



Universidad autónoma de Querétaro
Facultad de ingeniería

DESARROLLO DE UN ALIMENTO FUNCIONAL
ELABORADO CON LARVA DE MOSCA SOLDADO-
MICROALGAS Y SU EFECTO FISIOLÓGICO EN TILAPIA
Tesis

Que como parte de los requisitos para
obtener el grado de

Doctor en Ingeniería de Biosistemas

Presenta

M. en C. María Isabel Nieto Ramírez

Dirigido por

Dr. Juan Fernando García Trejo

Querétaro, Qro. A 30 de noviembre, 2023



Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales
de Información



DESARROLLO DE UN ALIMENTO FUNCIONAL
ELABORADO CON LARVA DE MOSCA SOLDADO-
MICROALGAS Y SU EFECTO FISIOLÓGICO EN TILAPIA

por

María Isabel Nieto Ramírez

se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0
Internacional](#).

Clave RI: IGDCC-215027



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ingeniería
Maestría en Ciencias en Ingeniería de Biosistemas

DESARROLLO DE UN ALIMENTO FUNCIONAL ELABORADO CON LARVA DE MOSCA SOLDADO- MICROALGAS Y SU EFECTO FISIOLÓGICO EN TILAPIA

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Doctorado en Ingeniería de Biosistemas

Presenta:

M. en C. María Isabel Nieto Ramírez

Dirigido por:

Dr. Juan Fernando García Trejo

Dr. Juan Fernando García Trejo
Presidente

Dra. Ana Angélica Feregrino Pérez
Secretario

Dra. Rocío Campos Vega
Vocal

Dr. José Guadalupe Gómez Soto
Suplente

Dr. Ramón Gerardo Guevara González
Suplente

Centro Universitario Querétaro, Qro.
Noviembre, 2023
México.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT) por conceder la beca de manutención para el desarrollo de este proyecto de posgrado con la finalidad de obtener el grado de Doctor en Ingeniería de Biosistemas.

Al Dr. Juan Fernando García por su apoyo, acompañamiento y paciencia durante el desarrollo de este proyecto.

A los doctores que conforman mi comité sinodal por sus consejos, correcciones y apoyo durante el progreso del experimento y escritura de tesis.

A mis compañeros de laboratorio que me apoyaron en todo momento.

A mis papás y hermana por sus porras, apoyo y comprensión durante este proceso.

A Vane, Montse y Jime que me ayudaron en los tropiezos, por su apoyo en el laboratorio y en el invernadero.

A mis alumnos por inspirarme a estar en constante preparación para poder darles un ejemplo y motivación a crecer.

DEDICATORIA

Este trabajo se lo dedico a las mujeres más importantes en mi vida: mi mamá, mi abue lolis, mi abue fufu y a mi hermana que me han demostrado el valor, la fuerza y las ganas de seguir adelante sin importar las situaciones complicadas que se puedan presentar desde el nacimiento de un nuevo integrante de la familia hasta superar enfermedades fuertes. La fortaleza y las ganas de seguir adelante, así como, la actitud positiva son las que me han acompañado ante este proceso de superación académica.

INDICE	
I	INTRODUCCION.....13
I.I	ANTECEDENTES.....15
II	HIPÓTESIS.....19
III	OBJETIVOS.....20
III.I	GENERAL.....20
III.I.I	Objetivos particulares.....20
IV	METODOLOGÍA.....20
IV.I	Obtención de carvacrol y harinas de larva de mosca soldado y microalgas21
IV.I.I	Obtención del carvacrol.....21
IV.I.II	Obtención de las harinas.....23
IV.I.III	Caracterización bromatológica de las harinas.....23
IV.II	Formulación de los alimentos experimentales con harina de microalga y de larva de mosca soldado.....27
IV.II.I	Alimentos experimentales28
IV.II.II	Determinaciones físicas de los alimentos29
IV.III	Determinación de las variables de crecimiento31
IV.III.I	Evaluación de los alimentos experimentales sobre la fisiología de la tilapia alimentada.....31
IV.III.II	Evaluación del alimento adicionado con carvacrol sobre la fisiología de tilapia32
IV.III.III	Estado fisiológico de la tilapia33
IV.III.IV	Monitoreo del crecimiento33
IV.III.V	Variables asociadas a la producción.....34

IV.III.VI	Análisis organosomáticos.....	35
IV.III.VII	Calidad de agua.....	36
IV.III.VIII	Análisis estadístico	36
V	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	36
V.I	Caracterización proximal de la harina de microalgas y larva de mosca soldado.....	36
V.II	Formulación y elaboración de los alimentos experimentales.....	40
V.III	Determinación de las variables de crecimiento y fisiología de la Tilapia	44
V.III.I	Determinación de las variables de crecimiento de la tilapia alimentada con tres dietas experimentales	44
V.III.II	Determinación de las variables de crecimiento en la tilapia alimentada con dos dietas adicionadas con aceite de orégano	51
V.III.III	Monitoreo de la calidad de agua	57
VI	CONCLUSIONES	60
VII	BIBLIOGRAFÍA	61

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Caracterización bromatológica de la harina de microalga y larva de mosca soldado.....	37
Cuadro 2. Caracterización bromatológica de las harinas complementarias.	38
Cuadro 3. Perfil de aminoácidos de la harina de larva de mosca soldado.....	38
Cuadro 4. Concentración en porcentaje de ácidos grasos contenidos en harina de larva de mosca soldado.	39
Cuadro 5. Fórmula y composición química de los alimentos experimentales para tilapia en etapa de alevín.	41
Cuadro 6. Características físicas de los alimentos elaborados.....	42
Cuadro 7. Evaluación del tipo de desarrollo de alevines de tilapia alimentados con las cuatro diferentes dietas experimentales.....	48
Cuadro 8. Variables de producción calculadas para los alevines alimentados con los cuatro diferentes alimentos experimentales.	49
Cuadro 9. Proteína total, glucosa, colesterol y triglicéridos cuantificados en plasma obtenido de alevines de tilapia alimentados con las cuatro diferentes dietas.	50
Cuadro 10. Determinación del factor de condición y los índices órgano-somáticos de los alevines de tilapia alimentados con las cuatro dietas experimentales.....	50
Cuadro 11. Tipo de crecimiento en alevines de tilapia alimentados con alimento mezcla adicionado con aceite de orégano.....	53
Cuadro 12. Variables de producción de alevines de tilapia alimentada con el alimento mezcla adicionado con aceite de orégano y con alimento comercial adicionado con aditivo comercial.	55
Cuadro 13. Proteína total, glucosa, colesterol y triglicéridos analizados en plasma obtenido de alevines de tilapia alimentados con las cuatro dietas experimentales.	56
Cuadro 14. Determinaciones organo-somáticas de alevines de tilapia alimentados con los cuatro alimentos experimentales.	57
Cuadro 15. Monitoreo de las condiciones físicas y químicas de agua de los	

diferentes alimentos suministrados a los alevines de tilapia durante las 15
semanas de experimento.....58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama general del desarrollo de un alimento funcional y su efecto sobre la fisiología y producción de tilapia.	21
Figura 2. Pre-tratamiento de las harinas de microalga y larva de mosca soldado (secado, molienda y tamizado).	23
Figura 3. A) harinas para el alimento de larva de mosca soldado, B) harinas para el alimento mezcla (microalga + larva de mosca soldado), y C) mezclado de las harinas correspondientes para cada uno de los alimentos experimentales.	29
Figura 4. Sistema de cultivo experimental de tilapia. A) Sistema con estanques de 370 L, B) Sistema con estanques de 1100 L.	32
Figura 5. A) Biosistema para la evaluación de tres alimentos con harina de microalga y de larva de mosca soldado con dos niveles de inclusión de aceite esencial de orégano; 1 y 2 %.	33
Figura 6. Alimento elaborado y separado por diferentes tamaños; tamiz 30 (0.5 mm), tamiz 20 (0.8 mm) y tamiz 10 (2 mm).	42
Figura 7. A) Reproductor macho y B) reproductor hembra de tilapia utilizados para la obtención de huevo.	44
Figura 8. A) Reproductor hembra de tilapia con huevo fecundado. B) Sistema de jarra para la eclosión de huevo de tilapia.	44
Figura 9. A) Sistema de 12 estanques de 370 L de volumen para la eclosión y cultivo de alevines. B) Sistema de 12 estanques de 1100 L para el mantenimiento de alevines.	45
Figura 10. Crecimiento en peso de alevines de tilapia alimentados con las cuatro dietas experimentales desde los 5 días de eclosión. DB: alimento mezcla, DC: alimento comercial, DLMS: alimento larva y DM: alimento microalga. Los resultados presentan la desviación estándar de cada medición con un valor de $p < 0.05$, $n = 50$	46
Figura 11. Desarrollo de alevines de tilapia respecto a su longitud (mm) alimentados con los cuatro diferentes alimentos experimentales desde los 5 días	

de eclosión. DB: alimento mezcla, DC: alimento comercial, DLMS: alimento larva y DM: alimento microalga. Los resultados se presentan con la desviación estándar de cada medición con un valor de $p < 0.05$, $n = 50$	47
Figura 12. Crecimiento en peso de alevines de tilapia alimentados con el alimento mezcla (DB) adicionado con aceite de orégano (0.0, 0.1 y 0.2 %) y con alimento comercial (DC) adicionado con aditivo (0.0, 0.1 y 0.2 %). Los resultados se expresan como la desviación estándar de cada medición con un valor de $p < 0.05$, $n = 45$	52
Figura 13. Crecimiento en longitud total de alevines de tilapia alimentados con alimento mezcla (DB) adicionado con aceite de orégano (0.1 y 0.2 %) y con alimento comercial (DC) adicionado con aditivo (0.1 y 0.2 %). Los resultados se expresan en la desviación estándar de cada medición con un valor de $p < 0.05$, $n = 45$	53

RESUMEN

Los alimentos funcionales son una alternativa al uso de antibióticos, así como un mayor rendimiento de producción. El presente trabajo tuvo como objetivo el desarrollo de un alimento funcional con harinas de larva de mosca soldado y microalgas adicionado con inmunoestimulantes y evaluar su efecto en la fisiología de Tilapia. Para cumplir con este objetivo se diseñaron y formularon tres dietas con la inclusión de larva de mosca soldado negro y microalgas (dieta solo larva, dieta solo microalga y dieta mezcla larva-microalga) y una dieta comercial. Además, la dieta mezcla fue adicionada con aceite de orégano con 52 % de carvacrol a los niveles 0.0, 0.1 y 0.2 % de aceite. Por otro lado, se adicionó alimento comercial adicionado con un aditivo comercial con ajo y canela a los niveles 0.0, 0.1 y 0.2 %. Se evaluaron las características físico-químicas de los alimentos, así como el crecimiento de los alevines alimentados con las dietas experimentales. La bioquímica sanguínea, y los análisis organosomáticos se realizaron al final de la experimentación. Los resultados mostraron un mayor crecimiento en los alevines alimentados con la dieta mezcla, así como con el 0.2 % de aceite adicionado. Por otra parte, la dieta comercial con el 0.2 % de aditivo comercial presentó mayor crecimiento y un factor de conversión alimenticia bajo. La concentración de proteína y glucosa fue mayor en los alevines alimentados con la dieta comercial adicionada con el 0.1 % del aditivo. En conclusión, la inclusión de larva de mosca soldado negro y microalgas incrementa la tasa de crecimiento sin afectar su condición bioquímica (proteína, glucosa, colesterol y triglicéridos en suero), así como el desarrollo correcto de los órganos. Además, la inclusión de aceite de orégano puede ser incluido en nuevas dietas para el desarrollo correcto de alevines de tilapia.

Palabras clave; Alimento funcional, microalgas, larva de mosca soldado, carvacrol, Tilapia.

ABSTRACT

Functional aquafeeds are an alternative to the use of antibiotics, as well as a higher production yield. The aim of this work was the development of a functional aquafeed with meals of soldier fly larvae and microalgae added with immunostimulants and to evaluate its effect on the physiology of Tilapia. Three diets were designed and formulated with the inclusion of black soldier fly larvae and microalgae (larvae diet, microalgae diet, and mixed larvae and microalgae diet) and a commercial diet. In addition, the mixed diet was added with oregano oil with 52% carvacrol at levels 0.0, 0.1 and 0.2% oil. On the other hand, commercial aquafeed added with a commercial additive with garlic and cinnamon was added at levels 0.0, 0.1 and 0.2 %. The physicochemical characteristics of the aquafeed were evaluated, as well as the growth of the fingerlings fed with the experimental diets. Blood biochemistry and organosomatic analyzes were performed at the end of the experimentation. The results showed a higher growth in the fingerlings fed with the mixed diet, as well as with 0.2 % of added oil. On the other hand, the commercial diet with 0.2 % of commercial additive presented higher growth and a low feed conversion factor. The concentration of protein, glucose, triglycerides, and cholesterol was in the fry fed with the commercial diet added to 0.1 % with the commercial diet. In conclusion, the inclusion of black soldier fly larvae and microalgae increases the growth rate without affecting their biochemical condition (protein, glucose, cholesterol, and triglycerides in serum), as well as the correct development of the organs. In addition, the inclusion of oregano oil can be included in new diets for the correct development of tilapia fingerlings.

Key words; Functional aquafeed, microalgae, Black Soldier fly larvae, carvacrol, Tilapia.

I INTRODUCCION

La acuicultura, de acuerdo con la Administración Nacional Oceánica y Atmosférica (NOAA), es una actividad que se dedica a la reproducción, crianza y cosecha de peces, mariscos y algas en cualquier tipo de ambiente acuático. Esta actividad tiene como objetivo la producción controlada de organismos acuáticos que mejore el abastecimiento de su consumo. A nivel mundial, la producción acuícola de especies animales incrementó en un 2.7 % del año 2019 al 2020 (FAO, 2022). En México se alcanzó un incremento en la producción acuícola y pesquera del 1.6 % entre el año 2019 y 2020. Este incremento se debe al crecimiento demográfico que se ha presentado en años recientes resultando en un aumento en el consumo de alimentos de origen acuícola (de 19.6 kg en 2010 a 20.5 kg en 20219 per cápita) (SAGARPA, 2021).

En la actualidad los sistemas alimentarios acuícolas van en incremento de una manera sostenible tomando en cuenta 1) la aplicación de prácticas acuícolas sostenibles, 2) incluir en la acuicultura nuevas estrategias de desarrollo a nivel nacional, regional y mundial, 3) satisfacer la demanda de alimentos acuáticos incrementando la producción acuícola y 4) incrementar las capacidades de uso y aplicación de tecnologías y prácticas innovadoras para generar una producción acuícola más eficiente. Dentro de la intensificación de los sistemas acuícolas de producción es necesario la mejora genética en los programas de mejoramiento, los piensos o alimentos, la bioseguridad y el control de las enfermedades (FAO, 2022). Debido a la intensificación de la producción acuícola se ha realizado el uso indiscriminado de antibióticos como control de enfermedades generando no solo resistencia antibiótica, si no contaminación del agua, del suelo y del producto final (Chen et al., 2020; Shao et al., 2021).

Nuevas formulas para piensos o alimentos han sido desarrolladas con el objetivo de disminuir los costos de producción, la pesca, el uso de antibióticos y mejorar la alimentación animal. La nutrición acuícola, como parte esencial de la alimentación de organismos acuáticos, implica la interacción entre los nutrientes con las partes

u órganos del pez, tomando en cuenta la composición del alimento, la ingestión, liberación de energía, la eliminación de los residuos, así como la síntesis de compuestos para su mantenimiento (Hardy et al., 2022; Prabu et al., 2017). Debido a esta interacción de nutrientes, se busca la formulación de alimentos alternativos con ingredientes dietéticos que proporcionan beneficios sobre el crecimiento y salud del organismo (Bullon et al., 2023). Estos alimentos alternativos se caracterizan por tener nutrientes y aditivos con diferentes funciones, las cuales coadyuvan al sistema digestivo, promueven el crecimiento e incluso estimulen el sistema inmune (Alemayehu et al., 2018). Algunos de los compuestos que caracterizan a los alimentos funcionales son aditivos no nutritivos, como derivados de plantas (fitogénicos), probióticos, enzimas, aglutinantes de micotoxinas, entre otros (Dawood et al., 2022; Rashidian et al., 2023; Rohani et al., 2022).

Dentro de la formulación de estos alimentos se encuentra la adición en diferentes proporciones de harina de microalgas y/o larva de mosca soldado ya que presentan nutrientes indispensables para el crecimiento de los peces (Chen et al., 2021; Mohan et al., 2022; Ratti et al., 2023; Sarker et al., 2020; Tippayadara et al., 2021; Zahran et al., 2023). Por otra parte, los ingredientes no nutritivos pueden ser compuestos con función inmunoestimulante; es decir, ingredientes que pueden activar el sistema inmune con el fin de prevenir enfermedades (Chieng et al., 2018). Estos ingredientes son generalmente obtenidos de aceites esenciales de plantas tales como polifenoles, flavonoides, terpenoides, alcaloides entre otros (Abdel-Latif et al., 2020; Dawood et al., 2022; Huyben et al., 2021). Dentro de los compuestos con estas características usados en la alimentación acuícola se encuentra el carvacrol (Abdel-Latif et al., 2020; Firmino et al., 2021; Shourbela et al., 2021).

Es por ello que el presente trabajo tuvo como objetivo desarrollar un alimento funcional con base en microalga y larva de mosca soldado, adicionado con carvacrol para evaluar el efecto que tuvo sobre el rendimiento, la sobrevivencia y

la fisiología de tilapia.

