

Digestibilidad aparente de los ensilajes de residuos pesqueros en tilapias rojas (*Oreochromis mossambicus* x *O. niloticus*)

José E. Llanes^{1*}, Aliro Bórquez², José Toledo¹ y José M. Lazo de la Vega¹

¹Centro de Preparación Acuícola Mampostón. Carretera Central Km. 41, San José de las Lajas, La Habana. Cuba.

*Correo electrónico: jellanes@telemar.cu.

²Universidad Católica de Temuco, Escuela Acuicultura, Campus Norte, Rudecindo Ortega 02950, Temuco. Chile.

RESUMEN

Mediante un diseño completamente aleatorizado con tres repeticiones, se determinó la digestibilidad *in vivo* de nutrientes y energía de los ensilajes de residuos pesqueros en tilapias rojas (*Oreochromis mossambicus* x *O. niloticus*). El ensilaje químico se preparó con ácido sulfúrico 98% (20 ml/kg) y ácido fórmico (10 ml/kg) y el ensilaje biológico con miel de caña (150 g/kg) y yogurt (*Lactobacillus bulgaris* y *Streptococcus acidophilus*; 30 g/kg). Se usó óxido crómico como indicador y las heces se recolectaron por un sifón desde el fondo de los tanques. Se obtuvo que la digestibilidad aparente de algunos nutrientes difirió en función del tipo de ensilaje, entre tanto la proteína digestible fue mayor para el ensilaje químico y la materia seca, calcio y fósforo para el ensilaje biológico. Digestibilidades iguales ($P>0,05$) se presentó para los lípidos, cenizas y energía. Concluyendo que los ensilajes de residuos pesqueros presentan alto valor nutricional, lo que constituyen una fuente de proteína alternativa en la formulación de raciones para tilapias rojas.

Palabras clave: digestibilidad, ensilaje, residuos pesqueros, tilapia.

Apparent digestibility of fishing waste silage in red tilapia (*Oreochromis mossambicus* x *O. niloticus*)

ABSTRACT

By means of a design completely randomized with three repetitions, *in vivo* digestibility of nutrients and energy in fishing waste silages were determined for red tilapia (*Oreochromis mossambicus* x *O. niloticus*). Chemical silage prepared with sulphuric acid 98 % (20 ml/kg) and formic acid (10 ml/kg) and the biological with sugar cane molasses (150 g/kg) and of yogurt (*Lactobacillus bulgaris* and *Streptococcus acidophilus*; 30 g/kg). The chromic oxide was used as inert indicator and fecal sample were recollected by siphon from the bottom of tanks. As a result, the apparent digestibility of some nutrients differed from silage type; meanwhile protein was bigger for the chemical silage and the dry matter, calcium and phosphorus for the biological silage. Similar digestibility ($P>0,05$) was presented for lipids, ashes and energy. In conclusion, all this showed that the fishing waste silages present high nutritional value, that constitute an alternative- protein source in the formulation of rations for red tilapias.

Keyword: digestibility, silage, fishing waste, tilapia.

INTRODUCCIÓN

La harina de pescado es la principal fuente de proteínas que se utiliza en la formulación de alimentos para organismos acuáticos por su alto contenido de proteína bruta y perfil de aminoácidos esenciales, así como su alta digestibilidad de materia seca, energía y nitrógeno (Zhoug *et al.*, 2004), pero por su alto costo y poca disponibilidad en el mercado internacional se hace necesario evaluar otras fuentes de proteínas alternativas fundamentalmente para especies dulceacuícolas.

Una opción puede ser el ensilaje de pescado (EP); producto líquido-pastoso, que se basa en la acidificación del medio a modo de favorecer residuos del mismo (González y Marín, 2005). Es un insumo con similar composición química al material fresco (Vidotti *et al.*, 2002) y su obtención es a través de un proceso simple y accesible a una producción en mayor escala con baja demanda de energía (Toledo y Llanes, 2007).

