R. W. Hardy (Eds.), *Fish Nutrition*. Academic Press, San Diego, California.
- Hardy, R. W., B. Patro, C. Pujol-Baxley, C. J. Marx y L. Feinberg. 2018. Partial replacement of soybean meal with *Methylobacterium extorquens* single-cell protein in feeds for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Aquaculture Research* 49(6):2218-2224. doi: 10.1111/are.13678
- Hendricks, J. D. 2002. Adventitious Toxins. 602-641 p. En: Halver J. E. y R. W. Hardy (Eds.), *Fish Nutrition*. Academic Press, San Diego, California.
- Hinostroza-Canturín, M. A. 2017. Evaluación de dietas comerciales en el crecimiento, supervivencia, conversión alimentaria, índice corporal y resistencia al estrés para alevinos de Tilapia de Nilo (*Oreochromis niloticus*) en condiciones del laboratorio. Tesis de Ingeniería. Universidad Nacional del Callao. Escuela Profesional de Ingeniería Pesquera. Callao, Perú.
- Holmgren, S. y C. Olsson. 2009. The neuronal and endocrine regulation of gut function. *Fish Neuroendocrinology* 28:467-512. doi: 10.1016/S1546-5098(09)28010-1
- Hornborg, S., P. Nilsson, D. Valentinsson y F. Ziegler. 2012. Integrated environmental assessment of fisheries management: Swedish *Nephrops* trawl fisheries evaluated using a life cycle approach. *Marine Policy* 36:1193-1202. doi: 10.1016/j.marpol.2012.02.017

- Jannathulla, R., O. Sravanthi, S. Moomeen, G. Gopikrishna y J. S. Dayal. 2021. Microbial products in terms of isolates, whole-cell biomass, and live organisms as aquafeed ingredients: production, nutritional values, and market potential- a review. *Aquaculture International* 29:623-650. doi: 10.1007/s10499-021-00644- 642
- Jones, S. W., A. Karpol, S. Friedman, B. T. Maru y B. P. Tracy. 2020. Recent advances in single cell protein use as a feed ingredient in aquaculture. *Current opinion in Biotechnology*. doi: 10.1016/j.copbio.2019.12.026
- Kaushik, S. J. y P. Luquet. 1980. Influence of bacterial protein incorporation and of sulphur amino acid supplementation to such diets on growth of rainbow trout, *Salmo gairdnerii* Richardson. *Aquaculture* 19(2):163-175. doi: 10.1016/0044-8486(80)90017-4
- Kaushik, S. J. y I. Seiliez. 2010. Protein and amino acid nutrition and metabolism in fish: Current knowledge and future needs. *Aquaculture Research* 41:322-332. doi: 10.1111/j.1365-2109.2009.02174.x.
- Kiessling, A. y S. Askbrandt. 1993. Nutritive value of two bacterial strains of single-cell protein for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 109(2):119-130. doi: 10.1016/0044-8486(93)90209-H
- Kirimi, J. G., L. M. Musalia, A. Magana y J. M. Munguti. 2016. Performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed diets containing blood meal as a replacement of fish meal. *Journal of Agricultural Science* 8(8):79-87. doi: 10.5539/jas.v8n8p79
- Kupferschmidt, K. 2015. Feature: Why insects could be the ideal animal feed. *Science*. doi: 10.1126/science.aad4709.
- Lawrence, A. L., M. L. González-Félix, M. Perez-Velazquez, Y. Yuan y S. A. Watts. 2022. Review of bacterial and yeast base single cell protein ingredients as attractants and fish meal replacements in diets for *Litopenaeus vannamei*. *Avances En Nutrición Acuicola* 1(1): 413-414.
- Le, Z., H. X. Wu, W. J. Li, F. Qiao, W. B. Zhang, Z. Y. Du y M. L. Zhang. 2023. Partial replacement of soybean meal by yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) meal influences the flesh quality of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Animal Nutrition* 12:108-115. doi: 10.1016/j.aninu.2022.09.007
- Li, M., H. Liang, J. Xie, W. Chao, F. Zou, J. Ge y M. Ren. 2021. Diet supplemented with a novel *Clostridium autoethanogenum* protein have a positive effect on the growth performance, antioxidant status and immunity in juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). *Aquaculture Reports* 19:100572. doi: 10.1016/j.aqrep.2020.100572
- Li, P., K. Mai, J. Trushenski y G. Wu. 2009. New developments in fish amino acid nutrition: towards functional and environmentally oriented aquafeeds. *Amino acids*, 37:43-53. doi: 10.1007/s00726-008-0171-1
- Li, X., S. Zheng y G. Wu. 2020. Nutrition and metabolismo f glutamate and glutamine in fish. *Amino Acids*. doi: 10.1007/s00726-020-02851-2
- Llanes, J. y J. Toledo. 2011. Desempeño productivo de la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) con la inclusión de altos niveles de harina de soya en la dieta. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola* 45(2):183-186.