I.I ANTECEDENTES

La intensificación de los sistemas de producción acuícola permite el cultivo de un mayor número de organismos en espacios más reducidos. Sin embargo, la alimentación en estos sistemas ha presentado diversas problemáticas desde la obtención de grandes volúmenes de alimento hasta los elevados costos de obtención debido a la demanda de harina y aceite de pescado. Además de la alimentación, el manejo y control de enfermedades es un tema crítico por considerar en sistemas de cultivo semi-intensivos e intensivos debido a la alta incidencia que estos presentan (Duarte et al., 2019; Wuertz et al., 2021). Es por ello por lo que se han propuesto alimentos funcionales acuícolas que mejoren la nutrición y fisiología de los peces, así como las características físicas y químicas de estos (Rashidian et al., 2023).

La alimentación acuícola involucra, además de la nutrición, otros aspectos como la composición del alimento, su forma de ingestión, la liberación de energía y la eliminación de residuos generados de su metabolismo (Prabu et al., 2017). Parte esencial de los alimentos acuícolas son las harinas que proporcionan proteínas, lípidos y energía necesaria para el desarrollo de los peces. Sin embargo, debido a la alta demanda de harina y aceite de pescado ha generado la disminución de poblaciones de peces silvestres y por tanto incrementado los costos de los alimentos (Oliva-Teles et al., 2022). Debido a esto, se busca sustituir de manera total o parcial la harina de pescado por nuevas fuentes de proteína y de aceite. Harinas de una gran variedad de plantas y semillas han sido usadas: harina de soya, de canola, de semilla de algodón (Jannathulla et al., 2019).

Actualmente hay otras alternativas como el uso de harinas provenientes de insectos: gusano de la seda (*Bombix mori*), mosca soldado negra (*Hermetia illucens*), mosca doméstica (*Musca domestica*), gusano amarillo (*Tenebrio molitor*), gusano de la harina (*Alphitobius diaperinus*), grillo de casa (*Gryllodes sigillatus*), y grillo de campo de Jamaica (*Gryllus assimilis*) (Alfiko et al., 2022). La harina de larva de mosca soldado negro se ha distinguido como una buena alternativa proteica en alimentos

balanceados acuícolas debido a su capacidad de bio-convertir residuos orgánicos en materia con alto contenido nutricional. Esta harina contiene altos porcentajes de proteína (40-45 %) con un perfil de aminoácidos aceptable para la alimentación acuícola principalmente en el contenido de lisina, metionina, leucina e isoleucina. Además, dentro del contenido de grasas totales (30-35%) se encuentran ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) (Čengić-Džomba et al., 2020). Debido a esto, esta harina se ha usado en diferentes niveles de sustitución de harina de pescado, desde un 25 % hasta 100 % (Oteri et al., 2021). Una gran variedad de fórmulas para alimentos acuícolas con harina de larva de mosca soldada han sido evaluadas en diversas especies acuáticas como salmón del Atlántico (*Salmo salar*), carpa (*Cyprinus carpio*), tilapia (*Oreochromis niloticus*), lobina europea (*Dicentrarchus labrax*), pez cebra (*Danio rerio*), entre otros (Abdel-Tawwab et al., 2020; Belghit, Liland, et al., 2019; Tippayadara et al., 2021; Zhou et al., 2018). Los resultados de la evaluación de este tipo de alimentos han demostrado incrementar el crecimiento en tilapia alimentada con el 75 % de sustitución de harina de pescado (Limbu et al., 2022). Además, en este mismo organismo, el uso de harina de larva de mosca soldado no afecta los índices hepáticos y viscerales (Tippayadara et al., 2021), y mejora la digestibilidad aparente (Muin & Taufek, 2022) a diferencia de la alimentación con harina de pescado. En otros peces como la lobina europea, la alimentación con harina de larva de mosca soldado incrementa la actividad de lisozima como parte del sistema inmune (Abdel-Latif et al., 2021). La inclusión de esta harina de insecto al 10 % en alimentos para salmón también incrementó la tasa de crecimiento específico, la ganancia de peso, la tasa de eficiencia proteica y la tasa de crecimiento térmico a diferencia de la inclusión de larva de mosca soldado al 20 y 30 % (Fisher et al., 2020). Sin embargo, Belghit et al., (2019) no reportan diferencias significativas en las tasas de crecimiento, la digestibilidad aparente, la actividad de enzimas digestivas, la composición química proximal de salmón del Atlántico alimentado con 33, 66 y 100 % de sustitución de harina de pescado por harina de larva de mosca soldado.

Además de las harinas de insectos, las microalgas son otra alternativa a la sustitución de harina de pescado debido a su contenido nutricional (mejoradores del crecimiento) y a su contenido en compuestos inmunoestimuladores (Joshua & Zulperi, 2020).

Diferentes especies de microalgas se han usado en la alimentación de peces como *Chlorella sorokiniana*, *Chlorella vulgaris*, *Nannochloropsis oculata*, *Schizochytrium* sp., *Spirulina* sp. (Ahmad et al., 2022; Karapanagiotidis et al., 2022; C. Liu et al., 2022; Tokuşoglu & Ünal, 2003). Una de estas especies más usada es *Chlorella vulgaris* debido a su contenido en aminoácidos como lisina, leucina, alanina, treonina, así como su alto contenido en ácidos grasos (ácido oléico, palmítico, linolénico y linoléico) (Ahmad et al., 2020). Esta microalga sola y combinada con larva de mosca soldado se ha evaluado en la alimentación de trucha arcoíris mejorando los parámetros de producción y la salud intestinal (Liu et al., 2022). Además, en pez dorado, se ha demostrado no tener diferencias en la tasa de crecimiento, el factor de conversión alimenticia y la tasa de ganancia de peso cuando se reemplaza en un 30 % la harina de pescado por harina de *Chlorella vulgaris* demostrando ser una alternativa potencial como insumo proteico (Karapanagiotidis et al., 2022). En tilapia alimentada con *Chlorella vulgaris* los parámetros de producción incrementan cuando se incrementa el porcentaje de inclusión de la microalga (2.5 hasta 20 g/kg) (Abdel-Tawwab et al., 2022). Por otro lado, *Nannochloropsis oculata* también se ha usado en la producción de alimentos acuícolas principalmente por su perfil de aminoácidos con mayor realce en su alto contenido ácidos grasos, principalmente de ácido araquidónico (Cabrita et al., 2022). Esta microalga incrementa la tasa de crecimiento específica y el factor de conversión alimenticia, sin presentar diferencias significativas en el factor de condición y el índice hepatosomático en tilapia (Zahran et al., 2023). Sin embargo, Salem et al. (2022) demostraron que la alimentación de tilapia con la suplementación del 10 % de *Nannochloropsis oculata* incrementa los parámetros de producción, la actividad de lisozima, los niveles de inmunoglobulina M (IgM), y mantiene los niveles antioxidantes y de salud hepática. En pez dorada, se ha utilizado *Nannochloropsis gaditana* como insumo proteico de forma entera e hidrolizada sin presentar diferencias significativas en la tasa de crecimiento específico y el factor de conversión alimenticia (Ayala et al., 2023). En salmón, la inclusión de *N. oceánica* no incrementó los parámetros de producción a diferencia de la dieta sin microalga y no presentó diferencias significativas en la composición química del salmón (C. Liu et al., 2022).

Los alimentos funcionales tienen como objetivo proporcionar beneficios de

crecimiento, salud, medio ambiente y economía a diferencia de los alimentos convencionales (Olmos Soto et al., 2015). Debido a esto, además de incluir alternativas proteicas para la nutrición acuícola debe contener aditivos con funciones sobre la salud del pez, tal como derivados de plantas (fitogénicos), probióticos, prebióticos, simbióticos, enzimas, aglutinantes de micotoxinas, entre otros (Encarnaçãõ, 2016; Rohani et al., 2022). Dentro de los aditivos de origen vegetal se han usado extractos herbales o aceites esenciales de plantas medicinales (Tadese et al., 2022). El extracto herbal de *Salvia officinalis* y *Lippia citriadora* adicionado en alimentos para pez dorado han demostrado incrementar los parámetros de producción (tasa de crecimiento específica y de conversión alimenticia) sin afectar el sistema inmune (IgM, actividad del complemento y los niveles bacteriolíticos) a diferencia de un alimento convencional (Salomón et al., 2020). Además, en tilapia se han usado diversos extractos herbales de diferentes especies de plantas medicinales: *Mitracarpus scaber*, *Tamarindus indica* L., *Olea europea*, *Echinacea purpurea*, *Melissa officinalis*, *Hypericum perforatum*, *Origanum vulgare*, entre otros presentando mejoras en el crecimiento, digestibilidad y en su sistema inmune (Abdel Rahman et al., 2018; Adeniyi et al., 2022; Adeshina et al., 2021; Fazio et al., 2022; Mohammadi et al., 2020).

El aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) se ha usado como aditivo en la formulación de alimentos acuícolas debido a su composición química (carvacrol y timol mayoritariamente) (Alagawany et al., 2020). Los alimentos con aceite esencial de orégano se han evaluado en salmón (*Salmo labrax*) a concentraciones mínimas (0.005%, 0.01%, 0.02% y 0.04%) sin mostrar una diferencia significativa sobre los parámetros de producción. Sin embargo, se presentó un incremento en las vellosidades intestinales en los organismos alimentados con el 0.04 % de aceite esencial (Özel et al., 2022). La adición de este aceite al 0.2 % en alimento para carpa (*Cyprinus carpio* L.) presentó un incremento significativo en el sistema inmune, principalmente en la actividad de lisozima y de fagocitos (Abdel-Latif et al., 2020). Por otro lado, la adición de aceite esencial de orégano en diferentes concentraciones (0, 0.05%, 0.1 %, 0.15 % y 0.2 %) en alimentos para bagre (*Rhamdia* sp.) no presentó diferencias significativas en los parámetros de producción ni en los índices hepato-

somáticos y visceros-somáticos (Cararo et al., 2017). En tilapia (*Oreochromis niloticus*) se evaluó alimentos adicionados con aceite esencial de orégano al 0, 0.1 y 0.2 % bajo tres densidades de cultivo: baja, mediana y alta. Un incremento en la tasa de crecimiento específico fue observado en los peces alimentados con el 0.1 y 0.2 % a una densidad de cultivo media. Sin embargo la tasa de conversión alimenticia más baja se presentó a una densidad baja con la inclusión de 0.1 % de aceite (Shourbela et al., 2021). Actualmente el uso de aceite esencial de orégano proviene de la especie *Origanum vulgare*, sin embargo, en México la especie de orégano más comercializada y usada es *Lippia graveolens*. El uso de orégano mexicano en la acuicultura ha tomado realce por su composición química principalmente en carvacrol y timol. Además de su función como antimicrobiano, estimulador de crecimiento y inmonoestimulador (Escobedo-Bonilla et al., 2021).

II HIPÓTESIS

Un alimento funcional con ingredientes de alto valor nutricional con base en harinas de larva de mosca soldado, microalgas y carvacrol, estimulará el sistema inmune innato, así como las condiciones bioquímicas y organosomáticas de la

tilapia para mejorar su rendimiento y supervivencia debido al contenido de proteína, aminoácidos esenciales y grasas a diferencia de un alimento comercial.

III OBJETIVOS

III.I GENERAL

Desarrollar un alimento funcional con base en harinas larva de mosca soldado y microalgas, adicionado con carvacrol que mejore el sistema inmune, incremente el rendimiento, así como la supervivencia de la tilapia.

III.I.I Objetivos particulares

- Determinar el contenido químico proximal de las harinas de microalga y larva de mosca soldado que se utilizarán en la formulación de las dietas experimentales para tilapia.
- Obtener un alimento balanceado con una formulación a partir de harina de larva de mosca soldado y microalgas adicionado con carvacrol que cumpla con los requerimientos nutricionales de la tilapia.
- Determinar las variables de crecimiento, órgano-somáticas, y metabólicas en tilapia alimentada con las dietas experimentales.

IV METODOLOGÍA

El desarrollo de un alimento funcional con ingredientes alternativos y su efecto sobre la fisiología y producción de tilapia se realizó en tres etapas. Estas etapas se presentan de manera general en la Figura 1.

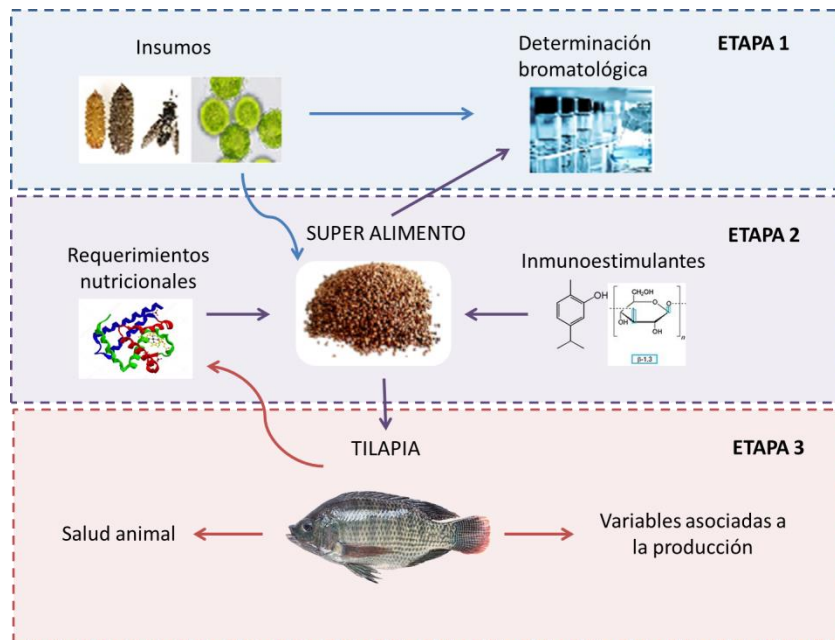


Figura 1. Diagrama general del desarrollo de un alimento funcional y su efecto sobre la fisiología y producción de tilapia.

La primera etapa constó de la obtención de las harinas de larva de mosca soldado-negra y microalga, así como su análisis bromatológico, además de la obtención de carvacrol. La segunda etapa consistió en el desarrollo y formulación del alimento con harina de microalga y de larva de mosca soldado, y la inclusión de aceite de orégano (fuente de carvacrol). Por último, en la tercera etapa se evaluó el alimento funcional sobre el estado fisiológico y de producción de la tilapia.

IV.I Obtención de carvacrol y harinas de larva de mosca soldado y microalgas

La primera etapa consistió en la obtención de los insumos para la formulación del alimento para peces: aceite de orégano como fuente de carvacrol, harina de microalga (*Chlorella vulgaris*) y harina de larva de mosca soldado (*Hermetia illucens*). Además, se realizó la caracterización bromatológica de las harinas.

IV.I.I Obtención del carvacrol

El carvacrol se obtuvo y dosificó en el alimento por medio de aceite esencial de

orégano. Se obtuvo orégano comercialmente y se molió en un molino con aspas para granos (pulvex). La harina obtenida se tamizó hasta obtener un tamaño de partícula de 0.41 mm (tamiz no. 40) y se conservó en frascos protegidos de la luz hasta su análisis.

La extracción del aceite esencial de orégano se realizó por microondas de la marca Anton Paar® Multiwave pro. Se colocaron 7 gramos de orégano con 25 ml de n-hexanos por cada tubo de extracción (8 tubos en total). La extracción se realizó a 60 °C por 15 minutos. Los extractos obtenidos se mezclaron y se colocaron en agitación constante hasta volatilizar el solvente y concentrar el aceite esencial. El aceite obtenido se conservó en frascos ámbar protegidos de la luz a – 20 °C.

Se derivatizó una alícuota del aceite y se mezcló con BSTFA (N,O-bis[trimethylsilyl]trifluoroacetamide) + 1% TMCS (trimethylchlorosilane). La solución fue mezclada por 2 minutos a temperatura ambiente. Se inyectó por triplicado 1 µl de esta solución en un cromatógrafo de gas (CG) de la marca Agilent serie 7890A (Wilmington, DE, USA), acoplado a un detector de masas (MS) de cuadrupolo simple (modelo 5975C) equipado con una fuente de ionización de electrones (EI). El flujo del gas (Helio) se mantuvo a 1 ml por minuto. La temperatura del inyector se programó a 250 °C en modo Splitless. Se utilizó una columna capilar HP-5MS (30 cm de largo, 250 µm de diámetro interno, y 0.25 µm de espesor). La temperatura inicial del horno fue de 100 °C por 1 minuto, incrementando 6 °C por minuto hasta llegar a 220 °C y se mantuvo por 1.23 minutos. Después se incrementó 10 °C por minuto hasta llegar a 290 °C y finalmente incrementó 40 °C por minuto hasta 310 °C por 7.5 min. La energía de EI se programó a 70 eV y el rango de masa fue de 50 a 700 m/z. El control de GC-MS y el procesamiento de datos se realizó en el software Chem-Station (Agilent Technologies).

IV.I.II Obtención de las harinas

El Laboratorio de bioingeniería de la Universidad Autónoma de Querétaro Campus Amazcala cuenta con una planta piloto de producción de microalgas localizada en el municipio de Colón en el Parque Agroindustrial (AgroPark). Además, este Laboratorio cuenta con una planta piloto de larva de mosca soldado localizada en la Universidad y Campus ya mencionados. Las microalgas y la larva de mosca soldado fueron obtenidos de dichas plantas piloto.

La producción de microalgas se realizó en medio con agua residual agrícola. Se centrifugo por medio de una centrífuga industrial para eliminar el exceso de agua. Después se deshidrató en un horno de convección forzada de la marca Memmert a 40 ° C (Figura 2). La producción de harina de larva de mosca soldado se realizó deshidratando a 70 °C la larva en un horno de convección. Ambas fuentes proteicas se molieron en un molino pulverizador y se separó el tamaño de partícula mediante un tamiz del No. 40 (0.41 mm). Las harinas obtenidas se almacenaron en bolsas plásticas a temperatura ambiente protegidas de la luz.



Figura 2. Pre-tratamiento de las harinas de microalga y larva de mosca soldado (secado, molienda y tamizado).

