

La Biomasa Microbiana como Ingrediente en la Nutrición Acuícola

Julián Gamboa-Delgado, Angel Gabriel Alvarado Ibarra, Yonatan Izahi Morales Navarro
Martha G. Nieto-López, David Villarreal-Cavazos, Maribel Maldonado-Muñiz
Mireya Tapia-Salazar, Denis Ricque-Marie, Lucía Elizabeth Cruz-Suárez
Programa Maricultura, Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad Autónoma de Nuevo León, UANL. San Nicolás de los Garza NL 66455,
México. Tel/Fax: +52 81 8352-6380 e-mail: jgam97@yahoo.com

Resumen

Los productos derivados de la pesca y la acuicultura tendrán un papel primordial en la satisfacción de las necesidades alimentarias de la creciente población humana. La harina de pescado utilizada para la manufactura de alimentos acuícolas representa un recurso limitado que experimenta alta demanda y una serie de debates ambientales. Entre las diversas fuentes alternativas de nutrientes, la biomasa microbiana producida a partir de organismos heterótrofos y autótrofos ha sido considerada como un sustituto prometedor para reemplazar ingredientes derivados de animales y plantas. Diversos estudios han demostrado que algunas especies de levaduras, bacterias y microalgas son candidatos viables para ser cultivados y que además muestran excelentes características nutricionales. Aunque los costos de producción para generar biomasa microbiana aún siguen siendo altos, nuevos métodos se han centrado en la utilización de substratos alternativos para su producción. Las características nutricionales de los microorganismos y las tecnologías emergentes para su producción, permiten pronosticar un mayor uso en la fabricación de alimentos. El presente manuscrito revisa el estado actual del uso de microorganismos como ingredientes en la nutrición acuícola, enfatizando aquellos que muestran un sólido potencial como aditivos funcionales y/o ingredientes para reemplazar la harina de pescado. Se presenta una síntesis de técnicas de evaluación nutricional aplicadas para evaluar el desempeño de la biomasa microbiana, así como resultados recientes sobre los efectos de su incorporación en dietas formuladas. La capacidad fisiológica que presentan diversas especies de organismos acuáticos para utilizar este tipo de insumos alternativos es discutida.

Palabras clave: biomasa microbiana, nutrición acuícola, levaduras, microalgas, bacterias.

Introducción

El rápido crecimiento de la industria acuícola puede ser atribuido en gran parte al mejoramiento y diversificación de las técnicas de producción; sin embargo, los parámetros de producción superiores e intrínsecos de los animales acuáticos también han jugado un papel importante en el desarrollo de esta actividad. Diversas especies de crustáceos y peces convierten el alimento suministrado en proteínas de manera mucho más eficiente que otros animales, tales como las aves de corral, el ganado vacuno y el porcino. Por esta razón se pronostica que diferentes especies de peces, moluscos y crustáceos representarán fuentes predominantes de alimento en el futuro cercano (Béné *et al.* 2015). Conforme la industria acuícola se desarrolla y los métodos de producción se intensifican y diversifican simultáneamente, la demanda de alimentos para dicha industria aumentará aún más. A su vez, ocurrirá un concomitante aumento en la demanda de ingredientes. Pronósticos confiables indican que el aspecto más crítico que puede frenar o incluso detener el actual crecimiento de la industria acuícola es la restricción de los ingredientes requeridos para la manufactura de alimentos (Tacon & Metian 2008, Olsen & Hasan 2012). Entre estos ingredientes, la harina de pescado ha sido el componente preferido al formular alimentos balanceados gracias a sus propiedades nutricionales para los organismos acuáticos. Sin embargo, la producción de harina de pescado trae consigo preocupaciones económicas y ambientales. En consecuencia, esfuerzos para reemplazar, total o parcialmente este insumo en las dietas acuícolas, se desarrollan actualmente y constituyen pasos importantes hacia el uso de fuentes de proteínas sustentables y alternativas. Ingredientes alternativos son cada vez más solicitados en respuesta al crecimiento en la demanda de alimentos acuícolas. Una gran cantidad de estudios nutricionales se han enfocado en probar fuentes de proteínas alternativas poco convencionales y entre las últimas, las proteínas de origen vegetal han sido usadas tradicionalmente para reemplazar la harina de pescado. Sin embargo, las proteínas vegetales pueden no ser totalmente adecuadas para algunas especies acuáticas depredadoras (Kumar *et al.* 2012), además de que pueden existir conflictos respecto a los usos finales de los productos agrícolas. Estas restricciones, junto con los rápidos avances en diferentes áreas de la biotecnología, permiten suponer que la próxima generación de

proteínas útiles para dietas animales estará significativamente representada por proteínas e ingredientes derivados de microorganismos.