- Logan, A., A. Lawrence, D. Warren, y A. G. J. Tacon. 2010. Single-cell proteins from food by products provide protein in aquafeed. *Global Aquaculture Advocate*. (<https://www.globalseafood.org/advocate/single-cell-proteins-byproducts-protein-aquafeed/?headlessPrint=AAAAA9c8r7gs82oWZBA>).
- Lovell, R. T. 2002. Diet and fish husbandry 703–754 p. En: Halver J. E. y R. W. Hardy (Eds.), *Fish Nutrition*. Academic Press, San Diego, California.
- Matassa, S., N. Boon, I. Pikaar y W. Verstraete. 2016. Microbial protein: future sustainable food supply route with low environmental footprint. *Microbial Biotechnology* 9:568-575. doi: 10.1111/1751-7915.12369
- Maulu, S., H. Liang, X. Ge, H. Yu, D. Huang, J. Ke y H. Mi. 2021a. Effect of dietary *Clostridium autoethanogenum* protein on growth, body composition, plasma parameters and hepatic genes expression related to growth and AMPK/TOR/PI3K signaling pathway of the genetically improved farmed tilapia (GIFT: *Oreochromis niloticus*) juveniles. *Animal Feed Science and Technology* 276:114914. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2021.114
- Maulu, S., L. Hualiang, J. Ke, M. Ren, X. Ge, D. Huang, y H. Yu. 2021b. Dietary *Clostridium autoethanogenum* protein modulates intestinal absorption, antioxidant status, and immune response in GIFT (*Oreochromis niloticus*) juveniles. *Aquaculture Research*. doi: 10.1111/are.15454
- Mejías-Brizuela, N., E. Orozco-Guillen y N. Galáan-Hernandez. 2016. Aprovechamiento de los residuos agroindustriales y su contribución al desarrollo sostenible de México. *Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales* 2(6):27-4.
- Mendoza, R., C. Aguilera y J. Montemayor. 2000. Utilización de subproductos avícolas en las dietas para organismos acuáticos. 398-439 p. En: Civera-Cerecedo, R., C. J. Pérez-Estrada, D. Ricque-Marie y L. E. Cruz-Suárez (Eds.), *Avances en Nutrición Acuícola IV*. La Paz, B.C.S., México.
- Millanes-Mora, M. A. 2021. Uso de harina de insecto (*Hermetia illucens*) en la dieta de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*). Tesis de Maestría. Universidad de Sonora. Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas. Hermosillo, Sonora, México.
- Morales-Díaz, A. 1974. El cultivo de la Tilapia en México. Instituto Nacional de Pesca. Datos Biológicos. México. (<https://www.inapesca.gob.mx/portal/Publicaciones/Series/1970s-Serie-Informacion-i/SI-i24-Morales-1974-cultivo-de-tilapia.pdf?download>).
- Nasseri, A. T., S. Rasoul-Amini, M. H. Morowvat y Y. Ghasemi. 2011. Single cell protein: production and process. *American Journal of Food Technology* 6:103-116. doi: 10.3923/ajft.2011.103.116.
- National Research Council (NRC). 1993. *Nutrient Requirements of Fish*. Washington, D.C., Estados Unidos.
- National Research Council (NRC). 2011. *Nutrients Requirements of Fish and Shrimp*. The National Academic Press. Washington, D.C., Estados Unidos.

- Naylor, R. L., R. W. Hardy, D. P. Bureau, A. Chiu, M. Elliott, A. P. Farrell, I. Forster, D. M. Gatlin, R. J. Goldberg, K. Hua y P. D. Nichols. 2009. Feeding aquaculture in an era of finite resources. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106:15103-15110. doi: 10.1073/pnas.09105771
- Nelson, D. L. y M. M. Cox. 2005. *Principles of Biochemistry*. Lehninger. Nueva York, Estados Unidos.
- Ogunji, J. O. y M. Wirth. 2001. Alternative protein sources as substitutes for fishmeal in the diet of young tilapia *Oreochromis niloticus* (Linn.). *Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh* 53(1):34-43.