IV.I.III Caracterización bromatológica de las harinas

IV.I.III.I Humedad y cenizas

La determinación de humedad y cenizas se realizó tomando 1 gramo de cada muestra (microalga y larva de mosca soldado) en crisoles a peso constante. Se

registró el peso inicial o húmedo, y se procedió al secado en una estufa de convección forzada, de la marca Memmert, a una temperatura de 100 °C durante 24 horas. Una vez transcurrido el tiempo, se dejaron enfriar las muestras en un desecador durante 40 min – 1 hora, y se pesó el crisol con la muestra contenida; después se ingresó el crisol a la estufa por 1 hora, y se repitió el procedimiento hasta obtener el peso constante. Después de la obtención de la humedad, la misma muestra analizada se incineró en una mufla, de la marca Feliza, a 500 °C por seis horas. La muestra se dejó enfriar en un desecador, seguidamente se registró su peso. Los datos obtenidos de estas determinaciones se calcularon con las siguientes fórmulas;

$$\% \text{ humedad} = \frac{A - B}{A - C} \times 100$$

[1]

Donde:

A = Peso del crisol con la muestra húmeda (g)

B = Peso del crisol con la muestra seca (g)

C = Peso del crisol sin la muestra (g)

$$\% \text{ cenizas} = \frac{a - b}{c} \times 100$$

[2]

Donde:

a = Peso del crisol con las cenizas (g)

b = Peso del crisol sin la muestra (g)

c = Peso de la muestra seca (g)

IV.I.III.II Proteína total (g/100g)

El análisis de proteína total se realizó por el método de TKN (Total Kjeldhal Nitrogen), mediante una digestión asistida por microondas. Se tomó 2 g de muestra con 8 ml de ácido sulfúrico y 2 ml de peróxido de oxígeno (30 %). La digestión se realizó de acuerdo con método descrito por TKN con las

especificaciones para microondas (Multiwave PRO, Anton Parr ®). Una vez digerida la muestra se analizó por el método de Nessler (Método HACH 8075, 2010) en un espectrofotómetro DR600, de la marca HACH Company®.

IV.I.III.III Grasas totales (g/100g)

La determinación de grasas totales se realizó mediante una extracción con acetona:hexanos en una relación 1:2 por microondas, (Multiwave PRO, Anton Parr ®), como se describe en el método EPA 450. Después de la extracción la determinación se realizó por gravimetría; es decir, el solvente (acetona:hexanos) de la muestra se evaporó, y secó en un horno de convección forzada a 60 °C hasta obtener su peso constante. Los resultados se registraron y se realizaron los cálculos con la siguiente fórmula;

$$\% \text{ grasa} = \frac{A - B}{C} \times 100$$

[3]

Donde:

A = Peso del tubo más la grasa (g)

B = Peso del tubo sin muestra (g)

C = Peso de la muestra seca (g)

IV.I.III.IV Calorías (Cal/g)

La determinación del poder calórico o las calorías totales en la microalga y la larva de mosca soldado se realizaron en una bomba calorimétrica de la marca Parr modelo 6200 (método isoperbólico). La muestra procesada se densificó en la peletizadora manual incluida en el equipo, obteniendo un pellet con un peso entre 0.5 y 1 g.

IV.I.III.V Carbohidratos totales (g/100g)

Los carbohidratos totales se determinaron por el método espectrofotométrico de antrona. Se tomaron las muestras para ser digeridas con ácido clorhídrico (HCl) en un termobañó, marca Thermo Scientific, por un periodo de 3 horas. Después de la

digestión las muestras se dejaron enfriar, y se neutralizaron con carbonato de sodio. Las muestras neutralizadas se llevaron a un volumen total de 100 ml y fueron centrifugadas a 10 000 rpm por 10 minutos. La reacción del reactivo antrona se preparó en ácido sulfúrico (H_2SO_4) se agregó a la muestra en un baño frío. Después la reacción se calentó en un termobañó a ebullición por 8 minutos. Además, se realizó una curva de calibración con glucosa y se realizó el mismo proceso de la muestra. La reacción se leyó en un espectrofotómetro de microplaca Multiskan®, de la marca Thermo Scientific a una longitud de onda de 630 nm.

IV.I.III.VI Cuantificación de aminoácidos

Se realizó la obtención de aminoácidos comenzando con una digestión ácida de la muestra de harina de larva de mosca soldado utilizando ácido clorhídrico 6N. Las muestras se dejaron deshidratar en un horno de convección forzada a 110 °C por 24 h. Se resuspendió la muestra en ácido clorhídrico. Se tomó una alícuota de 20 μ l de la muestra y se derivatizó con el reactivo ACCQ-Fluor (WAT052880-Waters Corporation, USA). Primero se agregó 60 μ l de buffer de borato ACCQ-Fluor se mezcló. Después se agregaron 20 μ l del reactivo ACCQ-Fluor y se mezcló por 30 segundos. La mezcla se transfirió a viales limpios y se calentó en un baño maría a 55 °C. La muestra se inyectó en un cromatógrafo líquido de alta definición (HPLC, Waters module) acoplado a un detector PDA (PDA modelo 2998). Se tomaron 10 μ l de la muestra para separarlo en una columna C18 de boro silicato (3.9 mm x 150 mm) en fase reversa para aminoácidos (Acc Tag). Se utilizó un eluyente A de Waters AccQ Tag (WAT052890) y se diluyó con agua miliQ al 10%. Además, se utilizó como eluyente B acetonitrilo al 60 % en un gradiente de separación con un flujo de 1.0 ml/min. El gradiente de separación fue del minuto 0 al 2 diluyente A 100%, minuto 2 (diluyente A 98%), minuto 15 diluyente A 93 %, minuto 19 diluyente A 90%, minuto 32 diluyente A 67%, minuto 38 diluyente A0%, y minuto 56 diluyente B 100%. La detección de los aminoácidos se realizó en un PDA a 254 nm a 37 °C dentro de la columna. La identificación de los aminoácidos se realizó con el software Empower Pro y la cuantificación se obtuvo con base en el estándar

de calibración de cada aminoácido.

IV.I.III.VII Cuantificación de ácidos grasos

Extracción

Se tomó 50 mg de muestra seca y se mezcló con 400 µl de NaOH (1.25 M con metanol) y se llevó a sonicación por 5 minutos. Después se agregó 400 µl de H₂SO₄ (1.75 M con metanol) y se llevó a sonicación por 5 minutos. Por último se agregaron 800 µl de hexano. La solución se mezcló y centrifugó a 10 000 g por 5 minutos. Se recuperó el sobrenadante y se conservó en congelación hasta su uso.

Para la cuantificación se tomó 1 µl del extracto y se inyectó en un cromatógrafo de gases (GS) de la marca Agilent serie 7890A acoplado a un espectrómetro de masas (Agilent modelo 5975C) equipado con una fuente de ionización de electrones. El flujo del gas (Helio) se mantuvo a 1 ml por minuto. La temperatura del inyector se dejó a 250 °C en modo splitless. Se utilizó una columna capilar HP-88 (30 cm x 0.25 mm de diámetro interno x 0.25 µm). La temperatura inicial fue de 50 °C y se mantuvo por un minuto hasta incrementar a 175 °C con un rango de 15 °C por minuto durante 5 minutos. La energía de ionización se programó a 70 eV y el rango de masa de 50-110 m/z. La identificación y cuantificación de los ácidos grasos con un estándar Supelco 37 mezcla para ácidos grasos. El procesamiento de datos se realizó en el software Chem-Station C.01.10.

IV.II Formulación de los alimentos experimentales con harina de microalga y de larva de mosca soldado

La segunda etapa consistió en la formulación y caracterización del alimento para peces. Primero se consideró los requerimientos nutricionales de la tilapia, y de acuerdo con el contenido bromatológico de cada insumo se hizo la formulación del alimento. Se realizó un balance teórico del alimento en relación con el contenido bromatológico de las microalgas y la larva de mosca soldado; para ello se ajustaron los contenidos de proteína, lípidos y carbohidratos a los requerimientos

de la tilapia. Las dietas se realizaron considerando principalmente la parte proteica para obtener alimentos isoprotéicos. La parte esencial de este balance se basó en la concentración del aminoácido lisina, por ser el aminoácido esencial en el desarrollo fisiológico de la tilapia. Utilizando la lisina como referencia en la formulación, se expresó la concentración de otros aminoácidos por el porcentaje de lisina de acuerdo con Miles y Chapman (2011).

IV.II.I Alimentos experimentales

Se prepararon tres alimentos experimentales: alimento mezcla (DB) que contenía 15 % de larva de mosca soldado-negra más 5 % de microalgas, alimento larva (DLMS) que contenía 20 % harina de larva de mosca soldado y alimento microalga (DM) que contenía 15 % de *Chlorella vulgaris* como microalga. Cada uno de los alimentos contenían las siguientes harinas en común: carne y hueso, maíz, pasta de soya, salvado y gluten de trigo en diferentes porcentajes para cumplir los requerimientos de la tilapia. Todas las harinas se procesaron en un molino pulverizador eléctrico oscilante y se separó a un tamaño de partícula de 0.6 mm por medio de un tamiz, (no. 30) de la marca MONT INOX.

Las harinas se mezclaron de forma manual hasta obtener una mezcla homogénea, se agregó el aceite de larva de mosca al final de cada mezcla, así como el agua necesaria como aglutinante y se mezcló de manera manual (Figura 3). Las mezclas se densificaron mediante una peletizadora bajo condiciones de temperatura y luz controladas (temperatura ambiente y protegido de la luz) para evitar la degradación de los compuestos nutricionales. Los pelets obtenidos se deshidrataron a 50 °C en un horno de convección forzada (Memmerk®) durante 24 horas. Además, se procesaron en un molino para granos manual hasta obtener el tamaño de partícula necesario en cada etapa de crecimiento del pez. Los alimentos procesados se almacenaron a 4 °C protegidos de la luz hasta su uso.

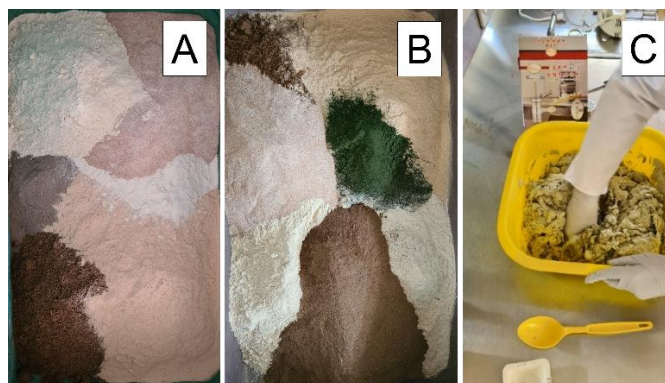


Figura 3. A) harinas para el alimento de larva de mosca soldado, B) harinas para el alimento mezcla (microalga + larva de mosca soldado), y C) mezclado de las harinas correspondientes para cada uno de los alimentos experimentales.

Además, se utilizó la dieta mezcla (DB) como alimento base para la adición del aceite de orégano como fuente de carvacrol. Este aceite fue agregado por aspersión usando etanol como eluyente a los porcentajes 0.0, 0.1, y 0.2. Se colocó el alimento en charolas y se adicionó con el aceite, se dejó reposar cubierto de la luz por 24 h y se almacenó en frascos cubiertos de la luz. Además, se adicionó alimento comercial con un aditivo comercial que contenía ajo (*Allium sativum*) y canela (*Cinnamomum verum*) con los porcentajes 0.0, 0.1 y 0.2 %. Este aditivo se agregó siguiendo las indicaciones del fabricante: mezclar el aditivo en polvo por completo en el alimento seco.

IV.II.II Determinaciones físicas de los alimentos

Las dietas procesadas se evaluaron físicamente; flotabilidad, solubilidad, densidad aparente, así como el índice de absorción y solubilidad en agua. La velocidad de medición fue de 2 mm/s y la fuerza máxima aplicada fue registrada. La flotabilidad del alimento fue analizada a temperatura ambiente colocando 10 pelets en un vaso de precipitado de 250 ml. Se colocó 100 ml de agua destilada y se registró la cantidad de pelets flotando después de 20 minutos. La flotabilidad fue calculada de acuerdo con la siguiente ecuación;

$$F = \left(\frac{F_f}{F_i} \right) \times 100$$

F = Flotabilidad

Ff = Cantidad de pelets flotantes

Fi = Cantidad de pelets inicial

La solubilidad del alimento se realizó con 10 pelets previamente pesados y se colocaron en un tubo cónico de 50 ml. Se agregó 40 ml de agua destilada y se llevó a agitación durante 6 horas. Después del tiempo de agitación se filtró la mezcla con una malla del número 8 (2.38 mm). Los sólidos obtenidos se colocaron en un recipiente previamente pesado y se colocaron en un horno de convección a 100 ° C por 4 h. Después del tiempo de deshidratación se pesó la muestra. La solubilidad se reportó como la diferencia de entre el peso inicial de alimento menos el peso final de la muestra.

La densidad aparente se determinó con 10 g de alimento colocados en una probeta de 100 ml. Se agregó 60 ml de agua y se agitó para eliminar el aire contenido entre el alimento y el agua. Se registró el volumen final y se calculó la densidad dividiendo el peso de la muestra entre el volumen final registrado (g/ml).

El índice de absorción y solubilidad en agua se determinó con 2.5 g de alimento previamente molido y tamizado (200 μ m) y disuelto en 30 ml de agua destilada. La mezcla se incubó a 30 ° C durante 30 minutos con agitación intermitente. Después del tiempo de agitación las muestras fueron centrifugadas a 3000 g por 10 minutos. El sobrenadante se colocó en contenedores previamente pesados y se deshidrataron a 135 ° C durante 2 h. El precipitado obtenido se pesó y se utilizó para calcular el índice de absorción en agua de acuerdo con la siguiente ecuación;

$$IAA = \frac{P_p}{P_{mp}}$$

IAA = Índice de absorción en agua

Pp = Peso del precipitado

P_{mp} = Peso de la muestra en polvo

El índice de solubilidad en agua se calculó con la siguiente ecuación;

$$ISA = \left(\frac{P_{ss}}{P_{mp}} \right) \times 100$$

[5]

ISA = Índice de solubilidad en agua

P_{ss} = Peso del sobrenadante seco

P_{mp} = Peso de la muestra en polvo

IV.III Determinación de las variables de crecimiento

IV.III.I Evaluación de los alimentos experimentales sobre la fisiología de la tilapia alimentada

La tercera etapa consistió en la evaluación de los tres alimentos formulados (alimento mezcla, alimento larva y alimento microalga) en comparación con un alimento comercial. La evaluación se realizó con un diseño experimental factorial 3 x 2 con un acomodo por bloque al azar. El cultivo de tilapia comenzó con la reproducción de los organismos hasta obtener el huevecillo de las hembras. Los huevos obtenidos se dejaron eclosionar en un sistema por medio de jarras de eclosión tipo McDonald durante 7 días a condiciones de invernadero (24.75 ± 1.5169 °C). Después de la eclosión, los alevines de tilapia obtenidos se colocaron en estanques de 370 L durante seis semanas (45 días aprox.) (Figura 4 A). Estos alevines de 5 días de eclosión se alimentaron con las diferentes dietas por medio de alimentadores automáticos, cuatro veces al día (8:00, 12:00, 15:00, y 17:00). Después de las seis semanas, los alevines se cambiaron a un sistema experimental con estanques de 1,100 L (Figura 4 B) para incrementar el espacio de cultivo requerido durante su crecimiento.

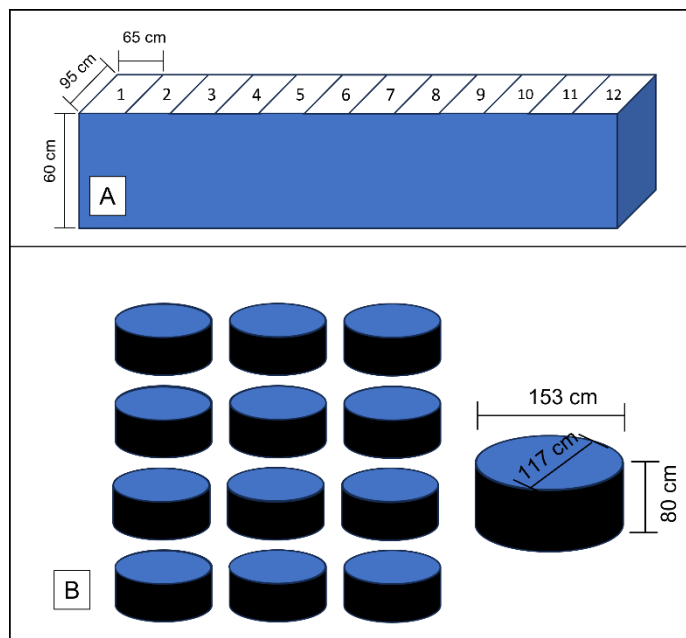


Figura 4. Sistema de cultivo experimental de tilapia. A) Sistema con estanques de 370 L, B) Sistema con estanques de 1100 L.

En cada uno de los sistemas se colocaron equipos de aireación para mantener las condiciones de oxígeno adecuadas para la tilapia. Además, se realizó un recambio de agua semanal en su totalidad para retirar los compuestos nitrogenados que se concentraban en el sistema de cultivo.

IV.III.II Evaluación del alimento adicionado con carvacrol sobre la fisiología de tilapia

Se realizó la evaluación del alimento mezcla (microalga al 5 % + larva 15 %) con la adición de dos niveles de inclusión porcentual del aceite de orégano; 0.0, 0.1 y 0.2 % en comparación con un alimento comercial adicionado con el aditivo comercial a las concentraciones 0.0, 0.1 y 0.2 %. El experimento consistió en un sistema en recirculación de 18 peceras de 12 L con 15 alevines de tilapia por pecera de 0.7 ± 0.1 g con una edad de 45 días (Figura 5). Los organismos fueron alimentados al 10 % de su masa corporal dividido en 6 dosis al día durante 9 semanas. Las condiciones de oxígeno se mantuvieron en 6 ± 2 mg/L, de temperatura a 28 ± 1 °C y de pH a 7 ± 1 . Se realizó un recambio en su totalidad de agua una vez por

semana a cada una de las peceras.