Numerosos trabajos (Vidotti *et al.*, 2002; Wicki *et al.*, 2007; Toledo *et al.*, 2009) consiguieron la utilización del EP en forma húmeda, harinas simples e inclusive deshidratado con otras fuentes proteicas para la alimentación de peces de agua dulce como Pacú (*Piaractus mesopotamicus*), amura blanca (*Ctenopharingodon idella*), bagre africano (*Clarias gariepinus*) y acorde con los resultados se considero factible su utilización por las buenas tasas de crecimiento y bajo costo de producción.

De acuerdo con Allan *et al.* (2000), la determinación de la digestibilidad es el primer paso en la evaluación del potencial de un ingrediente para su uso en la alimentación animal. En este sentido, el objetivo de este trabajo fue determinar la digestibilidad *in vivo* de nutrientes y energía de los ensilajes químico y biológico de residuos pesqueros en tilapias rojas (*Oreochromis mossambicus x O. niloticus*).

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de los ensilajes de pescado y dietas experimentales

Se utilizaron los desechos del fileteado de tilapias, los cuales se molieron con un molino de carne a un tamaño de 1cm. La pasta de pescado se homogeneizó y dividió en dos porciones iguales. Para el ensilaje

químico (EQ) una porción se mezcló con ácido sulfúrico 98% (20 ml/kg) y ácido fórmico (10 ml/kg) y para el ensilaje biológico (EBL) se mezcló con miel final (150 g/kg) y yogurt comercial (30 g/kg) como cultivo de bacterias ácido lácticas (*Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaris*). Ambos EP se colocaron en recipientes plásticos con tapas y se almacenaron a temperatura ambiente durante 7 días (Fagbenro y Jauncey, 1993). Al cabo de este tiempo los EP se secaron en la estufa con ventilación forzada (calor seco) a 60°C por 48 h.

Se formularon tres dietas: una de referencia similar a la que utilizó Köprücü y Özdemir (2005) en tilapias del Nilo (*Oreochromis niloticus*) y dos experimentales con cada EP. El óxido crómico se usó como marcador inerte y se añadió en una proporción de 10 g/kg de alimento. La composición porcentual y proximal de las dietas experimentales se muestra en el Cuadro 1.

Para la preparación de las dietas, las harinas se tamizaron a 250 µm y mezclaron en seco en una mezcladora Hobart M-600 (10 min). Posteriormente, se agregó el resto de los ingredientes y se continuó el mezclado (20 min). Para la peletización se usó el molino de carne JAVAR 32 con una matriz de orificios de 3,5 mm. Los pellets se secaron en la estufa a 60°C durante 48 h.

Procedimiento experimental

Se utilizaron 270 juveniles de tilapias rojas *Oreochromis mossambicus x O. niloticus* de 45,43±8,35 g de peso promedio, los que se distribuyeron al azar en grupos de 30 peces, en 9 piscinas rectangulares de cemento de 700 l de agua (3 piscinas/ tratamiento). Los peces se mantuvieron una semana de aclimatación donde se alimentaron a saciedad con las propias dietas experimentales dos veces al día (9:00 y 16:00h).

Al cabo de este tiempo, se comenzó la recolección de las heces fecales minuciosamente por medio de un sifón durante 6 días. Las heces se recogieron antes de proceder a cada alimentación y se secaron (estufa a 60°C), molieron y congelaron (-25°C) para su posterior análisis químico. Los valores de temperatura y concentración de oxígeno disuelto del agua de las piscinas se tomaron diariamente con un Oxímetro HANNA.

