



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Ingeniería

“Desarrollo de un alimento balanceado para tilapia (*Oreochromis niloticus*) a base de microalga y larva de mosca soldado (*Hermetia illucens*)”

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de:

Maestro en Ciencias Ingeniería en Biosistemas

Presenta

Ing. Valeria Caltzontzin Rabell

Dirigida por:

Dr. Juan Fernando García Trejo

Querétaro, Qro Junio, 2019.



Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales
de Información



Desarrollo de un alimento balanceado para tilapia
(*Oreochromis niloticus*) a base de microalga y larva
de mosca soldado (*Hermetia illucens*)

por

Valeria Caltzontzin Rabell

se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0
Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Clave RI: IGMAC-223112



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Ingeniería

Maestría en Ciencias Ingeniería en Biosistemas

“Desarrollo de un alimento balanceado para tilapia (*Oreochromis niloticus*) a base de microalga y larva de mosca soldado (*Hermetia illucens*)”

Tesis

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

Presenta

Ing. Valeria Caltzontzin Rabell

Dirigida por:

Dr. Juan Fernando García Trejo

Dr. Juan Fernando García Trejo
Presidente

Dra. Claudia Gutiérrez Antonio
Secretario

Dra. Ana Angélica Feregrino Pérez
Vocal

Dr. Ramón Gerardo Guevara González
Suplente

Dr. Irineo Torres Pacheco
Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.
Junio, 2019.
México

RESUMEN

La acuicultura es una actividad que ha ido aumentando a nivel mundial y se espera que siga creciendo. Esta actividad demanda alimentos acuícolas los cuáles tienen como base proteica harina de pescado y soya, las cuales son de alta calidad, pero se obtienen del saqueo de los mares y compiten con la nutrición humana respectivamente, haciendo que los precios varíen constantemente y por ende afectando los costos de producción de peces. Es por esto que se requieren insumos alternativos sustentables que permitan un crecimiento similar al del alimento comercial sin afectar la calidad nutricional y que tengan un precio estable. El objetivo de este trabajo fue diseñar un alimento balanceado para tilapia utilizando mezclas de microalgas (*Nannochloropsis limnetica* y *Chlorella vulgaris*), larvas de mosca soldado (*Hermetia illucens*) y alimento comercial. Se encontró que, alimentando a los peces durante 8 semanas, una mezcla de: 50g/100g de larva de mosca soldado, 10g/100g de microalga (*Chlorella vulgaris*) y 40g/100g de alimento comercial para tilapia puede reemplazar una dieta de 100g/100g de alimento comercial sin mostrar efectos adversos en el crecimiento o calidad nutricional de los peces utilizados. Se requiere, que se disminuyan los costos de producción para que el alimento sea redituable a largo plazo, sin embargo, este fue un primer acercamiento exitoso usando mezclas para lograrlo.

Palabras clave: alimentos alternativos, tilapia, insumos alternativos, larva de mosca soldado, microalgas.

SUMMARY

Aquaculture is an activity that has been increasing worldwide and is expected to continue growing. This activity demands aquaculture feeds, which are based on protein fishmeal and soybean, they are high quality, but obtained from the sacking of the seas and compete with human nutrition respectively, causing prices to constantly vary and therefore affecting fish production costs. This is why sustainable alternative supplies that allow similar growth to commercial feed without affecting nutritional quality and have a stable price are required. The objective of this work was to design a balanced feed for tilapia using mixtures of microalgae (*Nannochloropsis limnetica* and *Chlorella vulgaris*), Black Soldier Fly Larvae (*Hermetia illucens*) and commercial feed. It was found that, feeding the fish for 8 weeks, a mixture of: 50g / 100g of Black Soldier Fly Larvae, 10g / 100g of microalgae (*Chlorella vulgaris*) and 40g / 100g of commercial feed for tilapia can replace a diet of 100g / 100g of commercial feed without showing adverse effects on the growth or nutritional quality of the fish used. Production costs need to be reduced in order to profit from this feed, however this was a first successful approach using mixes to achieve it.

Keywords: alternative feeds, tilapia, alternative supplies, black soldier fly larvae, microalgae.

DEDICATORIA

Quiero dedicar este trabajo a mis papás, gracias por tenerme paciencia estos meses que estuve escribiendo y me apoyaron. Siempre lo han hecho y son el mejor ejemplo de que trabajando se logra lo que uno quiere, por prestarme el carro para las idas a Amazcala y en general por apoyarme estos dos años. Gracias hermanitos por escuchar mis quejas e historias, los amo.

A mi abue, gracias por siempre echarme porras y quererme mucho. Me siento feliz de poder aprovechar el tiempo contigo. Gracias a toda mi familia por su apoyo e interés en mí.

A mis amigos que a pesar de verme en situaciones donde me sentía molesta o sin saber que hacer ahí estaban y los malos ratos se iban rápido. Estar en Amazcala y en el laboratorio cambiaron mi vida de muchas maneras, tanto profesional como personalmente. Enfrenté situaciones que me hicieron crecer y aprender. Hice muchos contactos y tuve responsabilidades que no esperé. Gracias Dr. Juan Fernando por tanto años de enseñanzas y apoyo, por darnos diferentes opiniones y con eso, maneras de enfrentar retos. Gracias a los doctores que me enseñaron tantas cosas nuevas (Dra. Claudia, Dra. Lucía) y que muestran su pasión al hacer su trabajo, son un ejemplo a seguir.

A mis amigas Luz y Ruth que hicieron divertido este tiempo, me mostraron siempre su apoyo y enfrentamos todo con la mejor actitud. Gracias por haber hecho llevaderas las desveladas y por enseñarme a trabajar en conjunto, las quiero mucho.

Por último, a mis peces que dieron (aunque no quisieran) su vida por este trabajo. Para mí este trabajo es un parteaguas en mi vida. Me gusta este cambio que viví y me emocionan los que vienen.

Gracias por tomarse el tiempo de leer esto.

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi eterna gratitud al Laboratorio de Bioingeniería de la UAQ por el apoyo para la realización del experimento y los análisis además de la guía y consejo de sus integrantes.

Gracias a la Universidad Autónoma de Querétaro por el apoyo con la beca, espacio y el ambiente cordial que encontré en la Facultad de Ingeniería principalmente en el Campus Amazcala.

Por último, gracias a CONACYT por la beca de manutención otorgada que me permitieron desarrollar este trabajo.

ÍNDICE GENERAL

I.	Introducción	1
I.1.	Motivación	4
II.	Revisión de literatura.....	6
II.1.	Fundamentación Teórica.....	6
II.1.1.	Tilapia.....	6
II.1.1.1.	Alimentación	6
II.1.1.2.	Crecimiento y Reproducción.....	7
II.1.1.3.	Cultivo.....	9
II.1.2.	Alimentos acuícolas.....	11
II.1.3.	Mosca soldado	13
II.1.3.1.	Alimentación	14
II.1.3.2.	Crecimiento y Reproducción.....	14
II.1.3.3.	Cultivo.....	15
II.1.3.4.	Composición	16
II.1.4.	Microalgas	17
II.1.4.1.	Cultivo.....	18
II.1.4.2.	Composición.....	19
II.2.	Antecedentes.....	22
II.2.1.	Microalgas en alimentación de tilapia del Nilo	22
II.2.2.	Mosca soldado en la alimentación de tilapia del Nilo	24
III.	Hipótesis.....	27
IV.	Objetivos	28
IV.1.	Objetivo general	28
IV.2.	Objetivos particulares	28
V.	Materiales y Métodos	29
V.1.	Obtención de los insumos para la elaboración de alimentos balanceados para tilapia	29
V.2.	Determinación de la composición proximal de los insumos	30

V.2.1. Determinación de Humedad y Sólidos Totales.....	30
V.2.2. Determinación de Cenizas	31
V.2.3. Determinación de Grasas Totales	31
V.2.4. Determinación de Carbohidratos Totales	32
V.2.5. Determinación de Nitrógeno Total y Proteínas.....	33
V.2.6. Determinación de Fibra Bruta Total.....	35
V.3. Formulación y desarrollo de los alimentos experimentales	35
V.4. Determinación de la composición proximal de los alimentos experimentales.....	36
V.4.1. Determinación del contenido calórico en los alimentos	36
V.5. Descripción del sistema de recirculación para el experimento de alimentación	36
V.5.1. Monitoreo de la calidad del agua en el sistema.....	38
V.6. Organismos utilizados para la prueba de alimentación	38
V.6.1. Biometrías	39
V.6.2. Cálculos para determinar crecimiento e índices nutricionales.....	40
V.6.3. Determinación de la composición química proximal de los peces.....	42
V.7. Análisis Estadístico.....	42
VI. Resultados y Discusión	43
VI.1. Composición proximal de los insumos	43
VI.2. Formulación y desarrollo de los alimentos experimentales	46
VI.3. Composición proximal y contenido calórico de los alimentos experimentales.....	47
VI.4. Sistema de recirculación para el experimento de alimentación.....	48
VI.4.1. Monitoreo de la calidad del agua en el sistema.....	49
VI.5. Organismos utilizados para la prueba de alimentación	50
VI.5.1. Biometrías	50
VI.5.1.1. Longitud total	50
VI.5.1.2. Peso	51
VI.5.1.3. Longitud parcial	52

VI.5.1.4.	Base mínima.....	53
VI.5.1.5.	Altura	54
VI.5.1.6.	Tipo de crecimiento	60
VI.5.1.7.	Crecimiento e índices nutricionales	55
VI.6.	Análisis Económico	62
VII.	Conclusión.....	64
VIII.	Referencias Bibliográficas	65

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Parámetros óptimos para el crecimiento de tilapia.	11
Tabla 2. Requerimientos de proteína de los peces según su peso.....	12
Tabla 3. Composición de larva de mosca soldado cultivada en diferentes sustratos.	16
Tabla 4. Composición de <i>Nannochloropsis</i> cultivada bajo diferentes condiciones	19
Tabla 5. Composición de <i>Chlorella vulgaris</i> cultivada bajo diferentes condiciones	20
Tabla 6. Factores utilizados para la determinación de proteína.....	34
Tabla 7. Composición porcentual de microalga, larva de mosca y alimento comercial para los diferentes tratamientos de alimentos desarrollados.....	35
Tabla 8. Composición nutrimental de los insumos utilizados.	45
Tabla 9. Composición nutrimental de los alimentos desarrollados	48
Tabla 10. Pendiente del Modelo Ajustado	60
Tabla 11. Índices de crecimiento y nutricionales calculados.....	55
Tabla 12. Composición nutrimental de los peces	62
Tabla 13. Análisis de costos.	63

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de vida y producción de la tilapia. Redibujado de Wing-Keong Ng y Nicholas Romano, 2013.	8
Figura 2. Ciclo de vida de la mosca soldado (<i>Hermetia illucens</i>).....	15
Figura 3. Esquema del sistema utilizado.	37
Figura 4. Ejemplar de Tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>) de tres semanas de edad dentro del sistema.	38
Figura 5. Distribución de los tratamientos dentro del sistema.....	39
Figura 6. Variables de respuesta medidas.....	40
Figura 7. Diagrama de procesamiento de los insumos (microalga y larva de mosca) para la elaboración de las dietas experimentales.....	47
Figura 8. Sistema instalado para validación.	49
Figura 9. Comportamiento del amonio en el sistema durante 7 semanas de experimentación.	50
Figura 10. Longitud total (mm) de los peces al inicio y al final de la experimentación	51
Figura 11. Peso (g) de los peces al inicio y al final de la experimentación	52
Figura 12. Longitud parcial (mm) de los peces al inicio y al final de la experimentación	53
Figura 13. Base mínima (mm) de los peces al inicio y al final de la experimentación.	54
Figura 14. Altura (mm) de los peces al inicio y al final de la experimentación.	55

I. Introducción

En las últimas cinco décadas se ha reportado un aumento importante en la producción de peces a nivel mundial y este crecimiento lleva consigo un aumento en la demanda de alimentos acuícolas. Estos alimentos representan un 40-70% del costo de la producción de peces, actualmente existen deficiencias en la formulación y los precios de los alimentos continúan aumentando ya que los ingredientes con los que están hechos (principalmente harina de pescado y de soya) enfrentan ciertos problemas.

Los alimentos acuícolas utilizan actualmente más del 80% de la harina y aceite de pescado del mundo. Estos ingredientes (obtenidos a partir todo el cuerpo del pez) son fuentes de grasa, proteína de calidad, energía y minerales, además de que son altamente palatables y digestibles para la mayoría de los peces. La harina de pescado se obtiene de la pesca y caza de pequeños peces silvestres, sin embargo, su producción y precios varían gracias a la sobrepesca que ha llevado a un descenso en las poblaciones. Debido a los altos precios, una gran parte de la harina de pescado se está produciendo de residuos (desechos del procesamiento de peces) que habían sido previamente descartados, esto afecta la composición y la calidad de la harina, ya que resulta con un menor porcentaje de proteína.

La harina de soya es considerada como un ingrediente adecuado para los alimentos debido a diversos factores que benefician a los peces como una buena digestibilidad, alto contenido de proteína y un perfil de aminoácidos adecuado que cubre la mayoría de los aminoácidos esenciales que los peces necesitan. Sin embargo, las fuentes vegetales deben usarse parcialmente debido a una baja palatabilidad, alto contenido de fibra y que son deficientes en ciertos aminoácidos, además, su cultivo compite directamente con la alimentación humana. Además de estas limitaciones, hay algunas situaciones ambientales ya que el cultivo de soya causa deforestación, alto consumo de agua y el uso de pesticidas.

Según la FAO (2014) la harina de soya y pescado pueden ser reducidas en la dieta si se hacen mejores formulaciones e introducen nuevos ingredientes. Estos nuevos alimentos deben cumplir con los requerimientos necesarios para la acuicultura, obtener un alimento de menor precio y con cualidades nutritivas similares.

Las necesidades nutritivas de los peces incluyen proteína de alta calidad y cantidad en su dieta (entre un 30-60%); para lograr una nutrición balanceada, las fuentes de proteína deben tener un perfil de aminoácidos adecuado (arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina), alta digestibilidad, buena palatabilidad y que no tengan factores anti nutricionales. La proteína es uno de los principales componentes de los tejidos animales y por lo mismo, es un nutriente esencial. Los peces lo necesitan para su mantenimiento y crecimiento, principalmente para generar nuevo tejido; al estar limitados para sintetizar proteínas de esqueletos de carbono, la implementación en su dieta es vital.

Se requieren encontrar fuentes alternativas sustentables que cubran los requisitos nutrimentales de los peces y además tengan un menor precio ya que las alternativas actuales utilizan ingredientes de baja calidad que reducen los costos pero que afectan la producción y nutrición de los peces cultivados. Dentro de las fuentes alternativas que se han investigado se encuentran las microalgas y la larva de mosca soldado.

Las investigaciones buscan alternativas a la harina de pescado para obtener ácidos grasos polinsaturados y las microalgas pueden ser una excelente fuente gracias a su perfil de ácidos grasos y que se ha reportado, ayuda a la deposición de estos ácidos grasos polinsaturados en el filete de tilapia. Esta fuente no compite con la nutrición humana y se sabe que los peces se alimentan con ella en sus etapas tempranas, por lo que la tilapia esta pre adaptada a ella.

De la misma manera, los insectos son parte de la dieta de los peces. La larva de mosca soldado ha cobrado importancia gracias a su habilidad en crecer en varios sustratos y se considera como una fuente alta en proteína y grasa. Se sabe que se ha logrado incluir en la dieta hasta en 50% sin efectos negativos por lo que puede considerarse como un ingrediente prometedor.

Con base en lo anterior, se observa claramente que son necesarias fuentes alternativas de insumos como las harinas de insectos y el uso de microalgas para obtener una formulación más digerible, con buen balance de aminoácidos y ácidos grasos para tener un alimento eficiente que cubra los requerimientos energéticos y nutricionales.

El objetivo de este trabajo fue desarrollar y evaluar (en tilapia) 5 alimentos que incluían una mezcla de microalgas (*Chlorella vulgaris* y *Nannochloropsis limnetica*), larva de mosca soldado y dieta comercial (todos los ingredientes en diferentes proporciones) con la intención de dar soluciones al problema descrito. Los resultados mostraron que es posible sustituir el alimento comercial hasta en 60% usando mezclas.

Estos resultados indican que existen fuentes alternativas con alta calidad nutricional que pueden disminuir significativamente la inclusión de harina y aceite de pescado. Se requieren nuevos ingredientes ya que los comerciales no dan abasto para satisfacer la demanda de la creciente industria acuícola y este trabajo contribuye a la búsqueda de los mismos.

I.1. Motivación

En las últimas cinco décadas, se ha reportado un aumento en la producción mundial de peces, observándose un crecimiento anual del 5.8% entre los años 2001-2016 (FAO, 2018). Este crecimiento conlleva un aumento en la demanda de alimentos para acuicultura, los cuales están hechos principalmente de harina de pescado y harina de soya. La harina y el aceite de pescado son fuentes de proteínas y grasas de alta calidad, ambas contienen minerales y son altamente digestibles y palatables para la mayoría de los peces (Hepher, 1988).

La harina de pescado se obtiene actualmente de la captura y molienda de pequeños peces silvestres, sin embargo, su producción y precios varían debido a la sobrepesca que ha llevado a la disminución de estas poblaciones (FAO, 2018). Debido a los altos precios, en 2012, alrededor del 35% de la producción mundial de harina se obtuvo a partir de residuos de pescado (provenientes de desechos de su procesamiento). Esto afecta la composición y la calidad de la misma, ya que tendrá un porcentaje de proteína más bajo y por lo mismo, debe usarse con cuidado, ya que tiene más cenizas que pueden producir desequilibrios minerales. (FAO, 2014).

Aunque estos insumos son considerados como los mejores ingredientes para los alimentos acuícolas, sus tasas de inclusión en la dieta han disminuido y se están utilizando de forma selectiva, siendo usados principalmente en etapas tempranas o de desarrollo. La inclusión de estas fuentes se puede reducir si se hacen mejores formulaciones y se introducen nuevos ingredientes, ayudando a al mismo tiempo a disminuir los factores de conversión alimenticios (FAO, 2018).

La harina de soya es considerada como un ingrediente adecuado para la formulación de alimentos acuícolas debido a varios factores que benefician a los peces, como una buena digestibilidad, alta cantidad de proteínas y un perfil de aminoácidos que cumple con la mayoría de los esenciales necesarios para los peces. Sin embargo, las fuentes vegetales deben usarse parcialmente debido a la

baja palatabilidad, alta cantidad de fibra y deficiencia en ciertos aminoácidos, asimismo, su cultivo compite directamente con la alimentación humana (Lock *et al.*, 2016). Además de estas limitaciones, existen algunos problemas ambientales. El cultivo de soya provoca deforestación, alto consumo de agua y el uso de pesticidas (Sánchez-Muros *et al.*, 2014).

Las necesidades nutricionales de los peces incluyen alta calidad y cantidad (30-60%) de proteínas en su dieta (Hepher, 1988). Para lograr una nutrición balanceada, las fuentes de proteínas deben tener un perfil de aminoácidos adecuado (arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina), alta digestibilidad, buena palatabilidad y sin factores anti-nutricionales (Barrows *et al.*, 2008; National Research Council, 1993). La proteína es uno de los principales componentes de los tejidos animales, por lo tanto, es un nutriente esencial para los animales. Los peces lo necesitan para mantenerse, crecer y principalmente para generar nuevos tejidos ya que están limitados a sintetizar proteínas a partir de esqueletos de carbono, por lo que la implementación en la dieta se vuelve vital (Hepher, 1988).

Como se mencionó, problemas en la formulación, una disminución en la captura de peces silvestres y el aumento de los precios de la harina y aceite de pescado provocan un aumento de los precios de los alimentos (FAO, 2014). Y debido a que representan entre el 40–70% del costo de la producción de peces (Wilson, 2002; Rana *et al.*, 2009) existe la necesidad de encontrar alternativas sostenibles para los alimentos acuícolas y que cumplan con los requisitos de tener un precio más bajo y cualidades nutricionales similares (FAO, 2014).