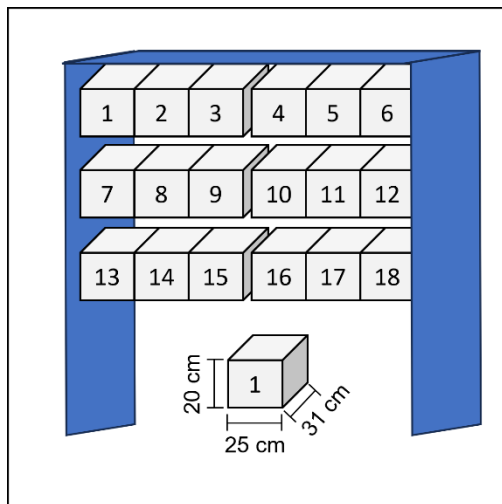


Figura 5. A) Biosistema para la evaluación de tres alimentos con harina de microalga y de larva de mosca soldado con dos niveles de inclusión de aceite esencial de orégano; 1 y 2 %.

IV.III.III Estado fisiológico de la tilapia

IV.III.III.I Producción de tilapia

La evaluación de la producción de tilapia dependió de la medición de las condiciones fisiológicas de crecimiento y desarrollo; es decir, se realizaron biometrías semanales, y se realizó la bioquímica sanguínea de los peces al finalizar el experimento. Además, se realizó el análisis de los parámetros de producción y se calcularon los índices organosomáticos como parte de la evaluación fisiológica de la tilapia.

IV.III.IV Monitoreo del crecimiento

El monitoreo del crecimiento se realizó una vez por semana tomando el 10 % de la población de cada tratamiento. Estas mediciones constaron del pesaje de cada pez y la medición de su longitud. El peso se midió con una balanza Precisa BJ610C colocando un vaso con agua, se marca en ceros la balanza y se introduce al pez dentro del vaso para obtener así su peso húmedo. La longitud se obtuvo por la medición mediante un vernier Mitutoyo Absolute IP67 registrando longitud

total (longitud de cabeza al final de la aleta caudal) y longitud patrón (longitud de cabeza al inicio de la aleta caudal). En la evaluación de los alimentos con aceite de orégano se realizaron las mediciones a toda la población (15 peces por pecera) una vez por semana durante 9 semanas. El monitoreo del crecimiento de tilapia permite calcular el tipo de crecimiento que puede presentar el organismo de acuerdo con el análisis de regresión lineal entre el peso y la longitud patrón de cada pez.

IV.III.V Variables asociadas a la producción

Los resultados obtenidos de las biometrías y la respuesta metabólica permitieron calcular las variables asociadas a la producción;

$$\text{Supervivencia \%} = \frac{\text{organismos finales} * 100}{\text{organismos iniciales}}$$

[6]

Se calculó el porcentaje del peso ganado ya que indica cuánto peso ganó el individuo durante el tiempo de experimentación;

$$\text{Peso ganado \%} = \frac{100 * (\text{peso final} - \text{peso inicial})}{\text{peso inicial}}$$

[7]

Además, se calculó la tasa específica de crecimiento del individuo durante el periodo de experimentación;

$$\begin{aligned} &\text{Tasa específica de crecimiento \% por día (T. E. C)} \\ &= \frac{100 \ln * (\text{peso final} - \ln \text{ peso inicial})}{\text{días del experimento}} \end{aligned}$$

[8]

Se calculó el aumento en el peso individual en promedio por día de experimentación por organismo;

$$\text{Peso ganado individual g por día} = \frac{(\text{Peso final} - \text{peso inicial})}{\text{edad en días}} \quad [9]$$

Se calculó el alimento que consume un individuo en promedio por cada día de experimentación;

$$\text{Alimento consumido individual g por día} = \frac{\sum \text{alimento individual por semana}}{\text{número de días}} \quad [10]$$

Se calculó la eficiencia con la que los individuos convierten el alimento ingerido en biomasa;

$$\text{Tasa de Conversión Alimenticia (T. C. A)} = \frac{\text{alimento ingerido (g)}}{\text{peso ganado individual (g)}} \quad [11]$$

IV.III.VI Análisis organosomáticos

Los análisis organosomáticos se realizaron por gravimetría de los órganos específicos como vísceras, hígado, branquias y bazo. Los resultados indican el índice visceral, hepatosomático, índice branquiosomáticos y bazosomáticos mediante las siguientes ecuaciones;

$$\text{Índice visceral (IVS)} = \frac{\text{Peso húmedo de las vísceras}}{\text{Peso húmedo del pez} - \text{peso húmedo de las vísceras}} \quad [12]$$

$$\text{Índice hepatosomático (IHS)} = \frac{\text{Peso húmedo del hígado}}{\text{Peso húmedo del pez} - \text{peso húmedo del hígado}} \quad [13]$$

$$\begin{aligned} \text{Índice branquiosomático (IAS)} \\ = \frac{\text{Peso húmedo de las branquias}}{\text{Peso húmedo del pez} - \text{peso húmedo de las branquias}} \end{aligned} \quad [14]$$

$$\text{Índice bazosomático (IBS)} = \frac{\text{Peso húmedo del bazo}}{\text{Peso húmedo del pez} - \text{Peso húmedo del bazo}}$$

[15]

IV.III.VII Calidad de agua

Se determinó la temperatura, pH, oxígeno disuelto (OD), nitratos (NO_3^-), nitritos (NO_2^-) y nitrógeno amoniacal (N-NH_3) de cada uno de los estanques experimentales durante las 17 semanas para la evaluación de los alimentos con microalga, larva y mezcla. Se usó medidor multiparamétrico HACH® con sensores específicos para temperatura, pH, y óxido disuelto. La determinación de nitratos se realizó mediante el método de reducción de cadmio (método HACH 8171, 2010), la concentración de nitritos por el método de diazotización (método HACH 8507, 2010) y el nitrógeno amoniacal por el método Nessler (método HACH 8038, 2010). La lectura de la absorbancia se realizó en el espectrofotómetro HACH® DR6000 indicada en cada uno de los métodos.

IV.III.VIII Análisis estadístico

Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente por medio del software Statgraphics centurion® mediante un análisis ANOVA de dos vías. Además, la determinación del tipo de crecimiento se realizó por medio de regresiones lineales multiplicativas. Todos los análisis se realizaron con un nivel de confianza de 95 %.

V RESULTADOS Y DISCUSIÓN

V.I Caracterización proximal de la harina de microalgas y larva de mosca soldado

La producción de harina de microalga fue de 2.7 kg de microalga seca y 3.2 kg de harina de larva de mosca soldado, se almacenaron en frascos de cristal y bolsas plásticas para evitar su contaminación. La concentración proteica de las harinas de microalga y de larva de mosca soldado fue del 35.82 y 60.63 %, respectivamente.

respectivamente. Respecto a la concentración de grasas se presentó un mayor contenido en la harina de microalga debido al desgrasado previo que se realizó a la harina de larva de mosca soldado. Además, se presenta mayor concentración de fibra cruda en la harina de microalga. El contenido de minerales en ambas harinas es muy variado, sin embargo, se resalta mayor contenido de calcio en la harina de larva de mosca soldado y mayor contenido de magnesio y potasio en la harina de microalga. Estos resultados se presentan en el Cuadro 1. El contenido mineral en larva de mosca soldado está asociado al sustrato en el que se produce (Spranghers et al., 2017) y presenta un alto contenido en calcio cuando se usa como sustrato plátano, naranja o cereales (Makkar et al., 2014; Romano et al., 2023).

Cuadro 1. Caracterización bromatológica de la harina de microalga y larva de mosca soldado.

Determinaciones	Microalga <i>C. vulgaris</i>	Larva MSN
Proteína (%)	35.82	60.63
Grasas totales (%)	23.66	15.01
Carbohidratos totales (%)	8.78	4.67
Humedad (%)	12.30	7.64
Cenizas (%)	16.62	5.73
Fibra cruda (%)	29.28	6.32
Fe (mg/g)	0.046	0.218
Ca (mg/g)	3.377	14.371
Mn (mg/g)	0.055	No detectable
Mg (mg/g)	17.220	7.050
Zn (mg/g)	0.388	1.108
Cu (mg/g)	0.031	0.007
K (mg/g)	9.378	No detectable
Na (mg/g)	1.194	0.996

MSN; mosca soldado negro

Por otro lado, se realizó la caracterización proximal de las harinas complementarias (gluten de trigo, harina de maíz, harina de carne, salvado de trigo y harina de soya). De acuerdo con esta caracterización se obtuvo el 72 % de proteína en el gluten de trigo, seguido de la harina de carne con el 51.3 % y la harina de soya con el 46.3 %. El porcentaje más alto de grasa se presentó en la harina de carne con el 4.59 %. La harina de maíz presentó el 80.39 % de carbohidratos, el contenido de cenizas fue mayor en la harina de carne con el 32.4 % y el salvado de trigo presentó el mayor porcentaje de fibra con el 20.8 %. Estos resultados se presentan en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Caracterización bromatológica de las harinas complementarias.

Determinaciones	Gluten de trigo	Harina de maíz	Harina de soya	Salvado de trigo	Harina de carne
Proteína (%)	72.2	7.2	46.3	16.6	51.3
Grasas totales (%)	0.68	0.27	0.06	1.09	4.59
Carbohidratos totales (%)	11.52	80.39	32.78	54.08	5.88
Humedad (%)	10.75	9.52	10.67	6.36	4.22
Cenizas (%)	3.71	1.39	6.89	1.07	32.4
Fibra cruda (%)	1.14	1.23	3.30	20.80	1.61

El perfil de aminoácidos de la harina de larva de mosca obtenido se presenta en el Cuadro 3. Estos resultados presentan una alta concentración en los aminoácidos arginina, fenilalanina, isoleucina, leucina, lisina, treonina, valina, ácido aspártico, ácido glutámico, alanina, glicina, prolina y serina. Dentro de los cuales, la lisina es un aminoácido esencial implicado en la síntesis de proteínas.

Cuadro 3. Perfil de aminoácidos de la harina de larva de mosca soldado

Aminoácidos %	Harina de larva de mosca soldado
---------------	----------------------------------

Arginina (Arg)	1.68
Cisteína (Cys)	0.25
Fenilalanina (Phe)	1.56
Histidina (His)	0.93
Isoleucina (Ile)	1.74
Leucina (Leu)	2.80
Lisina (Lys)	2.08
Metionina (Met)	0.5
Tirosina (Tyr)	2.08
Triptófano (Trp)	0.39
Treonina (Thr)	1.58
Valina (Val)	2.41
Ácido aspártico (Asp)	3.32
Ácido glutámico (Glu)	4.39
Alanina (Ala)	3.12
Glicina (Gly)	2.41
Prolina (Pro)	2.37
Serina (Ser)	1.80

La cuantificación e identificación de ácidos grasos contenidos en la harina de larva de mosca soldado se presenta en el Cuadro 4. Los ácidos grasos de mayor concentración son dodecanoico (C12:0), palmítico (C16:0), oléico+elaídico (C18:1n9 c+t), y linoleico + linolelaídico (C18:2n c+t). Si embargo, también presenta bajos porcentajes de ácido capríco, mirístico, esteárico, palmitoleico, octadecanoico, linolénico y Cis -6,9,12,15-Octadecatetraenoico.

Cuadro 4. Concentración en porcentaje de ácidos grasos contenidos en harina de larva de mosca soldado.

Ácidos grasos %	Harina de larva de mosca soldado
Saturados	
Ác. Decanoico (C10:0, capríco)	0.14

Ác. Dodecanoico (C12:0, láurico)	7.06
Ác. Tetradecanoico (C14:0, mirístico)	1.79
Ác. Hexadecanoico (C16:0, palmítico)	3.01
Ác. Octadecanoico (C18:0, esteárico)	0.67
Monoinsaturados	
Ác. Hexadecaenoico (C16:1, palmitoleico)	0.54
Ác. Oleico + Elaídico (C18:1n9 c+t)	2.97
Ác. Cis-11-Octadecanoico (C18:1n7)	0.13
Poliinsaturados	
Ác. Linoleico + Linolelaídico (C18:2n c+t)	3.7
A Linolénico (C18:3n3)	0.39
Cis -6,9,12,15-Octadecatetraenoico (C18:4n3)	0.07

V.II Formulación y elaboración de los alimentos experimentales

La formulación de los alimentos experimentales se realizó de acuerdo con las características bromatológicas de cada una de las harinas a utilizar y su relación con los requerimientos nutricionales de la tilapia. El Cuadro 5 presenta la fórmula de las tres dietas: 5 % de inclusión de microalga para el alimento microalga (DM), 15 % de inclusión de larva de mosca soldado para el alimento larva (DLMS) y 5 % de microalga más 15 % de larva de mosca soldado para el alimento mezcla (DB). De acuerdo con El-Sayed y colaboradores (1992) el requerimiento de proteína en alevines con un peso de 0.012 g es del 45 % para asegurar un crecimiento adecuado tal como se obtuvo en los alimentos formulados. Por otro lado, el requerimiento de grasa es mayor durante el desarrollo de alevines y disminuye de acuerdo con la etapa de desarrollo del organismo (Winfree & Stickney, 1981). Debido a esto, se realizó la formulación de los alimentos cumpliendo con el 45 % de proteína y un contenido de grasa superior al 5 %. Por otra parte, el contenido de carbohidratos fue mayor en la dieta con microalgas a diferencia de las demás.

De acuerdo con Anderson y colaboradores (1984), la tilapia puede tener un porcentaje de inclusión de carbohidratos hasta del 40 % dentro de los cuales se encuentran la dextrina, almidones, glucosa, sacarosa, almidones y los polisacáridos no almidonados. Los almidones y polisacáridos no almidonados deben mantenerse en porcentajes muy bajos ya que están asociados negativamente al crecimiento de peces y a la tasa de conversión alimenticia (Maas et al., 2020). Por otro lado, el contenido de fibra fue similar para todas las dietas obteniendo un porcentaje del 3 al 4 % en total.

Cuadro 5. Fórmula y composición química de los alimentos experimentales para tilapia en etapa de alevín.

Ingredientes (%)	¹ DM	² DLMS	³ DB	⁴ DC
Microalga	5	0	5	No
Larva de mosca soldado	0	15	15	No
Harina de carne	32	20	22.5	Si
Pasta de soya	28	28	28	Si
Gluten de trigo	11	11	11	No
Salvado de trigo	9	6	6	Si
Harina de maíz	2	2	2	Si
Aceite de larva de mosca soldado	3	13	10.5	No
Composición química (%)				
Proteína	44.33	44.43	44.47	45
Grasas	8.21	17.08	15.13	15
Carbohidratos	20.12	17.41	17.73	13
Humedad	8.13	7.11	7.45	10
Cenizas	15.32	10.06	11.41	14
Fibra	3.88	3.91	3.77	3
Calorías Kcal/g	4.603	5.034	4.843	4.786

¹DM; dieta microalga, ²DLMS; dieta larva de mosca soldado, ³DB; dieta mezcla, ⁴DC; dieta comercial.

Se obtuvieron tres alimentos experimentales en forma de pelets; alimento con microalga, con larva de mosca soldado y un alimento mezcla con microalga y larva de mosca soldado. Estos alimentos se trituraron y separaron por tamaño para cumplir con el tamaño específico de cada etapa de crecimiento de la tilapia como se muestra en la Figura 6.



Figura 6. Alimento elaborado y separado por diferentes tamaños; tamiz 30 (0.5 mm), tamiz 20 (0.8 mm) y tamiz 10 (2 mm).

Las características físicas como el índice de absorción de agua, índice de solubilidad en agua, flotabilidad (%), densidad aparente (g/L) y la velocidad de hundimiento (cm/s) se presentan en el Cuadro 6. De acuerdo con los resultados obtenidos el alimento comercial tiene el mayor índice de absorción de agua y el mayor índice de solubilidad, sin embargo, el alimento con microalga presentó el menor índice de absorción de agua. Estos dos índices indican la capacidad de hidratación de los pelets y dependen de las harinas usadas en la mezcla (Kraugerud et al., 2011). De acuerdo con Ma y colaboradores (2021), el índice de absorción de agua disminuye y el índice de solubilidad en agua incrementa debido a la dextrinización del almidón contenido en las harinas de origen vegetal cuando son procesadas a altas temperaturas.

Cuadro 6. Características físicas de los alimentos elaborados.

	¹ DM	² DLMS	³ DB	⁴ DC
Índice de absorción de agua	2.5 ± 0.06 b	2.82 ± 0.27ab	2.85 ± 0.09ab	3.40 ± 0.14 a
Índice de solubilidad	5.14 ± 1.55 b	5.60 ± 2.44b	4.75 ± 0.76b	11.90 ± 2.04 a

en agua				
Flotabilidad (%)	73.33 ± 5.77 a	10.0 ± 10.0 b	73.33 ± 20.81 a	73.33 ± 20.81 a
Densidad aparente (g/L)	0.60 ± 0.006 ab	0.58 ± 0.007 ab	0.61 ± 0.007 a	0.51 ± 0.01 b
Velocidad de hundimiento (cm/s)	4.8 ± 0.5 a	3.9 ± 0.7 ab	2.8 ± 0.6 ab	0.7 ± 0.04 b

¹DM; dieta microalga, ²DLMS; dieta larva de mosca soldado, ³DB; dieta mezcla, ⁴DC; dieta comercial. Los resultados se presentan como la desviación estándar con un nivel de confianza del 95%.