El término “proteína unicelular” (single cell protein, SCP, por sus siglas en inglés) fue acuñado en 1966 por C. L. Wilson en el Instituto Tecnológico de Massachusetts (Doelle 1944). SCP se refiere colectivamente a la biomasa procesada o extraída de cultivos de microorganismos que tienen un alto potencial para ser utilizados como ingredientes para alimento humano o alimento animal. Las sobresalientes ventajas de los microorganismos para la producción de SCP, en comparación con fuentes convencionales de nutrientes, han sido ampliamente demostradas (Becker 2007; Øverland *et al.* 2010; Dewapriya & Kim 2014). Los microorganismos crecen rápidamente y tienen un alto rendimiento. Por ejemplo, se ha estimado que se puede obtener una ganancia de 1 kg de proteína en 1 día de crecimiento de un bovino de 500 kg, mientras que 500 kg de levadura producirían varias toneladas de proteína en un día. Microalgas cultivadas en estanques pueden producir más de 20 toneladas de proteína por acre al año (Weyer *et al.* 2010). En comparación, este rendimiento es de 10 a 15 veces más alto que la producción estándar de soya, y 25 a 50 veces más alto que la producción de maíz (Pelczar & Chan 2010). Los microorganismos tienen un alto contenido proteico y son altamente eficientes al convertir una gran variedad de sustratos, lo que conduce a la rápida producción de biomasa. Por otro lado, los microorganismos pueden también clasificarse de acuerdo a las fuentes de carbono y energía que son capaces de utilizar. Dicha diversidad metabólica microbiana es clave y ha permitido la producción de biomasa usando una amplia gama de fuentes de energía disponibles (luz solar o luz artificial) y sustratos de carbono, que van desde monosacáridos de grado analítico hasta residuos generados por las industrias agrícolas y relacionadas a la producción de alimentos, así como también a partir de gas metano. Las técnicas de producción se pueden adaptar a esta diversa variedad metabólica microbiana, y gracias a la ingeniería genética, también es posible lograr lo contrario, es decir, adaptar estos microorganismos a las técnicas de producción actuales y disponibles (Gómez-Pastor *et al.* 2011). Aunque no específicamente producidas para la acuicultura, la generación continua de biomasa microbiana en fermentadores (levaduras) y foto-biorreactores, (microalgas) ha alcanzado una escala industrial. Una serie de metodologías estandarizadas (Fig. 1) permiten predecir un significativo incremento en el número de aplicaciones en la nutrición acuícola.

Una serie de nuevos métodos de producción, independientes de las condiciones estacionales ya han sido patentados y pueden generar biomasa microbiana a partir de substratos alternativos (Glencross *et al.* 2014; Goodall *et al.* 2016). Algunos de estos métodos alternativos han sido capaces de mantener una producción continua y bromatológicamente consistente de biomasa microbiana a partir de microalgas, levaduras y bacterias. La biomasa que se genera puede llegar a representar el producto final de un proceso específicamente establecido, o bien, esta biomasa puede conformar un sub-producto de un proceso primario, como lo es el caso de la producción de biocombustibles o pigmentos a partir de microalgas.