II. Revisión de literatura

II.1. Fundamentación Teórica

II.1.1. Tilapia

Las tilapias son peces de agua dulce y nativas de África que pertenecen a la familia Cichlidae. Fueron introducidas en varias regiones tropicales, subtropicales y templadas del mundo durante la segunda mitad del siglo XX (Pillay, 1990). La introducción de la tilapia en estas áreas se hizo para: cultivar a los peces como alimento, pesca recreacional, control acuático de plantas y con fines de investigación (El-Sayed, 2006). Actualmente, todas las especies de tilapia, son la segunda especie de pez más cultivada a nivel mundial y que sigue creciendo año con año (FAO, 2018).

En comparación con otros peces, la tilapia posee extraordinarias cualidades para la acuicultura, como: rápido crecimiento, tolerancia a un amplio rango de condiciones ambientales (temperatura, salinidad, bajas concentraciones de oxígeno disuelto, altas densidades), adaptación a cautiverio, alta resistencia al estrés y a enfermedades. Cuenta además con algunos atributos para el mercado, como: carne blanca de buena calidad, buen sabor, poca espina, aceptación de una amplia gama de alimentos (aceptan alimentos artificiales inmediatamente después de la absorción del saco vitelino), buen tamaño y precio accesible, que le confiere una preferencia y demanda comercial mundial. Entre sus variedades destacan la Tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*), la Tilapia azul (*Oreochromis aureus*) y la Tilapia de Mozambique (*Oreochromis mossambicus*) (SAGARPA, 2006).

II.1.1.1. Alimentación

La mayoría de las tilapias tienen hábitos alimenticios herbívoros, por lo que están adaptadas estructuralmente con un intestino largo y plegado, además de contar con dientes y mandíbula que les sirven para cortar y rasgar plantas. Sin embargo, de manera general las tilapias se clasifican en tres grupos principales: especies

fitoplanctófagas (se alimentan de las algas y fitoplancton), especies herbívoras (se alimentan de plantas) y especies omnívoras (se alimentan tanto de plantas como de insectos, crustáceos y huevos o larvas de peces) siendo en este último grupo donde encontramos a *Oreochromis niloticus* (SAGARPA, 2006; Khallaf y Alnenaie, 1987).

La tilapia tiene patrones de alimentación irregulares que dependen de la especie y el tamaño del pez, la estación del año, la hora del día, el fotoperiodo, la profundidad del agua, la ubicación geográfica y el tipo de hábitat (El-Sayed, 2006). En cuanto a los ritmos, en 1982, Harbott encontró que todas las clases de tamaño de *O. niloticus* en el lago Turkana seguían un ciclo de alimentación diurno y en el lago Rudolf exhibían un ritmo de alimentación, que comenzaba entre las 05.00 h y las 08.00 h, y cesaba entre las 14.00 h y las 18.00 h (Harbott, 1975).

Se sabe que *O. niloticus* se alimenta principalmente de fitoplancton y zooplancton, siendo poca selectiva con los alimentos y modificando la dieta a medida que va creciendo. El consumo frecuente de fitoplancton tiene lugar durante las primeras etapas larvales (siendo corto el período de transición de ésta a una dieta típica y especializada) (El-Sayed, 2006).

Los usos más importantes del alimento ingerido son para el mantenimiento y el crecimiento del pez. El exceso de alimento es almacenado en forma de grasa una vez satisfechos los requerimientos (SAGARPA, 2006). Una ventaja importante es que ésta especie está pre-adaptada a consumir alimentos sin algún ingrediente de pescado por su bajo estatus trófico, por lo que es un buen modelo de estudio para validar alimentos nuevos (FAO, 2018).

II.1.1.2. Crecimiento y Reproducción

El crecimiento de la tilapia es longitudinal y depende de varios factores como la temperatura, densidad y tipo de alimentación principalmente. La mayor tasa de crecimiento la presentan los machos de 6 a 8 meses, el crecimiento promedio de

estos es de 18 a 25 cm, con un peso de 150 a 300 gr. (SAGARPA, 2006). En la Figura 1 se muestra el ciclo de vida de la tilapia. Se conoce que la edad máxima reportada para una tilapia es de 9 años (Noakes y Balon, 1982).

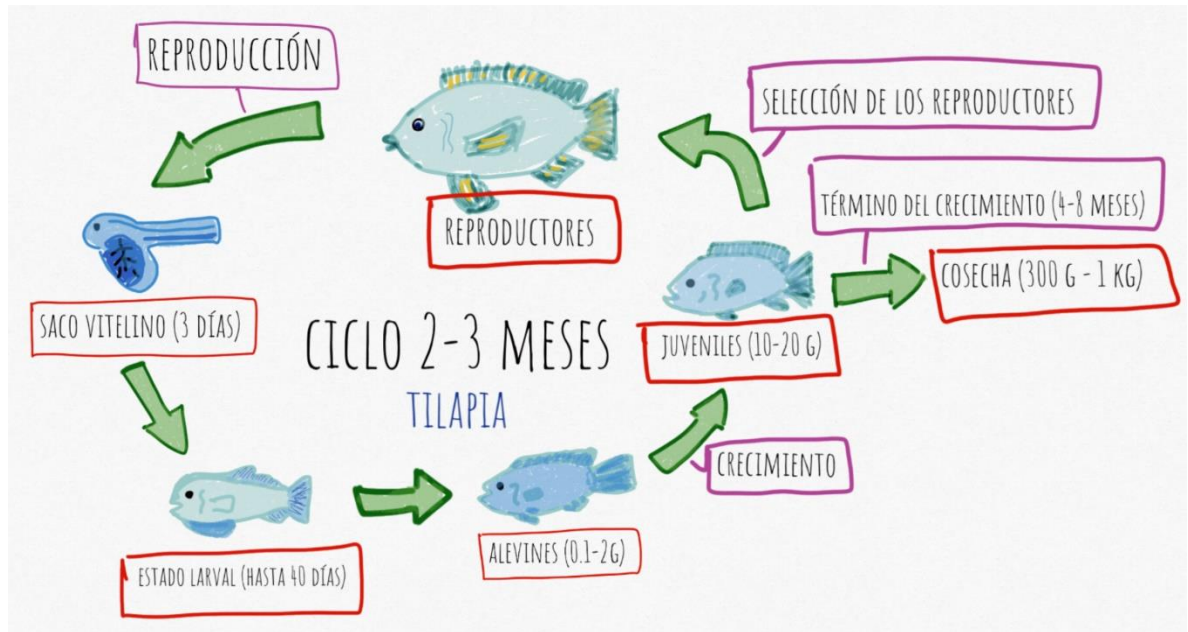


Figura 1. Ciclo de vida y producción de la tilapia. Redibujado de Wing-Keong Ng y Nicholas Romano, 2013.

A diferencia de otros peces cultivados, la tilapia se reproduce fácilmente en cautiverio sin necesidad de intervención del hombre. Posee alta tasa de desove, de fertilización y alta viabilidad. La temporada de reproducción abarca desde finales de marzo o principios de abril hasta mayo, cuando la temperatura del agua es aproximadamente de 20 a 25° C (Saavedra-Martínez, 2006).

El proceso de reproducción comienza con el macho estableciendo un territorio y cavando su nido, la hembra desova ahí y después de que el macho fertiliza, la hembra coloca los huevos con su boca para incubarlos durante 1 y 2 semanas (Trewavas, 1983). Por esta razón es que la tilapia pone menos huevos, además de que los huevos que pondrá la hembra son proporcionales al su peso, por ejemplo, una hembra de 100 g tendrá aproximadamente 100 huevos (Amador del Ángel *et*

al., 2014). Se sabe que mientras la hembra está incubando, casi no ingiere alimento (Rakocy, 2005). El inconveniente que se tiene es que se reproduce antes de que el pez tenga la talla para su comercialización y cuando esto sucede, se reduce la tasa de crecimiento, por lo que se deben separar los machos de las hembras en el momento oportuno (SAGARPA, 2006).

Se sabe también que la cantidad y calidad del alimento provisto afectará el tamaño en el cual comenzará la madurez y la producción de descendencia. Varios autores han reportado que la edad de madurez aumentará si se le otorga un alimento con mayor contenido de proteína (30-45%) (El-Sayed *et al.*, 2006).

II.1.1.3. Cultivo

Los sistemas de cultivo tradicionales son: Extensivo, Semi-intensivo, Intensivo y Súper intensivo.

El cultivo extensivo se caracteriza por modificar muy poco el ambiente. Casi no hay control sobre el mismo ni por los insumos que se requieren. No se controla el agua ni el alimento, por lo que los nutrientes se obtienen del agua o el suelo. La tasa de siembra varía de 10,000 a 20,000 peces/Ha, teniendo un tamaño en los estanques de entre 10 a 20 Ha (Saavedra-Martínez, 2006). Se estima que tiene una producción de entre 2-5 toneladas/Ha/año. Cuenta con una baja densidad, no hay alimentos formulados, no hay aeración y hay un poco recambio de agua por lo que sólo se consideraría redituable cuando el terreno es de bajo costo, el estanque se utiliza con otro fin o se utiliza con un policultivo que usa el mismo espacio, pero con diferentes especies (Negroni, 2013).

En el cultivo semi-intensivo se tiene un control del agua y de las especies cultivadas y cosechadas. Se utilizan alimentos suplementarios para lograr la productividad sin tener aeración del agua. Aquí se encuentran principalmente los pequeños y medianos productores. La tasa de siembra se encuentra entre 50,000 a 100,000

peces/Ha, teniendo un tamaño en los estanques de entre pocos metros cuadrados a 2 Ha (Saavedra-Martínez, 2006). Se manejan de densidades bajas a medias (5-10 kg/m³), con alimentos suplementados y se hace un recambio de agua entre el 10-20% con aeración principalmente en las noches. Hay rendimientos normales de entre 2-3 toneladas/Ha/cosecha, pero se han reportado hasta 10 toneladas cuando las condiciones climáticas son óptimas (Negróni, 2013).

En cuanto al cultivo intensivo, además de tener un control sobre el agua y las especies, se controla la aeración, recambios de agua y todos los nutrientes que se requieren. Se usa una tasa de siembra mayor con estanques en tierra, concreto o jaulas. Se manejan densidades entre 20-120 kg/m³ o entre 100,000 a 300,000 peces/Ha y se utiliza un alimento que contenga de un 25 a 30% de proteína, con grandes recambios de agua y uso de aeración artificial. El alimento se suministra a razón de 2-4% de la biomasa/día. La producción total varía de 5,000 a 12,000 Kg/Ha. Se pueden sembrar desde 50-600 tilapias/m³. Las producciones esperadas oscilan entre 50-300 Kg/m³ (Saavedra-Martínez, 2006; Negróni, 2013)

Finalmente, el cultivo Súper-intensivo tiene densidades más altas donde se requieren recambios diarios de agua (hasta un 100% por hora). Se utilizan aireadores y estanques de concreto, pueden usarse jaulas con hasta 600 tilapias/m³. En este cultivo el pez depende completamente del alimento para su nutrición por lo que éste debe tener una elevada cantidad de proteína (30-40%) (Saavedra-Martínez, 2006).

Sea cual sea al cultivo, se requiere que el agua esté dentro de los parámetros mostrados en la Tabla 1 (El-Sayed, 2006; Mallya, 2007; Oviedo *et al.*, 2013; CONAPESCA, 2010). Sin embargo, se sabe que la tilapia puede resistir condiciones extremas.

Tabla 1. Parámetros óptimos para el crecimiento de tilapia.

Parámetros óptimos	
Temperatura	27-30°C
pH	6.5-8.5
Oxígeno disuelto	5 mg/L (75-80% saturación)
Conductividad	<500 µS/cm
Nitritos (NO ₂)	<1 mg/L
Nitratos (NO ₃)	0-27 mg/L
Amonio (NH ₄)	<5 mg/L
Fosfatos (PO ₄)	<18 mg/L

II.1.2. Alimentos acuícolas

En cuanto a los alimentos comerciales, deben ser de alta calidad nutricional para obtener un buen crecimiento de los peces y que sean resistentes a enfermedades.

Deben cuidarse varios aspectos, principalmente el nivel de proteína.

El nivel de proteína que contiene el alimento otorgado a los peces determina el crecimiento del organismo. Conforme los peces crecen requieren menos proteínas por lo que los alimentos balanceados deberán tener diferentes porcentajes dependiendo del peso (Tabla 2) (SAGARPA, 2006).

Para maximizar el beneficio de crecimiento que otorga la proteína y minimizar los costos, lo ideal es dar la misma relación de aminoácidos que el animal requiere. Esto ayuda además a reducir el desecho de nitrógeno que queda cuando no se utilizan los aminoácidos que se dan en la dieta. Se requieren experimentos en los peces para conocer este perfil de aminoácidos (Wing-Keong Ng y Nicholas Romano, 2013).

Tabla 2. Requerimientos de proteína de los peces según su peso (SAGARPA, 2006).

Peso tilapia (gramos)	Proteína requerida (%)
0.5	40-45
0.5-10	35-40
10-30	30-35
30-250	30-35
250-talla de venta	25-30

En cuanto a los lípidos, tienen dos funciones principales, las cuales son ser un recurso de energía metabólica y de ácidos grasos esenciales. Deben componer entre un 3-8% del alimento (SAGARPA, 2006).

Los principales ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) que tienen cadenas con menos de 20 carbonos y que requieren las tilapias son los ácidos linolenico y linoleico, ya que no pueden ser sintetizados por los peces o cualquier vertebrado por lo que deben ser incluidos en la dieta (Wing-Keong Ng y Nicholas Romano, 2013). Se ha reportado que el requerimiento de ácido linoleico para la tilapia es de 0.5% (Takeuchi *et al.*, 1983).

Los carbohidratos son una fuente de energía importante, contribuyen con la conformación del pez y su estabilidad, en los alimentos comerciales deben estar en alrededor de un 40% (SAGARPA, 2006). Los carbohidratos pueden categorizarse en almidones (simples y complejos) y polisacáridos sin almidón. Los almidones incluyen dextrina y glucosa que son relativamente fáciles de digerir y en comparación, los polisacáridos se utilizan mucho menos o nada (Francis *et al.* 2001; Sinha *et al.* 2011). Se sabe que los peces utilizan los carbohidratos de manera menos eficiente que los animales terrestres, ya que tienen una duración prolongada de la hiperglucemia cuando se alimentan con dietas altas de almidón. Sin embargo,

los mecanismos exactos de cómo las tilapias utilizan los carbohidratos aún no se comprenden del todo (Wing-Keong Ng y Nicholas Romano, 2013).

Gracias a las recientes investigaciones, los índices de conversión alimenticios (relación de biomasa del alimento dado y peces producidos) han disminuido en los últimos 25 años, pasando de 3: 1 a 1.3: 1 (GSI, 2017), esto se debe principalmente al mejoramiento de las formulaciones de alimentos y de los métodos de fabricación (FAO, 2018).

Si bien los debates sobre las dietas acuícolas se han centrado en la harina y el aceite de pescado, para que este sector sea sostenible se requiere el suministro de proteínas, aceites y carbohidratos de animales y plantas terrestres (FAO, 2012; Troell *et al.*, 2014). Se está investigando mucho sobre nuevos alimentos para acuicultura, incluidas las microalgas y fuentes de insectos, pero es probable que pasen algunos años antes de que estén disponibles y sean asequibles (FAO, 2018).

II.1.3. Mosca soldado

La mosca soldado, *Hermetia illucens*, es una mosca de la familia Stratiomyidae. Se encuentra comúnmente en las regiones tropicales y subtropicales del mundo. Su temperatura óptima de desarrollo está entre los 29 y 31°C y la humedad ideal entre el 50 y 70%. La mosca adulta mide de largo entre 15 y 20 mm (Harinder *et al.*, 2014).

Las larvas son de interés por su habilidad para digerir residuos y convertirlos en biomasa, la cual está compuesta aproximadamente de un 40% de proteína y 30% grasa dependiendo de su alimentación (Newton, 2004). Estas larvas se pueden utilizar directamente como alimento para peces o secándolas y suplementándolas en la dieta. No transmiten enfermedades ya que no les gusta estar cerca de los humanos (Newton, 2005), además que inhiben el crecimiento de otras moscas.

Sus cortos ciclos de vida son una de las razones de interés para su producción ya que maximizan la eficiencia de degradación y minimizan costos (Park, 2015).

II.1.3.1. Alimentación

Las hembras ovopositan en materia orgánica en descomposición, lo cual asegurará la fuente de alimento cuando eclosionen las larvas. Después de eclosionar, buscarán el alimento y comenzarán a alimentarse. Las larvas requieren de grandes cantidades de sustrato del cual se alimentan vorazmente, el cual debe tener cierto grado de humedad (Dortsman *et al.*, 2017). Se alimenta principalmente de materia en descomposición como frutas y gallinaza (Tomberlin, 1993).

Por día, una larva consume entre 25 y 500 mg de materia fresca y húmeda, al inicio de la etapa de prepupa, la larva vacía su tracto digestivo. Como adulto, la mosca no tiene orificio bucal u órganos digestivos que les permitan alimentarse, sin embargo, siguen requiriendo agua. La fuente de energía de estos adultos es la grasa almacenada de su etapa larval (Park, 2015).

II.1.3.2. Crecimiento y Reproducción

El ciclo de vida de esta mosca se presenta en la Figura 2. El ciclo empieza con la hembra ovopositando alrededor de 500 huevos en un ambiente seco y cerca de materia en descomposición. Cada huevo mide aproximadamente 1mm de longitud y es color crema (W. Diclaro II y Kaufman, 2009).

Después de 4 días aproximadamente, los huevos eclosionarán y las larvas buscarán su alimento en descomposición. Dos semanas después, llegarán a la madurez si las condiciones ambientales fueron las adecuadas (pueden extenderse hasta 6 meses si las condiciones son hostiles). Las larvas terminarán con un largo de 27 mm y ancho de 6 mm aproximadamente, tienen un color blanco pálido con una cabeza negra pequeña que tiene su boca (Newton, 2005). En este periodo se dedican a almacenar proteína y grasa para poder pasar a la siguiente etapa: la pupación.

Durante la transformación a prepupa, la larva reemplaza sus partes bucales con una estructura en forma de gancho, la cual usa para moverse lejos del alimento a un lugar seco. Una vez maduras, la etapa de pupa comienza durante la cual migran a un lugar seco y protegido, el exoesqueleto se oscurece y se desarrollará la pupa (Dortsman *et al.*, 2017).

Dos semanas después un adulto emerge para encontrar pareja, reproducirse, ovoponer (en el caso de las hembras) para después morir y repetir el ciclo (Park, 2015).



Figura 2. Ciclo de vida de la mosca soldado (*Hermetia illucens*).

II.1.3.3. Cultivo

Las condiciones óptimas para el crecimiento de las larvas son: un clima templado (entre 24 y 30°C), un lugar con sombra ya que las larvas buscarán siempre un lugar lejos de la luz, agua en el alimento (entre un 60-90% humedad para poder ser ingerida), alimento previamente digerido de preferencia por bacterias u hongos, alimentos ricos en proteína y azúcares hacen que crezcan mejor, por último, un tamaño de partícula pequeño o hasta líquido para facilitar su ingestión (Dortsman *et al.*, 2017).

II.1.3.4. Composición

La composición de larvas y prepupas de la mosca soldado dependerá del sustrato en el cual éstas fueron criadas, sin embargo, se conoce que tienen en promedio un contenido alto de proteína y grasa (St-Hilaire *et al.*, 2007a; Zheng *et al.*, 2012) que las hacen una opción para ser incluidas en la dieta animal. A continuación, se muestran en la Tabla 3 algunos de los resultados reportados por varios autores de la composición de las mismas.