- Osibona, A. O., K. Kusemiju y G. R. Akande. 2009. Fatty acid composition and amino acid profile of two freshwater species, african catfish (*Clarias gariepinus*) and Tilapia (*Tilapia zillii*). *African journal of food, Agriculture, Nutrition and Development* 9(1):608-621.
- Øverland, M., A. H. Tauson, K. Shearer y A. Skrede. 2010. Evaluation of methane-utilising bacteria products as feed ingredients for monogastric animals. *Archives of Animal Nutrition* 64(3):171-189. doi: 10.1080/17450391003691534
- Pelusio, N. F., L. Parma, E. Volpe, S. Ciulli, F. Errani, S. Natale, A. De Cesare, V. Indio, P. Carcano, O. Mordenti, P. P. Gatta y A. Bonaldo. 2023. Yeast-extracted nucleotides and nucleic acids as promising feed additives for European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Frontiers in Marine Science* 10:1145660. doi: 10.3389/fmars.2023.1145660
- Pereira, A. G., M. Fraga-Corral, P. Garcia-Oliveira, P. Otero, A. Soria-Lopez, L. Cassani, H. Cao, J. Xiao, M. A. Prieto y J. Simal-Gandara. 2022. Single-Cell Proteins Obtained by Circular Economy Intended as a Feed Ingredient in Aquaculture. *Foods* 11:2831. doi: 10.3390/foods11182831
- Pérez-Atiencina, R. D. 2002. Evaluación de tres hormonas sintéticas para la reversión de sexo de alevines de tilapia (*Oreochromis niloticus*). Tesis de Licenciatura. Zamorano. Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria. Honduras.
- Piñeros-Roldan, A. J., M. C. Gutiérrez-Espinosa y S. R. Castro-Guerrero. 2014. Sustitución total de la harina de pescado por subproductos avícolas suplementados con aminoácidos en dietas para juveniles de *Piaractus brachipomus*, Cuvier 1818. *Orinoquia*18(2):13-24.
- Ritala, A., S. Häkkinen, M. Toivari y M. Wiebe. 2017. Single Cell Protein-State-of-the-Art, Industrial Landscape and Patents 2001-2016. *Frontiers in Microbiology* 8:2009. doi: 10.3389/fmicb.2017.02009
- Rodwell, W. y P. J. Kennelly. 2000. Amino Acids and Peptides. 14-21 p. En: Murray, R. K., D. K. Granner, P. A. Mayer, V. W. y Rodwell (Eds.), *Harper's Illustrated Biochemistry*. McGraw-Hill. Toronto, Ontario.
- Romarheim, O. H., M. Øverland, L. T. Mydland, A. Skrede y T. Landsverk. 2010. Bacteria grown on natural gas prevent soybean meal-induced enteritis in Atlantic salmon. *Nutritional Immunology* 141:124-130. doi: 10.3945/jn.110.128900

- Rudravaram, R., A. Chandel, L. Rao, Y. Hui y P. Ravindra. 2009. Bio (Single Cell) protein: issues of production, toxins and commercialization status. 129-153 p. En: Ashworth G. S. y P. Azevedo (Eds.), Agricultural wastes. Nova Science Publishers, Inc, New York, Hauppauge.
- Santiago, B. C. y R. T. Lovell. 1988. Amino acid requirements for growth of Nile tilapia. *Journal of Nutrition* 118:1539-1546. doi: 10.1093/jn/118.12.1540
- Santos, V. B., E. A. Mareco y M. D. P. Silva. 2013. Growth curves of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) strains cultivated at different. *Acta Scientiarum. Animal Sciences* 35(3):235-242. doi: 10.4025/actascianimsci.v35i3.19443
- Sarker, P. K., A. R. Kapuscinski, B. McKuin, D. S. Fitzgerald, H. M. Nash y C. Greenwood. 2020. Microalgae-blend tilapia feed eliminates fishmeal and fish oil, improves growth, and is cost viable. *Scientific Reports* 10:19328. doi:10.1038/s41598-020-75289-x
- Schneider, O., A. K. Amirkolaie, J. Vera-Cartas, E. H. Eding, J. W. Schrama y J. A. J. Verreth. 2004. Digestibility, faeces recovery, and related carbon, nitrogen and phosphorus balances of five feed ingredients evaluated as fishmeal alternatives in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture Research* 35(14):1370-1379. doi: 10.1111/j.1365-2109.2004.01179.x
- Schulz, E. y H. J. Oslage. 1976. Composition and nutritive value of single-cell protein (SCP). *Animal Feed Science and Technology* 1:9-24.