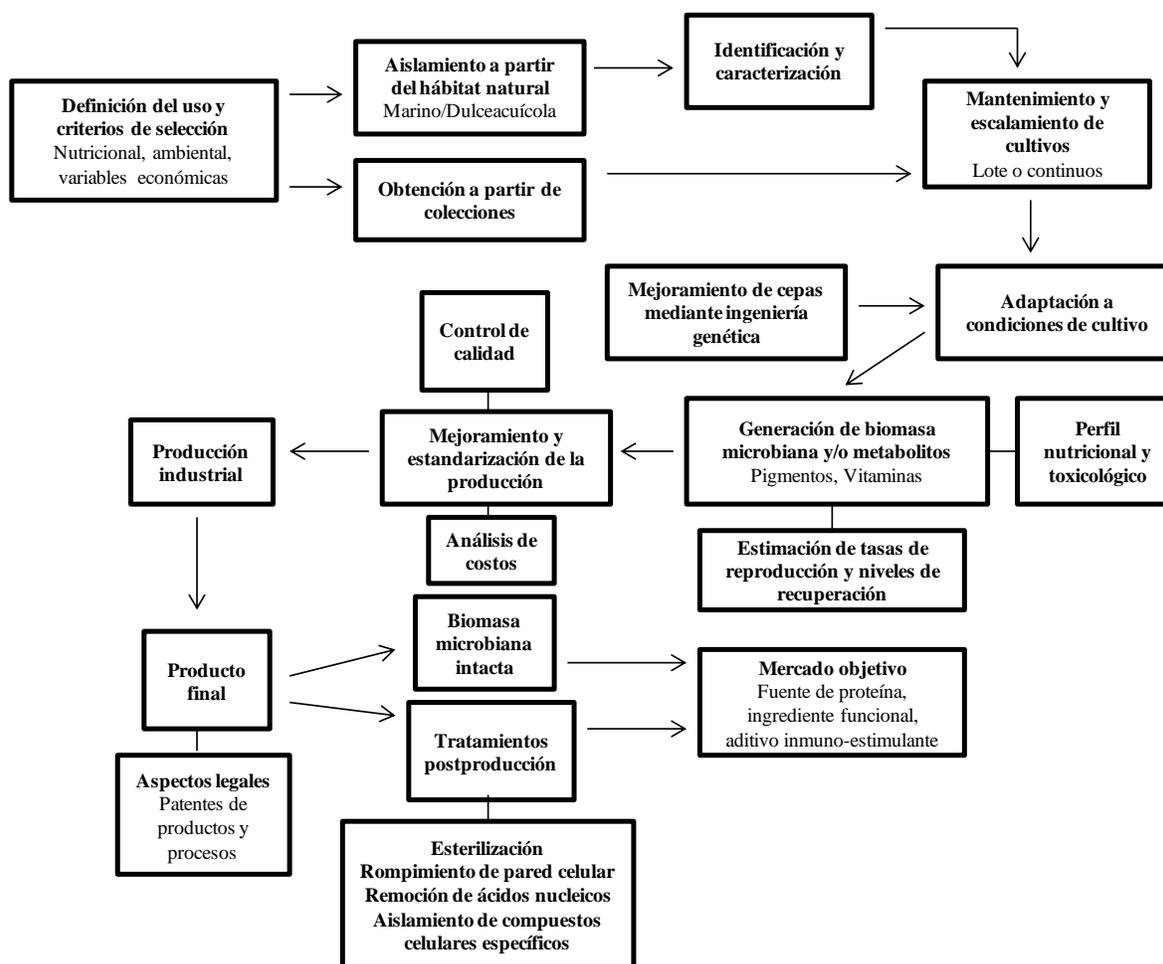


Figura. 1. Principales etapas en la producción de microorganismos que presentan potencial para generar biomasa microbiana o compuestos específicos útiles en la nutrición animal.