Tabla 3. Composición de larva de mosca soldado cultivada en diferentes sustratos (cenizas, proteína y grasa se expresan en g/100 gramos de muestra seca).

Sustrato	% Materia Seca	Cenizas	Proteína	Grasa	Autor
Pollinaza	-	-	47.0	17.7	Xiao <i>et al.</i> , 2018
Residuos de vegetales	-	11.40	45.20	15.86	Bruni <i>et al.</i> , 2018
Medio basado en plantas	31.1	-	10.8	-	Liland <i>et al.</i> , 2017
Alga café	30.0	-	7.4	-	
50-50 (Medio y alga café)	28.2	-	4.5	-	
Alimento pollos	38.7 ± 0.8	10.0	41.2	33.6	Spranghers <i>et al.</i> , 2017
Digerido de biogás (mezcla de zanahoria, chícharo, apio y salsifí)	38.6 ± 2.9	19.7	42.2	21.8	
Desecho de frutas y vegetales	41.0 ± 1.0	9.6	39.9	37.1	
Desecho de restaurante (papas, arroz, pasta y vegetales)	38.1 ± 0.9	2.7	43.1	38.6	

Residuo de vegetales	-	7.12	55.34	17.97	Renna <i>et al.</i> , 2017
Hojas de plátano y heno	-	13.9	43.5	16.7	Katya <i>et al.</i> , 2017
Cereales, desecho peces y levadura	-	11.65	41.6	23.24	Devic <i>et al.</i> , 2017
No específica	-	7.11	55.31	17.94	Borgogno <i>et al.</i> , 2017
No específica	30.0 ± 1.2	-	31.7 ± 0.5	21.1 ± 0.7	Bußler <i>et al.</i> , 2016
Residuos orgánicos	-	10.3	52.2	25.5	Lock <i>et al.</i> , 2016
Residuos orgánicos	-	10.2	58.3	17.0	
Mezcla cereales	-	-	36.9	34.3	M. De Marco <i>et al.</i> , 2015
Mezcla cereales	30.2 ± 0.86	13.5 ± 0.83	37.2 ± 0.68	30.8 ± 1.19	
Jarabes de cebada, maíz, trigo y azúcar	30.0 ± 1.03	4.8 ± 0.17	44.6 ± 0.63	38.6 ± 3.02	Tschirner M. y Simon A. 2015
Pulpa seca de remolacha azucarera	17.9 ± 1.19	22.9 ± 1.34	52.3 ± 1.67	3.4 ± 1.04	

II.1.4. Microalgas

La importancia de la microalgas se basa en que éstas empiezan la cadena alimenticia. Su comercio es exitoso ya que pueden ser utilizadas de varias maneras: para la producción de suplementos alimenticios, antioxidantes, colorantes naturales y ácidos grasos poliinsaturados. Las aplicaciones más importantes en la acuicultura son en la nutrición como un solo componente o como aditivo en el alimento (Spolaore *et al.*, 2006).

Las especies más utilizadas son: *Chlorella*, *Tetraselmis*, *Isochrysis*, *Pavlova*, *Phaeodactylum*, *Chaetoceros*, *Nannochloropsis*, *Skeletonema* y *Thalassiosira*. Para poder ser usadas, deben cumplir ciertos requisitos como que sean de fácil cultivo,

que no tengan toxicidad y que tengan un valor nutricional alto (Hemaiswarya *et al.*, 2011).

Es importante también que contengan ácidos grasos poliinsaturados; algunos como el ácido eicosapentanoico (EPA), α -linolenico (ALA) y Araquidónico (AA), son esenciales para varios peces ya que sirven precursores en la regulación del desarrollo y la fisiología. La mayoría de las microalgas tienen niveles moderados y altos de EPA, *Nannochloropsis* y las diatomeas tienen los niveles más altos de AA (0-4%) (Brown 2002).

II.1.4.1. Cultivo

Las microalgas convierten agua y dióxido de carbono a azúcares utilizando energía solar por medio del proceso llamado fotosíntesis. Éstos azúcares se utilizan para crecimiento de la biomasa (Blanken *et al.*, 2016). Cuando se cultivan, se deben tomar en cuenta algunos parámetros ambientales como intensidad de luz, fotoperiodo, temperatura y nutrientes ya que éstos afectan directamente la tasa de crecimiento de las microalgas (Kitaya *et al.*, 2008). La intensidad de la luz juega un papel sumamente importante y dependerá de la densidad de cultivo, mientras más denso requiere más luz para que llegue a todas las células (Parmar *et al.*, 2011).

Generalmente las microalgas crecen a campo abierto (la mayoría puede vivir en agua salada y dulce) y su cultivo tiene ventajas y desventajas. Entre las ventajas se encuentran: una mayor productividad en menos espacio y crecimiento bajo condiciones climáticas difíciles como en áreas desérticas o marítimas. Sin embargo, la principal es que retienen el dióxido de carbono atmosférico y liberan oxígeno, mejorando la calidad del aire (Gouveia y Oliveira 2009). Algunas de las desventajas que tienen los sistemas de cultivo son la contaminación de bacterias (la cual debe prevenirse) y la competencia con otras microalgas (Rocha *et al.* 2003). Además, al ser un cultivo abierto, la falta de control en los parámetros (como la radiación y temperatura) logran una baja densidad celular.

Para superar estas dificultades, se han diseñado algunos fotobiorreactores cerrados (Zitelli *et al.*, 1999) con los cuales se protege el cultivo de contaminaciones, se obtienen mayores densidades celulares y en general se tiene un mejor control (se alimenta con las dosis requeridas de dióxido de carbono, luz y otros nutrientes). Sin embargo, se deben optimizar las condiciones de cultivo, requerimientos nutricionales e hidrodinámicos para optimizar estos reactores y así obtener el mejor rendimiento posible.

II.1.4.2. Composición

Nannochloropsis sp. tiene hasta ahora seis especies (*N. salina*, *N. gaditana*, *N. granulata*, *N. limnetica*, *N. oceanica* y *N. oculata*) (Hibbard, 1981; Martins *et al.*, 2013). Se utiliza como fuente de aceite en la nutrición humana y animal por su alto contenido de ácidos grasos insaturados (Rocha *et al.*, 2003), en la acuicultura provee una fuente de ácidos grasos omega 3 (Sukenik *et al.*, 1989). Una evaluación nutricional encontró que tiene altos contenidos de proteína, ácidos grasos poliinsaturados y pigmentos antioxidantes (Kent *et al.*, 2015). En cuanto a seguridad alimentaria, *N. oculata* demostró poder ser utilizada como suplemento en la dieta sin algún efecto tóxico o patogénico (Kagana Michael L. y Matulkab Ray A., 2015). En la Tabla 4 se muestra el contenido nutricional de *Nannochloropsis* bajo diferentes condiciones.

Tabla 4. Composición de *Nannochloropsis* cultivada bajo diferentes condiciones (cenizas, proteína y grasa se expresan en g/100 gramos de muestra seca).

Condiciones	Cenizas	Proteína	Grasa	Autor
Baja temperatura (15°C)	-	47.24±4.85	19-20	Freire <i>et al.</i> , 2016
27°C	-	30.24±6.06	15.52±0.08	
150 µM NaNO ₃	-	23 – 0.6	62 – 2.8	Hu y Gao, 2006
120 µM NaH ₂ PO ₄	-	48 – 2.1	11 – 0.3	
14°C	-	55 – 4.1	19 – 0.8	

22°C	-	41 – 2.9	9 – 0.5	Fábregas <i>et al.</i> , 2004
30°C	-	44 – 2.7	15 – 0.7	
Irradiancia : 80 μmol quanta $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$	-	36.06	44.32	
220 μmol quanta $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$	-	42.76	33.25	
480 μmol quanta $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$	-	38.02	37.80	
20°C – 116 μmol quanta $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$	9.44 \pm 0.24	28.8 \pm 0.63	18.36 \pm 2.18	Reboloso-Fuentes <i>et al.</i> , 2001

A su vez, *Chlorella vulgaris* es una especie de microalga eucariótica y unicelular con un diámetro de 5-10 μm de diámetro. Tiene una pared con hemicelulosa la cual le da rigidez y la protege (Becker, 2007). Tiene un rápido crecimiento el cual responde a las condiciones en las que se encuentra, es ideal para producción ya que es muy resistente a condiciones adversas. En condiciones desfavorables (disminución de nitrógeno o fósforo, aumento en la temperatura, CO_2 o exposición solar), los lípidos y almidones aumentan y la biomasa disminuye o se detiene, por otro lado, la proteína aumenta en condiciones controladas y con suplemento de nitrógeno (Safi *et al.*, 2014). Esto nos permite aumentar los nutrientes en la microalga dependiendo de su propósito final. En la Tabla 5 se muestra el contenido nutricional de *Chlorella vulgaris* bajo diferentes condiciones.

Tabla 5. Composición de *Chlorella vulgaris* cultivada bajo diferentes condiciones (cenizas, proteína y grasa se expresan en g/100 gramos de muestra seca).

Condiciones	Cenizas	Proteína	Grasa	Autor
Biorreactor: 25°C, 7.5 pH, suplementado con N y CO_2 , luz continua	3.7	52.6	15.7	Wild <i>et al.</i> , 2019
Biorreactor: 25°C, 7.5 pH, sin N, suplementado con CO_2 , luz continua	3.5	45.5	19.2	

Biorreactor: 25°C, 7.5 pH, suplementado con N, sin CO ₂ , luz continua	3.1	32.8	34.1	
Aire libre: 11-25°C, 7.4 pH, suplementado con N y CO ₂ , ciclo luz día/noche	4.5	57.9	15.8	
Agua de mar con soluciones nutritivas 12:12 horas luz/obscuridad, 21°C	-	34.6 ± 3.8	13.6 ± 0.9	Paes <i>et al.</i> , 2016
Agua de mar con soluciones nutritivas sin N 12:12 horas luz/obscuridad, 21°C	-	35.8 ± 2.3	13.9 ± 0.9	
Temperatura: 23 ± 2 °C, pH 7.3 ± 0.2. Mezcla 2% CO ₂ /aire y con iluminación en agua industrial procesada (biorreactores) diluida al 34%	-	42.0 ± 0.9	17.0 ± 0.1	
Temperatura: 23 ± 2 °C, pH 7.3 ± 0.2. Mezcla 2% CO ₂ /aire y con iluminación en agua industrial procesada (biorreactores) diluida al 67%	-	44.4 ± 1.3	11.4 ± 0.4	Safafar <i>et al.</i> , 2016
Temperatura: 23 ± 2 °C, pH 7.3 ± 0.2. Mezcla 2% CO ₂ /aire y con iluminación en agua industrial procesada (biorreactores) diluida al 100%	-	47.4 ± 2.1	13.0 ± 0.4	

N: nitrógeno, CO₂: dióxido de carbono

II.2. Antecedentes

II.2.1. Microalgas en alimentación de tilapia del Nilo

Existen varios reportes de la inclusión de microalgas en la dieta de *Oreochromis niloticus*, sin embargo, se presentarán los trabajos que relacionan a esta tilapia y/o las microalgas *Chlorella vulgaris* y *Nannochloropsis limnetica*.

En 2008, Tartiel *et al.* investigaron el efecto de incluir (*Chlorella spp* y *Scenedesmus spp*) y reemplazar parcialmente la harina de pescado en la dieta de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*). Diseñaron nueve dietas que reemplazaban la harina de pescado en diferentes porcentajes (10, 25, 50 y 75%) con *Chlorella spp* y *Scenedesmus spp* además de un control. El experimento tuvo una duración de 90 días y los resultados mostraron que tanto el desempeño de crecimiento, el factor de conversión alimenticio y el valor de proteína productiva eran significativamente ($p < 0.05$) mayores en la dieta con 50% de ambas microalgas mientras que la dieta de 75% de microalga tuvo un menor rendimiento. Los análisis mostraron un menor contenido de humedad y lípidos, pero un mayor contenido de proteína en los peces que recibieron el 50% de reemplazo comparado con otros tratamientos. Los resultados, incluyendo el desempeño de crecimiento indicaron que ambas microalgas pueden reemplazar la harina de pescado hasta un 50% en la dieta de tilapias del Nilo sin tener efectos adversos.

En 2015 Sarker *et al.* determinaron diferentes coeficientes nutricionales para las tres microalgas: de agua dulce (*Spirulina*, *Chlorella*) y marina (*Schizochytrium*). Éstas se probaron en tilapia del Nilo y los resultados muestran que los coeficientes de digestibilidad aparente de las proteínas y aminoácidos observados para *Spirulina sp.*, *Chlorella sp.* y *Schizochytrium sp.* estaban en rangos similares a otros ingredientes probados en tilapia, por lo que pueden ser utilizadas en la alimentación, seleccionando la microalga dependiendo de si queremos incluir más proteína o más

grasa. En otro trabajo, en 2016, determinaron los mayores niveles a los cuales el aceite de pescado puede sustituirse con microalga sin efectos adversos en el crecimiento de tilapia del Nilo. Se probaron cinco dietas con diferentes niveles de sustitución usando *Schizochytrium sp.* seca (0, 25, 50, 75 and 100%, siendo el primero el control). Cuando se reemplazó por completo, se encontró mayor ganancia de peso y la relación de eficiencia de proteínas comparado con el control, no hubo diferencias significativas en cuanto a la tasa específica de crecimiento o la tasa de sobrevivencia. Esta microalga contiene ácido docosahexaenoico (DHA o ácido Omega 3) el cual aumentó la deposición de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) en filete de tilapia.

En 2017, Coelho-Barone *et al.*, realizaron un estudio para saber si una harina de *Chlorella sorokiniana* podía incluirse en la dieta de tilapia. El experimento se realizó con juveniles de tilapia donde se alimentaban a saciedad y tres veces al día con una dieta control (referencia) y una dieta experimental con 30% *Chlorella sorokiniana* liofilizada. La composición y digestibilidad de las proteínas fue similar a los alimentados con la dieta control. Se concluyó que puede incluirse en la dieta sin afectar el crecimiento de los peces.

En 2018, Gbadamosi y Lupatsch probaron la inclusión *Nannochloropsis salina* en la dieta de tilapia del Nilo. Utilizaron tres dietas con 35% proteína y 13% lípidos, la primera tenía como fuente de proteína solamente la harina y aceite de pescado; la segunda harina y aceite de soya, y la tercera se basaba en harina de *Nannochloropsis salina*. El experimento tuvo una duración de 36 días y se encontró que la dieta con microalga había tenido una ganancia de peso similar con un significativamente ($P < 0.05$) mejor factor de conversión alimenticio que aquellos alimentados con soya. Se reportaron mejores eficiencias de retención de proteínas (28.86%) con la microalga que con aquellas alimentadas con soya (26.84%) por lo que se concluye que esta microalga puede reemplazar el aceite de soya o pescado en la dieta de tilapia.

Entre los trabajos más recientes encontramos el reportado en 2019 por Araújo *et al.*, donde evaluaron el rendimiento de alevines de tilapia del Nilo en un sistema BioFloc con cuatro densidades de *Chlorella vulgaris* (0, 2.5, 5 y 10 x 10⁴ células mL⁻¹). El estudio tuvo una duración de 63 días, y se concluyó que una inoculación semanal con esta microalga no muestra efectos negativos en el crecimiento de los peces cultivados en un sistema BioFloc.

II.2.2. Mosca soldado en la alimentación de tilapia del Nilo

Existen diversos estudios publicados donde se utiliza la larva de mosca soldado en la dieta de tilapia del Nilo y otros peces. En 1981, Bondari y Sheppard alimentaron bagre y tilapia donde probaron tres dietas diferentes: la primera, usando 100% harina de larva de mosca soldado; la segunda mezclándola con una dieta comercial con alto contenido de proteínas (45%) y una tercera con menor contenido de proteína en alimento (30%), usando ambos alimentos comerciales como control. Se obtuvieron resultados similares sin diferencias significativas entre las dietas, tampoco se encontraron diferencias en las pruebas sensoriales.

En 2011, Sealey *et al.*, probaron dietas que incluían prepupas de mosca soldado (*Hermetia illucens*) en la dieta de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). En su experimento, se formularon y probaron cuatro dietas con prepupas cultivadas en estiércol y prepupas cultivadas en residuos de peces. Los niveles de inclusión fueron de 25% y 50%. Los resultados mostraron que las cultivadas en residuos de peces no mostraron diferencias en cuanto al crecimiento o calidad sensorial respecto al control, probando así la factibilidad de su inclusión.

Otro estudio realizado en 2014 por Stamer *et al.*, mostró el reemplazo de harina de pescado con larva de mosca soldado en diferentes niveles (0, 50 y 70%) y encontraron un efecto negativo conforme aumentaba la inclusión y concluyeron que puede incluirse hasta en un 50% sin mostrar efectos adversos.

En 2017, Devic *et al.*, probaron tres dietas mezclando larva de mosca soldado y residuos avícolas con diferentes niveles de inclusión (0, 30, 50 y 80 g kg⁻¹) para comprobar la sustitución de la harina y aceite de pescado y harina de soya en las dietas de alevines de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*). Los resultados no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos en cuanto a crecimiento, eficiencia de utilización de nutrientes, alimento tomado o análisis bromatológicos de los peces, sugiriendo que es posible incluir la larva en la dieta.

En 2017, Renna *et al.*, formularon harinas en las que incluían larvas de mosca parcialmente desengrasadas para ser incluidas en la dieta de (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). Las dietas tenían 0% (control), 20% y 40% de éstas harinas. Sus resultados mostraron que la harina de larva de mosca soldado puede ser incluida hasta en un 40% sin afectar de manera negativa la sobrevivencia, el crecimiento, el factor de condición, índices somáticos o calidad de los parámetros físicos en filete.

Otro estudio en 2017 de Li *et al.*, comprobaron los efectos de reemplazar harina de pescado con larva de mosca soldado desengrasada en las dietas de juveniles de (*Cyprinus carpio* var. Jian) Se prepararon y probaron cinco dietas reemplazando la harina de pescado a diferentes niveles: 0%, 25%, 50%, 75%, 100% con la larva. Los resultados no mostraron diferencias entre los tratamientos, sugiriendo que la carpa Jian no se vio afectada en cuanto a crecimiento y uso de nutrientes cuando se reemplazó hasta un 50%.

En 2018, Xiao *et al.*, realizaron un experimento el cual evaluó el potencial de usar esta larva como una alternativa a la harina de pescado en la dieta de bagre. Se reemplazó con diferentes porcentajes (0, 13, 25, 37%, 48%, 68%, 85% y 100%). La dieta en la cual se reemplazó con 25% resultó con el mejor crecimiento e índices de inmunidad, además tenía el menor factor de conversión alimenticio (0.9). No se reportaron diferencias significativas en la sobrevivencia o composición. Por lo tanto, se concluye que la larva tiene el potencial para reemplazar la harina de pescado en este pez y podría además aumentar la inmunocompetencia de los peces.

En los trabajos revisados se ha reportado la inclusión por separado de microalgas e insectos en la dieta de diferentes peces, sin embargo, no hay reportes hasta el momento de mezclas con ambos insumos. La inclusión de microalgas puede aumentar la ganancia de peso y el contenido de proteína en peces mientras que la inclusión de la larva de mosca no muestra efectos negativos en su crecimiento.

III. Hipótesis

Un alimento balanceado para tilapia a base de microalga y larva de mosca soldado no mostrará diferencias significativas en cuanto a peso y tamaño del pez con respecto a un alimento comercial.

IV. Objetivos

IV.1. Objetivo general

Desarrollar un alimento balanceado a base de microalga y larva de mosca soldado para tilapia con la finalidad de encontrar alternativas a los insumos que lo encarecen.