- Schüür, G. R. 2015. Tilápia ou *Sarotherodon niloticus*. es.wikipedia.org. Report update May 27, 2015. (https://en.m.wikipedia.org/wiki/File:Til%C3%A1pia_ou_Sarotherodon_niloticus_2.jpg).
- Smárason, B. Ö., B. Alriksson y R. Jóhannsson. 2019. Safe and sustainable protein sources from the forest industry- The case off fish feed. *Trends in Food Science and Technology* 84:12-14. doi: 10.1016/j.tifs.2018.03.005
- Storebakken, T., G. Baeverfjorda, J. J. Ollia y G. M. Berge. 2004. Bacterial protein grown on natural gas in diets for Atlantic salmon, *Salmo salar*, in freshwater. *Aquaculture* 241:413-425.
- Storebakken, T., I. S. Kvien, K. D. Shearer, B. Grisdale-Helland, S. J. Helland y G. M. Berge. 1998. The apparent digestibility of diets containing fish meal, soybean meal or bacterial meal fed to Atlantic salmon (*Salmo salar*): evaluation of different faecal collection methods. *Aquaculture* 169:195-210.
- Strong, P. J., S. Xie y W. P. Clarke. 2015. Methane as a resource: Can the methanotrophs add value?. *Environmental Science and Technology* 49:4001-4018.
- Suman, G., M. Nupur, S. Anuradha y B. Pradeep. 2015. Single Cell Protein Production: A Review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 4(9):251-262.
- Tacon, A. G. J. y M. Metian. 2008. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. *Aquaculture* 285:146-158. doi: 10.1016/j.aquaculture.2008.08.015

- Thrusty, M., A. Rhyne, J. Szczebak, B. Bourque, J. Bowen, G. Burr, C. Marx y L. Feinberg. 2017. A transdisciplinary approach to the initial validation, of a single cell protein as an alternative protein source for use in aquafeeds. *PeerJ* 5:3170. doi: 10.7717/peerj.3170
- Torres-Novoa, D. M. y V. L. Hurtado-Nery. 2012. Requerimientos nutricionales para Tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Orinoquia* 16(1):63-68.
- Trewavas, E. 1983. *Oreochromis niloticus* (Linnaeus). 139-140 p. Trewavas, E. (Eds.), *Tilapiine Fishes of the genera *Sarotherodon*, *Oreochromis* and *Danakilia**. Henry Ling Ltd, The Dorset Press, Dorchester.
- Turchini, G. M., B. E. Torstensen, y W. K. Ng. 2009. Fish oil replacement in finfish nutrition. *Reviews in Aquaculture* 1(1):10-57. doi: 10.1111/j.1753-5131.2008.01001.x
- Turner, S. J., S. F. Thrush, J. E. Hewitt, V. J. Cummings y G. Funnell. 1999. Fishing impacts and the degradation or loss of habitat structure. *Fisheries Management and Ecology* 6:401-420. doi: 10.1046/j.1365-2400.1999.00167.x
- United Nations Department of Economic and Social Affairs (UNDESA). 2021. Population Division, Global Population Growth and Sustainable Development. *United Nations* (2):70-73.
- Valdez-González, F., R. Gutiérrez-Dorado, M. García-Ulloa y H. Rodríguez-González. 2013. Revisión del efecto de los antinutrientes y la fibra de leguminosas en la alimentación para peces. *Ciencia Nicolaita* 59:21-40.
- Vázquez-Ortiz, F. A., G. Caire, I. Higuera-Ciapara y G. Hernández. 1995. High performance liquid chromatographic determination of free amino acids in shrimp. *Journal of Liquid Chromatography* 18:2059-2068.
- Velasco-Falconí, A. E. 1991. Efecto de metilestosterona en la dieta sobre la inversión del sexo y el crecimiento de *Oreochromis niloticus*. *Escuela Agrícola Panamericana. Tegucigalpa, Honduras*.
- Vera-Cruz, E. y G. C. Mair. 1994. Conditions for effective androgen sex reversal in *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 122:237-248.
- Vermeulen, S., B. Campbell y J. Ingram. 2012. Climate Change and Food Systems. *Annual Review of Environment and Resources* 37:195-222.
- Viola, S. y G. Zohar. 1984. Nutrition studies with market size hybrids of tilapia (*Oreochromis*) in intensive culture. *Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh* 36:3-15.
- Viola, S., Y. Arieli y G. Zohar. 1988. Animal-protein free feeds for hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*) in intensive culture. *Aquaculture* 75:115.