La composición bromatológica de las muestras de ensilajes, harinas y heces, así como las

determinaciones de cromo se hicieron triplicadas y de acuerdo a la metodología de la AOAC (1998). Los valores de digestibilidad aparente (DA) de los nutrientes se calcularon según Bureau *et al.* (1999).

$$DA_{\text{materia seca}} (\%) = (DA_{\text{test}} - 0,7) \times DA_{\text{referencia}} / 0,3.$$

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

Los datos se analizaron mediante un análisis de varianza de clasificación simple por medio del software estadístico INFostat versión 1.0 (Balzarini *et al.*, 2001).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante el bioensayo, la temperatura del agua osciló de 25,8 a 26,9°C y el oxígeno disuelto fue >3,0 mg/L. No hubo mortalidades y las raciones se consumieron rápidamente, lo que confirmó que los ingredientes de origen pesquero, son muy palatables por los peces como señalaron Zhoug *et al.* (2004), además, los EP proporcionan aminoácidos libres del proceso de hidrólisis, que pueden tener un efecto atrayente (Stone *et al.*, 1989)

La digestibilidad aparente de la materia seca (DMS), proteína bruta (DPB), lípidos (DLIP), cenizas (DCN), calcio (DCa) y fósforo (DP) de los EQ y EBL (Cuadro 2), que se obtuvieron por el método de recolección de heces a través de sifón y óxido crómico como marcador fue de forma general satisfactoria respecto a otros reportes que se consultaron. De los dos ensilajes que se evaluaron, el EBL presentó valores superiores ($P < 0,01$) en la DMS y minerales, mientras la proteína digestible fue mayor para el EQ ($P < 0,01$). Por su parte, DLIP, cenizas y energía no difirieron significativamente ($P > 0,05$) entre las metodologías de ensilajes que se estudiaron.

Las DMS (79,14 % EQ y 82,21% EBL) en este estudio con el método de sifón fueron más altas que las reportadas para Pacú (71,40% EQ y 68,23% EBL) con extrusión manual y óxido crómico (Vidotti *et al.*, 2002) y las citadas para las harinas de organismos bentónicos (76,5%), peces pelágicos pequeños (74,2%); mezcla de varias especies de pez gato (76,9%) y desechos del procesamiento de atún y sardinas (75,1%) en tilapias del Nilo con el método de sifón y cenizas ácidas insolubles como marcador (Goddard *et al.*, 2008).

Cuadro 1. Composición de las dietas experimentales (g/100g).

Ingredientes	D1 Referencia	D2 E. químico	D3 E. biológico
Harina de pescado	15	10,42	10,42
Harina de soya	45	31,22	31,22
Harina de trigo	32,75	22,72	22,72
Aceite de soya	2	1,39	1,39
Fosfato dicálcico	2	1,39	1,39
Cloruro de sodio	0,25	0,17	0,17
Carboximetil celulosa	1	0,69	0,69
Mezcla vit- mineral	1	1	1
Oxido crómico III	1	1	1
Ensilado químico	-	30	-
Ensilado biológico	-	-	30
Materia seca	91,21	90,26	91,53
Proteína bruta	33,52	35,10	33,55
Lípidos	5,02	9,72	10,09
Cenizas	7,55	10,88	10,62
Energía bruta (MJ/kg)	16,91	17,74	17,99

Cuadro 2. Digestibilidad aparente de los nutrientes y energía de los ensilajes de residuos pesqueros para tilapia roja (g/100g).

Nutrientes	Ensilaje químico	Ensilaje biológico	EE± Significación
Materia seca	79,14	82,21	±0,64 *
Proteína bruta	89,92	81,74	±0,89 **
Lípidos	86,50	87,76	±0,54
Cenizas	60,63	62,85	±1,19
Calcio	41,40	51,55	±0,89 **
Fósforo	56,06	65,12	±0,88 **
Energía	85,10	86,28	±0,45

EE- Error estándar (n=3).

**P<0,01.

*P<0,05.