IV.2. Objetivos particulares

- Obtener los insumos para los alimentos.
- Formular y desarrollar los alimentos experimentales.
- Implementar y monitorear el sistema para la validación de los alimentos.
- Validar los alimentos experimentales.
- Determinar la composición proximal de los insumos, alimentos y peces.
- Determinar la asimilación de los alimentos.
- Realizar un análisis estadístico de los datos obtenidos.

V. Materiales y Métodos

El experimento se realizó en el Campus Amazcala de la Facultad de Ingeniería, en la Universidad Autónoma de Querétaro, en los meses de junio y julio. La temperatura media osciló entre los 14°C y los 28°C, con un clima predominante subtropical, templado semiseco.

V.1. Obtención de los insumos para la elaboración de alimentos balanceados para tilapia

Se obtuvieron harinas de las microalgas *Nannochloropsis limnetica* y *Chlorella vulgaris*, provenientes de la planta piloto para producción de microalgas Finka-UAQ ubicada en las instalaciones de la empresa Finka Ahuehuete en Colón, Querétaro. Ambas fueron cultivadas de manera intensiva en fotobiorreactores de 750 L bajo diferentes condiciones (entre 20-25°C y pH de 8.4 y entre 25-35°C y pH de 6.8 respectivamente) utilizando como medio de cultivo el agua residual de invernaderos de producción intensiva de jitomate. La obtención de la harina se logró en un horno de convección con una temperatura de 60°C.

Las larvas de mosca soldado (*Hermetia illucens*) se obtuvieron de la unidad piloto de producción de mosca soldado ubicada en la Facultad de Ingeniería de la Universidad Autónoma de Querétaro Campus Amazcala. Se cultivaron bajo condiciones controladas de humedad (70%) y temperatura (28°C) y se alimentaron con una dieta controlada (salvado de trigo, pellets de alfalfa y harina de maíz). Previo al cambio de larva a prepupa, se recolectaron, se sacrificaron por congelación y se deshidrataron en horno de convección con una temperatura de 55°C.

Se utilizó un alimento comercial marca Purina para tilapia, bagre y/o trucha para la etapa de Desarrollo (1.5 mm) como base para la elaboración de los alimentos para tilapia.

Los insumos fueron molidos de manera manual y se tamizaron hasta obtener un tamaño de partícula de 0.42 mm de diámetro promedio. Finalmente se guardaron por separado en bolsas de plástico resellables en un lugar fresco y seco hasta su uso.

V.2.Determinación de la composición proximal de los insumos

Se realizaron por triplicado los análisis bromatológicos de: humedad, cenizas, grasa, carbohidratos, proteína y fibra total a los insumos. Todas las muestras se molieron con un molinillo manual y se tamizaron hasta obtener un tamaño de partícula de aproximadamente 0.42 mm de diámetro promedio.

V.2.1. Determinación de Humedad y Sólidos Totales

Para determinar un promedio de humedad de las muestras se siguió el método reportado en el PROYECTO de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-211-SSA1-2002. Se enumeraron y pusieron crisoles a peso constante para cada muestra. Se colocó 1 g de la muestra húmeda en cada crisol usando una balanza analítica marca Precisa LS220A. Se colocaron en el horno marca Dynamica AP120 a 100°C de 4 a 12 horas hasta peso constante y se enfriaron en un desecador. Se tomó el peso de cada uno de los crisoles: crisol a peso constante, crisol con la muestra húmeda y crisol con la muestra después del secado. El porcentaje de humedad se determinó con la Ecuación 1:

$$\% \text{ humedad} = 100 \frac{(P2 - P3)}{(P2 - P1)} \quad (\text{Ecuación 1})$$

Donde:

P₁= Crisol a peso constante (g)

P₂= Crisol + Muestra húmeda (g)

$P_3 = \text{Crisol} + \text{Muestra seca (g)}$

Para los sólidos totales se usó la Ecuación 2:

$$\% \text{ Sólidos totales} = 100 - \% \text{ de humedad} \quad (\text{Ecuación 2})$$

V.2.2. Determinación de Cenizas

Para determinar un promedio de cenizas se siguió el método según la NMX-F-066-S-1978. Se enumeraron y pusieron crisoles en la mufla marca Felisa 500 a 500°C durante 2 horas para cada muestra se repitió esto hasta llegar a peso constante. Ya registrado el peso constante del crisol vacío (P1) se colocó en la balanza analítica marca Precisa LS220A, se taró y se transfirió la muestra seca. Se colocó la muestra en la mufla a 500°C por 5 horas (tomando en cuenta que toma una hora la mufla para subir hasta los 500°C); pasado el tiempo se dejó enfriar en desecador. Se tomó el crisol con pinzas y se pesó en la balanza analítica previamente tarada. Se repitió este procedimiento hasta alcanzar un peso constante. Se registró el peso (P2). El porcentaje de cenizas se determinó con la Ecuación 3:

$$\% \text{ cenizas} = \frac{(P2 - P1) * 100}{M} \quad (\text{Ecuación 3})$$

Donde:

P2 = Peso del crisol con las cenizas en g.

P1 = Peso del crisol vacío en g.

M = Peso de la muestra en g.

V.2.3. Determinación de Grasas Totales

Se pesaron de 2 g de muestra en los viales del Microondas marca Anton Paar Multiwave Pro SOLV MF100, usando una balanza analítica marca Precisa LS220A.

Se colocaron 25 ml de una mezcla de acetona: hexano (1:2 V/V). Se utilizó Acetona Optima Fisher Scientific ACS al 99.8% y Hexanos Fisher Chemical ACS al 98.5%. Se pusieron las tapas de los viales y se acomodaron en las posiciones correspondientes en el rotor. Se colocó el rotor dentro del microondas y se inició el método para extracción de grasas (EPA 3546). Para separar los solventes de los sólidos se filtró (con papel filtro #42) al vacío con una bomba para filtrar al vacío marca Rocker Chemker 300, en tubos previamente pesados usando la balanza analítica marca Precisa LS220A. Se dejaron los tubos en baño maría marca Termobañero Thermo Scientific LabLine 18802AQ (60°C) hasta evaporar el solvente. Para que se evaporaran por completo se dejaron en el horno marca Dynamica AP120, a 100°C por dos horas y se pesaron los tubos con el extracto sin solventes. Se obtuvieron las grasas totales con la Ecuación 4:

$$\% \text{ de grasas} = \frac{(A - B)}{C} * 100 \quad (\text{Ecuación 4})$$

Donde:

A= Peso del tubo más las grasas

B= Peso del tubo vacío

C= Peso de la muestra seca

V.2.4. Determinación de Carbohidratos Totales

Se determinaron azúcares totales con el método de antrona. Se pesaron en una balanza analítica marca Precisa LS220A 100 mg de la muestra, se hidrolizaron manteniendo en baño maría marca Termobañero Thermo Scientific LabLine 18802AQ a 90°C por 3 horas con 5 ml de ácido clorhídrico J.T. Baker (pureza 37.30%), 2.5N y se enfriaron a temperatura ambiente. Después, se neutralizaron con carbonato de sodio sólido Jalmex ACS al 99.5%, hasta que la efervescencia cesó. Se aforaron a

100 ml con agua destilada grado reactivo y se centrifugaron en centrífuga Metrix Dynamica Velocity 14R. Se preparó una solución de Antrona Sigma Aldrich ACS (pureza de 97%), al 0.2% en Ácido sulfúrico Jalmex ACS al 95-98%. En una gradilla con agua fría, se colocaron los tubos de reacción. Se colectó el sobrenadante y se tomó una alícuota de 1 ml (en caso de requerir, hacer diluciones). Se agregaron 4 ml de la solución de antrona preparada y se incubaron en baño maría a ebullición por 8 minutos. Se enfriaron rápidamente y se leyeron en el Espectrofotómetro Genesys 20 marca Thermo Spectronic a 630 nm. Se realizó previamente una curva de calibración con Dextrosa Anhidra Golden Bell Grado alimenticio para conocer la concentración de las muestras con la ecuación resultante.

V.2.5. Determinación de Nitrógeno Total y Proteínas

Para conocer el contenido total de nitrógeno y proteínas en las muestras se efectuó el método de Kjeldahl. Se pesaron 0.2 g de muestra dentro del matraz Digesdahl de 100 ml usando una balanza analítica marca Precisa LS220A; luego se añadieron 10 ml de Ácido sulfúrico Jalmex ACS al 95-98%. Se ajustó la temperatura del Equipo Digesdahl marca Hach a 440°C y se colocó el frasco seguido de la columna con el embudo hacia la boca del matraz en el calentador. Se dejó hervir por 5 minutos sin dejar que se seque totalmente. Se añadieron 5 ml de Peróxido de hidrógeno Mallinckrodt Chemicals ACS al 30% a la muestra a través del embudo en la columna. Se evaporó el exceso de peróxido y se retiró el frasco del calentador; se dejó enfriar y se retiró la columna. El matraz se aforó a 100 ml con agua desionizada grado reactivo. Se tomaron 2 ml de la muestra y el blanco y se colocaron en cilindros de 25 ml. Se agregó una gota del Indicador TKN marca Hach, a cada cilindro y se adicionaron algunas gotas de KOH 8.0 N a cada cilindro hasta que comenzó a aparecer una coloración azul. Se aforaron los cilindros a 20 ml con agua desionizada. Se agregaron 3 gotas de Estabilizador mineral marca Hach y 3 gotas de Agente Dispersante Polivinil Alcohol marca Hach a cada cilindro. Se aforaron los cilindros a 25 ml con agua desionizada y se mezclaron. Se agregó finalmente 1.00 ml de Reactivo de Nessler marca Hach a cada cilindro. Después de 2 minutos, se

leyeron en el Espectrofotómetro marca Hach DR6000 a 460 nm. Los resultados se expresaron en mg/L N y se calcularon el contenido de nitrógeno total con la Ecuación 5:

$$ppm\ TKN = \frac{75 * A}{B * C} \quad (Ecuación\ 5)$$

Donde:

A=mg/L lectura del espectro.

B= g o ml de muestra tomada para hacer la digestión.

C= ml Volumen tomado de la digestión.

Para calcular el contenido de Nitrógeno total se utilizó la Ecuación 6:

$$N\ total = ppm\ TKN * 0.0001 \quad (Ecuación\ 6)$$

Por último, para calcular el contenido de Proteínas se utilizaron diferentes factores (Ecuación 7) que se reportan en la Tabla 6 y que varían dependiendo la muestra analizada.

$$\% \text{ proteína} = N\ total * \text{Factor de proteína} \quad (Ecuación\ 7)$$

Tabla 6. Factores utilizados para la determinación de proteína

Insumo	Factor	Referencia
Alimentos	6.25	Jones, 1931
Pescado	5.6	Mariotti <i>et al.</i> , 2008
Microalgas	4.40, 3.55	Templeton <i>et al.</i> , 2015
Insectos	4.67	Jonas-Levi e Itzhak-Martinez, 2017
Heces	6.25	Jones, 1931

V.2.6. Determinación de Fibra Bruta Total

Se determinó el porcentaje de Fibra total presente en la muestra mediante la diferencia restante de la suma de los otros componentes y con la siguiente fórmula (Ecuación 8):

$$\% \text{ fibra total} = 100 - (\% \text{ proteína total} + \% \text{ grasa total} + \% \text{ cenizas} + \% \text{ carbohidratos} + \% \text{ humedad}) \quad (\text{Ecuación 8})$$

V.3. Formulación y desarrollo de los alimentos experimentales

Bajo la premisa que puede lograrse hasta un 50% de inclusión de larva de mosca soldado (Li *et al.*, 2017) y 10% de microalga (Guiscafre-Rodea *et al.*, 2018) en la dieta de tilapia, se formularon 5 dietas con diferentes cantidades de cada insumo, los cuales se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7. Composición porcentual de microalga, larva de mosca y alimento comercial para los diferentes tratamientos de alimentos desarrollados (* gramos de insumo por cada 100g de alimento preparado).

	AC	A1	A2	A3	A4	A5
<i>Nannochloropsis limnetica</i> (N)*	0	5	10	0	5	0
<i>Chlorella vulgaris</i> (Cv)*	0	5	0	10	5	0
Larva de mosca soldado (BSFL)*	0	50	50	50	0	50
Alimento Comercial (AC)*	100	40	40	40	90	50

AC: Alimento comercial, A1: alimento 1, A2: alimento 2, A3: alimento 3, A4: alimento 4, A5: alimento 5

Se prepararon dos kilogramos de cada alimento, para lo cual se pesaron los insumos con una báscula electrónica marca Kingship GRP-30 según las raciones,

se mezclaron con 1.5 L de agua destilada grado reactivo y se pelletizaron con una prensa manual (obteniendo un diámetro de aproximadamente 3mm). Por último, se secaron en un horno marca Memmert a 60°C (Zheng *et al.*, 2012). Se empacaron y guardaron en un lugar fresco y seco hasta su uso.

V.4.Determinación de la composición proximal de los alimentos experimentales

Se realizaron por triplicado los análisis bromatológicos de: humedad, cenizas, grasa, carbohidratos, proteína, fibra total y calorías a los alimentos experimentales. Todas las muestras se molieron con un molinillo manual y se tamizaron hasta obtener un tamaño de partícula de aproximadamente 0.42 mm de diámetro promedio.

V.4.1. Determinación del contenido calórico en los alimentos

Se determinaron las calorías en los alimentos desarrollados con un calorímetro isoperibólico 6200 marca Anton Parr. Las muestras se molieron y tamizaron con una malla de aproximadamente 0.42 mm de diámetro promedio, posteriormente se pesó entre 0.5 y 1 gramo usando una balanza analítica marca Precisa LS220A y se pelletizaron. Cada pellet se colocó después en un crisol dentro de la bomba calorimétrica, la cual se preparó con oxígeno y se accionó el equipo. Los resultados fueron registrados a medida que se obtenía.

V.5.Descripción del sistema de recirculación para el experimento de alimentación

Se utilizó un sistema de recirculación, el cual consistió de un rack de acero con 5 niveles. Cada nivel de este sistema podía acoplar hasta seis peceras de 20 L, tres de 40 L o una de 120 L. Todas las salidas de agua de las peceras se conectaban a un tubo que va a un flujo común en donde el agua se filtraba (con esponjas de acuario para las partículas más grandes, filtro de cerámica para facilitar el

establecimiento de bacterias benéficas para la biofiltración y carbón activado para estabilizar), un oxigenador marca AirSep Topaz y una piedra difusora de 30 cm marca Marina y se ajustaba a 28 °C por medio de 2 Termostatos 300 W marca Boyu IPX8 y un enfriador de agua marca Boyu C Series. Posteriormente pasaba por una lámpara UV marca Boyu UVC Sterilamp para reducir carga microbiana para finalmente, regresar a las peceras por medio de una bomba sumergible marca Boyu PQF-6000, completando así, la recirculación (Figura 3) (Peña-Herrejón *et al.*, 2017).

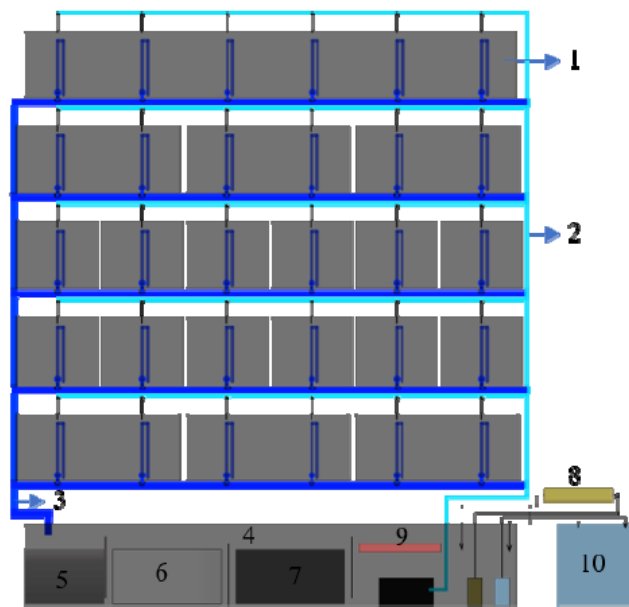


Figura 3. Esquema del sistema utilizado. 1, tanques para los peces; 2, entrada de agua; 3, salida de agua; 4, sistema de filtración; 5, filtro de esponjas; 6, filtro de cerámica; 7, carbón activado; 8, lámpara UV; 9, termostatos; 10, enfriador (chiller) (Obtenida de Peña-Herrejón *et al.*, 2017).

Para el experimento donde se comparan los alimentos elaborados se utilizaron 3 niveles con 6 peceras de 20 L cada una. En la etapa inicial se hicieron pruebas en vacío que permitieran corroborar el funcionamiento correcto del sistema y la ausencia de fugas. Al mismo tiempo se hizo un monitoreo de las condiciones ambientales en el agua del sistema de recirculación.

V.5.1. Monitoreo de la calidad del agua en el sistema

Se monitorearon semanalmente las variables de: temperatura ($^{\circ}\text{C}$), oxígeno disuelto (mg/L), pH, conductividad ($\mu\text{S/cm}$), nitritos (NO_2 , mg/L), nitratos (NO_3 , mg/L), fosfatos (PO_4 , mg/L) y amonio (NH_4 , mg/L), esto con el fin de mantener el sistema bajo control (Li *et al.*, 2016). Para la medición de las primeras 4 variables se utilizó un Equipo HQ40d marca Hach con sonda LDO, potenciómetro y CDC respectivamente. En cuanto a los análisis químicos: para nitritos se utilizó el método de Diazotización (USEPA), para nitratos el método de reducción de cadmio, para fosfatos el método de ácido ascórbico (USEPA) y para amonio se utilizó el método de Nessler (USEPA) los cuales se leyeron con el espectrofotómetro UV-VIS Hach DR6000.

V.6. Organismos utilizados para la prueba de alimentación

Para la validación de los alimentos se utilizaron 360 tilapias (*Oreochromis niloticus*) las cuales se obtuvieron de una granja acuícola ubicada en el estado de Hidalgo. Para disminuir la variabilidad, se utilizaron descendientes de supermacho (asegurando así 98% de machos en la puesta) con una edad de 5 semanas y un peso de entre 1-2 gramos (Figura 4).



Figura 4. Ejemplar de Tilapia (*Oreochromis niloticus*) de tres semanas de edad dentro del sistema.

Una semana previa al comienzo del experimento, se realizó la aclimatación de los peces, donde se colocaron 20 individuos por pecera y se les ofreció alimento

comercial (control). Transcurrida la semana, se suspendió 24 horas el alimento para limpiar el sistema digestivo de los peces y poder comenzar con las dietas experimentales (Takeuchi *et al.*, 2002).

Se utilizó un diagrama de bloques completamente al azar para el acomodo de los 5 tratamientos y el control (Figura 5). Las horas de alimentación fueron a las 8:30, 12:30 y 16:30, tomando en cuenta la ración como el 10% de la biomasa y modificándose semanalmente respecto a las biometrías. El experimento tuvo una duración de 8 semanas (Zheng *et al.*, 2012), después de las cuales se sacrificaron los peces colocándolos a -20 grados en un congelador marca Torrey CH25 (OIE, 2011). Se desecharon las cabezas y colas de los individuos, lo restante se secó en horno marca Dynamica AP120 a 100°C y se guardó en un lugar fresco y seco para su posterior análisis.

A1.1	A4.1	A2.2	A5.2	A3.3	AC.3
A2.1	A5.1	A3.2	AC.2	A4.3	A1.3
A3.1	AC.1	A4.2	A1.2	A5.3	A2.3

Figura 5. Distribución de los tratamientos dentro del sistema.

V.6.1. Biometrías

Se realizaron biometrías semanalmente, tomando como variables de respuesta el peso, longitud total, longitud parcial, base mínima y altura del pez (Figura 6). Para medir las longitudes se utilizó un Vernier marca Mitutoyo Absolute IP67 y el peso se registró con una Balanza Analítica marca Sartorius.