La biomasa bacteriana ha sido dirigida a una amplia variedad de propósitos. Por ejemplo, en el caso de la nutrición humana, el hongo unicelular *Fusarium venenatum* ha sido producido durante cuatro décadas para manufacturar un amplio rango de productos comerciales (Quorn®) a partir de una micoproteína. Por otro lado, diversas microalgas tales como *Spirulina* y *Chlorella* tienen actualmente un nicho de mercado establecido como suplementos dietarios. En la alimentación animal, productos microbianos, principalmente derivados de levaduras, son suministrados en dietas formuladas como fuente de vitaminas, pigmentos, proteínas y aminoácidos específicos. También se ha demostrado su rol como agentes mejoradores de la palatabilidad y potenciadores de la respuesta inmune. Recientemente se ha demostrado que la biomasa bacteriana derivada de la fermentación de gas natural (cultivos bacterianos de *Methylococcus capsulatus*) es una fuente prometedora de proteína debido a su composición de aminoácidos, alta digestibilidad y efectos promotores de crecimiento y mejoramiento del estado salud en animales acuáticos y terrestres (Øverland *et al.* 2010; Romarheim *et al.* 2011). El conocimiento generado por estos y otros estudios sobre esta especie de bacteria (Aas *et al.* 2006) ha promovido el desarrollo de una biomasa microbiana comercial registrada como Bioprotein® (Dansk Bioprotein). Eventualmente, la compañía Calysta (Menlo Park, CA, USA) adquirió la tecnología de producción y desarrolló una biomasa bacteriana que ha sido considerada como una fuente sostenible de proteínas de alta calidad (FeedKind®). Existen otras fuentes de biomasa bacteriana que han sido exploradas recientemente en la nutrición animal. Por ejemplo, Zhao *et al.* (2012) reportan que un 25% de reemplazo de proteína de soya por harina de origen bacteriano no afectó el metabolismo del nitrógeno en cerdos. Zhang *et al.* (2013) demostraron que una SCP (obtenida a partir de *Corynebacterium glutamicum*) fue capaz de reemplazar el 50% de la harina de pescado en dietas para cerdos y generó un crecimiento, digestibilidad de nutrientes y morfología intestinal similares a aquellos registrados en animales alimentados con una dieta que contenía sólo harina de pescado como fuente de proteína. De manera similar, empresas recientemente establecidas se han centrado en producir biomasa bacteriana a partir de sustratos alternativos y económicos (algunos sin costo), empleando métodos innovadores de producción de biomasa microbiana tales como el uso de metano y desechos derivados de las actividades agrícolas y de las industrias de los alimentos (Glencross *et al.* 2014, WEF 2015, BFD 2015). Estas

investigaciones y sus procesos patentados subsiguientes, han establecido la base de productos comerciales como Profloc[®] (Nutrinsic) y FeedKind[®] (Calysta), los cuales han sido dirigidos al sector de la nutrición animal como ingredientes para reemplazar la harina de pescado.

La producción intensiva de diferentes especies de microalgas marinas ha sido una actividad intrínseca de varias operaciones acuícolas. Por ejemplo, la alimentación larval y el enriquecimiento del alimento vivo con microorganismos son fuertemente dependientes del abasto de microalgas; sin embargo, en las últimas décadas, varias empresas se han orientado a producir biomasa de microalgas para la producción de biocombustibles. La demanda de fuentes alternativas de energía ha llevado al desarrollo de bio-refinerías, las cuales se definen como instalaciones en las que se integran procesos y equipos con el propósito de convertir biomasa orgánica en biocombustibles, energía y productos químicos específicos (Cherubini 2010; Singh & Gu 2010). Otros sectores industriales han desarrollado tecnologías para generar biomasa de microalgas para la generación de productos funcionales específicos como carotenoides y ácidos grasos poli-insaturados. Por ejemplo, la microalga *Haematococcus pluvialis* se ha producido intensivamente en fotobiorreactores para generar biomasa y extraer astaxantina bajo métodos comercialmente viables (Olaizola 2000, 2003). El subproducto principal de los procesos de extracción de biocombustibles y pigmentos es una biomasa de microalgas de la cual se extrajeron los lípidos. Biomasa secundaria de este tipo ha sido probada con éxito como una fuente adecuada de proteína en dietas para crustáceos y peces (Ju *et al.* 2012; Kissinger *et al.* 2016). En el caso de productos comerciales derivados de levaduras y destinados a la alimentación animal (Phileo[®], NuPro[®]), estudios han demostrado que incluso una baja inclusión de estas fracciones de levadura (mezclas de péptidos, nucleótidos y otros componentes citoplasmáticos) en las dietas, promueven un mejor crecimiento y un aumento en los indicadores inmunológicos en peces (Lunger *et al.* 2006, Berto *et al.* 2015). Dado que la industria de la acuicultura es una actividad relativamente reciente, existe un conocimiento incompleto acerca de los efectos fisiológicos que estos nuevos ingredientes derivados de microbios promueven en los organismos acuáticos.