Por otro lado, el porcentaje de flotabilidad fue similar entre el alimento con microalga, mezcla y comercial a diferencia del alimento con larva de mosca soldado que presentó el menor porcentaje de flotabilidad. La densidad aparente presentó diferencias estadísticamente significativas entre el alimento mezcla (0.61 g/L) y el alimento comercial (0.51 g/L). La velocidad de hundimiento fue mayor en el alimento microalga y menor en el alimento comercial. De acuerdo con (Irungu et al., 2018), la densidad aparente y la velocidad de hundimiento están asociadas al porcentaje de grasa contenido en los alimentos para peces. Debido a esto, las características físicas del alimento con larva de mosca soldado se justifican por su alto contenido en grasa (17.08 %).

De acuerdo con los resultados obtenidos, se seleccionó el alimento mezcla como la mejor fórmula para el desarrollo de la tilapia y fue utilizado como el alimento base adicionado con aceite de orégano. Se obtuvieron dos alimentos con dos niveles de inclusión del aceite de orégano con el 52% de carvacrol: 0.1 % y 0.2 % de acuerdo con lo reportado por Shourbela y colaboradores (2021) y un alimento sin la adición de aceite (0.0%). La adición de este aceite se realizó usando como diluyente etanol al 96 % por aspersión manual.

V.III Determinación de las variables de crecimiento y fisiología de la Tilapia

V.III.I Determinación de las variables de crecimiento de la tilapia alimentada con tres dietas experimentales

El primer experimento consistió en la obtención del huevo de tilapia para evaluar cada uno de los alimentos elaborados como único alimento durante el ciclo de vida de los organismos a evaluar. Se realizó la reproducción de 80 machos y 140 hembras de tilapia durante una semana del mes de mayo bajo condiciones de invernadero (28 - 30 °C) (Figura 7). Se obtuvieron 170.5 g de huevo que se colocó en una jarra de eclosión durante una semana (Figura 8). Después del tiempo de eclosión se obtuvieron 26 528 alevines con un peso de 0.0078 ± 0.016 g, de los cuales se colocaron 2 200 alevines por estanque.



Figura 7. A) Reproductor macho y B) reproductor hembra de tilapia utilizados para la obtención de huevo.

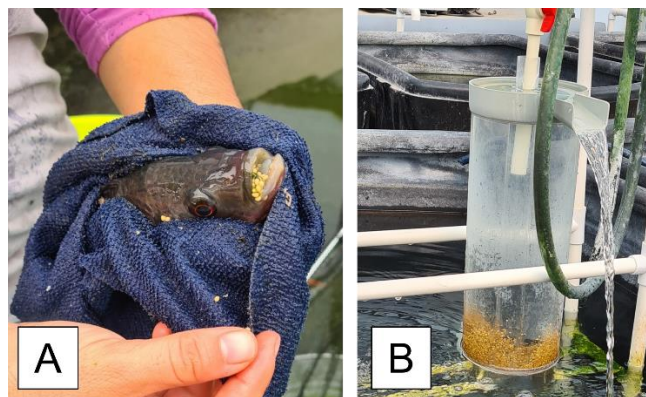


Figura 8. A) Reproductor hembra de tilapia con huevo fecundado. B) Sistema de jarra para la eclosión de huevo de tilapia.

Además, se adecuó el biosistema con las condiciones específicas para mantener

los alevines desde su eclosión hasta su tiempo de experimentación. En la Figura 9A se presenta el primer sistema de experimentación. Este sistema tiene 12 estanques con un volumen de 370 L (60 cm x 95 cm x 65 cm) y se usaron para los cuatro alimentos (DB, DLMS, DM y DC) por triplicado durante los primeros 45 días. El segundo sistema consiste en 12 estanques de 1100 L (117 cm x 153 cm x 80 cm) el cual se usó durante los últimos 45 días de experimentación (Figura 9B).



Figura 9. A) Sistema de 12 estanques de 370 L de volumen para la eclosión y cultivo de alevines.
B) Sistema de 12 estanques de 1100 L para el mantenimiento de alevines

De acuerdo con el monitoreo del crecimiento de los peces alimentados con las tres dietas formuladas y procesadas se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre el crecimiento en peso de los organismos (Figura 10). El mayor crecimiento se presentó en los alevines a los que se les suministró el alimento mezcla seguido de aquellos con el alimento con larva de mosca soldado, 4.26 ± 3.23 g y 3.8117 ± 3.03 g respectivamente. Estos resultados son similares a los que se presentan en alimentos para *Salmo solar* con el 20 % de inclusión de larva de mosca soldado (Fisher et al., 2020). Además, la inclusión del 5 % de

Nannochloropsis oculata en alimento para tilapia ha presentado una alta tasa de crecimiento (Abdelghany et al., 2020) tal como se ha formulado para el alimento mezcla. Sin embargo, los alevines que presentaron menor peso fueron aquellos alimentados con el alimento comercial.

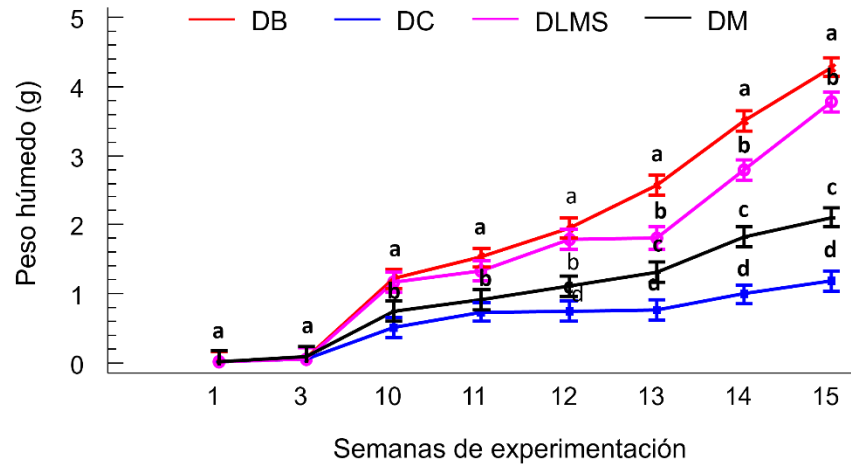


Figura 10. Crecimiento en peso de alevines de tilapia alimentados con las cuatro dietas experimentales desde los 5 días de eclosión. DB: alimento mezcla, DC: alimento comercial, DLMS: alimento larva y DM: alimento microalga. Los resultados presentan la desviación estándar de cada medición con un valor de $p < 0.05$, $n = 50$.

Por otro lado, se registró el desarrollo en longitud de los alevines como se presenta en la Figura 11. Estos resultados presentan un crecimiento en longitud similar entre los alevines obtenidos con el alimento mezcla y el alimento con larva de mosca soldado. De manera similar al peso obtenido, los alevines con el alimento comercial presentaron un menor crecimiento en longitud.

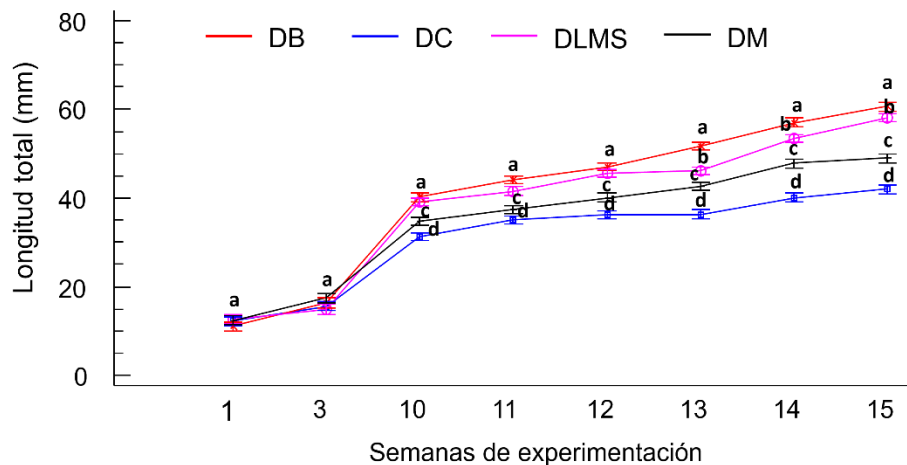


Figura 11. Desarrollo de alevines de tilapia respecto a su longitud (mm) alimentados con los cuatro diferentes alimentos experimentales desde los 5 días de eclosión. DB: alimento mezcla, DC: alimento comercial, DLMS: alimento larva y DM: alimento microalga. Los resultados se presentan con la desviación estándar de cada medición con un valor de $p < 0.05$, $n = 50$.

Además del desarrollo de los alevines, dentro de las variables de crecimiento se encuentra la evaluación del tipo de crecimiento que puede presentar un pez, es decir la simetría o alometría de crecimiento que se obtiene a partir del coeficiente de alometría. Este coeficiente se calcula mediante una regresión multiplicativa entre el peso del organismo y la longitud patrón medida (longitud de la cabeza hasta el inicio de la aleta caudal). Los resultados del tipo de crecimiento se presentan en el Cuadro 7. Los alevines con alimento microalga, larva de mosca soldado y comercial presentaron un crecimiento alométrico positivo, es decir, se tiene un coeficiente mayor a 3 con una mayor ganancia de peso que de longitud. Por otro lado, los alevines con el alimento mezcla presentaron un crecimiento alométrico negativo (menor de 3) por lo que se tiene una mayor ganancia de longitud y una menor ganancia de peso. La importancia del tipo de crecimiento en los alevines de tilapia se debe al impacto del alimento sobre la producción de músculo o de tamaño en general. Silva y colaboradores (2015) obtuvieron un coeficiente de crecimiento en tilapia alimentada con harinas vegetales y de pescado de 3.0604 similar a los resultados obtenidos en este estudio para los alevines de tilapia alimentados con las dietas comercial, larva y microalga. Sin embargo, diversos factores afectan esta relación tal como las condiciones

ambientales de temperatura, oxígeno disuelto, la concentración de nitratos (NO_3^-), nitritos (NO_2^-) y nitrógeno amoniacal ($\text{NH}_3\text{-N}$) (Outa et al., 2014). Debido a esto, los resultados de crecimiento alométrico negativo para los alevines alimentados con la dieta mezcla se ven asociados a las diversas variaciones de temperatura, oxígeno disuelto y compuestos nitrogenados (NO_2^- , NO_3^- y $\text{NH}_4\text{-N}$) en el sistema de cultivo.

Cuadro 7. Evaluación del tipo de desarrollo de alevines de tilapia alimentados con las cuatro diferentes dietas experimentales

Dieta	Modelo de crecimiento	Coefficiente de alometría	Alometría
DM ¹	Peso = exp (-10.675 + 3.08718 * ln (Longitud patrón))	3.087	+
DLMS ²	Peso = exp (-10.5867 + 3.05668 * ln (Longitud patrón))	3.056	+
DB ³	Peso = exp (-10.2616 + 2.96777 * ln (Longitud patrón))	2.967	-
DC ⁴	Peso = exp (-10.9134 + 3.152 * ln (Longitud patrón))	3.152	+

¹DM; dieta microalga, ²DLMS; dieta larva de mosca soldado, ³DB; dieta mezcla, ⁴DC; dieta comercial.

Además del tipo de crecimiento, se calcularon los parámetros de producción (Cuadro 8). Los resultados presentan un porcentaje de ganancia de peso y una tasa específica de crecimiento mayor en los alevines con el alimento mezcla y valores menores en aquellos con el alimento comercial. Por otro lado, se observó una mayor tasa de conversión específica en los alevines alimentados con la dieta larva de mosca soldado a diferencia de del alimento comercial. La tasa de conversión específica se relaciona con la cantidad total de alimento suministrado sobre la biomasa obtenida. En tilapia se han reportado valores desde 1.0 hasta 2.5 en la tasa de conversión específica, sin embargo, valores por debajo del 2 se establecen como aceptables (Mengistu et al., 2020). De acuerdo con esto, el

suministro de alimento comercial a los alevines de tilapia cumple con los valores de la tasa de conversión específica.

Cuadro 8. Variables de producción calculadas para los alevines alimentados con los cuatro diferentes alimentos experimentales.

Dieta	Supervivencia	Ganancia de peso (%)	Tasa	Peso	Alimento	Tasa de conversión específica
	(%)		específica de crecimiento (%) / día	individual ganado (%) / día	individual consumido (g) / día	
DM ¹	100	4,287.58 ± 383.7ab	3.15 ± 0.007c	0.0419 ± 0.016b	0.0834 ± 0.004b	2.16 ± 0.60c
	DLMS ²	100	5,557.93 ± 992.75ab	3.35 ± 0.14b	0.0559 ± 0.011a	0.1297 ± 0.035a
DB ³		100	10,068.79 ± 857.53a	3.85 ± 0.07a	0.0705 ± 0.004a	0.1571 ± 0.019a
	DC ⁴	100	2,640.954 ± 494.75b	2.75 ± 0.15d	0.0181 ± 0.003c	0.0344 ± 0.009c

¹DM; dieta microalga, ²DLMS; dieta larva de mosca soldado, ³DB; dieta mezcla, ⁴DC; dieta comercial. Los resultados se presentan con la desviación estándar con un valor de p < 0.5, n = 50.

Los resultados de los análisis bioquímicos en plasma específicamente de proteína total, glucosa, colesterol y triglicéridos se presentan en el Cuadro 9. Los alevines alimentados con la dieta solo con larva de mosca soldado (DLMS) presentaron la mayor concentración de proteína en plasma a diferencia de la dieta mezcla que presentó la concentración más baja de proteína total. La concentración más alta en glucosa se presentó en los alevines alimentados con la dieta comercial (DC) y la dieta con larva de mosca soldado (DLMS). La dieta mezcla suministrada a los alevines presentaron el nivel de glucosa más bajo. El nivel de colesterol fue mayor en los alevines alimentados con la dieta comercial con diferencias estadísticamente significativas con los alevines alimentados con las dietas mezcla (DB) y microalga (DM). La misma tendencia se presentó en los niveles de

triglicéridos presentado un nivel más alto en los alevines con la dieta comercial y un nivel más bajo con las dietas mezcla y microalga.

Cuadro 9. Proteína total, glucosa, colesterol y triglicéridos cuantificados en plasma obtenido de alevines de tilapia alimentados con las cuatro diferentes dietas.

Dieta	Proteína total g/dL	Glucosa mg/dL	Colesterol mg/dL	Triglicéridos mg/dL
DM ¹	3.94±0.823ab	196.021±132.465ab	70.56±18.871b	74.5±21.142b
DB ²	2.832±1.697b	137.578±113.66b	80.928±16.629b	65.2±41.336b
DLMS ³	5.092±0.932a	270.727±135.078a	97.28±27.428ab	114.6±49.611ab
DC ⁴	3.882±0.71ab	315.433±177.288a	114.448±16.211a	173.0±23.065a

¹DM; dieta microalga, ²DLMS; dieta larva de mosca soldado, ³DB; dieta mezcla, ⁴DC; dieta comercial. Los resultados se presentan como la desviación estándar con un valor de $p < 0.5$, $n = 5$.

Además, se realizó el análisis órgano-somático de los alevines alimentados con las diferentes dietas (Cuadro 10). De acuerdo con el análisis órgano-somático no se presentaron diferencias estadísticamente significativas en el índice visceral (VSI%) y el índice branquial (IAS%) en los alevines alimentados con las cuatro diferentes dietas experimentales. Sin embargo, el índice hepático (HSI%) fue mayor en los alevines alimentados con larva de mosca soldado seguido del alimento mezcla y por último los alevines con el alimento microalga y comercial. **Error! No se encuentra el origen de la referencia..** El índice somático del bazo (IBS%) presentó mayor porcentaje en los alevines alimentados con larva de mosca soldado y con el alimento microalga a diferencia de alimento mezcla y comercial. Además, el índice intestinal mayor se presentó en los alevines con la dieta DLMS y DM a diferencia de la dieta DB y DC. Por otro lado, el factor de condición fue mayor en los alevines con la dieta DLMS y el valor más bajo se presentó con la dieta DM.

Cuadro 10. Determinación del factor de condición y los índices órgano-somáticos de los alevines de tilapia alimentados con las cuatro dietas experimentales.

Dieta	Factor de condición	VSI %	IAS %	IBS %	ISI %	HSI %
DM ¹	1.48±0.30b	6.95±0.76a	5.39±0.44a	0.05±0.02ab	3.15±0.62a	0.54±0.15b

DB ²	1.53±0.30ab	6.43±1.33a	5.45±0.64a	0.04±0.01b	2.04±0.18b	0.84±0.11a
DLMS ³	1.54±0.32a	7.67±0.49a	5.41±0.35a	0.09±0.04a	3.26±0.67a	1.23±0.30a
DC ⁴	1.50±0.33b	7.71±0.89a	5.42±0.44a	0.08±0.02ab	2.09±0.59b	0.53±0.13b

¹DM; dieta microalga, ²DLMS; dieta larva de mosca soldado, ³DB; dieta mezcla, ⁴DC; dieta comercial. VSI%: índice visceral, IAS%: índice branquial, IBS%: índice baso-somático, ISI%: índice intestinal, HSI%: índice hepatosomático. Los resultados se presentan con la desviación estándar con un valor de $p < 0.5$, $n = 5$.

De acuerdo con Lu y colaboradores (2020) la inclusión del 50 % de larva de mosca soldado desgrasada en alimentos para *Ctenopharyngodon idellus* no presentó diferencias estadísticamente significativas en los índices viscerales, sin embargo, el índice hepático fue mayor a diferencia de los niveles (0, 25, 75 y 100 %) de inclusión de larva de mosca. Estos resultados son similares a los obtenidos en *Oreochromis niloticus* alimentada con el alimento larva. Sin embargo, la alimentación de diversos peces como *Atlantic salmon* y *Oreochromis niloticus* con microalgas no ha demostrado diferencias significativas en los índices hepáticos y viscerales (Kiron et al., 2016; Knutsen et al., 2019; Zahran et al., 2023).