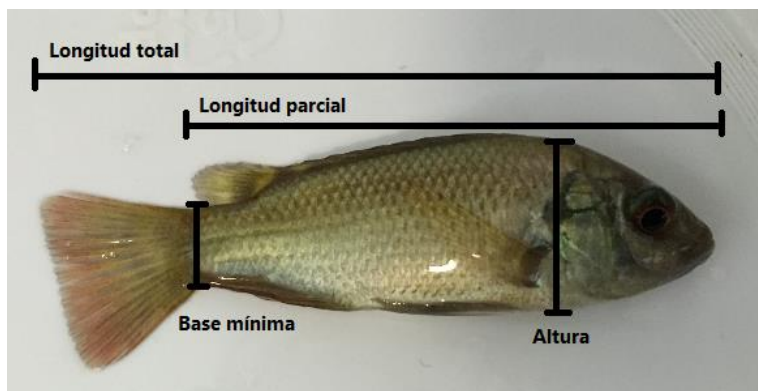


Figura 6. Variables de respuesta medidas.

V.6.2. Cálculos para determinar crecimiento e índices nutricionales

El crecimiento y los índices nutricionales se calcularon de la siguiente manera:

- a) Ganancia de peso total: peso ganado al final del experimento (Tartiel *et al.*, 2008)

$$\text{ganancia de peso (g)} = \text{Peso final (g)} - \text{Peso inicial (g)} \quad (\text{Ecuación 9})$$

- b) Ganancia diaria de peso (DWG) (g/día): ganancia de peso (g) por día por pez (Tartiel *et al.*, 2008)

$$DWG = \frac{\text{ganancia de peso (g)}}{\text{días de alimentación}} \quad (\text{Ecuación 10})$$

- c) Ganancia relativa de peso (RWG, %). (Wang *et al.*, 2017)

$$RWG (\%) = \frac{\text{Peso final (g)} - \text{Peso inicial (g)}}{\text{Peso inicial (g)}} * 100 \quad (\text{Ecuación 11})$$

- d) Índice de crecimiento diario (DGI): respecto al peso (Belghit *et al.*, 2018)

$$DGI = \frac{\text{Peso final (g)}^{\frac{1}{3}} - \text{Peso inicial (g)}^{\frac{1}{3}}}{\text{días de alimentación}} * 100 \quad (\text{Ecuación 12})$$

- e) Tasa específica de crecimiento: porcentaje de crecimiento por día. (SGR, % día⁻¹) (Wang *et al.*, 2017)

$$SGR (\%) = \frac{\ln \text{Peso final (g)} - \ln \text{Peso inicial(g)}}{\text{días de alimentación}} * 100 \quad (\text{Ecuación 13})$$

- f) Factor de condición (CF) sirve para cuantificar la condición del pez tomando en cuenta su forma general (Belghit *et al.*, 2018)

$$CF = \frac{\text{Peso final (g)}}{\text{Largo final (cm)}} * 100 \quad (\text{Ecuación 14})$$

- g) Relación de eficiencia de proteína (PER) eficiencia que tuvo la proteína ingerida en el peso de los peces, mide (Li F.J. *et al.*, 2015)

$$PER = \frac{\text{Peso final (g)} - \text{Peso inicial(g)}}{\text{Proteína en alimento (g)}} \quad (\text{Ecuación 15})$$

- h) Relación de eficiencia lípidos (LER) eficiencia que tuvo la grasa ingerida en el peso de los peces (Belghit *et al.*, 2018)

$$LER = \frac{\text{Peso final (g)} - \text{Peso inicial(g)}}{\text{Grasa en alimento (g)}} \quad (\text{Ecuación 16})$$

- i) Índice visceral: porcentaje de vísceras respecto al cuerpo (VSI %) (Kubiriza *et al.*, 2016)

$$VSI(\%) = \frac{\text{Peso de las vísceras (g)}}{\text{Peso del cuerpo (g)}} * 100 \quad (\text{Ecuación 17})$$

- j) Tasa de sobrevivencia (SR %) (Kubiriza *et al.*, 2016)

$$SR (\%) = \frac{\text{Número final de individuos}}{\text{Número inicial de individuos}} * 100 \quad (\text{Ecuación 18})$$

V.6.3. Tipo de Crecimiento

Para medir el tipo de crecimiento se hizo una relación de Peso-Longitud Total utilizando los datos de cada tratamiento. Se tomó la pendiente de la ecuación obtenida, siendo lo ideal que éste valor sea cercano a 3. Los peces pueden tener un crecimiento isométrico, alométrico negativo o alométrico positivo. Un crecimiento isométrico nos indica que el organismo creció de manera proporcionada en todas sus partes, el alométrico negativo sucede cuando el valor obtenido es menor al esperado en el isométrico y nos dice que el organismo se vuelve delgado conforme aumenta de largo, al contrario del crecimiento alométrico positivo en donde implica que el pez engorda conforme aumenta de longitud (Riedel *et al.*, 2007).

V.6.4. Determinación de la composición química proximal de los peces

Los análisis bromatológicos de: humedad, cenizas, grasa, carbohidratos, proteína y fibra total se realizaron por triplicado en los peces (sin cabeza y sin cola) sacrificados después de la experimentación. Las muestras se pulverizaron con un molinillo manual y se tamizaron hasta obtener un tamaño de partícula de aproximadamente 0.42 mm de diámetro promedio.

V.7. Análisis Estadístico

Los resultados se expresan con la desviación estándar. Se realizó un ANOVA de una vía y una prueba de Tukey para conocer las diferencias entre los tratamientos, las cuales se consideraron significantes cuando $P < 0.05$ (Li *et al.*, 2016).

VI. Resultados y Discusión

VI.1. Composición proximal de los insumos

En la Tabla 8 se muestran los resultados obtenidos de los análisis bromatológicos realizados a los insumos utilizados. Se observa que la composición de los insumos concuerda en general, con lo reportado por otros autores.

La composición nutricional de *Nannochloropsis limnetica* muestra resultados de proteína y grasa (35.82 ± 0.17 y 13.26 ± 0.33 respectivamente) similares a lo reportado por Freire *et al.*, 2016 y Reboloso-Fuentes *et al.*, 2001 (30.24 ± 6.06 y 15.52 ± 0.08 respectivamente). En cuanto a las cenizas, se obtuvo un promedio de 15.49 ± 0.01 lo que representa un 6% más de lo reportado (9.44 ± 0.24), lo que nos indica la presencia de más minerales, esta diferencia pudo deberse al medio en el que se cultivaron las microalgas (Fox y Zimba, 2018), ya que es de éste mismo de donde se obtienen los nutrientes. Ambos, Freire *et al.*, 2016 y Reboloso-Fuentes *et al.*, 2001 utilizaron un medio de cultivo suplementado con nutrientes para el cultivo de las microalgas a diferencia de las utilizadas en este trabajo que se cultivaron en agua residual de invernadero. Los resultados obtenidos soportan trabajos previos de Guiscafre-Rodea en 2018 en los cuales se menciona que las microalgas pueden crecer en agua residual sin afectar su composición nutricional, haciendo de este insumo un producto de buena calidad que además es sostenible.

En 2019 y 2016 Wild *et al.*, y Safafar *et al.*, respectivamente, reportaron la composición nutrimental de *Chlorella vulgaris*, al comparar estos datos con los resultados obtenidos observamos un aumento en la cantidad de cenizas (16.88 ± 0.04 contra lo reportado de 3.1-4.5). El contenido de proteína y grasa no se vieron afectados, obteniendo un 36.94 ± 0.69 contra lo reportado de 32.8-57.9 y 11.04 ± 0.34 contra lo reportado de $11.4 \pm 0.4 - 34.1$ respectivamente. La diferencia en cuanto a cenizas puede atribuirse al medio de cultivo en cual fueron producidas (Fox y Zimba, 2018) ya que Safafar *et al.*, cultivaron las microalgas bajo condiciones controladas y con un medio suplementado, Wild *et al.*, utilizaron aguas procesadas

de un biorreactor y las microalgas obtenidas crecieron en aguas residuales de invernadero.

Se comparó la composición obtenida de la larva de mosca con lo reportado por De marco *et al.*, en 2015 esto ya que, a pesar de contar con otros reportes, la mezcla de cereales que ellos utilizaron para alimentar a las larvas es similar a lo utilizado en la planta piloto de donde fueron obtenidas. Se observa una menor cantidad de agua presente, esto debido a que las larvas obtenidas tuvieron un tratamiento de secado previo. En cuanto a la ceniza, proteína y grasa (8.74 ± 0.03 , 32.99 ± 0.52 y 23.50 ± 3.02 respectivamente) se observa un contenido similar a lo reportado (13.5 ± 0.83 , 37.2 ± 0.68 y 30.8 ± 1.19 respectivamente) observándose una ligera disminución la cual pudo deberse al contenido nutricional de los cereales utilizados o al momento de cosecha de las larvas ya que según reporta Barragán-Fonseca *et al.*, 2017 los factores como calidad y cantidad en el alimento y condiciones como temperatura o humedad afectan a las larvas.

Al corroborar la composición del alimento comercial, se observó que algunos valores no coincidían con lo reportado en la etiqueta. Se encontró un menor contenido de grasa, en la etiqueta especificaba que tenía al menos un 15% al realizar el análisis se obtuvo un $10.86 \% \pm 0.23$, esto es importante ya que del aceite que contiene la harina de pescado utilizada en estos alimentos se obtienen los ácidos grasos que permiten el adecuado desarrollo de los peces y el disminuir la inclusión puede afectar el mismo. En cuanto al contenido de fibra se observó un mayor contenido el cual afecta al pez al generar más heces sin absorber de manera adecuada los nutrientes. Por otro lado, el contenido de proteína, que resulta ser el de mayor interés para los productores ya que con eso se establece el valor comercial, menciona en la etiqueta un 44% mínimo de proteína, sin embargo, al realizar los análisis bromatológicos de este alimento se observa que no lo cumple (36.89 ± 1.52). Esto debe regularse ya que por el contenido de proteína mencionado se esperaría un alimento de alta calidad, el cual no cumple con lo que menciona y probablemente afecte el rendimiento de crecimiento esperado.

En general, los resultados obtenidos muestran que los insumos utilizados tienen una composición adecuada la cual permitió obtener alimentos balanceados y de buena calidad nutrimental.

Un tema importante que surgió al realizar los cálculos de proteína fue el del factor por el cual se multiplica el contenido total de nitrógeno obtenido (Ecuación 7). Se sabe que este factor dependerá de la muestra que se esté analizando, y a pesar de contar con algunos ya establecidos para ciertas matrices (como el 5.6 para el pescado, Mariotti *et al.*, 2008) se utiliza como factor común el 6.25 (Jones, 1931). En los últimos años, autores como Templeton *et al.*, en 2015 y Jonas-Levi e Itzhak-Martinez en 2017 resaltan la importancia de actualizar estos factores para realizar los cálculos de manera adecuada y con esto obtener los valores de proteína correctos. Cabe resaltar que los factores obtenidos por estos autores para microalgas e insectos son considerablemente menores al factor general 6.25, siendo 4.40-3.55 y 4.67 respectivamente según sus reportes. Al utilizar estos valores obtenemos una diferencia de 12.32 por ciento menos para *Nannochloropsis limnetica*, 14.16 por ciento menos para *Chlorella vulgaris* y 7.86 por ciento menos para insectos en general. Para poder hacer la comparación con lo que reportaron los otros autores en cuanto a la composición de proteína en los insumos se utilizó el factor general, sin embargo, consideramos que debe ponerse mayor atención a este tema para evitar la sobreestimación de los mismos y los problemas de formulación que esto conlleva.

Tabla 8. Composición nutrimental de los insumos utilizados (g/100 gramos de muestra).

	Humedad	Cenizas	Proteína	Grasa	Carbohidratos	Fibra
Resultados obtenidos NI	12.69 ± 0.11	15.49 ± 0.01	35.82 ± 0.17	13.26 ± 0.33	5.79 ± 0.32	29.28 ± 0.71
NI (Freire <i>et al.</i> , 2016 y Reboloso-	-	9.44 ± 0.24	30.24±6.06	15.52± 0.08	-	-

Fuentes <i>et al.</i> , 2001)						
Resultados obtenidos Cv	14.38 ± 0.11	16.88 ± 0.04	36.94 ± 0.69	11.04 ± 0.34	5.94 ± 0.46	28.99 ± 1.35
Cv (Wild <i>et al.</i> , 2019 y Safafar <i>et al.</i> , 2016)	-	3.7	44.4 ± 1.3	11.4 ± 0.4	-	-
Resultados obtenidos BSFL	12.72 ± 0.45	8.74 ± 0.03	32.99 ± 0.52	23.50 ± 3.02	7.56 ± 0.34	22.36 ± 1.79
BSFL (M. De Marco <i>et al.</i> , 2015)	59-71.8	13.5 ± 0.83	37.2 ± 0.68	30.8 ± 1.19	-	-
Resultados obtenidos AC	6.08 ± 0.06	8.13 ± 0.02	36.89 ± 1.52	10.86 ± 0.23	11.92 ±0.51	29.73 ± 6.85
Etiqueta AC	12	11	44	15	15	3

NI: *Nannochloropsis limnetica*, Cv: *Chlorella vulgaris*, BSFL: larva de mosca soldado, AC: Alimento comercial (Purina)

VI.2. Formulación y desarrollo de los alimentos experimentales

En la Figura 7 se muestra el diagrama para la elaboración de los alimentos. En cuanto a los alimentos desarrollados se obtuvieron pequeños pellets de aproximadamente 2 mm de diámetro, tamaño que superaba por poco a los 1.5mm que tiene el alimento comercial. Se observó poca flotabilidad la cual puede mejorarse si la técnica de preparación incluye una extrusadora que incluya aire en los pellets.



Figura 7. Diagrama de procesamiento de los insumos (microalga y larva de mosca) para la elaboración de las dietas experimentales.

VI.3. Composición proximal y contenido calórico de los alimentos experimentales

En la Tabla 9 se muestran los resultados obtenidos de los análisis bromatológicos realizados a los alimentos desarrollados. Los valores obtenidos en cuanto a humedad, cenizas, proteína y carbohidratos en los alimentos desarrollados están dentro de lo recomendado por la FAO, 2019. Sin embargo, el contenido de grasa, fibra y calorías se encontraron por arriba de lo referenciado. En cuanto al aumento en el contenido de grasa, puede deberse al contenido de grasa en los insumos y la mezcla de larva y la microalga *Chlorella vulgaris* en los alimentos ya que el Alimento 4 (el cual contiene un 10% de mezcla de microalgas y 90% de Alimento Comercial) muestra el menor contenido y a su vez, el Alimento 1 (10% mezcla de microalgas, 50% larva y 40% alimento comercial) y el Alimento 3 (10% *Chlorella vulgaris*, 50% larva y 40% alimento comercial) muestran el mayor contenido respecto a este nutriente. El aumento en las calorías tiene relación directa con el aumento de grasa, ya que, por cada gramo de grasa en los alimentos, se obtienen aproximadamente 9

calorías a diferencia de los carbohidratos que por cada gramo se obtienen entre 3.9-4.2 calorías (Merrill y Watt, 1973) por lo que mientras más contenido de grasa tenga un alimento, más calorías tendrá. El aumento en el contenido de fibra puede deberse al alto contenido de fibra que se encontró en los insumos utilizados, sin embargo, se recomienda hacer más análisis sobre si el contenido de fibra obtenida es soluble o insoluble ya que no mostró ser un factor limitante en el crecimiento.

Tabla 9. Composición nutrimental de los alimentos desarrollados (¹g/100 gramos de muestra, ²cal/g)

	AC	A1	A2	A3	A4	A5	FAO 2019
Humedad ¹	6.08 ± 0.06 _a	9.30 ± 0.09 _b	9.57 ± 0.13 _b	10.59 ± 0.42 _c	6.58 ± 0.10 _d	8.25 ± 0.32 _e	<12
Cenizas ¹	8.13 ± 0.02 _a	10.09 ± 0.03 _b	10.17 ± 0.11 _b	9.59 ± 0.12 _c	9.01 ± 0.04 _d	9.39 ± 0.04 _e	11
Proteína ¹	36.89 ± 1.52 _a	36.39 ± 0.18 _a	34.57 ± 1.13 _a	35.25 ± 0.57 _a	36.17 ± 1.06 _a	34.09 ± 3.29 _a	35-40
Grasa ¹	10.86 ± 0.23 _a	17.26 ± 0.88 _b	15.79 ± 0.77 _b	16.99 ± 0.27 _b	12.32 ± 0.14 _a	15.44 ± 2.18 _b	10-15
Carbohidratos ¹	11.92 ±0.51 _a	8.98 ± 0.66 _b	9.12 ± 0.74 _b	8.55 ± 0.31 _c	11.06 ± 0.25 _a	9.82 ± 0.62 _d	15
Fibra ¹	29.73 ± 6.85 _a	17.99 ± 1.50 _b	20.78 ± 1.38 _c	22.23 ± 5.72 _c	24.86 ± 1.06 _d	23.01 ± 1.91 _e	<8
Calorías ²	4868.29 ± 8.92 _a	5151.50 ± 9.88 _b	5010.61 ± 12.22 _c	5125.29 ± 21.98 _d	4958.29 ± 6.84 _e	5227.42 ± 6.42 _f	3500-4300

AC: Alimento comercial, A1: alimento 1, A2: alimento 2, A3: alimento 3, A4: alimento 4, A5: alimento 5. Medias con diferentes letras son diferentes significativamente (p <0 .05).

VI.4. Sistema de recirculación para el experimento de alimentación

En la Figura 8 se muestra el sistema instalado y al inicio del experimento.



Figura 8. Sistema instalado para validación.

VI.4.1. Monitoreo de la calidad del agua en el sistema

Los resultados en la prueba de vacío muestran que la temperatura del agua en el sistema se mantuvo en $28 \pm 1^\circ\text{C}$, el pH fue de 7.9 ± 0.46 y el oxígeno disuelto fue de 8.25 ± 3.04 mg/L.

Los valores de nitratos, nitritos, fosfatos y la conductividad se mantuvieron dentro de lo recomendado en la Tabla 1. El comportamiento del amonio se muestra en la Figura 9, se sabe que los peces desechan hasta el 80% del nitrógeno que no absorbieron por medio de amonio y urea, siendo el producto final de la degradación de proteínas (Randall y Wright, 1987), por lo que el aumento que se muestra puede deberse al aumento en la cantidad de alimento que generó más desechos. Cabe mencionar que, aunque se rebasaron los límites óptimos para el cultivo (>5 mg/L), no demostró ser un impedimento para el crecimiento de los peces.

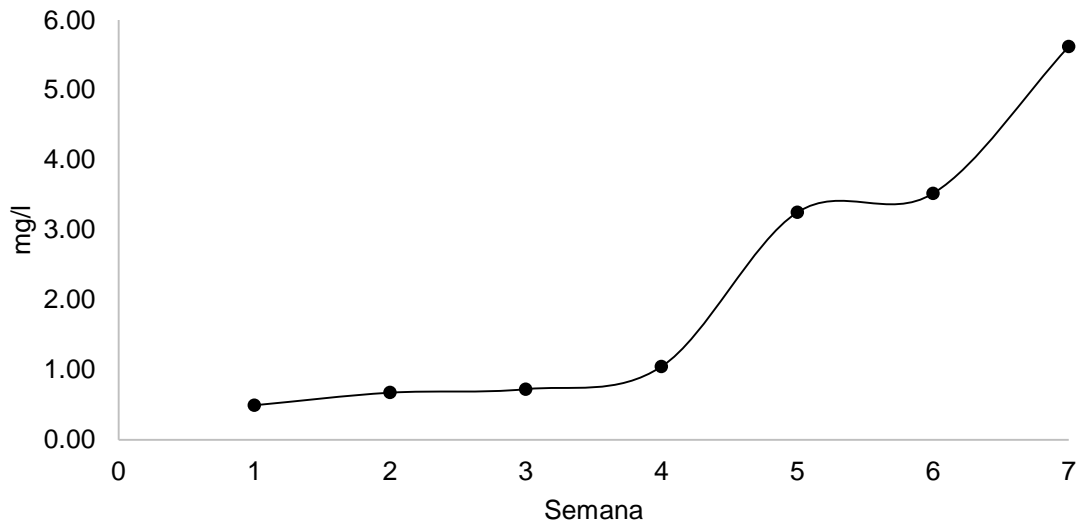


Figura 9. Comportamiento del amonio en el sistema durante 7 semanas de experimentación.