- Wang, S. M. y A. H. C. Huang. 1984. Inhibitors of Lipase Activities in Soybean and Other Oil Seeds. *Plant Physiology* 76:929-934.
- Watanabe, W. O., T. M. Losordo, K. Fitzsimmons y F. Hanley. 2002. Tilapia Production Systems in the Americas: Technological Advances, Trends, and Challenges. *Reviews in Fisheries Science* 10(3-4):465-498.

- Wilson, R. 2002. Aminoacids and proteins. 144-147 p. En: Halver, J. E. y R. W. Hardy (Eds.), Fish Nutrition. Academic Press, San Diego, California.
- Worthington, E. B. 1932. A Report on the Fisheries of Uganda Investigated by the Cambridge Expedition to the East African Lakes, 1930-31. Zoological Laboratory, Cambridge.
- Wu, G. 2021. Amino Acids in Nutrition and Health. Amino Acids in the Nutrition of Companion, Zoo and Farm Animals. Texas, Estados Unidos.
- Xu, B, Y. Liu, K. Chen, L. Wang, G. Sagada, A. F. Tegomo, Y. Yang, Y. Sun, L. Zheng, S. Ullah y Q. Shao. 2021. Evaluation of Methanotroph (*Methylococcus capsulatus*, Bath) Bacteria Meal (FeedKind R) as an Alternative Protein Source for Juvenile Black Sea Bream, *Acanthopagrus schlegelii*. Frontiers in Marine Science 8:778301. doi: 10.3389/fmars.2021.778301
- Yabaya, A. y S. A. Ado. 2008. Mycelial protein production by *Aspergillus niger* using banana peels. Science World Journal 3(4):9-12.
- Yang, P., X. Li, W. Yao, M. Li, Y. Wang y X. Leng. 2022. Dietary Effect of *Clostridium autoethanogenum* Protein on Growth, Intestinal Histology and Flesh Lipid Metabolism of Largemouth Bass (*Micropterus salmoides*) Based on Metabolomics. Metabolites 12:1088. doi: 10.3390/metabo12111088
- Yazdian, F., S. Hajizadeh, S. Shojaosadati, R. Khalilzadeh, M. Jahanshahi y M. Nosrati. 2005. Production of Single Cell Protein from Natural Gas: Parameter Optimization and RNA Evaluation. Iranian Journal of Biotechnoloy 3(4):235-42.
- Yu, H., H. Liang, M. Longshaw, J. Wang, X. Ge, M. Ren y L. Zhang. 2022. Methanotroph (*Methylococcus capsulatus*, Bath) bacteria meal (FeedKind®) could effectively improve the growth, apparent digestibility coefficient, blood biochemical parameters, antioxidant indices of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). Animal Feed Science and Technology 288:115293. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2022.115293
- Zafra, A. M., M. E. Diaz, F. A. Davila, R. E. Fernandez, K. A. Vela y H. H. Guzman. 2019. Feeding conversion and efficiency of *Oreochromis aureus* var. *suprema* (Cichlidae) with different balanced food in closed system, Trujillo, La Libertad, Peru. Arneloa 26:815-826.
- Zamani, A., M. Khajavi, M. Nazarpak y E. Gisbert. 2020. Evaluation of a Bacterial Single-Cell Protein in Compound Diets for Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fry as an Alternative Protein Source. Animals 10(9):1676. doi: 10.3390/ani10091676
- Zhang, Q., H. Liang, M. Longshaw, J. Wang, X. Ge, J. Zhu, S. Li y M. Ren. 2022. Effects of replacing fishmeal with methanotroph (*Methylococcus capsulatus*, Bath) bacteria meal (FeedKind®) on growth and intestinal health status of juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*). Fish and Shellfish Immunology 122:298-305. doi: 10.1016/j.fsi.2022.02.008
- Zheng, J., W. Zhang, D. Zhijie, X. Cao, K. Cui, S. Zhu, Y. Zhuang, K. Mai y Q. Ai. 2023. Effects of fish meal replaced by methanotroph bacteria meal (*Methylococcus capsulatus*) on growth, body composition, antioxidant capacity, amino acids transporters and protein metabolism of turbot juveniles (*Scophthalmus maximus* L.). Aquaculture 562:738782. doi: 10.1016/j.aquaculture.2022.738782

Zhu, S., W. Gao, Z. Wen, S. Chi, Y. Shi, W. Hu y B. Tan. 2022. Partial substitution of fish meal by *Clostridium autoethanogenum* protein in the diets of juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Aquaculture Report* 22:100938. doi: 10.1016/j.aqrep.2021.100938