Por otra parte, la DPB (Cuadro 2) mostró diferencias significativas ($P<0,01$), donde el EBL presentó el menor valor (81,74%). Una posible explicación puede estar dada en el aumento de los contenidos de bases volátiles totales como resultado de la desaminación oxidativa de los aminoácidos libres, componentes del “pool” de nitrógeno no proteico, por un número de bacterias que causan su reducción y al mismo tiempo generan amonio; lo que puede traer consecuencias negativas en el valor nutricional de este tipo de ensilaje. Referente a esto, Enes *et al.* (1998) encontraron mayor formación de bases volátiles nitrogenadas en los EBL con relación al EQ, refiriéndose a esto como una desventaja, pues conduce a reducir el contenido de aminoácidos. También, González y Marín (2005), explicaron que dicho proceso tiene relación con el crecimiento de microorganismos capaces de multiplicarse a temperaturas menores o iguales a la ambiental, los que presentan características proteolíticas y lipolíticas que desempeñan un papel importante en el proceso de descomposición del pescado. Estos autores mostraron un aumento progresivo de bases volátiles durante 60 días de almacenamiento del EBL, que alcanzó valores de 157,4 y 172,9 mg N/100g.

Las DPB (89,92%-EQ y 81,75%-EBL) de este trabajo fueron más altas que las reportadas en Pacú (79,25%-EQ y 73,56%-EBL) por Vidotti *et al.* (2002), sin embargo, resultaron inferiores (92,00%-EQ y 89,1%-EBL) a las que se reportaron en tilapias del Nilo con el método de decantación y óxido crómico (Borghesi *et al.*, 2008).

Las mejores DPB en tilapia del Nilo (Borghesi *et al.*, 2008), pueden ser por la composición del EP (80% tilapias enteras y 20% de residuos) y la dieta de referencia con ingredientes semi-purificados como albúminas y gelatina. De hecho, Vidotti *et al.* (2002), obtuvieron los mejores DPB en ensilajes de peces enteros en relación a los que contenían residuos. También, Boscolo *et al.* (2004) consignaron en tilapias del Nilo DPB de 70,67 y 67,09% para harinas de residuos de tilapias y corvina respectivamente, las que difieren de la harina integral de camarones (88,79%).

Lo que indica que existe una relación entre la composición química y la digestibilidad de los ingredientes, donde los procedentes de residuos tienen altos tenores de material mineral dado a una mayor concentración de huesos y escamas y una menor calidad de la proteína. Realmente, las proteínas procedentes de huesos y tejido conectivo son menos digeribles que las de origen muscular (NRC, 1993).

Según Köprücü y Özdemir (2005), las DPB de los ingredientes alimenticios ricos en proteínas se hallan generalmente entre 75 a 95%. Las DPB (81,75 y 89,92 %), de los EP experimentales para tilapia roja *Oreochromis mossambicus X O. niloticus* (recolección de heces por sifón) en este trabajo, coinciden con otras DPB reportados para diferentes materias primas en tilapia del Nilo. Por ejemplo, harinas de subproductos de aves (87,24%; Pezzato *et al.*, 2002); harinas de gluten de maíz (89%), soya (87,4%; Köprücü y Özdemir, 2005) y harinas confeccionadas con subproductos pesqueros como:

organismos bentónicos (91,1%), peces pelágicos pequeños (90,3%); mezcla de diferentes *spp* de pez gatos (92,5%) y desechos del procesamiento de atún y sardinias (89,9%; Goddard *et al.*, 2008); harina de gambusia *Gambusia affinis* (82,2%, Ahmad, 2008). Por el contrario, fueron superiores a las harinas de carne (73,19%), sangre (50,69%) y plumas (29,12%; Pezzato *et al.*, 2002); gammarido (75,8%), exoesqueleto de cangrejo (71,0%; Köprücü y Özdemir, 2005).

Estas diferencias se pueden atribuir a varias razones: especie objeto de estudio, ya que los hábitos alimentarios varían en las diferentes especies de tilapias (Olvera-Novoa, 2002), composición química de la materia prima, origen y procesamiento de los ingredientes, tiempo de almacenamiento y método de recolección de las heces (Köprücü y Özdemir, 2005).