VI.5. Organismos utilizados para la prueba de alimentación

VI.5.1. Biometrías

VI.5.1.1. Longitud total

La Figura 10 muestra la longitud total (mm) de los peces en las semanas iniciales (0 y 1) y finales (7 y 8). Se observó que los peces alimentados con A3 y A4 no mostraron diferencias significativas respecto a los peces alimentados con AC, en cambio, los alimentos 1, 2 y 5 fueron significativamente menores.

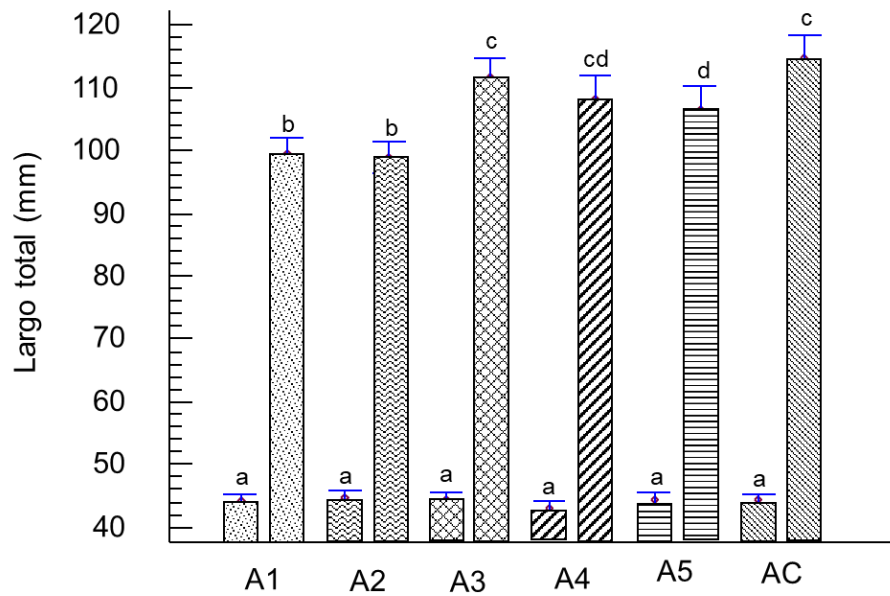


Figura 10. Longitud total (mm) de los peces al inicio y al final de la experimentación. Medias con diferente letra son diferentes significativamente ($p < 0.05$).

VI.5.1.2. Peso

En cuanto al peso (g), se muestran en la Figura 11 los resultados obtenidos en las semanas iniciales (0 y 1) y finales (7 y 8). El análisis estadístico corroboró que, al igual que en la longitud total, los peces alimentados con A3 y A4 no mostraron diferencias significativas respecto a los alimentados con AC, observándose que los Alimentos 1, 2 y 5 tienen un efecto negativo en el peso de los peces.

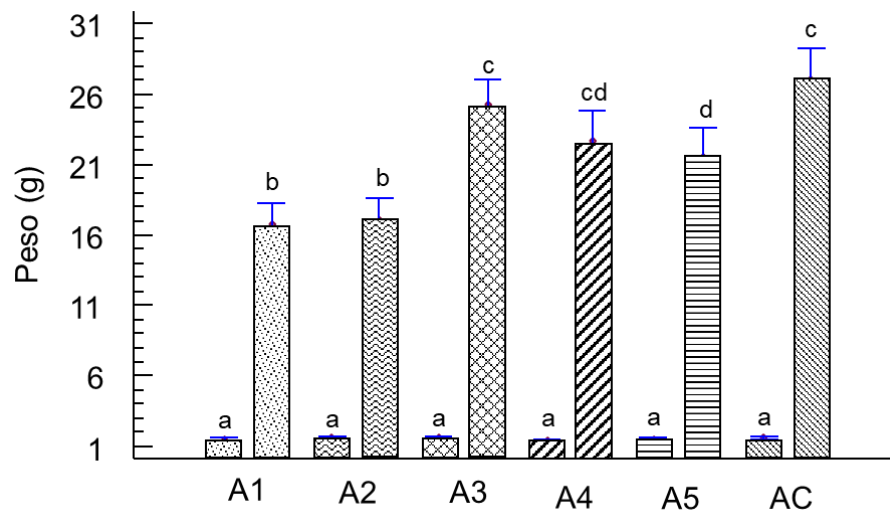


Figura 11. Peso (g) de los peces al inicio y al final de la experimentación. Medias con diferente número de asteriscos son diferentes significativamente ($p < 0.05$).

VI.5.1.3. Longitud parcial

En las Figura 12 se muestran los resultados de la longitud parcial (mm) de los peces en las semanas iniciales (0 y 1) y finales (7 y 8). Se observó que los peces alimentados con A3 y A4 no mostraron diferencias significativas respecto a los peces alimentados con AC, sin embargo, los alimentos 1, 2 y 5 fueron significativamente menores.

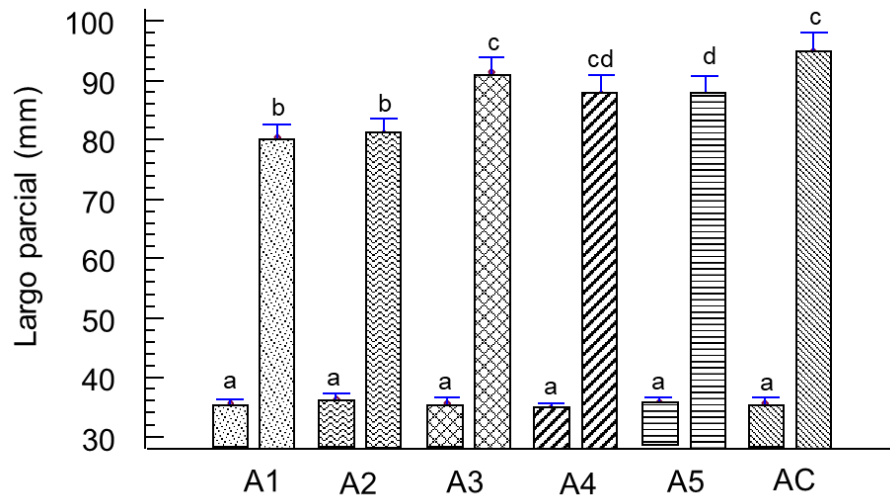


Figura 12. Longitud parcial (mm) de los peces al inicio y al final de la experimentación. Medias con diferente número de asteriscos son diferentes significativamente ($p < 0.05$).

VI.5.1.4. Base mínima

Respecto a la base mínima (mm), se muestran en la Figura 13 los resultados obtenidos en las semanas iniciales (0 y 1) y finales (7 y 8). El análisis estadístico mostró que los peces alimentados con A3 no mostraron diferencias significativas respecto a los alimentados con AC, observándose que los Alimentos 1, 2, 4 y 5 tienen un negativo ya que son significativamente menores.

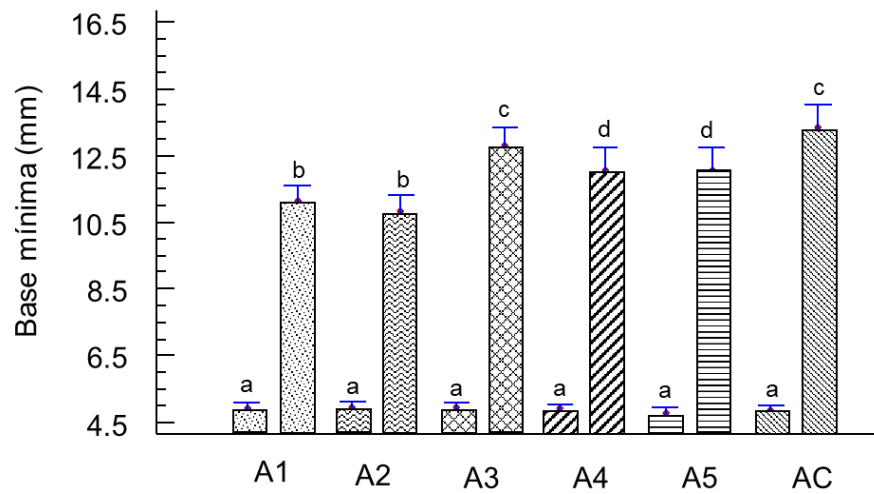


Figura 13. Base mínima (mm) de los peces al inicio y al final de la experimentación. Medias con diferente número de asteriscos son diferentes significativamente ($p < 0.05$).

VI.5.1.5. Altura

La última de las variables medida fue la altura. En las Figura 14 se muestran los resultados de la altura (mm) de los peces en las semanas iniciales (0 y 1) y finales (7 y 8). Se observó que los peces alimentados con A3 y A4 no mostraron diferencias significativas respecto a los peces alimentados con AC, demostrando que los alimentos 1, 2 y 5 tienen un efecto adverso en el crecimiento de los peces.

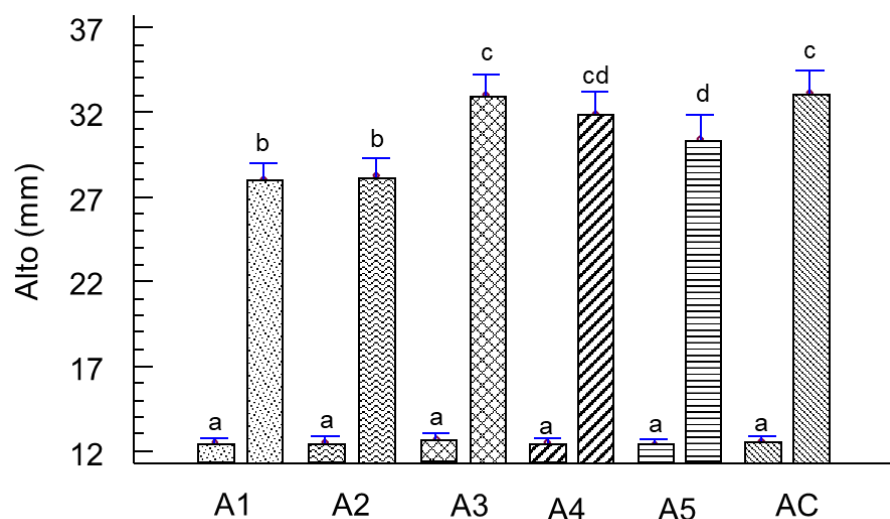


Figura 14. Altura (mm) de los peces al inicio y al final de la experimentación. Medias con diferente número de asteriscos son diferentes significativamente ($p < 0.05$).

VI.5.1.6. Crecimiento e índices nutricionales

La Tabla 11 muestra los valores concentrados de los índices calculados con los datos obtenidos.

Tabla 10. Índices de crecimiento y nutricionales calculados.

	AC	A1	A2	A3	A4	A5
Peso inicial (g)	1.56±	1.49±	1.56±	1.56	1.42± 0.5 _a	1.53±
	0.66 _a	0.62 _a	0.65 _a	±0.68 _a		0.61 _a
Peso final (g)	27.04±	16.72±	17.07±	25.23±	22.63±	21.48±
	4.83 _a	1.72 _b	2.11 _b	4.38 _a	1.86 _{ac}	2.6 _c
Ganancia de peso (g)	25.48_a	15.23 _b	15.51 _b	23.67_a	21.21_{ac}	19.95 _c
DWG (g/pez/día)	0.46	0.27	0.28	0.42	0.38	0.36
RWG (%)	1633.33	1022.15	994.23	1517.31	1493.66	1303.92
DGI (g/día)	15.17	9.07	9.23	14.09	12.63	11.88

SGR (g/día)	5.09	4.32	4.27	4.97	4.94	4.72
Longitud inicial (cm)	4.43± 0.65 _a	4.42± 0.6 _a	4.46± 0.69 _a	4.44± 0.67 _a	4.3± 0.56 _a	4.44± 0.62 _a
Longitud final (cm)	11.47± 0.57_a	9.95± 0.3 _b	9.89± 0.49 _b	11.17± 0.53_a	10.83± 0.55_a	10.67± 0.64 _b
CF (g/cm)	1.79	1.70	1.76	1.81	1.78	1.77
PER	0.75	0.41	0.43	0.68	0.60	0.55
LER	2.34	0.88	0.98	1.39	1.72	1.29
VSI	10.73± 0.36 _b	8.71± 0.62 _a	10.05± 1.82 _b	9.53± 1.25 _b	10.87± 0.41 _b	9.59± 3.06 _b
SR	72.96± 20.38 _a	76.8± 15.76 _a	87.72± 3.04 _a	73.68± 18.23 _a	78.16± 28.72 _a	84.18± 0.83 _a

AC: Alimento comercial, A1: alimento 1, A2: alimento 2, A3: alimento 3, A4: alimento 4, A5: alimento 5, DWG: ganancia diaria de peso, RWG: ganancia relativa de peso, DGI: índice de crecimiento diario, SGR: tasa específica de crecimiento, CF: factor de condición, PER: relación de eficiencia de proteínas, LER: relación de eficiencia de lípidos, VSI: índice visceral, SR: tasa de sobrevivencia. Medias con diferentes letras son diferentes significativamente ($p < 0.05$).

Los resultados de las variables e índices medidos y calculados muestran que los Alimentos 3 (10% *Chlorella vulgaris*, 50% larva de mosca soldado y 40% alimento comercial) y 4 (5% *Nannochloropsis limnetica*, 5% *Chlorella vulgaris* y 90% alimento comercial) tienen un efecto similar en los peces ($p < 0.05$) al del Alimento Comercial. Tanto en la longitud total, peso, longitud parcial como altura no se encontraron diferencias significativas, lo que sugiere que los ingredientes utilizados son aceptados por tilapia. Tampoco se encontraron diferencias significativas en cuanto a la ganancia de peso total (WG), la ganancia diaria de peso (DWG), la ganancia relativa de peso (RWG), el índice de crecimiento diario (DGI), la tasa específica de crecimiento (SGR), longitud final, relación de eficiencia de proteínas (PER) ni la relación de eficiencia de lípidos (LER) cuando se utilizaron los Alimentos 3 y 4, lo cual se atribuye a la composición y balance de los mismos. En cuanto al factor de condición (CF), que nos ayuda a cuantificar la condición del pez tomando en cuenta

su forma general, se observó que el mayor lo obtuvieron los peces alimentados con A3, seguido por AC y A4 (1.81, 1.79 y 1.78 respectivamente) lo cual indica que los peces a los cuales se les otorgaron estos alimentos tuvieron una mejor condición comparados a los que recibieron los otros.

Los resultados de crecimiento concuerdan con lo reportado en 2019 por Araújo *et al.*, donde concluyeron que una inoculación semanal de *Chlorella vulgaris* no muestra efectos negativos en el crecimiento de los peces cultivados en un sistema BioFloc. Se obtuvieron mayores índices en promedio de DWG y SGR (0.34 contra 0.42 y 4.04 contra 4.97 respectivamente), lo cual indica un mejor balance en la dieta. No se encontraron diferencias en cuanto a la sobrevivencia promedio (87.72 contra 85). También concuerdan con lo reportado en 2017 por Coelho-Barone *et al.*, donde concluyeron que la microalga *Chlorella sorokiniana* podía incluirse en la dieta de tilapia dieta sin afectar el crecimiento de los peces y con lo reportado en 2008 por Tartiel *et al.* donde concluyen que la inclusión de *Chlorella spp* y *Scenedesmus spp* al 50% en la dieta de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) mejora el desempeño de crecimiento, el factor de conversión alimenticio y el valor de proteína productiva de manera significativa ($p < 0.05$). *Chlorella vulgaris* tiene un fitonutriente llamado Factor de Crecimiento *Chlorella* (CGF), el cual es rico en sustancias asociadas a los ácidos nucleicos como péptidos, proteínas, aminoácidos vitaminas y azúcares vitales (An *et al.* 2016) y se sabe que, dependiendo del nivel de inclusión, ésta microalga puede presentar efectos positivos o negativos (arriba de 15-20%) en cuanto al crecimiento de los peces (Ahmad *et al.*, 2018). Sin embargo, aún no se tiene la certeza de la causa de esta disminución en el desempeño del crecimiento conforme aumenta la inclusión en peces. En este trabajo se corrobora que al ser incluida en pequeñas cantidades (10%) *Chlorella* puede funcionar como un insumo alternativo sin efectos negativos. Además, ésta microalga muestra efectos protectores en los peces contra metales pesados y otros compuestos dañinos (Safi *et al.*, 2014) ya que reduce el estrés oxidativo que éstos generan y aumenta la

actividad antioxidante por lo que un estudio donde se comparen ambos niveles resultaría valioso y complementario.

En cuanto a la inclusión de larva de mosca soldado, los resultados concuerdan con lo reportado por Xiao *et al.* en 2018 ya que cuando evaluaron la inclusión de la larva de mosca soldado en la dieta de bagre y concluyeron que podía introducirse hasta en un 48% sin efectos adversos en cuanto a crecimiento o inmunidad. Al comparar los índices de crecimiento: RWG, SGR, CF, PER, VSI y SR con nuestros resultados obtenidos observamos un aumento en los tres primeros: 814 contra 1517.31 para RWG, 3.41 contra 4.97 para SGR, 1.07 contra 1.81 para CF respectivamente. Mientras que se encontró 2.50 contra 0.68 para PER, 2.36 contra 9.53 para VSI y una tasa de sobrevivencia mayor a 98%. Éstas diferencias pueden deberse a la inclusión de la microalga que promovió el crecimiento, pero disminuyó la PER al ser mezclada con la larva. Se reportó además que la larva puede aumentar la inmunocompetencia de los peces gracias a la quitina que contienen ya que aumenta la respuesta innata del sistema inmune, lo que puede ser benéfico en un cultivo de tilapia para evitar enfermedades. Otro estudio que coincide con lo obtenido es el de Devic *et al.*, en 2017 donde probaron la inclusión de larva de mosca soldado en las dietas de alevines de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) y se observó que los tratamientos no mostraron diferencias significativas en cuanto al crecimiento. En 2017, Renna *et al.*, incluyeron harinas de larvas de mosca parcialmente desengrasadas en la dieta de (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) y concluyeron que podía incluirse hasta en un 40% sin afectar de manera negativa la sobrevivencia, el crecimiento, el factor de condición, índices somáticos o calidad de los parámetros físicos en filete por lo que estos resultados concuerdan de la misma manera con los obtenidos en este trabajo. Por último, en 2017 de Li *et al.*, comprobaron también que el reemplazar la harina de pescado hasta en un 50% con larva de mosca soldado desengrasada en las dietas de juveniles de (*Cyprinus carpio* var. Jian) no muestra afectaciones en cuanto a crecimiento y uso de nutrientes.

La diferencia de peso que tuvieron los Alimentos 1 y 2 pudo deberse a la inclusión de *Nannochloropsis limnetica*. En 2008, Koumi *et al.* reportaron que el balance de aminoácidos determina la calidad de las proteínas y su uso eficiente, los resultados sugieren que sustituir la proteína animal por vegetal reduce el crecimiento de la tilapia ya que la harina de pescado es la mejor fuente de proteína para tilapia y otros peces por su completo perfil de aminoácidos, alta digestibilidad y contenido de ácidos grasos benéficos (Wing-Keong Ng y Nicholas Romano, 2013). De manera similar, la diferencia del Alimento 5 pudo deberse a una menor digestibilidad en los nutrientes o palatabilidad según lo reportado por Xiao *et al.* en 2018 ya que la quitina que contienen los insectos puede inhibir la absorción en el tracto intestinal. El Alimento 1 mostró también una disminución del índice visceral (8.71 ± 0.62), a diferencia de los demás alimentos en los que no se encontraron diferencias significativas en cuanto a los índices obtenidos (9.53-10.73), lo cual pudo deberse al bajo aprovechamiento de los nutrientes por lo anteriormente mencionado. En este trabajo, se corrobora esto al observarse que sustituir el alimento comercial con microalga y larva en estas proporciones afecta de manera negativa el crecimiento de los peces.