V.III.II Determinación de las variables de crecimiento en la tilapia alimentada con dos dietas adicionadas con aceite de orégano

El segundo experimento consistió en la evaluación del alimento mezcla con dos porcentajes de inclusión del aceite de orégano; 0.1 % y 0.2 % y con alimento comercial adicionado con aditivo comercial a los mismos porcentajes. Los resultados de la ganancia de peso durante las 9 semanas de experimentación se presentan en la Figura 12. La ganancia en peso de los alevines de tilapia fue mayor con el alimento comercial adicionado con el 0.2 % de aditivo comercial. Además, se observó diferencias estadísticamente significativas entre el alimento comercial y el alimento mezcla presentando el mayor crecimiento en peso para los alevines alimentados con el alimento comercial. Por otro lado, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes porcentajes de

adición del aceite esencial de orégano.

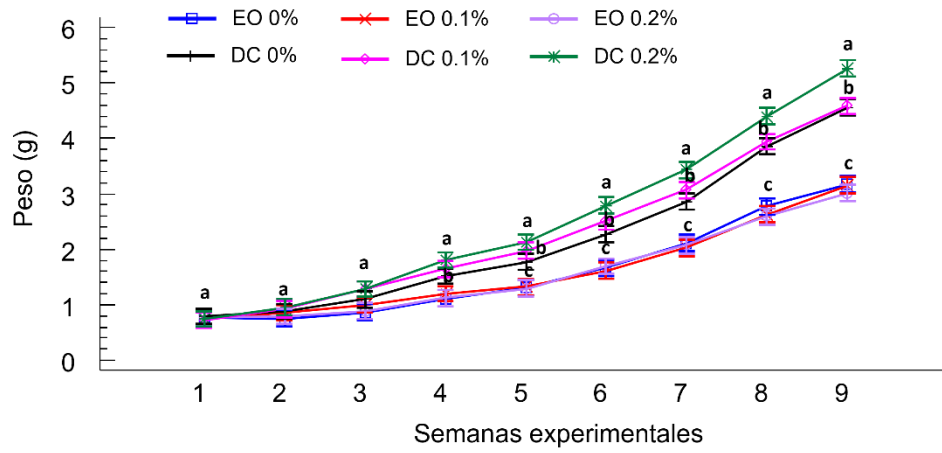


Figura 12. Crecimiento en peso de alevines de tilapia alimentados con el alimento mezcla (DB) adicionado con aceite de orégano (0.0, 0.1 y 0.2 %) y con alimento comercial (DC) adicionado con aditivo (0.0, 0.1 y 0.2 %). Los resultados se expresan como la desviación estándar de cada medición con un valor de $p < 0.05$, $n = 45$.

Además del crecimiento en peso, se obtuvo el crecimiento de acuerdo con la longitud total como se presenta en la Figura 13. Estos resultados fueron similares al crecimiento es peso, presentando a los alevines con alimento comercial con la mayor longitud de los alevines alimentados a diferencia de los alevines con alimento mezcla. Sin embargo, solo se presenta una diferencia estadísticamente significativa entre los alevines con el alimento comercial adicionado con el 0.2% del aditivo comercial para la semana 9. En general, no se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los porcentajes de inclusión de ambos aditivos: comercial y aceite de orégano.

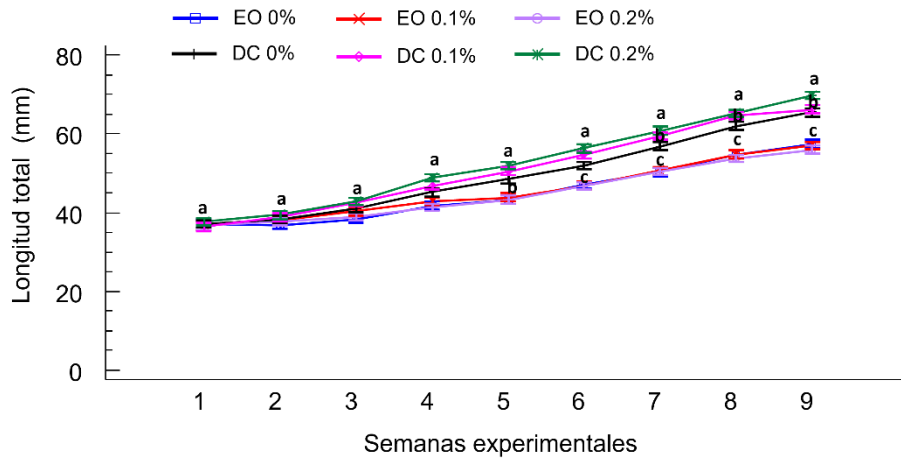


Figura 13. Crecimiento en longitud total de alevines de tilapia alimentados con alimento mezcla (DB) adicionado con aceite de orégano (0.1 y 0.2 %) y con alimento comercial (DC) adicionado con aditivo (0.1 y 0.2 %). Los resultados se expresan en la desviación estándar de cada medición con un valor de $p < 0.05$, $n = 45$.

El Cuadro 11 presenta los resultados obtenidos del tipo de crecimiento en los alevines de tilapia con el alimento mezcla adicionado con aceite de orégano. Los resultados del crecimiento en peso y longitud permiten calcular el tipo de crecimiento que se obtiene respecto al alimento suministrado. De acuerdo con esta relación entre el peso y la longitud se presentó un coeficiente de alometría menor a 3, resultando en un crecimiento alométrico negativo. Debido a esto, el crecimiento fue mayor en longitud sin presentar cambios significativos en la ganancia de peso. Sin embargo, los alevines con el alimento mezcla adicionado con aceite de orégano al 0.2 % son más cercanos a presentar un crecimiento simétrico (valor de 3) a diferencia de los demás porcentajes de inclusión de orégano y del alimento comercial. El alimento comercial adicionado con aditivo presentó niveles de alometría más bajos a diferencia del alimento mezcla.

Cuadro 11. Tipo de crecimiento en alevines de tilapia alimentados con alimento mezcla adicionado con aceite de orégano.

Dieta	Modelo de crecimiento	Coefficiente de alometría	Alometría
DB 0% ¹	Peso = $\exp(-10.123 + 2.91986 * \ln(\text{longitud patron}))$	2.91986	Negativo

DB 0.1% ²	Peso = exp(-9.8686 + 2 .84847 * ln(longitud patron))	2.84847	Negativo
DB 0.2% ³	Peso = exp(-10.2439 + 2 .95695 * ln(longitud patron))	2.95695	Negativo
DC 0.0 % ⁴	Peso = exp(-10.0613 + 2 .90281 * ln(longitud patron))	2.90281	Negativo
DC 0.1% ⁵	Peso = exp(-9.47271 + 2 .73475 * ln(longitud patron))	2.73475	Negativo
DC 0.2% ⁶	Peso = exp(-9.89449 + 2 .85045 * ln(longitud patron))	2.85045	Negativo

¹DB 0%; dieta mezcla sin aceite de orégano, ²DB 0.1%; dieta mezcla con el 0.1 % de inclusión de aceite de orégano, ³DB 0.2%; dieta mezcla con el 0.2 % de inclusión de aceite de orégano, ⁴DC 0.0 %: dieta comercial con el 0.0 % de inclusión de aditivo comercial, ⁵DC 0.0 %: dieta comercial con el 0.1 % de inclusión de aditivo comercial, ⁶DC 0.2 %: dieta comercial con el 0.2 % de inclusión de aditivo comercial.

Las variables de producción para tilapia alimentada con la dieta mezcla adicionada con aceite de orégano (0.0, 0.1 y 0.2 %) y con alimento comercial adicionado con aditivo (0.0, 0.1 y 0.2 %) se presentan en el Cuadro 12. Se presentó el 100 % de supervivencia en los alevines alimentados con la dieta mezcla adicionada con el 0.1 % de aceite de orégano. Sin embargo, no se presentó diferencia estadísticamente significativa del porcentaje de supervivencia con el alimento adicionado al 0.0 y 0.2 % de aceite. Por otro lado, no se presentaron diferencias estadísticamente significativas sobre las variables de producción en los alevines con el alimento mezcla adicionado con los diferentes porcentajes de inclusión. Además, los alevines alimentados con la dieta comercial adicionada con el 0.1 % de aditivo comercial presentó el 98 % de supervivencia a diferencia de los otros niveles de inclusión. La inclusión del 0.2 % del aditivo comercial presentó la mayor ganancia en peso, la tasa específica de crecimiento, el peso individual ganado, el alimento individual consumido y la tasa de conversión alimenticia. Sin embargo, no se observó diferencias estadísticamente significativas entre las diferentes variables de producción en los alevines alimentados con la dieta comercial a los porcentajes 0.0 y 0.1 % de inclusión del aditivo comercial. De acuerdo con estos

resultados, los porcentajes de supervivencia son mayores en la dieta mezcla con el 0.1 % y 0.2 % de aceite de orégano y el alimento comercial adicionado al 0.1 % del aditivo comercial. Sin embargo, los alevines presentaron mayor ganancia de peso con el alimento comercial por lo tanto presentaron un mayor consumo de alimento. Los resultados de la tasa de conversión específica para la dieta comercial indica menor requerimiento de alimento para obtener mayor ganancia en peso.

Cuadro 12. Variables de producción de alevines de tilapia alimentada con el alimento mezcla adicionado con aceite de orégano y con alimento comercial adicionado con aditivo comercial.

Dieta	Supervivencia	Ganancia	Tasa	Peso	Alimento	Tasa de conversión específica
	(%)	de peso (%)	específica de crecimiento (%) / día	individual ganado (%) / día	individual consumido (g) / día	
DB 0.0% ¹	93	184.53 ± 95.90c	1.64 ± 0.60c	0.02 ± 0.012c	0.02 ± 0.005b	1.11 ± 0.311a
DB 0.1% ²	100	172.04 ± 102.15c	1.55 ± 0.643c	0.02 ± 0.011c	0.02 ± 0.004b	1.06 ± 0.082a
DB 0.2% ³	98	176.89 ± 113.11c	1.56 ± 0.702c	0.02 ± 0.014c	0.02 ± 0.001b	1.07 ± 0.109a
DC 0.0% ⁴	91	488.21 ± 169.19b	2.87 ± 0.557b	0.06 ± 0.019b	0.03 ± 0.0007a	0.52 ± 0.017b
DC 0.1% ⁵	98	526.84 ± 200.92b	2.98 ± 0.707ab	0.06 ± 0.024b	0.03 ± 0.001a	0.54 ± 0.016b
DC 0.2% ⁶	93	617.95 ± 237.64a	3.19 ± 0.574a	0.07 ± 0.025a	0.03 ± 0.0003a	0.51 ± 0.033b

¹DB 0%; dieta mezcla sin aceite de orégano, ²DB 0.1%; dieta mezcla con el 0.1 % de inclusión de aceite de orégano, ³DB 0.2%; dieta mezcla con el 0.2 % de inclusión de aceite de orégano, ⁴DC 0.0 %: dieta comercial con el 0.0 % de inclusión de aditivo comercial, ⁵DC 0.1 %: dieta comercial con el 0.1 % de inclusión de aditivo comercial, ⁶DC 0.2 %: dieta comercial con el 0.2 % de inclusión de aditivo comercial. Los resultados se presentan con la desviación estándar con un valor de p < 0.5, n = 45.

Los resultados de la bioquímica sanguínea se presentan en el Cuadro 13. El nivel de proteína total y de glucosa más alto se presentó en los alevines alimentados con la dieta comercial adicionada con el 0.1 % de aditivo a diferencia de misma dieta sin aditivo. Por otro lado, la concentración de colesterol fue más alta en los alevines alimentados con la dieta comercial adicionada con el 0.2 %. Sin embargo, los alevines alimentados con la dieta mezcla adicionada con el 0.2 % de aceite de orégano presentaron el nivel de triglicéridos más alto. Estos resultados son similares a los obtenidos en el cultivo de tilapia alimentado con extracto de *Lemna sp.*, como inmunoestimulante en tilapia (Armando et al., 2021).

Cuadro 13. Proteína total, glucosa, colesterol y triglicéridos analizados en plasma obtenido de alevines de tilapia alimentados con las cuatro dietas experimentales.

Dieta	Proteína total g/dL	Glucosa mg/dL	Colesterol mg/dL	Triglicéridos mg/dL
DB 0% ¹	3.769 ± 0.277b	254.412 ± 76.84b	64.256 ± 26.246b	61.2 ± 36.21c
DB 0.1% ²	4.198 ± 0.215ab	317.232 ± 75.75b	72.0 ± 14.003b	84.25 ± 22.82bc
DB 0.2% ³	4.098 ± 0.298ab	298.201 ± 93.16b	102.784 ± 19.041a	166.0 ± 112.34a
DC 0.0 % ⁴	3.521 ± 0.654b	304.291 ± 58.72b	102.592 ± 20.23a	128.8 ± 47.82ab
DC 0.1% ⁵	4.318 ± 0.439a	490.657 ± 89.18a	87.232 ± 20.465ab	96.0 ± 27.48b
DC 0.2% ⁶	4.258 ± 0.325a	346.828 ± 21.75b	120.96 ± 23.044a	128.0 ± 42.87ab

¹DB 0%; dieta mezcla sin aceite de orégano, ²DB 0.1%; dieta mezcla con el 0.1 % de inclusión de aceite de orégano, ³DB 0.2%; dieta mezcla con el 0.2 % de inclusión de aceite de orégano, ⁴DC 0.0 %: dieta comercial con el 0.0 % de inclusión de aditivo comercial, ⁵DC 0.1 %: dieta comercial con el 0.1 % de inclusión de aditivo comercial, ⁶DC 0.2 %: dieta comercial con el 0.2 % de inclusión de aditivo comercial. Los resultados se presentan con la desviación estándar y un valor de $p < 0.5$, $n = 5$.

El índice visceral indicó no presentar diferencias estadísticas entre los diferentes alimentos y los niveles de inclusión de los aditivos a diferencia del alimento mezcla con el 0.2 % de inclusión de aceite de orégano (Cuadro 14). Además, el índice branquial no presentó diferencias estadísticamente significativas. Por otro lado, el índice hepático no presentó diferencias significativas a diferencia del alimento comercial con el 0.1 % de adición del aditivo comercial con el porcentaje más bajo. El índice somático del bazo no presentó diferencias estadísticas entre los

diferentes alimentos, así como en el porcentaje de inclusión de los aditivos (comercial y aceite de orégano). Sin embargo, el alimento mezcla con el 0.2 % de inclusión de aceite de orégano presentó el menor índice bazo-somático. De acuerdo con lo reportado por Shourbela y colaboradores (2021), no hay diferencias estadísticamente significativas en los índices órgano-somáticos de tilapia alimentada con una dieta a base de harina de pescado y la inclusión de 0, 0.1 y 0.2 % de aceite de orégano. Por otro lado, la adición de aceite de orégano (0.05 % carvacrol) en la alimentación para *Ictalurus punctatus* presentó el índice hepático mayor a diferencia de la adición de timol o la mezcla de carvacrol más timol (Zheng et al., 2009).

Cuadro 14. Determinaciones organo-somáticas de alevines de tilapia alimentados con los cuatro alimentos experimentales.

Dieta	Factor de condición	VSI %	IAS %	IBS %	ISI %	HSI %
DB 0% ¹	1.52±2.20b	10.20±10.29b	4.83±0.41c	0.04±0.02abc	4.34±1.35b	0.98±0.28a
DB 0.1% ²	1.52±0.17b	9.24±9.24b	4.81±0.29c	0.03±0.01bc	3.93±0.60b	0.87±0.16a
DB 0.2% ³	1.53±0.22b	12.89±1.89a	4.93±0.42bc	0.02±0.009c	5.72±0.47a	0.79±0.22a
DC 0% ⁴	1.57±0.16a	9.63±0.93b	5.15±0.06abc	0.05±0.03ab	3.97±0.89b	0.77±0.08a
DC 0.1% ⁵	1.51±0.19b	9.23±0.74b	5.34±0.20ab	0.04±0.007abc	3.42±0.70b	0.48±0.12b
DC 0.2% ⁶	1.51±0.22b	8.82±0.48b	5.40±0.49a	0.06±0.03a	3.88±0.62b	0.95±0.29a

¹DB 0%; dieta mezcla sin aceite de orégano, ²DB 0.1%; dieta mezcla con el 0.1 % de inclusión de aceite de orégano, ³DB 0.2%; dieta mezcla con el 0.2 % de inclusión de aceite de orégano, ⁴DC 0.0 %: dieta comercial con el 0.0 % de inclusión de aditivo comercial, ⁵DC 0.0 %: dieta comercial con el 0.1 % de inclusión de aditivo comercial, ⁶DC 0.2 %: dieta comercial con el 0.2 % de inclusión de aditivo comercial. VSI%: índice visceral, IAS%: índice branquial, IBS%: índice bazo-somático, ISI%: índice intestinal, HSI%: índice hepatosomático. Los resultados se presentan con la desviación estándar y un valor de p < 0.5, n = 5.

V.III.III Monitoreo de la calidad de agua

Los resultados del monitoreo de temperatura se presentan en el Cuadro 15 en donde se tiene un comportamiento similar entre todos los estanques. En la semana 11 y 16 se presentó una disminución de temperatura de 2 °C y dos picos de temperatura de hasta 27 °C en la semana 13 y 17. En promedio la temperatura

de los estanques de todos los tratamientos fue entre 24 y 26 °C. La concentración de oxígeno disuelto en el agua se comportó de manera similar en todos los estanques presentando una disminución entre la semana 10 y 14. Estos resultados pueden estar asociados al cambio de sistema de cultivo y la adaptación de las nuevas condiciones del medio. Por otro lado, se monitoreo el pH en cada sistema de cultivo presentando un comportamiento similar en todos los estanques de los dos sistemas de experimentación (Cuadro 15). El mayor pH registrado fue en la semana 6 y el menor en la semana 10. Estos resultados se deben a los recambios de agua que se realizaron semanalmente en cada uno de los estanques.

Cuadro 15. Monitoreo de las condiciones físicas y químicas de agua de los diferentes alimentos suministrados a los alevines de tilapia durante las 15 semanas de experimento.