La digestibilidad aparente de las grasa (Cuadro 2) no mostraron diferencias significativas entre los ensilajes ($P > 0,05$) y se encontraron valores $> 85\%$, que se pueden atribuir a la composición de sus ácidos grasos (AG), cuya concentración de insaturados en estos residuos fue aproximadamente 60% del total (Vidotti *et al.*, 2002). También, Bureau (2004) reportó que los alimentos para peces que contienen aceites de pescado o vegetal tienen altos niveles de AG de las series w-3 y w-6 y fueron 6% mejor digeribles que los alimentos que contenían grasa animal, la cual tuvo altos contenidos de AG saturados. Además, este autor planteó que los AG saturados con elevado punto de fusión son menos digeribles por los peces que los insaturados. De hecho, la digestibilidad de las grasas en truchas arco iris disminuyó a medida que el punto de fusión y grado de saturación aumentó.

Según Aksnes y Opstvedt (1998), las grasas cuando se suministran solas o comprometidas en los ingredientes de la dieta, habitualmente toman valores de digestibilidad de 85 a 95% para peces. Referente a esto, Sklan *et al.* (2004) reportaron que para híbridos de tilapias *Oreochromis niloticus x O. aureus*, las DLIP variaron de 77,9-89,9% para harinas de pescado, subproductos de aves, soya, semillas de girasol.

También, Köprücü y Özdemir (2005) encontraron para tilapias del Nilo DLIP (72 a 97,5%) en las harinas de pescado, soya, gluten de maíz, gammaridos y exoesqueleto de cangrejo. Las DLIP (86,50 y 87,76%) en los EP para tilapia roja (*Oreochromis mossambicus*

X O. niloticus) coinciden de forma general con los reportes de los autores anteriores.

La digestibilidad de la energía (Cuadro 2) no difirió significativamente en relación a la metodología de ensilaje que se utilizó, y los valores que se alcanzaron para ambos insumos (85,10 y 86,28%) son próximos a los citados para tilapias del Nilo y bagre africano (Fagbenro y Jauncey, 1994). Estos buenos resultados pueden atribuirse a las altas concentraciones de ácidos grasos insaturados del aceite de los ensilajes que son mayormente adsorbidos que los saturados conforme a lo observado por Allan *et al.* (2000) al evaluar la digestibilidad de harinas de diferentes orígenes.

Por otra parte, la digestibilidad del fósforo (Cuadro 2) en el EQ (56,06%) y EBL (65,12%) para tilapias rojas (*Oreochromis mossambicus X O. niloticus*) fue superior a los reportados en harinas de anchoveta (27,8%), gluten de maíz (28,2%), soya (30,1%) para tilapias del Nilo (Köprücü y Özdemir 2005). Referente a esto, Sarker *et al.* (2007) opinaron que la acidificación dietética para especies gástricas fue efectiva, al incrementar la disponibilidad de minerales en los huesos de peces y harina de pescado, lo que comprobaron al suplementar bajos niveles de ácido cítrico a la dieta de la dorada *Pagrus major*, lo cual incrementó la absorción de fósforo de la harina de pescado.

De igual manera, el efecto de los ácidos orgánicos presentes en los ensilajes (ácido fórmico y láctico) mejoró la disponibilidad de los elementos minerales (calcio y fósforo) por el efecto acidificante que solubilizó los minerales presentes en los huesos de los residuos pesqueros. Es por ello, que la alta digestibilidad del calcio y fósforo de los EP, indican que pueden ser fuentes de minerales dietéticas que permite sustituir suplementos inorgánicos como fosfatos mono y di cálcico. Diebold and Eidelsburger (2006), consignaron que los ácidos orgánicos (fórmico, láctico, acético, propiónico y cítrico) en los alimentos acuícolas son potenciales alternativos a antibióticos y tienen varias ventajas como: inhiben el crecimiento de microorganismos los cuales algunos pueden ser potencialmente patógenos, reducen el pH en el estómago lo que mejora la actividad de la pepsina particularmente cuando hay una reducción de los niveles de ácido clorhídrico al alimentar con dietas de altos contenidos de proteína o cuando hay altos consumos de alimentos en animales jóvenes,

además son fuentes de energía metabólica, por ejemplo el ácido propiónico contiene de una a cinco veces más energía que el trigo. Según NRC (1993), las tilapias utilizan el fósforo presente en la harina de pescado más eficientemente que las carpas (*Cyprinus carpio*) y bagres americanos (*Ictalurus punctatus*).