Respecto a la sobrevivencia se encontró que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos, obteniendo una tasa de entre 72.96 y 87.72. Estos resultados indican que los alimentos no mostraron efectos negativos en cuanto a sobrevivencia y concuerdan con lo reportado en 2018 por Gbadamosi y Lupatsch donde mencionan que los lípidos de *Nannochloropsis* en la dieta juegan un rol importante en la sobrevivencia del pez. Se sugiere corroborar con el análisis de ácidos grasos y aminoácidos en los diferentes alimentos. La mortalidad pudo verse afectada debido al diseño del sistema, ya que, si alguna válvula se obstruía, evitaba el paso de agua lo cual no permitía la oxigenación adecuada del agua y esto estresaba a los peces.

VI.5.1.7. Tipo de crecimiento

En la Tabla 10, se muestran las pendientes obtenidas del análisis en las primeras semanas (0 y 1) y durante todo el tiempo de experimentación (0-8). Se observa que todos los peces utilizados al inicio de este experimento se encontraban en un estado de salud relativa menor al adecuado (2.14-2.75), sin embargo, conforme pasaron las semanas, se recuperaron. El análisis de todas las semanas de experimentación mostró que los Alimentos 1, 3 y Comercial fueron los más cercanos al crecimiento isométrico (3.02, 3.02 y 2.98 respectivamente), los que nos indica una mejor condición en los peces. Éste crecimiento en el Alimento 3 soporta los datos obtenidos en las variables, mientras que para el Alimento 1 sugiere que a pesar de crecer de manera constante tanto en peso y longitud, la composición del mismo alenta el crecimiento de los peces, logrando igualar en peso y longitud a los peces alimentados con A3 y AC en un mayor periodo de tiempo.

Tabla 11. Pendiente del Modelo Ajustado (Relación Peso-Longitud total)

Tratamiento	Pendiente semanas 0-1	Pendiente semanas 0-8
AC	2.75	2.98
A1	2.75	3.02
A2	2.64	2.96
A3	2.59	3.02
A4	2.14	2.93
A5	2.63	2.97

VI.5.2. Composición proximal de los peces

En la Tabla 12 se muestran los resultados obtenidos de los análisis bromatológicos realizados a los peces después de su sacrificio. No se encontraron diferencias significativas en cuanto al contenido de humedad o cenizas entre los alimentos

desarrollados ni con el control reportado por Devic *et al.* en 2017 donde tampoco se encontraron diferencias significativas al incluir larva de mosca soldado en la dieta de Tilapia.

En cuanto al contenido de proteína se observó un mayor contenido (casi 3%) en los peces alimentados con A3 y el A4 (14.95 ± 0.55 y 15.21 ± 2.49 respectivamente). Esto concuerda con lo reportado en 2008 por Tartiel *et al.* donde observaron que el contenido de proteína aumentaba cuando incluyeron *Chlorella spp.* y concluyeron que podía incluirse en la dieta hasta en 50% sin mostrar efectos negativos. En 2018, Xiao *et al.*, reportaron que reemplazar la harina de pescado por harina de larva de mosca soldado podía promover la acumulación de proteína en el pez, y aunque en su trabajo no hubo influencia, ésta podría ser parte de las razones por las cuales se obtuvo mayor contenido de proteína en los peces que tenían la mezcla de larva y microalga.

Se observó también una diferencia significativa entre los alimentos respecto al contenido de grasa, lo cual puede deberse a una mejor disponibilidad y almacenaje de nutrientes en los alimentos con larva de mosca soldado (Renna *et al.*, 2017). Sin embargo, al comparar con otros artículos, se encontró un menor contenido de grasa total respecto a lo reportado. Esto concuerda con lo obtenido por Xiao *et al.*, en 2018 donde reportaron un menor contenido de grasa en el pez que puede deberse al contenido de quitina que contenían las dietas con larva de mosca soldado, ya que se ha reportado que éste disminuye la digestibilidad de las proteínas (Shiau y Yu, 1999). Se requiere, sin embargo, más investigación en cuanto al efecto de la larva en la digestión del pez. El menor contenido de grasa resulta interesante para la nutrición humana ya que los peces contienen ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) necesarios en la dieta. En 2016 Sarker *et al.* reportaron el aumento en la deposición de PUFA en filete de tilapia usando la microalga *Schizochytrium sp.* que contiene ácido docosahexaenoico (DHA o ácido Omega 3). Se sugiere realizar un análisis de ácidos grasos, para corroborar si ésta disminución afectó la cantidad de PUFA en los filetes y con qué mezclas fueron.

Tabla 12. Composición nutrimental de los peces (g/100 gramos de muestra).

Peces	Humedad	Cenizas	Proteína	Grasa	Carbohidratos	Fibra
AC	76.02 ± 2.33 _a	2.88 ± 0.13 _a	12.37 ± 1.19 _a	4.67 ± 1.48 _a	0.18 ± 0.06 _a	3.87 ± 0.24 _a
A1	74.78 ± 2.24 _a	3.42 ± 0.21 _a	14.48 ± 1.74 _b	4.15 ± 0.48 _a	0.21 ± 0.10 _b	2.96 ± 0.37 _a
A2	76.44 ± 1.10 _a	3.22 ± 0.22 _a	13.37 ± 0.45 _b	3.19 ± 0.03 _b	0.04 ± 0.04 _c	4.80 ± 2.34 _b
A3	71.94 ± 0.12 _a	2.87 ± 0.69 _a	14.95 ± 0.55 _c	5.47 ± 0.40 _c	0.26 ± 0.16 _e	4.51 ± 0.48 _a
A4	73.02 ± 3.88 _a	3.37 ± 0.20 _a	15.21 ± 2.49 _c	4.87 ± 0.45 _c	0.18 ± 0.02 _a	3.37 ± 1.00 _a
A5	76.81 ± 2.65 _a	3.24 ± 0.34 _a	13.25 ± 1.08 _b	4.20 ± 0.82 _a	0.09 ± 0.02 _d	2.42 ± 1.20 _b
Devic <i>et al.</i> , 2017 (control)	71.4 ± 0.51	3.31 ± 0.17	15.36 ± 0.3	10.78 ± 0.61	-	0.08 ± 0.01
Devic <i>et al.</i> , 2017 (sustitución del 50% de harina de pescado con larva de mosca soldado)	71.8 ± 0.25	3.39 ± 0.23	15.29 ± 0.09	9.99 ± 0.44	-	0.08 ± 0.01

AC: Alimento comercial, A1: alimento 1, A2: alimento 2, A3: alimento 3, A4: alimento 4, A5: alimento 5. Medias con diferentes letras son diferentes significativamente (p <0 .05).

VI.6. Análisis Económico

Se obtuvieron los precios por kilogramos de cada insumo utilizado, así como los de los alimentos desarrollados, los cuales se muestran en la Tabla 13. Hasta el día de hoy, estos alimentos tienen aún un mayor precio (en promedio un 18.6% más)

respecto al Comercial, sin embargo, están disminuyendo gracias a las plantas piloto con las que cuenta para su producción por lo que se espera que éstos alimentos bajen su costo. Un área de oportunidad para disminuir aún más el precio es formular desde cero el alimento comercial, ya que en el precio de éste incluye costos de publicidad, transporte y vendedores. Se sugiere que, además de los análisis presentados, se realicen pruebas sensoriales para determinar el efecto de los insumos alternativos en el sabor del pez, así como un estudio para conocer la vida de anaquel que tendría el producto terminado.

Por último, entre todas éstas ventajas (económicas y nutricionales) los alimentos desarrollados con la larva y microalga como insumos son sostenibles gracias a que se disminuye la inclusión de harina de pescado (disminuyendo la caza furtiva) y harina de soya (disminuyendo riego, uso de plaguicidas/herbicidas y deforestación), lo que promueve una acuicultura más amigable con el medio ambiente.

Tabla 13. Análisis de costos.

(kg)	Precio por kg (\$)	AC	A1	A2	A3	A4	A5
N.L.	400	0	0.05	0.1	-	0.05	-
C.V.	150	0	0.05	-	0.1	0.05	-
BSFL	30	0	0.5	0.5	0.5		0.5
AC	34.92	1	0.4	0.4	0.4	0.9	0.5
Costo (\$/KG)	-	34.92	56.47	68.97	43.97	58.93	32.46
Por 25 kg	-	873.00	1411.70	1724.20	1099.20	1473.20	811.50

N.L.: *Nannochloropsis limnetica*, C.V.: *Chlorella vulgaris*, BSFL: larva de mosca soldado, AC: Alimento comercial, A1: alimento 1, A2: alimento 2, A3: alimento 3, A4: alimento 4, A5: alimento

VII. Conclusión

Se desarrolló un alimento balanceado para tilapia con una proporción de: 50g/100g de larva de mosca soldado (*Hermetia illucens*), 10g/100g de microalga (*Chlorella vulgaris*) y 40g/100g de alimento comercial, el cual no mostró diferencias significativas en cuanto a crecimiento e índices nutricionales cuando se comparó con el comercial. Además de que los peces alimentados con el Alimento 3 mostraron tener un mayor contenido de proteína y menor cantidad de grasa. Se requieren más estudios en cuanto a la composición de ácidos grasos y aminoácidos para comparar si los insumos utilizados tienen el potencial de mejorar la calidad nutricional de los mismos y asegurarnos de no perder cantidades importantes de ácidos mono- y poliinsaturados. Estos análisis darían un panorama más grande en cuanto a la asimilación de las proteínas y grasas provenientes de los insumos y con esto, se podría mejorar el balance de los alimentos acuícolas. Finalmente, para que el alimento sea competitivo en cuanto a precios, se reducir los costos de producción de los insumos utilizados. Este trabajo fue un primer acercamiento usando ambos insumos donde se logró obtener un alimento con igual rendimiento que el comercial que es además sustentable.

VIII. Referencias Bibliográficas

Ahmad Muhammad Talba, Shariff Mohamed, Yusoff Fatimah Md., Goh Yong Meng y Banerjee Sanjoy. 2018. Applications of microalga *Chlorella vulgaris* in aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 1–19.

Amador del Ángel L.E., Guevara Carrió E. del C., Brito Pérez R. y Endañú Huerta E. 2014. Aspectos biológicos e impacto socio-económico de los plecos del género *Pterygoplichthys* y dos ciclidos no nativos en el sistema fluvio lagunar deltaico Río Palizada, en el Área Natural Protegida Laguna de Términos, Campeche. Universidad Autónoma del Carmen. Centro de Investigación de Ciencias Ambientales. Facultad de Ciencias Naturales. Informe final SNIB-CONABIO Ficha técnica tilapia *Oreochromis niloticus*, proyecto No. GN004 México D. F.

An BK, Kim KE, Jeon JY, Lee KW. 2016. Effect of dried *Chlorella vulgaris* and *Chlorella* growth factor on growth performance, meat qualities and humoral immune responses in broiler chickens. *SpringerPlus* 5: 718.

Araújo Trajano de Marcele, Mascena-Braga Ítalo Felipe, Vega-Cisneros Santiago, Bezerra-Cabral da Silva Suzianny Maria, Olivera-Galvez Alfredo y De Souza-Correia Eudes. 2019. The intensive culture of Nile tilapia supplemented with the microalgae *Chlorella vulgaris* in a biofloc system. *Bol. Inst. Pesca*, 45(2).

Barragan-Fonseca K.B., Dicke M. y Van Loon J.J.A. 2017. Nutritional value of the black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) and its suitability as animal feed – a review. *Journal of Insects as Food and Feed*, 3(2): 105-120.

Barrows, F.T., Bellis, D., Krogdahl, A., Silverstein, J.T., Herman, E.M., Sealey, W.M., Rust, M.B., Gatlin III, D.M. 2008. Report of plant products in aquafeeds strategic planning workshop: an integrated interdisciplinary roadmap for increasing utilization of plant feedstuffs in diets for carnivorous fish. *Rev. Fish. Sci.* 16, 449e455.

Becker E.W. Research review paper: Micro-algae as a source of protein. 2007. *Biotechnology Advances* 25, 207–210.

Belghit Ikram, Liland Nina S, Waagbø Rune, Biancarosa Irene, Pelusio Nicole, Li Yanxian, Krogdahl Åshild, Lock Erik-Jan. 2018. Potential of insect-based diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 491, 72–81.

Bondari K. y **Sheppard D.C.** 1981. Soldier fly larvae as feed in commercial fish production. *Aquaculture*, 24, 103-109.

Borgogno Monica, Dinnella Caterina, Iaconisi Valeria, Fusi Renzo, Scarpaleggia Claudia, Schiavone Achille, Monteleone Erminio, Gasco Laura y Parisi Giuliana.

2017. Inclusion of *Hermetia illucens* larvae meal on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) feed: effect on sensory profile according to static and dynamic evaluations. *J Sci Food Agric*; 97: 3402–3411.

Brown Malcolm R. 2002. Nutritional value of microalgae for aquaculture. *Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición*. En: Cruz-Suárez LE, Ricque-Marie D, Tapia-Salazar M, Gaxiola-Cortés MG, Simoes N (eds). 3 al 6 de septiembre. Cancún, Quintana Roo, México.

Bruni Leonardo, Pastorelli Roberta, Viti Carlo, Gasco Laura y Parisi Giuliana. 2018. Characterisation of the intestinal microbial communities of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed with *Hermetia illucens* (black soldier fly) partially defatted larva meal as partial dietary protein source. *Aquaculture* 487, 56–63.

Bußler Sara, A. Rumpold Birgit, Jander Elisabeth, M. Rawel Harshadrai, K. Schlüter Oliver. 2016. Recovery and techno-functionality of flours and proteins from two edible insect species: Mealworm (*Tenebrio molitor*) and black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae. *Heliyon* 2, e00218.

Castro C. Emilio y Ávila M. Laura. 2017. Control de Calidad de Insumos y Dietas Acuícolas: Determinación de la digestibilidad de la Proteína Por Métodos *In Vitro* (Torry y AOAC). Depósito de Documentos de la FAO. <http://www.fao.org/docrep/field/003/ab482s/AB482S07.htm>

Coelho-Barone Rafael Simões, Yokoyama-Sonoda Daniel, Kleber-Lorenz Evandro, Possebon-Cyrino José Eurico. 2017. Digestibility and pricing of *Chlorella sorokiniana* meal for use in tilapia feeds. *Scientia Agricola* v.75, n.3, p.184-190.

CONAPESCA (Comisión Nacional de Pesca y Acuicultura). 2010. Plan maestro en el estado de Sinaloa. Instituto Sinaloense de Acuicultura 14p.

Devic E., Leschen W., Murray F. y Little D.C. 2017. Growth performance, feed utilization and body composition of advanced nursing Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed diets containing Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) larvae meal. *Aquaculture Nutrition*;1–8.

Diclaro II, Joseph W. y Phillip E. Kaufman. 2009. "Black Soldier Fly - *Hermetia Illucens*." *Black Soldier Fly - Hermetia Illucens*. University of Florida.

Dortmans B.M.A., Diener S., Verstappen B.M., Zurbrügg C. 2017. *Black Soldier Fly Biowaste Processing - A Step-by-Step Guide* Eawag: Swiss Federal Institute of Aquatic Science and Technology, Dübendorf, Switzerland.

El-Sayed, Abdel-Fattah M. 2006. Tilapia culture. ISBN-13: 978-0-85199-014-9 (alk. paper)

Fábregas Jaime, Maseda Ana, Domínguez Adolfo y Otero Ana 2004. The cell composition of *Nannochloropsis sp.* changes under different irradiances in semicontinuous culture. World Journal of Microbiology & Biotechnology 20: 31–35.

FAO. 2012. The State of World Fisheries and Aquaculture 2012. Rome.

FAO Forestry Paper. 2013. Edible insects: Future prospects for food and feed security (201 pages). <http://www.fao.org/docrep/018/i3253e/i3253e.pdf>

FAO report. 2014. The state of world fisheries and aquaculture (244 pages). <http://www.fao.org/3/a-i3720e.pdf>

FAO report. 2016. The state of world fisheries and aquaculture (204 pages). <http://www.fao.org/3/a-i5555e.pdf>

FAO report. 2018. The state of world fisheries and aquaculture (227 pages). <http://www.fao.org/3/I9540EN/i9540en.pdf>

FAO. 2019. Aquaculture Feed and Fertilizer Resources Information System: Nile tilapia - *Oreochromis niloticus*. <http://www.fao.org/fishery/affris/species-profiles/nile-tilapia/nile-tilapia-home/en/>

FAO Stat. 2017.

FAO: Departamento de Pesca y Acuicultura. 2005. Cultured Aquatic Species Information Programme *Oreochromis niloticus*.

Fox Joe M. y Zimba Paul V. 2018. Minerals and Trace Elements in Microalgae. Microalgae in Health and Disease Prevention, 177-193.

Francis G, Makkar HPS, Becker K. 2001. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. A review. Aquaculture 199: 197–227.

Freire Isabel, Cortina Angela, Grille Paula, Arizcun Marta, Martínez Emilia, Abellán Segura Maria, Witt Federico, Otero Ana. 2016. *Nannochloropsis limnetica*: a freshwater microalga for marine aquaculture, Aquaculture, doi: 10.1016/j.aquaculture.2016.03.015

Gbadamosi Oluyemi K. y Lupatsch Ingrid. 2018. Effects of dietary *Nannochloropsis salina* on the nutritional performance and fatty acid profile of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Algal Research* 33, 48–54.

GSI (Global Salmon Initiative). 2017. Sustainability report [online]. <http://globalsalmoninitiative.org/sustainability-report>

Gouveia, L. y Oliveira, A.C. 2009. Microalgae as a raw material for biofuels production. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 36, 269–274.

Guiscafre-Rodea Francisco Javier. 2018. Dieta enriquecida con *Nannochloropsis limnetica* para juveniles de tilapia (*Oreochromis niloticus*). Tesis por publicar.

Harbott, B.J. 1975. Preliminary observations on the feeding of *Tilapia nilotica* Linn. in Lake Rudolf. *African Journal of Tropical Hydrobiology and Fisheries* 4, 27–37.

Harbott, B.J. 1982. Studies on the feeding activity of *Sarotherodon niloticus* (L.) in Lake Turkana. In: *A Report on the Findings of the Lake Turkana Project, 1972–1975*, Vol. 5. Government of Kenya and the Ministry of Overseas Development, London, pp. 1357–1368.

Harinder P.S. Makkar, Gilles Tran, Valérie Heuzé, Philippe Ankers. 2014. State-of-the-art on use of insects as animal feed. *Animal Feed Science and Technology*: 197; 1–33.

Hemaiswarya S., R. Raja, R. Ravi Kumar, V. Ganesan, C. Anbazhagan. 2011. Microalgae: a sustainable feed source for aquaculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*: 27; 1737–1746.

Henry M., L. Gasco, G. Piccolo, E. Fountoulaki. 2015. Review on the use of insects in the diet of farmed fish: Past and future. *Animal Feed Science and Technology*.

Hepher, B. 1988. *Nutrition of Pond Fishes*. Cambridge University Press. New York.

Hibbard J. 1981. Notes on the taxonomy and nomenclature of the algal classes Eustigmatophyceae and Tribophyceae (synonym, Xanthophyceae), *Bot. J. Linn. Soc.* 82, 93–119.