Dieta	Temperatura (°C)	Oxígeno (mg/L)	pH	NO ₂ ⁻ (mg/L)	NO ₃ ⁻ (mg/L)	NH ₃ -N (mg/L)
DB ¹	24.79±1.15	12.39±62.43	8.61±0.53	0.45±0.44	5.21±5.36	1.08±0.68
DC ²	24.38±2.21	6.48±4.59	8.17±0.57	0.73±1.23	8.20±13.1 7	1.99±1.32
DLMS ₃	24.92±1.19	10.92±40.20	8.62±0.57	0.53±0.50	4.92±3.90	1.00±0.74
DM ⁴	24.93±1.16	7.50±4.02	8.53±79.99	0.69±1.01	4.94±4.99	0.99±0.77

¹DM; dieta microalga, ²DLMS; dieta larva de mosca soldado, ³DB; dieta mezcla, ⁴DC; dieta comercial.

La concentración de nitrógeno fue monitoreada semanalmente determinando la concentración de nitratos (NO₃⁻), nitritos (NO₂⁻) y nitrógeno amoniacal (N-NH₃⁻). La **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** presenta los resultados de la concentración de nitratos obteniendo un comportamiento similar entre los diferentes alimentos experimentales a excepción del alimento mezcla que presentó un incremento de estos compuestos en la semana 15 y 16. Sin embargo para la semana 17 se comportó de manera similar a los demás alimentos. Además, la concentración de nitritos presentó un comportamiento similar a la concentración de nitratos, sin embargo, se presentó un incremento de nitritos en

los alevines alimentados con el alimento con microalga en las semanas 15 y 16. Además, el nitrógeno amoniacal presentó la misma tendencia en todos los alimentos a excepción el alimento mezcla que presentó un incremento en la semana 14 y 15.

La inclusión de fuentes de proteína como alternativa al uso de harina de pescado en los alimentos acuícolas ha sido tendencia en los últimos años (Daniel & Studies, 2018; Hua et al., 2019; Maiolo et al., 2020). Plantas, insectos, algas y microalgas, son algunas de las fuentes de proteína que se han incluido en las dietas acuícolas con el objetivo de sustituir la harina de pescado sin alterar la fisiología de los organismos acuícolas (Hekmatpour & Mozanzadeh, 2021; Jannathulla et al., 2019). De acuerdo con los resultados obtenidos la dieta con larva de mosca soldado y la mezcla que contiene larva de mosca soldado y microalgas han demostrado superar el crecimiento a diferencia de la dieta comercial. Esta diferencia se atribuye al perfil de aminoácidos que se presenta la harina de larva de mosca soldado ya que presenta un alto contenido en lisina, leucina e isoleucina, aminoácidos implicados en diversos procesos metabólicos para la reparación de tejidos dañados, formación de tejido nuevo, generación de energía (lípidos y azúcares), síntesis de hormonas, enzimas, anticuerpos y hemoglobina (Jobling, 2012; Khan & Abidi, 2011; Zarate & Lovell, 1997; Zhou et al., 2007). Además, la tasa de crecimiento y la ganancia de peso en los alevines alimentados con la harina de larva de mosca soldado y la dieta mezcla se asocia al alto porcentaje de ácido láurico que presentó. El ácido láurico es un ácido graso de cadena media implicado en diversos procesos metabólicos tal como absorción de proteínas, lípidos y almidones (Belghit, Waagbø, et al., 2019).

Por otro lado, la diferencia entre los índices órgano-somáticos se asocia directamente a la alimentación. El intestino es uno de los principales órganos dentro de la evaluación de alimentos debido al proceso de absorción de nutrientes. Además, el hígado es el órgano encargado del metabolismo de lípidos asociados

a la alimentación. Debido a esto, la diferencia en el índice hepático principalmente en los alevines alimentados con la dieta larva de mosca soldado fue mayor ya que esta dieta contenía un mayor porcentaje de aceite de larva de mosca soldado la cual contenía un alto porcentaje de ácido láurico (Vargas-Abúndez et al., 2019). Además, el índice intestinal fue mayor en los alevines alimentados con un mayor porcentaje de aceite de larva de mosca soldado (DLMS) debido al contenido de ácido láurico ya que mejor la salud intestinal debido a su función antiinflamatoria, antiviral y antibacteriana (Vargas et al., 2018; Zarantoniello et al., 2018; Zhou et al., 2018). De acuerdo con Belghit y colaboradores (2018) la inclusión de larva de mosca soldado en dietas para salmón incrementa el índice visceral y hepático similar a los resultados obtenidos. Estos resultados se asocian a la concentración de metionina que se presentó en la harina de larva de mosca soldado. La metionina es un aminoácido involucrado en la síntesis de taurina. Este metabolito se encarga de mantener el balance osmótico y regula el metabolismo de lípidos. Debido a esto el incremento en el índice hepático se debe a un alto almacenamiento de lípidos (Ripps & Shen, 2012).

Por otro lado, las condiciones físicas y químicas del agua son parte esencial del desarrollo de la tilapia para mantener una tasa de crecimiento favorable, así como mantener su condición fisiológica. La inclusión de larva de mosca soldado y microalgas bajo condiciones de temperatura, pH y oxígeno diferentes a las condiciones óptimas permitieron el desarrollo rápido de los alevines. Estos resultados son similares a los obtenidos por Limbu y colaboradores (2022) ya que se presentó un mayor crecimiento en alevines de tilapia alimentados con larva de mosca soldado al 75% de reemplazo de harina de pescado.

VI CONCLUSIONES

Las dietas formuladas con la inclusión de larva de mosca soldado y microalgas permiten el desarrollo de alevines de tilapia desde la eclosión del huevecillo bajo condiciones de temperatura en el agua menores a las óptimas. Existe un efecto

sobre la fisiología de los alevines alimentados con la dieta mezcla debido al incremento en el tamaño del hígado como resultado de los procesos metabólicos de lípidos. Además, los alevines alimentados con la dieta formulada solo con larva de mosca soldado presentan un efecto sobre la concentración de proteínas en plasma como una respuesta del sistema inmune. Asimismo, la inclusión de aceite de orégano no presentó diferencias en la tasa de crecimiento en los diferentes porcentajes de inclusión. Sin embargo, la adición del 0.2 % de aceite de orégano con el 52 % de carvacrol presentó el 100 % de supervivencia a diferencia de las demás dietas. Por otro lado, la adición de aceite de orégano en los dos porcentajes experimentales (0.1 y 0.2 %) incrementan la concentración de proteína total, colesterol y triglicéridos en los alevines de tilapia. La inclusión del 0.2 % de aceite de orégano en la alimentación de alevines de tilapia incrementa el índice visceral, intestinal y del bazo. La inclusión de harina de larva de mosca soldado y microalgas han demostrado ser una alternativa potencial al uso de harina de pescado. También, el uso de aceites esenciales incrementa la supervivencia de alevines de tilapia. De acuerdo con los resultados obtenidos, es necesario incluir el aceite de orégano en la dieta formulada solo con larva de mosca soldado para evaluar los parámetros de producción y la fisiología de la tilapia. Además, es necesario conocer el porcentaje máximo de inclusión de aceite de orégano sobre el metabolismo y crecimiento de tilapia en sus diferentes etapas de crecimiento.

VII BIBLIOGRAFÍA

- Abdel-Latif, H. M. R., Abdel-Tawwab, M., Khafaga, A. F., & Dawood, M. A. O. (2020). Dietary origanum essential oil improved antioxidative status, immune-related genes, and resistance of common carp (*Cyprinus carpio* L.) to *Aeromonas hydrophila* infection. *Fish & Shellfish Immunology*, *104*, 1-7.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.05.056>
- Abdel-Latif, H. M. R., Abdel-Tawwab, M., Khalil, R. H., Metwally, A. A., Shakweer, M. S., Ghetas, H. A., & Khallaf, M. A. (2021). Black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal in diets of European seabass: Effects on antioxidative capacity, non-specific immunity, transcriptomic responses, and resistance to the challenge with *Vibrio alginolyticus*. *Fish & Shellfish Immunology*, *111*, 111-118.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.01.013>

- Abdel-Tawwab, M., Khalil, R. H., Metwally, A. A., Shakweer, M. S., Khallaf, M. A., & Abdel-Latif, H. M. R. (2020). Effects of black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal on growth performance, organs-somatic indices, body composition, and hemato-biochemical variables of European sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture*, 522, 735136.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735136>
- Abdel-Tawwab, M., Mousa, M. A. A., Mamoon, A., Abdelghany, M. F., Abdel-Hamid, E. A. A., Abdel-Razek, N., . . . Gewida, A. G. A. (2022). Dietary *Chlorella vulgaris* modulates the performance, antioxidant capacity, innate immunity, and disease resistance capability of Nile tilapia fingerlings fed on plant-based diets. *Animal Feed Science and Technology*, 283, 115181.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.115181>
- Abdel Rahman, A. N., Khalil, A. A., Abdallah, H. M., & ElHady, M. (2018). The effects of the dietary supplementation of *Echinacea purpurea* extract and/or vitamin C on the intestinal histomorphology, phagocytic activity, and gene expression of the Nile tilapia. *Fish & Shellfish Immunology*, 82, 312-318.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.08.024>
- Abdelghany, M. F., El-Sawy, H. B., Abd El-hameed, S. A. A., Khames, M. K., Abdel-Latif, H. M. R., & Naiel, M. A. E. (2020). Effects of dietary *Nannochloropsis oculata* on growth performance, serum biochemical parameters, immune responses, and resistance against *Aeromonas veronii* challenge in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish & Shellfish Immunology*, 107, 277-288.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.10.015>
- Adeniyi, O. V., Olaifa, F. E., & Emikpe, B. O. (2022). Effects of dietary tamarind pulp extract on growth performance, nutrient digestibility, intestinal morphology, and resistance to *Aeromonas hydrophila* infection in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Journal of Applied Aquaculture*, 34(1), 43-63.
<https://doi.org/10.1080/10454438.2020.1785984>
- Adeshina, I., Tiamiyu, L. O., Akpoilih, B. U., Jenyo-Oni, A., & Ajani, E. K. (2021). Dietary *Mitracarpus scaber* leaves extract improved growth, antioxidants, non-specific immunity, and resistance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* to *Gyrodactylus malalai* infestation. *Aquaculture*, 535, 736377.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736377>
- Ahmad, A., W. Hassan, S., & Banat, F. (2022). An overview of microalgae biomass as a sustainable aquaculture feed ingredient: food security and circular economy. *Bioengineered*, 13(4), 9521-9547. <https://doi.org/10.1080/21655979.2022.2061148>
- Ahmad, M. T., Shariff, M., Md. Yusoff, F., Goh, Y. M., & Banerjee, S. (2020). Applications of microalga *Chlorella vulgaris* in aquaculture [<https://doi.org/10.1111/raq.12320>]. *Reviews in Aquaculture*, 12(1), 328-346.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/raq.12320>
- Alagawany, M., El-Hack, M. E. A., Farag, M. R., Shaheen, H. M., Abdel-Latif, M. A., Noreldin, A. E., & Khafaga, A. F. (2020). The Applications of and Its Derivatives in Human, Ruminant and Fish Nutrition – A Review %J *Annals of Animal Science*. 20(2), 389-407. <https://doi.org/doi:10.2478/aoas-2020-0004>
- Alemayehu, T., Geremew, A., & Getahun, A. (2018). The Role of Functional Feed

- Additives in Tilapia Nutrition. *Fisheries and Aquaculture Journal*, 09. <https://doi.org/10.4172/2150-3508.1000249>
- Alfiko, Y., Xie, D., Astuti, R. T., Wong, J., & Wang, L. (2022). Insects as a feed ingredient for fish culture: Status and trends. *Aquaculture and Fisheries*, 7(2), 166-178. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aaf.2021.10.004>
- Anderson, J., Jackson, A. J., Matty, A. J., & Capper, B. S. (1984). Effects of dietary carbohydrate and fibre on the tilapia *Oreochromis niloticus* (Linn.). *Aquaculture*, 37(4), 303-314. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0044-8486\(84\)90296-5](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0044-8486(84)90296-5)
- Armando, E., Lestiyani, A., & Islamy, R. A. (2021). Potential Analysis of Lemna sp. Extract as Immunostimulant to Increase Non-Specific Immune Response of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) against *Aeromonas hydrophila*. *Research Journal of Life Science; Vol 8, No 1 (2021)*. <https://doi.org/10.21776/ub.rjls.2021.008.01.6>
- Ayala, M. D., Balsalobre, N., Chaves-Pozo, E., Sáez, M. I., Galafat, A., Alarcón, F. J., . . . Arizcun, M. (2023). Long-Term Effects of a Short Juvenile Feeding Period with Diets Enriched with the Microalgae *Nannochloropsis gaditana* on the Subsequent Body and Muscle Growth of Gilthead Seabream, *Sparus aurata* L. 13(3), 482. <https://www.mdpi.com/2076-2615/13/3/482>
- Belghit, I., Liland, N. S., Gjesdal, P., Biancarosa, I., Menchetti, E., Li, Y., . . . Lock, E.-J. (2019). Black soldier fly larvae meal can replace fish meal in diets of sea-water phase Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 503, 609-619. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.12.032>
- Belghit, I., Liland, N. S., Waagbø, R., Biancarosa, I., Pelusio, N., Li, Y., . . . Lock, E.-J. (2018). Potential of insect-based diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 491, 72-81. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.03.016>
- Belghit, I., Waagbø, R., Lock, E.-J., & Liland, N. S. (2019). Insect-based diets high in lauric acid reduce liver lipids in freshwater Atlantic salmon. *Aquaculture Nutrition*, 25(2), 343-357. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/anu.12860>
- Bullon, N., Seyfoddin, A., & Alfaro, A. C. (2023). The role of aquafeeds in abalone nutrition and health: A comprehensive review. 54(1), 7-31. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jwas.12883>
- Cabrita, A. R. J., Guilherme-Fernandes, J., Valente, I. M., Almeida, A., Lima, S. A. C., Fonseca, A. J. M., & Maia, M. R. G. (2022). Nutritional Composition and Untargeted Metabolomics Reveal the Potential of *Tetrademus obliquus*, *Chlorella vulgaris* and *Nannochloropsis oceanica* as Valuable Nutrient Sources for Dogs. 12(19), 2643. <https://www.mdpi.com/2076-2615/12/19/2643>
- Cararo, L. M., Yuji Sado, R., Muelbert, B., & de Borba, M. R. (2017). Evaluation of oregano essential oil as a growth promoter and resistance stimulator against *Ichthyophthirius multifiliis* (Protozoa, Ciliophora) in silver catfish juveniles, *Rhamdia* sp. (Siluriformes, Heptapteridae). *Semina: Ciências Agrárias*, 38(6), 3871-3885. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=445753603038> (IN FILE)
- Čengić-Džomba, S., Džomba, E., Muratović, S., & Hadžić, D. (2020, 2020//). Using of Black Soldier Fly (*Hermetia Illucens*) Larvae Meal in Fish Nutrition. 30th Scientific-Experts Conference of Agriculture and Food Industry, Cham.
- Chen, F., Leng, Y., Lu, Q., & Zhou, W. (2021). The application of microalgae biomass and

- bio-products as aquafeed for aquaculture. *Algal Research*, 60, 102541.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102541>
- Chen, J., Sun, R., Pan, C., Sun, Y., Mai, B., & Li, Q. X. (2020). Antibiotics and Food Safety in Aquaculture. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(43), 11908-11919. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c03996>
- Chieng, C. C. Y., Daud, H. M., Yusoff, F. M., & Abdullah, M. (2018). Immunity, feed, and husbandry in fish health management of cultured *Epinephelus fuscoguttatus* with reference to *Epinephelus coioides*. *Aquaculture and Fisheries*, 3(2), 51-61.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aaf.2018.01.003>
- Daniel, N. J. I. J. o. F., & Studies, A. (2018). A review on replacing fish meal in aqua feeds using plant protein sources. 6(2), 164-179.
- Dawood, M. A. O., El Basuini, M. F., Yilmaz, S., Abdel-Latif, H. M. R., Alagawany, M., Kari, Z. A., . . . Van Doan, H. (2022). Exploring the Roles of Dietary Herbal Essential Oils in Aquaculture: A Review. *Animals*, 12(7).
- Duarte, L. N., Coelho, F. J. R. C., Cleary, D. F. R., Bonifácio, D., Martins, P., & Gomes, N. C. M. (2019). Bacterial and microeukaryotic plankton communities in a semi-intensive aquaculture system of sea bass (*Dicentrarchus labrax*): A seasonal survey. *Aquaculture*, 503, 59-69.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.12.066>
- El-Sayed, A.-F. M., & Teshima, S.-i. (1992). Protein and energy requirements of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, fry. *Aquaculture*, 103(1), 55-63.
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0044-8486\(92\)90278-S](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0044-8486(92)90278-S)
- Encarnação, P. (2016). 5 - Functional feed additives in aquaculture feeds. In S. F. Nates (Ed.), *Aquafeed Formulation* (pp. 217-237). Academic Press.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800873-7.00005-1>
- Escobedo-Bonilla, C. M. J. S. o. S., Culinary Herbs-Latest Laboratory, P.-c., & Studies, C. (2021). Properties of Mexican Oregano (*Lippia* spp.) Essential Oils and their Use in Aquaculture. 4, 93-144.
- FAO. (2022). The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. *Towards Blue Transformation.*, Rome, FAO. <https://doi.org/https://doi.org/10.4060/cc0461en>
- Fazio, F., Habib, S. S., Naz, S., Filiciotto, F., Cicero, N., Rehman, H. U., . . . Shar, A. H. (2022). Effect of fortified feed with olive leaves extract on the haematological and biochemical parameters of *Oreochromis niloticus* (Nile tilapia). *Natural Product Research*, 36(6), 1575-1580. <https://doi.org/10.1080/14786419.2021.1883606>
- Firmino, J. P., Fernández-Alacid, L., Vallejos-Vidal, E., Salomón, R., Sanahuja, I., Tort, L., . . . Gisbert, E. (2021). Carvacrol, Thymol, and Garlic Essential Oil Promote Skin Innate Immunity in Gilthead Seabream (*Sparus aurata*) Through the Multifactorial Modulation of the Secretory Pathway and Enhancement of Mucus Protective Capacity [Original Research]. 12. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.633621>
- Fisher, H. J., Collins, S. A., Hanson, C., Mason, B., Colombo, S. M., & Anderson, D. M. (2020). Black soldier fly larvae meal as a protein source in low fish meal diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 521, 734978.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.734978>
- Hardy, R. W., Kaushik, S. J., Mai, K., & Bai, S. C. (2022). Chapter 1 - Fish nutrition—