Los resultados obtenidos en este estudio revisten gran importancia pues actualmente la acuicultura es altamente dependiente de las pesquerías de especies forrajeras marinas para suplir la harina y el aceite de pescado; insumos necesarios en la formulación de dietas completas para la intensificación de los cultivos. Su producción fue relativamente estable durante los últimos 15 años (Tacon y Hasan, 2007) y se prevé que su situación no mejore, lo que su disponibilidad puede declinar en el futuro y no se puede considerar un ingrediente sustentable para los alimentos acuícolas.

Por otra parte, que la producción de alimentos comerciales dependerá en un futuro breve de otras fuentes de proteínas alternativas de calidad para sustituir este insumo, tanto en el aspecto nutricional como económico y en este caso se presenta el ensilaje de residuos pesquero como una fuente alternativa de proteína de alto valor nutricional que puede a su vez contribuir con el saneamiento ambiental.

CONCLUSIONES

Los juveniles de tilapias rojas usaron eficientemente la fracción de proteína, grasa y energía (>80%) suplida por los ensilajes químico y biológico de residuos pesqueros, lo que constituyen una fuente de proteína de alto valor nutricional para la formulación de raciones para esta especie.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el asesoramiento brindado por el Laboratorio de Nutrición y Calidad del agua de la Escuela de Acuicultura, Universidad Católica de Temuco, Chile.

LITERATURA CITADA

- Ahmad, M. 2008. Evaluation of *Gambusia affinis*, Fish Meal in Practical Diets for Fry Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. Journal of the World Aquaculture 39(2): 243-250.
- Aksnes, A. y J. Opstvedt. 1998. Content of digestible energy in fish feed ingredients determined by the ingredient-substitution method. Aquaculture 161, 45– 53.
- Allan G. I., S. Parkinson, M. A. Booth, A. J. Stone D., S. J. Rowland, J. Frances and R. Warner-Smith. 2000. Replacement of fish meal in diets for Australian silver perch, *Bidyanus bidyanus*. Digestibility of alternative ingredients. Aquaculture 186, 293-310.
- AOAC. 1998. Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemist. 16th Edition. AOAC: Washington, DC. p 1018.
- Balzarini, M., F. Casanoves, J. A. Di Rienzo, I. A. González, C. W. Robledo y M. E. Tablada. 2001. Software estadístico INFOSTAT. Manual de usuario, Versión 1. Córdoba. Argentina.
- Boscolo, W., C. Hayashi, F. Meurer, A. Feiden e R. Bombardell. 2004. Digestibilidade aparente de energia y proteina das farinhas de residuo da filetagem de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) e de convina (*Plagioscion squamosissimus*) e farinha integral do Camarao Canela (*Macrobrachium amazonicum*) para Tilapia del Nilo. Revista Brasileira de Zootecnia 33(1):8-13.
- Borguesi, R., I. Portz, M. Oetterer and J. Cyrino. 2008. Apparent digestibility of protein and amino acids of acid, biological and enzymatic silage for Nilo tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture Nutrition 14: 242-248.
- Bureau, D. P., A. M. Harris and C.Y.Cho. 1999. Apparent digestibility of rendered animal protein ingredients for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 180: 345–358.
- Bureau, D. P. 2004. Animal fats as aquaculture feed ingredients. International AQUAFEED 7(1): 33-37.
- Enes, M. L., I. Batista, R. Nout, F. Rombouts and J. Houben. 1998. Lipid and protein during the ensilage of blue whiting (*Micromesistius poutassou* Risso) by acid and biological methods. Food Chemistry 63: 97-102.
- Fagbenro, O. and K. Jauncey. 1993. Chemical and nutritional quality of raw, cooked and salted fish silage. Food Chemistry 48: 331-335.