Fuentes de proteína animal, vegetal y microbiana para la acuicultura

Las harinas derivadas de productos animales como la harina de pescado y las harinas de subproductos avícolas y bovinos mantienen una disponibilidad continua y ofrecen buenos perfiles nutricionales para la mayoría de especies acuáticas cultivables. Las proteínas marinas obtenidas a partir de calamar, camarón y pescado presentan características nutricionales superiores, pero la manufactura de harinas de origen marino ha generado preocupaciones en relación a la conservación ecológica y en relación a aspectos económicos (Phillips 2005). Las harinas de origen vegetal son las fuentes de proteína más utilizadas para sustituir harinas de origen animal en alimentos acuícolas y su inclusión es cada vez mayor debido a su disponibilidad, costo y a la calidad de los perfiles de aminoácidos (de Francesco *et al.* 2004; Kaushik *et al.* 2004; Cruz-Suárez *et al.* 2009). Además de promover altas tasas de supervivencia y crecimiento, ha sido demostrado que el nitrógeno dietario suministrado por ingredientes derivados de plantas, es fisiológicamente incorporado en altas proporciones en el tejido muscular de camarones (Martínez-Rocha *et al.* 2012; Gamboa-Delgado *et al.* 2013). Las proteínas vegetales, por lo tanto, presentan ventajas nutricionales para los organismos acuáticos; sin embargo, predicciones generadas a partir de la reducción de tierra cultivable, y una creciente demanda de productos agrícolas por la creciente población humana, indican un límite o conflicto en la producción agrícola que es exclusivamente orientada a la producción animal. Adicionalmente, algunas especies acuáticas son menos tolerantes que otras a la presencia de altas proporciones de harinas vegetales en sus respectivas dietas (Francis *et al.* 2001). Entre algunas de las características negativas de las harinas de origen vegetal, se incluye la presencia de anti-nutrientes, algunas restricciones en ciertos aminoácidos y generación de enteritis en peces carnívoros. Lo anterior ha limitado ligeramente su uso y se han incrementado los costos debido al procesado adicional para neutralizar los compuestos anti nutricionales o bien para mejorar los perfiles nutricionales. En este contexto, las características nutricionales de varios tipos de microorganismos han generado interés para implementar su uso como ingredientes en dietas balanceadas. La biomasa microbiana generada a partir de diferentes fuentes puede usarse como aditivo (atractante o suplemento) o como ingrediente para sustituir parcialmente otras fuentes de proteína en dietas balanceadas, por ejemplo, en el caso de la

acuicultura, la harina de pescado y la harina de soya. Estudios relativamente recientes han demostrado que la biomasa microbiana intacta, procesada, o los productos específicos extraídos de levaduras, bacterias y microalgas, promueven efectos importantes sobre el crecimiento y generan una modulación inmunológica en larvas y juveniles de organismos acuáticos (Daniels *et al.* 2010; Biswas *et al.* 2012; Macias-Sancho *et al.* 2012; Vidakovic *et al.* 2016). Por otro lado, también se ha reportado que las levaduras y las bacterias fotosintéticas pueden ser exitosamente producidas y usadas para el cultivo de zooplancton y para reemplazar la harina de pescado (Kim & Lee 2000; Olvera *et al.* 2002; Loo *et al.* 2013; Gamboa-Delgado *et al.* 2016). Las tecnologías asociadas a la acuicultura están evidentemente intensificándose y por lo tanto, promoviendo mayores densidades de siembra. Una eficiente respuesta inmune en los animales cultivados representa un aspecto crucial para mantener y mejorar las tasas de crecimiento y la resistencia al estrés en tales sistemas de producción intensiva. En este contexto, el uso de la biomasa microbiana como un agente promotor del crecimiento y salud animal ha generado mayor interés respecto a sus efectos adicionales.