Hien Thi Dieu Bui, Sanaz Khosravi, Vincent Fournier, Mikaël Herault, Kyeong-Jun Lee. 2014. Growth performance, feed utilization, innate immunity, digestibility and disease resistance of juvenile red sea bream (*Pagrus major*) fed diets supplemented with protein hydrolysates. *Aquaculture* 418–419: 11–16.

Hu Hanhua y Gao Kunshan. 2006. Response of growth and fatty acid compositions of *Nannochloropsis* sp. to environmental factors under elevated CO₂ concentration. *Biotechnol Lett*, 28:987–992.

Jonas-Levi Adi e Itzhak Martinez Jean-Jacques. 2017. The high level of protein content reported in insects for food and feed is overestimated. *Journal of Food Composition and Analysis* 62; 184–188.

Jones Breese. 1931. Factors for converting percentages of nitrogen in foods and feeds into percentages of proteins. United States Department of Agriculture, Washington D.C.

Kagana Michael L. y Matulkab Ray A. 2015. Safety assessment of the microalgae *Nannochloropsis oculata*. *Toxicology Reports* 2: 617–623.

Katya Kumar, Borsra M. Z. S., Ganesan Dev., Kuppusamy Giva, Herriman Max., Salter Andrew, Azam Ali Sayed. 2017. Efficacy of insect larval meal to replace fish meal in juvenile barramundi, *Lates calcarifer* reared in freshwater. *Int Aquat Res*, 9:303–312.

Khallaf, E.A., y A.A. Alne-na-ei. 1987. Feeding ecology of *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) & *Tilapia zillii* (Gervais) in a Nile Canal. *Hydrobiologia* 146:57-62.

Kitaya, Y., Xiao, L., Masuda, A., Ozawa, T., Tsuda, M., Omasa, K. 2008. Effects of temperature, photosynthetic photon flux density, photoperiod and O₂ and CO₂ concentrations on growth rates of the symbiotic dinoflagellate, *Amphidinium* sp. *J. Appl. Phycol.* 20, 737–742.

Koumi A.R., Atsé B.C., Otchoumou K.A. y Kouamé P. 2008. Effects of partial and complete replacement of fish meal protein with a soy protein on growth performance of blackchinned tilapia, *Sarotherodon melanotheron* (Rüppell, 1852) in tank culture, *Biotechnology* 20; 34–45.

Kroeckel S., A.-G.E. Harjes, I. Roth, H. Katz, S. Wuertz, A. Susenbeth, C. Schulz. 2012. When a turbot catches a fly: Evaluation of a pre-pupae meal of the Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) as fish meal substitute — Growth performance and chitin degradation in juvenile turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture*: 364–365; 45–352.

Kubiriza G.K., Akol A.M., Arnason J., Sigurgeirsson Ó., Snorrason S., Tómasson T., Thorarensen H. 2016. Practical feeds for juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) prepared by replacing *Rastrineobola argentea* fishmeal with freshwater shrimp (*Caridina nilotica*) and mung bean (*Vigna radiata*) meals. *Aquaculture Nutrition*; 1–8.

Li F.J., Lin X., Lin S.M., Chen W.Y., Guan Y. 2015. Effects of dietary fish oil substitution with linseed oil on growth, muscle fatty acid and metabolism of tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture Nutrition*.

Li Senlin, Hong Ji, Binxin Zhang, Jingjing Tian, Jishu Zhou y Haibo Yu 2016. Influence of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae oil on growth performance, body composition, tissue fatty acid composition and lipid deposition in juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio var. Jian*). *Aquaculture* 465: 43–52.

Li Senlin, Hong J., Binxin Z., Jishu Z., Haibo Y. 2017. Defatted black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal in diets for juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio var. Jian*): Growth performance, antioxidant enzyme activities, digestive enzyme activities, intestine and hepatopancreas histological structure. *Aquaculture* 477; 62–70.

Liland NS, Biancarosa I, Araujo P, Biemans D, Bruckner CG y Waagbø R. 2017. Modulation of nutrient composition of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae by feeding seaweed- enriched media. *PLoS ONE* 12(8): e0183188.

Lock E.R., Arsiwalla T., Waagbø. 2016. Insect larvae meal as an alternative source of nutrients in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) postsmolt. *Aquaculture Nutrition*: 22; 1202–1213.

M. De Marco M., Martínez S., Hernandez F., Madrid J., Gai F., Rotolo L., Belforti M., Bergero D., Katz H., Dabbou S., Kovitvadhi A., Zoccarato I., Gasco L., Schiavone A. 2015. Nutritional value of two insect larval meals (*Tenebrio molitor* and *Hermetia illucens*) for broiler chickens: Apparent nutrient digestibility, apparent ileal amino acid digestibility and apparent metabolizable energy. *Animal Feed Science and Technology*: 209; 211–218.

Kent M., H.M. Welladsen, A. Mangott, Y. Li. 2015. Nutritional evaluation of Australian microalgae as potential human health supplements. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0118985>.

Mallya Yovita John. 2007. The effects of dissolved oxygen on fish growth in aquaculture. Final Project. The United Nations University. <http://www.unuftp.is/static/fellows/document/yovita07prf.pdf>

Mariotti François, Tomé Daniel y Patureau-Mirand Philippe. 2008. Converting Nitrogen into Protein—Beyond 6.25 and Jones' Factors. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48:177–184.

Martins D.A., Custódio L., Barreira L., Pereira H., Ben-Hamadou R., Varela J., Abu-Salah K.M. 2013. Alternative sources of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in marine microalgae, *Mar. Drugs* 11, 2259–2281.

Mateo, D., Aguilar, R., Campos, W., Katalbas, M.S.F., Sanares, R., Edra, R., Chevassus, B., Lazard, J., Morisens, P., Baroiller, J.F., and Rogñon, X. 2004. Salinity tolerance of *Oreochromis niloticus* and *O. mossambicus* F1 hybrids and their successive backcross. En R. B. Bolivar, G. C. Mair, and K. Fitzsimmons (Eds.) "New dimensions on farmed tilapia", Proceedings of the 6th International Symposium on Tilapia in Aquaculture 12–16 September 2004, ISTA Publications. Pp. 426-438. <http://ag.arizona.edu/oiap/ista6/ista6web/pdf/426.pdf>

Merrill L. Annabel y Watt K. Bernice. 1973. Energy Value of Foods... basis and derivation. Human Nutrition Research Branch-Agricultural Research Service. Agriculture Handbook No.74, 2-3 pages.105 pp.

National Research Council. 1993. Nutrient Requirements of Fish, ISBN: 0-309-59629-7, 124 pages.

Negróni Gianluigi. 2013. Tilapia Farming Guide. 45 pp.

Newton Larry, Sheppard Craig, Watson D. Wes, Burtle Gary, Dove Robert. 2005. Using the Black Soldier Fly, *Hermetia Illucens*, as a value-added tool for the management of swine manure.

Newton Larry, Sheppard Craig, Watson D. Wes, Burtle Gary, Dove Robert, J.K. Tomberlin, and E.E. Thelen. 2004. "The Black Soldier Fly, *Hermetia Illucens*, As a Manure Management/Resource Recovery Tool." 1-5. Abstract. (n.d.): n. pag. Print.

Noakes, D.G.L. and E.K. Balon. 1982. Life histories of tilapias: an evolutionary perspective. p. 61-82. In R.S.V. Pullin and R.H. Lowe-McConnell (eds.) The biology and culture of tilapias. ICLARM Conf. Proc. 7.

Ogunji, J.O., Kloas, W., Wirth, M., Neumann, N. & Pietsch, C. 2008. Effect of housefly maggot meal (maggot meal) diets on the performance, concentration of plasma glucose, cortisol and blood characteristics of *Oreochromis niloticus* fingerlings. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*: 92; 511–518.

OIE Organización Mundial de la Salud Animal. 2011. Código Sanitario para los Animales Acuáticos, Capítulo 7.3. Aspectos relativos al bienestar en el aturdimiento y la matanza de peces de cultivo para consumo humano. Obtenido de: http://www.arriah.ru/sites/default/files/private/books/en_sommaire/esp/fcode/es_ch_apitre_1.7.3.htm

Oviedo P. Misael, Brú C. Samir, Atencio G. Víctor, Pardo C Sandra. 2013. Potencialidad de la región costera de Córdoba –Colombia para el cultivo de tilapia nilótica. Rev.MVZ Córdoba 18(3):3781-3789.

Paes Caroline R.P.S., Faria Gabrielle R., Tinoco Natália A.B., Castro Dominique J.F.A., Barbarino Elisabete y Lourenço Sergio O. 2016. Growth, nutrient uptake and chemical composition of *Chlorella sp.* and *Nannochloropsis oculata* under nitrogen starvation. Lat. Am. J. Aquat. Res., 44(2): 275-292.

Park, Haeree H., "Black Soldier Fly Larvae Manual". 2015. *Student Showcase*. Paper 14. http://scholarworks.umass.edu/sustainableumass_studentshowcase/14

Parmar, A., Singh, N.K., Pandey, A., Gnansounou, E., Madamwar, D. 2011. Cyanobacteria and microalgae: a positive prospect for biofuels. Bioresour. Technol. 102, 10163–10172.

Peña-Herrejón Guillermo A., Sanchez-Velazquez Julieta; Cruz-Hernández Andrez, Aguirre-Becerra Humberto; García-Trejo Fernando. 2017. Breeding system for *Astyanax mexicanus*. IEEE: 978-1-5386-1694-9.

Pillay, T.V.R. 1990. Aquaculture Principles and Practices. Fishing News Books, Blackwell Science, Oxford, UK, 575 pp.

Rakocy, J. E. 2005. Cultured Aquatic Species Information Program *Oreochromis niloticus*. Programa de información de especies acuáticas. In: Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO. http://www.fao.org/fishery/culturedspecies/Oreochromis_niloticus/es

Rana, K.J., Siriwardena, S., Hasan, M.R. 2009. Impact of rising feed ingredient prices on aquafeeds and aquaculture production. In: FAO (Ed.), Fisheries and Aquaculture Technical Paper. Food, Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy, pp. 63.

Randall David J. y Wright Patricia A. 1987. Ammonia distribution and excretion in fish. Fish Physiology and Biochemistry vol. 3 no. 3 pp 107-120.

Reboloso-Fuentes M. M., Navarro-Pérez A., García-Camacho F., Ramos-Miras J. J. y Guil-Guerrero J. L. 2001. Biomass Nutrient Profiles of the Microalga *Nannochloropsis*. J. Agric. Food Chem. 2001, 49, 2966-2972.

Renna M., Schiavone A., Gai F., Dabbou S., Lussiana C., Malfatto V., Prearo M., Capucchio M. T., Biasato I., Biasibetti E., De Marco M., Brugiapaglia A., Zoccarato I. y Gasco L. 2017. Evaluation of the suitability of a partially defatted black soldier fly

(*Hermetia illucens* L.) larvae meal as ingredient for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) diets. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 8:57.

Riedel, R., Caskey, L.M., Hurlbert, S.H. 2007. Length-weight relations and growth rates of dominant fishes of the Salton Sea: implications for predation by fish-eating birds. *Lake and Reservoir Management*. 23:528-535.

Rocha Jorge M.S., García Juan E.C., Henriques Marta H.F. 2003. Growth aspects of the marine microalga *Nannochloropsis gaditana*. *Biomolecular Engineering*: 20; 237- 242.

Rumpold B.A. y Schlüter, O.K. 2013. Potential and challenges of insects as an innovative source for food and feed production. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 17, 1–11.

Saavedra-Martínez, María Auxiliadora. 2006. Manejo del cultivo de tilapia. Managua, Nicaragua.

Safafar Hamed, Nørregaard Patrick Uldall, Ljubic Anita, Møller Per, Holdt Susan Løvstad y Jacobsen Charlotte. 2016. Enhancement of Protein and Pigment Content in Two *Chlorella* Species Cultivated on Industrial Process Water. *Journal of Marine and Science Engineering*, 4, 84.

Safi Carl, Zebiba Bachar, Meraha Othmane, Pontalier Pierre-Yves y Vaca-Garcia Carlos. 2014. Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 35, 265-278.

SAGARPA. 2006. Manual de Producción de Tilapia con Especificaciones de Calidad e Inocuidad.

Sánchez-Muros María-José, G. Barroso Fernando, Manzano-Agugliaro Francisco. 2014. Insect meal as renewable source of food for animal feeding: a review. *Journal of Cleaner Production*: 65; 16-27.

Sarker P.K., Gamble M.M., Kelson S. y Kapuscinski A.R. 2015. Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) show high digestibility of lipid and fatty acids from marine *Schizochytrium* sp. and of protein and essential aminoacids from freshwater *Spirulina* sp. feed ingredients. *Aquaculture Nutrition*.

Sarker PK, Kapuscinski AR, Lanois AJ, Livesey ED, Bernhard KP, Coley ML. 2016. Towards Sustainable Aquafeeds: Complete Substitution of Fish Oil with Marine Microalga *Schizochytrium* sp. Improves Growth and Fatty Acid Deposition in

Juvenile Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). PLoS ONE 11(6): e0156684. doi: 10.1371/journal.pone.0156684.

Sealey Wendy M., T. Gibson Gaylord, Frederic T. Barrows, Jeffery K. Tomberlin, Mark A. McGuire, Carolyn Ross and Sophie St-Hilaire. 2011. Sensory Analysis of Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*, Fed Enriched Black Soldier Fly Prepupae, *Hermetia illucens*. Journal of the World Aquaculture Society Vol. 42, No. 1.

Shiau, S. Y., y Yu, Y. P. 1999. Dietary supplementation of chitin and chitosan depresses growth in tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. Aquaculture, 179, 439–446.

Sinha AK, Kumar V, Makkar HPS, Boeck GD, Becker K. 2011. Non-starch polysaccharides and their role in fish nutrition – a review. Food Chemistry 127: 1409–1426.

Spolaore Pauline, Claire Joannis-Cassan, Elie Duran y Arsène Isambert. 2006. Commercial Applications of Microalgae. Journal of Bioscience and Bioengineering: 101; 87–96, No. 2.

Sprangers Thomas, Ottoboni Matteo, Klootwijk Cindy, Ovyne Anneke, Deboosere Stefaan, De Meulenaer Bruno, Michiels Joris, Eeckhout Mia, De Clercq Patrick y De Smet Stefaan. 2017. Nutritional composition of black soldier fly (*Hermetia illucens*) prepupae reared on different organic waste substrates. Journal of the Science of Food and Agriculture; 97: 2594–2600.

St-Hilaire Sophie, Cranfill, K., Mark A. McGuire, Erin E. Mosley, Jeffery K. Tomberlin, Newton, L., Wendy Sealey, Craig Sheppard y Stephen Irving. 2007a. Fish offal recycling by the black soldier fly produces a food stuff high in omega-3 fatty acids. Journal of the World Aquaculture Society 38: 309-313.

St-Hilaire Sophie, Craig Sheppard, Jeffery K. Tomberlin, Stephen Irving, Larry Newton, Mark A. McGuire, Erin E. Mosley, Ronald W. Hardy y Wendy Sealey. 2007b. Fly Prepupae as a Feedstuff for Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. Journal of the World Aquaculture Society: 38, No. 1.

Sudeshna Sen Roy y Ruma Pal. 2014. Microalgae in Aquaculture: A Review with Special References to Nutritional Value and Fish Dietetics. The Zoological Society.

Sukenik A., Carmeli Y., Berner T. 1989. Regulation of fatty acid composition by irradiance level in the eustigmatophyte *Nannochloropsis* sp. Journal of Phycology: 25; 686–692.

Tacon AGJ, Hasan MR, Metian M. 2011. Demand and Supply of Feed Ingredients for Farmed Fish and Crustaceans: Trends and Prospects (Food and Agriculture Organization, Rome).

Tacon AGJ, Metian M. 2008. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: Trends and future prospects. *Aquaculture* 285(1–4):146–58.

Takeuchi T, Satoh S, Watanabe T. 1983. Requirement of *Tilapia nilotica* for essential fatty acids. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 49: 1127–1134.

Tartiel M. Badwy, E. M. Ibrahim y M. M. Zeinhom. 2008. Partial replacement of fish meal with dried microalga (*Chlorella* spp and *Scenedesmus* spp) in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) diets. International Symposium on Tilapia in Aquaculture.

Templeton David W., Laurens Lieve M.L. 2015. Nitrogen-to-protein conversion factors revisited for applications of microalgal biomass conversion to food, feed and fuel. *Algal Research* 11, 359–367.

Tomberlin Jeffery Keith. 1993. Biological, behavioral, and toxicological studies on the black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae)

Troell, M., Naylor, R., Metian, M., Beveridge, M., Tyedmers, P., Folke, C., Österblom, H., de Zeeuw, A., Scheffer, M., Nyborg, K., Barrett, S., Crépin, A.-S., Ehrlich, P., Lewin, S., Xepapadeas, T., Polasky, S., Arrow, K., Gren, Å., Kautsky, N., Mäler, K.-G., Taylor, S. & Walker, B. 2014. Does aquaculture add resilience to the global food system? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111: 13257–13263.

Trewavas, E. 1983. Tilapiine fishes of the Genera *Sarotherodon*, *Oreochromis* and *Danakilia*. *British Mus. Nat. Hist., London, UK.* 583 p.

Tschirner M. y Simon A. 2015. Influence of different growing substrates and processing on the nutrient composition of black soldier fly larvae destined for animal feed. *Journal of Insects as Food and Feed*; 1(4): 249-259.

Van der Spiegel, M., Noordam, M.Y. & Van der Fels-Klerx, H.J. 2013. Safety of novel protein sources (insects, microalgae, seaweed, duckweed, and rapeseed) and legislative aspects for their application in food and feed production. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 12, 662–678.

Van Huis, A. 2013. Potential of insects as food and feed in assuring food security. *Annu. Rev. Entomol.*, 58, 563–583.

Wang L., Li J., Jin J.N., Zhu F., Roffeis M., Zhang X.Z. 2017. A comprehensive evaluation of replacing fishmeal with housefly (*Musca domestica*) maggot meal in the diet of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): growth performance, flesh quality, innate immunity and water environment. *Aquaculture Nutrition* 1–11.

Wild Katharina Judith, Trautmann Andreas, Katzenmeyer Mirco, Steingaß Herbert, Posten Clemens y Rodehutsord Markus. 2019. Chemical composition and nutritional characteristics for ruminants of the microalgae *Chlorella vulgaris* obtained using different cultivation conditions. *Algal Research* 38,101385.

Wilson, R.P. 2002. Protein and amino acids. In: Halver, J.E., Hardy, R.W. (Eds.), *Fish Nutrition*. Elsevier Science, San Diego, USA, pp. 144–179.

Wing-Keong Ng y Nicholas Romano. 2013. A review of the nutrition and feeding management of farmed tilapia throughout the culture cycle. *Reviews in Aquaculture* 4, 1–35.

Xiao Xiaopeng, Jin Peng, Zheng Longyu, Cai Minmin, Yu Ziniu, Yu Jeffrey y Zhang Jibin. 2018. Effects of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal protein as a fishmeal replacement on the growth and immune index of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). *Aquaculture Research*; 49:1569–1577.

Zheng Keke, Mengqing Liang, Hongbo Yao, Jialin Wang y Qing Chang. 2012. Effect of size-fractionated fish protein hydrolysate on growth and feed utilization of turbot (*Scophthalmus maximus L.*) *Aquaculture Research*, 1–8.

Zheng, L., Hou, Y., Li, W., Yang, S., Li, Q. and Yu, Z. 2012. Biodiesel production from rice straw and restaurant waste employing black soldier fly assisted by microbes. *Energy* 47: 225-229.

Zittelli G. Chini, F. Lavista, A. Bastianini, L. Rodolfi, M. Vincenzini, M.R. Tredici. 1999. Production of eicosapentaenoic acid by *Nannochloropsis sp.* cultures in outdoor tubular photobioreactors. *Journal of Biotechnology*; 70: 299–312.