- Fagbenro, O., K. Jauncey and G. Taylor. 1994. Nutritive value of diets containing dried lactic acid fermented fish silage and soybean meal for juvenile *Oreochromis niloticus* and *Clarias gariepinus*. *Aquaculture Living Resource* 7:79-85.
- Goddard, S., G. Al-Shagaa and A. Ali. 2008. Fisheries by-catch and processing waste meals as ingredients in diets for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture Research* 39: 518-525.
- González, D. y M. Marín. 2005. Obtención de ensilado biológico a partir de los desechos del procesamiento de sardinas. *Revista Científica FCV-LUZ*. XV (6): 560-567.
- Köprücü, K. and Y. Özdemir. 2005. Apparent digestibility of selected feed ingredients for Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 250: 308–316. NRC(National Research Council). 1993. Nutrient Requirement of Fish. Committee on Animal Nutrition, Board of Agriculture, National Research Council. National Academic Press, Washington, D.C. p 114.
- National Research Council, NRC. 1993. Nutrient Requirement of Fish. Committee on Animal Nutrition, Board of Agriculture, National Research Council. National Academic Press, Washington, D. C. p114.
- Olvera-Novoa, A. 2002. Nutrición y alimentación de tilapias. **In:** Memorias del II Curso Lance en Producción Acuicola. Chipinque, Monterrey Nuevo León, México. Del 12 - 17 de Mayo del 2002.
- Pezzato, I. E., E. C. Miranda, A. C. Pezzato, M. M. Barros y L. G. Q. Pinto, Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Rev Bras de Zootecnia* 31(4):1595-1604.
- Sarker, S. A., S. Satoh and V. Kiron. 2007. Inclusion of citric acid and/or amino acid- chelated trace elements in alternate plant protein source diets affects growth and excretion of nitrogen and phosphorus in red sea bream *Pagrus major*. *Aquaculture* 262: 436-443.
- Sklan, D., T. Prag and I. Lupatsch. 2004. Apparent digestibility coefficients of feed ingredients and their prediction in diets for tilapia *Oreochromis niloticus* X *Oreochromis aureus* (Teleostei, Cichlidae). *Aquaculture Research* 35: 358-364.
- Stone, F. E., R. W. Hardy, K. D. Shearer and T. M. Scott. 1989. Utilization of fish silage by Rainbow Trout (*Salmo gairdnerii*). *Aquaculture* 76: 108-118.
- Tacon, A. and M. Hasan. 2007. Global Synthesis of feeds and nutrients for sustainable aquaculture development. In. Hasan, M., Hecht, T., De Silva, S and Tacon, A (eds). Study and analysis of feeds and fertilizers for sustainable aquaculture development. FAO. Fisheries Paper. No.497. Roma, FAO, 3-17.
- Toledo, J. y J. Llanes. 2007. Estudio comparativo de los desechos de pescado ensilados por vías bioquímica y biológica. *REDVET VIII* (9). Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090907.html>.
- Toledo, J., A. Botello y J. Llanes. 2009. Evaluación de los ensilajes químicos de pescado en la alimentación de *Clarias gariepinus*. *Revista Cubana de Investigaciones Pesqueras* 26(1): 14-18.
- Vidotti, R. M., D. J. Carneiro and E. Viegas. 2002. Acid and fermented silage Characterization and Determination of Apparent Digestibility Coeficient of Crude Protein for Pacu *Piaractus mesopotamicus*. *Journal of the World Aquaculture Society* 33(1): 57-62.
- Wicki, G., S. Panne, M. Álvarez y L. Romano. 2007. Tecnologías de ensilados desarrolladas en la Argentina. In Wicki, G., Dapello, G. Álvarez, M. (eds). Desarrollo y utilización de ensilado ácido como componente de alimento para peces. Secretaria de Agricultura, Pesca y Alimentos (Serie Pesca y Acuicultura: estudios e investigaciones aplicadas). p 19-30.
- Zhoug, Q. C., B. P. Tan, K. S. Mai and and. J. Liu. 2004. Apparent digestibility of selected feed ingredients for juvenile cobia *Rachycentron canadum*. *Aquaculture* 241: 441-451.