Valor nutricional de los microorganismos y sus componentes celulares

En general, las células completas de microalgas, levaduras y bacterias contienen un alto contenido de proteína en base seca (Tabla 1). El contenido proteico y los perfiles de aminoácidos de muchos microorganismos han sido reportados y algunos de estos son considerados como portadores de un alto valor biológico (Loosli & McDonald 1968, FAO/WHO 1973, Becker 2007). El contenido de lípidos tiende a ser significativamente mayor en la biomasa derivada de microalgas que en la biomasa de bacterias y levaduras. Mientras que las dos últimas son ricas en proteína, pigmentos, co-factores biológicos y vitaminas. Adicionalmente, un aspecto muy importante que ha sido reportado consiste en que el perfil nutricional de bacterias y microalgas puede ser significativamente modificado al usar medios de cultivo específicos y condiciones particulares de crecimiento (Loo *et al.* 2013; Huang & Su 2014). La pared celular de las levaduras está constituida por 25 a 32% del peso celular (Ferreira *et al.* 2010) y algunos tipos de bacterias tienen paredes celulares que resultan más digeribles que aquellas encontradas en las microalgas y levaduras

(Kobayashi & Kurata 1978). A pesar de que las paredes celulares pueden resultar indigeribles para algunos organismos consumidores (Skrede *et al.* 1998; Liu *et al.* 2016), estas también representan una importante fuente de nutrientes debido a que se componen principalmente de polisacáridos (85-88%) y proteína (13%) (Nguyen *et al.* 1998). Compuestos lipídicos tales como lipoglicanos también están presentes en las paredes celulares microbianas, aunque en menores cantidades (Ginsberg *et al.* 2008). Cuando se compara con otros ingredientes disponibles, la biomasa microbiana representa una fuente insuperable de ácidos nucleicos. Por ejemplo, Rumsey *et al.* (1992) reportaron que del 12 al 20% del nitrógeno en la levadura de cerveza *Saccharomyces cerevisiae* (una fuente microbiana ya utilizada en algunas dietas animales), puede estar constituido por nitrógeno derivado de su ácido ribonucleico (ARN). Los efectos de la suplementación de nucleótidos sobre el crecimiento, las respuestas al estrés e inmunológicas, y la palatabilidad de las dietas han sido escasamente estudiadas durante los últimos 30 años (Oliva-Teles 2012; Li & Gatlin 2006 y referencias en citado artículo). Las ventajas y desventajas nutricionales de los nucleótidos son abordadas en las siguientes secciones.

Tabla 1. Características nutricionales generales de microalgas, bacterias, levaduras y harina de pescado. Rangos de composición reportados en base seca.

| | Proteína | Lípidos | Cenizas | Ácidos nucleicos |
|----------------------|----------|---------|---------|------------------|
| Microalgas | 6-62 | 3-45 | 8-43 | 3-8 |
| Levaduras | 45-55 | 1-6 | 5-10 | 6-15 |
| Bacterias | 50-65 | 1-3 | 3-7 | 8-12 |
| Harina de pescado | 59-74 | 8-14 | 10-22 | 0.2-0.6 |

Tomado de Miller & Litsky 1976; Brown *et al.* 1997; Becker 2007, Villarreal-Cavazos 2010; Adedayo *et al.* 2011; NRC 2011; Bi & He 2013; Huang & Su 2014.

Biomasa microbiana como aditivo y como sustituto de la harina de pescado

Microalgas

Microalgas marinas y dulceacuícolas han sido extensivamente producidas como parte de las operaciones de larvicultivo de peces, crustáceos y moluscos. Métodos específicos y bien establecidos han permitido la producción continua de varias especies de microalgas en salas de eclosión y en salas de larvicultivo. Sin embargo, la aplicación de las microalgas como ingredientes en acuicultura no es aún extensiva en parte debido a que la intención de estas técnicas de producción es generar biomasa microalgal sin tratar, es decir, no existe el objetivo de extraer y aislar las proteína de las microalgas (Becker 2007). En contraste, la producción de SCP a partir de varios microorganismos, en particular bacterias y microalgas ha recibido mayor atención y esfuerzos en cuanto a su procesado. Las razones principales que han conllevado a esto son de naturaleza económica dado que la mayoría de los métodos de producción de microalgas todavía demandan un alto número de recursos. Por otro lado, varias dificultades técnicas (inconsistencia en la cantidad y calidad nutricional, alta demanda de energía eléctrica) asociadas a los procedimientos de producción de biomasa de microalgas todavía esperan solución (Nasseri *et al.* 2011). Estudios sobre la factibilidad de aplicación de la SCP derivada a partir de microalgas en nutrición animal y estudios sobre el cultivo de microalgas exclusivamente como fuente de proteína, son muy escasos (Fábregas *et al.* 1985; Mahasneh 1997). No obstante, y en vista de que las proteínas derivadas de las microalgas presentan alta digestibilidad, altos valores biológicos y son comparables a las proteínas vegetales usadas convencionalmente (Becker 2007; Teimouri *et al.* 2013), es posible predecir que en algún punto se iniciará la inclusión dietaria de biomasa de microalgas en los alimentos balanceados. Muchos de estos productos provendrán de bio-refinierías y de industrias que generan microalgas para aislar pigmentos y compuestos específicos, produciendo de esta forma, sub-productos valiosos para la nutrición animal. Especies de microalgas frecuentemente probadas en bioensayos en los cuales se han incluido como aditivos están representadas por *Haematococcus pluvialis*, *Spirulina*, *Chlorella* y *Schizochytrium*. Las especies que pertenecen al último género, son microalgas bien conocidas y explotadas como una fuente renovable de ácidos grasos altamente insaturados. Métodos de producción alternativos muestran un gran potencial para apoyar