- history and perspectives. In R. W. Hardy & S. J. Kaushik (Eds.), *Fish Nutrition (Fourth Edition)* (pp. 1-16). Academic Press.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819587-1.00006-9>
- Hekmatpour, F., & Mozanadeh, M. T. (2021). Legumes, Sustainable alternative protein sources for aquafeeds. In *Legumes Research-Volume 2*. IntechOpen.
- Hua, K., Cobcroft, J. M., Cole, A., Condon, K., Jerry, D. R., Mangott, A., . . . Strugnelli, J. M. (2019). The Future of Aquatic Protein: Implications for Protein Sources in Aquaculture Diets. *One Earth*, *1*(3), 316-329.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.oneear.2019.10.018>
- Huyben, D., Chiasson, M., Lumsden, J. S., Pham, P. H., & Chowdhury, M. A. K. (2021). Dietary Microencapsulated Blend of Organic Acids and Plant Essential Oils Affects Intestinal Morphology and Microbiome of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Microorganisms*, *9*(10).
- Irungu, F., Mutungi, C., Faraj, A., Affognon, H., Kibet, N., Tanga, C., . . . Feed. (2018). Physico-chemical properties of extruded aquafeed pellets containing black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae and adult cricket (*Acheta domesticus*) meals. *4*(1), 19-30.
- Jannathulla, R., Rajaram, V., Kalanjiam, R., Ambasankar, K., Muralidhar, M., & Dayal, J. S. (2019). Fishmeal availability in the scenarios of climate change: Inevitability of fishmeal replacement in aquafeeds and approaches for the utilization of plant protein sources [<https://doi.org/10.1111/are.14324>]. *Aquaculture Research*, *50*(12), 3493-3506. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/are.14324>
- Jobling, M. (2012). National Research Council (NRC): Nutrient requirements of fish and shrimp. *Aquaculture International*, *20*(3), 601-602. <https://doi.org/10.1007/s10499-011-9480-6>
- Joshua, W. J., & Zulperi, Z. J. P. J. o. T. A. S. (2020). Effects of *Spirulina platensis* and *Chlorella vulgaris* on the Immune System and Reproduction of Fish. *43*(4).
- Karapanagiotidis, I. T., Metsoviti, M. N., Gkalogianni, E. Z., Psoufakis, P., Asimaki, A., Katsoulas, N., . . . Zarkadas, I. (2022). The effects of replacing fishmeal by *Chlorella vulgaris* and fish oil by *Schizochytrium* sp. and *Microchloropsis gaditana* blend on growth performance, feed efficiency, muscle fatty acid composition and liver histology of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, *561*, 738709.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738709>
- Khan, M. A., & Abidi, S. F. (2011). Effect of dietary l-lysine levels on growth, feed conversion, lysine retention efficiency and haematological indices of *Heteropneustes fossilis* (Bloch) fry. *Aquaculture Nutrition*, *17*(2), e657-e667.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2010.00815.x>
- Kiron, V., Sørensen, M., Huntley, M., Vasanth, G. K., Gong, Y., Dahle, D., & Palihawadana, A. M. (2016). Defatted Biomass of the Microalga, *Desmodesmus* sp., Can Replace Fishmeal in the Feeds for Atlantic salmon [Original Research]. *3*.
<https://doi.org/10.3389/fmars.2016.00067>
- Knutsen, H. R., Johnsen, I. H., Keizer, S., Sørensen, M., Roques, J. A. C., Hedén, I., . . . Hagen, Ø. (2019). Fish welfare, fast muscle cellularity, fatty acid and body-composition of juvenile spotted wolffish (*Anarhichas minor*) fed a combination of plant proteins and microalgae (*Nannochloropsis oceanica*). *Aquaculture*, *506*, 212-

223. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.03.043>
 Kraugerud, O. F., Jørgensen, H. Y., & Svihus, B. (2011). Physical properties of extruded fish feed with inclusion of different plant (legumes, oilseeds, or cereals) meals. *Animal Feed Science and Technology*, 163(2), 244-254.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.11.010>
- Limbu, S. M., Shoko, A. P., Ulotu, E. E., Luvanga, S. A., Munyi, F. M., John, J. O., & Opiyo, M. A. (2022). Black soldier fly (*Hermetia illucens*, L.) larvae meal improves growth performance, feed efficiency and economic returns of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, L.) fry [<https://doi.org/10.1002/aff2.48>]. *Aquaculture, Fish and Fisheries*, 2(3), 167-178. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/aff2.48>
- Liu, C., Palihawadana, A. M., Nadanasabesan, N., Vasanth, G. K., Vatsos, I. N., Dias, J., . . . Kiron, V. (2022). Utilization of *Nannochloropsis oceanica* in plant-based feeds by Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 561, 738651.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738651>
- Liu, Y., Chang, H., Lv, W., Ma, S., Qiu, G., Lu, S., . . . Liu, H. (2022). Physiological response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to graded levels of novel *Chlorella sorokiniana* meal as a single fishmeal alternative or combined with black soldier fly larval meal. *Aquaculture*, 561, 738715.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738715>
- Lu, R., Chen, Y., Yu, W., Lin, M., Yang, G., Qin, C., . . . Nie, G. (2020). Defatted black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal can replace soybean meal in juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) diets. *Aquaculture Reports*, 18, 100520.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100520>
- Ma, S., Wang, H., Li, J., Xue, M., Cheng, H., Qin, Y., & Blecker, C. (2021). Effect of the ratio of wheat flour and cassava and process parameters on the pellet qualities in low starch feed recipe extrusion. *Animal Feed Science and Technology*, 271, 114714. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114714>
- Maas, R. M., Verdegem, M. C. J., Wiegertjes, G. F., & Schrama, J. W. (2020). Carbohydrate utilisation by tilapia: a meta-analytical approach [<https://doi.org/10.1111/raq.12413>]. *Reviews in Aquaculture*, 12(3), 1851-1866.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/raq.12413>
- Maiolo, S., Parisi, G., Biondi, N., Lunelli, F., Tibaldi, E., & Pastres, R. (2020). Fishmeal partial substitution within aquafeed formulations: life cycle assessment of four alternative protein sources. *The International Journal of Life Cycle Assessment*, 25(8), 1455-1471. <https://doi.org/10.1007/s11367-020-01759-z>
- Makkar, H. P. S., Tran, G., Heuzé, V., & Ankers, P. (2014). State-of-the-art on use of insects as animal feed. *Animal Feed Science and Technology*, 197, 1-33.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.07.008>
- Mengistu, S. B., Mulder, H. A., Benzie, J. A. H., & Komen, H. (2020). A systematic literature review of the major factors causing yield gap by affecting growth, feed conversion ratio and survival in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *IJ*(2), 524-541. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/raq.12331>
- Mohammadi, G., Rafiee, G., El Basuini, M. F., Van Doan, H., Ahmed, H. A., Dawood, M. A. O., & Abdel-Latif, H. M. R. (2020). Oregano (*Origanum vulgare*), St John's-wort (*Hypericum perforatum*), and lemon balm (*Melissa officinalis*) extracts improved

- the growth rate, antioxidative, and immunological responses in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) infected with *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture Reports*, 18, 100445. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100445>
- Mohan, K., Rajan, D. K., Muralisankar, T., Ganesan, A. R., Sathishkumar, P., & Revathi, N. (2022). Use of black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal in aquafeeds for a sustainable aquaculture industry: A review of past and future needs. *Aquaculture*, 553, 738095. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738095>
- Muin, H., & Taufek, N. M. (2022). Evaluation of growth performance, feed efficiency and nutrient digestibility of red hybrid tilapia fed dietary inclusion of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*). *Aquaculture and Fisheries*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aaf.2022.09.006>
- Oliva-Teles, A., Enes, P., Couto, A., & Peres, H. (2022). 8 - Replacing fish meal and fish oil in industrial fish feeds. In D. A. Davis (Ed.), *Feed and Feeding Practices in Aquaculture (Second Edition)* (pp. 231-268). Woodhead Publishing. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821598-2.00011-4>
- Olmos Soto, J., Paniagua-Michel, J. d. J., Lopez, L., & Ochoa, L. (2015). Functional Feeds in Aquaculture. In S.-K. Kim (Ed.), *Springer Handbook of Marine Biotechnology* (pp. 1303-1319). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-53971-8_59
- Oteri, M., Di Rosa, A. R., Lo Presti, V., Giarratana, F., Toscano, G., & Chiofalo, B. (2021). Black Soldier Fly Larvae Meal as Alternative to Fish Meal for Aquaculture Feed. *13*(10), 5447. <https://www.mdpi.com/2071-1050/13/10/5447>
- Outa, N., Kitaka, N., & Njiru, M. (2014). Length-weight relationship, condition factor, length at first maturity and sex ratio of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* in Lake Naivasha, Kenya. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 2, 67-72.
- Özel, O. T., Çakmak, E., Selin Ertürk, G., Coskun, İ., & Türe, M. (2022). Evaluation of oregano (*Origanum vulgare*) essential oil supplementation on growth performance, digestive enzymes, intestinal histomorphology and gut microbiota of Black Sea salmon, *Salmo labrax*. *Annals of Animal Science*, 22(2), 763-772. <https://doi.org/https://doi.org/10.2478/aoas-2021-0068>
- Prabu, E., Felix, S., Felix, N., Ahilan, B., & Ruby, P. (2017). An overview on significance of fish nutrition in aquaculture industry. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 5(6), 349-355.
- Rashidian, G., Gabriel, N. N., & Dharmaraj, R. (2023). Editorial: New advances in functional aquafeeds. *Front Vet Sci*, 10, 1187586. <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1187586>
- Ratti, S., Zarantoniello, M., Chemello, G., Giammarino, M., Palermo, F. A., Cocci, P., . . . Olivotto, I. (2023). Spirulina-enriched Substrate to Rear Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Prepupae as Alternative Aquafeed Ingredient for Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Diets: Possible Effects on Zootechnical Performances, Gut and Liver Health Status, and Fillet Quality. *Animals*, 13(1).
- Ripps, H., & Shen, W. (2012). Review: taurine: a "very essential" amino acid. *Mol Vis*, 18, 2673-2686.
- Rohani, M. F., Islam, S. M. M., Hossain, M. K., Ferdous, Z., Siddik, M. A. B.,

- Nuruzzaman, M., . . . Shahjahan, M. (2022). Probiotics, prebiotics and synbiotics improved the functionality of aquafeed: Upgrading growth, reproduction, immunity and disease resistance in fish. *Fish & Shellfish Immunology*, 120, 569-589.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.12.037>
- Romano, N., Sinha, A., Powell, A., & Fischer, H. (2023). Mineral composition in black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae and resulting frass from fruit and their peels. *Journal of Insects as Food and Feed*, 9(1), 43-53.
<https://doi.org/10.3920/JIFF2022.0019>
- SAGARPA. (2021). *La acuicultura en México, retos y oportunidades*.
- Salem, M. A. E.-K., Adawy, R. S., Zaki, V. H., & Zahran, E. (2022). Nannochloropsis oculata supplementation improves growth, immune response, intestinal integrity, and disease resistance of Nile Tilapia [<https://doi.org/10.1002/aah.10170>]. *Journal of Aquatic Animal Health*, 34(4), 184-196.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1002/aah.10170>
- Salomón, R., Firmino, J. P., Reyes-López, F. E., Andree, K. B., González-Silvera, D., Esteban, M. A., . . . Gisbert, E. (2020). The growth promoting and immunomodulatory effects of a medicinal plant leaf extract obtained from *Salvia officinalis* and *Lippia citriodora* in gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 524, 735291. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735291>
- Sarker, P. K., Kapuscinski, A. R., McKuin, B., Fitzgerald, D. S., Nash, H. M., & Greenwood, C. (2020). Microalgae-blend tilapia feed eliminates fishmeal and fish oil, improves growth, and is cost viable. *Scientific Reports*, 10(1), 19328.
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-75289-x>
- Shao, Y., Wang, Y., Yuan, Y., & Xie, Y. (2021). A systematic review on antibiotics misuse in livestock and aquaculture and regulation implications in China. *Science of The Total Environment*, 798, 149205.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149205>
- Shourbela, R. M., El-Hawarry, W. N., Elfadadny, M. R., & Dawood, M. A. O. (2021). Oregano essential oil enhanced the growth performance, immunity, and antioxidative status of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared under intensive systems. *Aquaculture*, 542, 736868.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736868>
- Silva, T. S. d. C., Santos, L. D. d., Silva, L. C. R. d., Michelato, M., Furuya, V. R. B., & Furuya, W. M. (2015). Length-weight relationship and prediction equations of body composition for growing-finishing cage-farmed Nile tilapia. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 44.
- Spranghers, T., Ottoboni, M., Klootwijk, C., Owyn, A., Deboosere, S., De Meulenaer, B., . . . De Smet, S. (2017). Nutritional composition of black soldier fly (*Hermetia illucens*) prepupae reared on different organic waste substrates [<https://doi.org/10.1002/jsfa.8081>]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(8), 2594-2600. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jsfa.8081>
- Tadese, D. A., Song, C., Sun, C., Liu, B., Liu, B., Zhou, Q., . . . Kevin, N. T. (2022). The role of currently used medicinal plants in aquaculture and their action mechanisms: A review [<https://doi.org/10.1111/raq.12626>]. *Reviews in Aquaculture*, 14(2), 816-847. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/raq.12626>

- Tippayadara, N., Dawood, M. A. O., Krutmuang, P., Hoseinifar, S. H., Doan, H. V., & Paolucci, M. (2021). Replacement of Fish Meal by Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Larvae Meal: Effects on Growth, Haematology, and Skin Mucus Immunity of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Animals*, *11*(1).
- Tokuşoglu, Ö., & üUnal, M. K. (2003). Biomass Nutrient Profiles of Three Microalgae: *Spirulina platensis*, *Chlorella vulgaris*, and *Isochrysis galbana* [<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb09615.x>]. *J Food Sci*, *68*(4), 1144-1148. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb09615.x>
- Vargas-Abúndez, A. J., Randazzo, B., Foddai, M., Sanchini, L., Truzzi, C., Giorgini, E., . . . Olivotto, I. (2019). Insect meal based diets for clownfish: Biometric, histological, spectroscopic, biochemical and molecular implications. *Aquaculture*, *498*, 1-11. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.08.018>
- Vargas, A., Randazzo, B., Riolo, P., Truzzi, C., Gioacchini, G., Giorgini, E., . . . Olivotto, I. (2018). Rearing Zebrafish on Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*): Biometric, Histological, Spectroscopic, Biochemical, and Molecular Implications. *Zebrafish*, *15*(4), 404-419. <https://doi.org/10.1089/zeb.2017.1559>
- Winfrey, R. A., & Stickney, R. R. (1981). Effects of Dietary Protein and Energy on Growth, Feed Conversion Efficiency and Body Composition of *Tilapia aurea*. *The Journal of Nutrition*, *111*(6), 1001-1012. <https://doi.org/10.1093/jn/111.6.1001> %J The Journal of Nutrition
- Wuertz, S., Schroeder, A., & Wanka, K. M. (2021). Probiotics in Fish Nutrition—Long-Standing Household Remedy or Native Nutraceuticals? , *13*(10), 1348. <https://www.mdpi.com/2073-4441/13/10/1348>
- Zahran, E., Elbahnaswy, S., Ahmed, F., Ibrahim, I., Khaled, A. A., & Eldessouki, E. A. (2023). Nutritional and immunological evaluation of *Nannochloropsis oculata* as a potential Nile tilapia-aquafeed supplement. *BMC Veterinary Research*, *19*(1), 65. <https://doi.org/10.1186/s12917-023-03618-z>
- Zarantoniello, M., Bruni, L., Randazzo, B., Vargas, A., Gioacchini, G., Truzzi, C., . . . Olivotto, I. (2018). Partial Dietary Inclusion of *Hermetia illucens* (Black Soldier Fly) Full-Fat Prepupae in Zebrafish Feed: Biometric, Histological, Biochemical, and Molecular Implications. *Zebrafish*, *15*(5), 519-532. <https://doi.org/10.1089/zeb.2018.1596>
- Zarate, D. D., & Lovell, R. T. (1997). Free lysine (l-lysine · HCl) is utilized for growth less efficiently than protein-bound lysine (soybean meal) in practical diets by young channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*, *159*(1), 87-100. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00184-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00184-1)
- Zheng, Z. L., Tan, J. Y. W., Liu, H. Y., Zhou, X. H., Xiang, X., & Wang, K. Y. (2009). Evaluation of oregano essential oil (*Origanum heracleoticum* L.) on growth, antioxidant effect and resistance against *Aeromonas hydrophila* in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*, *292*(3), 214-218. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.04.025>
- Zhou, J. S., Liu, S. S., Ji, H., & Yu, H. B. (2018). Effect of replacing dietary fish meal with black soldier fly larvae meal on growth and fatty acid composition of Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). *24*(1), 424-433. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/anu.12574>

Zhou, Q.-C., Wu, Z.-H., Chi, S.-Y., & Yang, Q.-H. (2007). Dietary lysine requirement of juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture*, 273(4), 634-640.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.08.056>