futuros incrementos en la producción de biomasa microalgal. Por ejemplo, varias especies de microalgas (*Schizochytrium*, *Chlorella*, *Pavlova*) comparten la habilidad fisiológica para reproducirse bajo condiciones de oscuridad, pero requieren el soporte de una fuente de carbono (crecimiento heterotrófico), situación que reemplaza el uso tradicional de un suministro de luz natural o artificial (crecimiento autotrófico). Perez-Garcia *et al.* (2011) han reportado que bajo ciertas condiciones de crecimiento heterotrófico, la cantidad de biomasa microalgal producida es consistente y reproducible, alcanzando densidades celulares de 50 a 100 gramos de biomasa seca por litro de medio de cultivo. En comparación, este rango de producción es mucho mayor que el máximo posible alcanzado en cultivos autotróficos (30 gramos por litro) y es similar a la producción de biomasa seca de levadura actualmente utilizada en fermentadores comerciales (130 gramos por litro). Una serie de resultados generados a partir de diversos estudios que han utilizado biomasa derivada de microalgas como ingrediente en dietas acuícolas, indican una mayor cantidad de efectos positivos que negativos sobre el crecimiento, la supervivencia, la pigmentación y la respuesta inmune de los organismos acuáticos (Tabla 2).

Levaduras

Las levaduras representan el primer grupo de microorganismos reconocidos como importantes al ser usados como suplementos en dietas para animales (Nasseri *et al.* 2011). Las levaduras y otros hongos unicelulares contienen altos niveles de proteína y han sido tradicionalmente incluidos en varias formulaciones para animales terrestres. La biomasa de diferentes levaduras ha sido también experimentalmente probada en un amplio rango de animales acuáticos. La principal especie utilizada en la fabricación de levaduras comprimidas es la levadura de panificación *Saccharomyces cerevisiae*, cuya producción depende de cultivos puros y melazas. La primera etapa de producción incluye fermentación en serie en confinamiento. La biomasa obtenida es recuperada del fermentador final por centrifugación y un subsecuente filtrado para concentrar las células. La levadura es mezclada con otros ingredientes y después de una extrusión se comercializa en paquetes compactados o como polvo (EPA 1995). Recientes procesos de post-producción se han enfocado en la remoción de las paredes celulares, para así producir un extracto de levadura

con propiedades nutricionales mejoradas para peces y crustáceos (Vidakovic *et al.* 2016; Zhao *et al.* 2017). La levadura de panificación es comúnmente adicionada a las dietas compuestas para animales como una fuente adicional de aminoácidos, vitaminas y para promover efectos positivos sobre la palatabilidad de las dietas, lo cual puede ser atribuido al alto contenido de nucleótidos en las células individuales de levadura. Previamente se ha reportado que hasta el 20% del nitrógeno total en *Saccharomyces cerevisiae*, puede estar compuesto de bases púricas y pirimidínicas de las nucleoproteínas (Rumsey *et al.* 1992). Aunque una alta digestibilidad de las levaduras ha sido demostrada, las levaduras no pueden ser utilizadas para reemplazar toda la proteína disponible en las dietas para organismos acuáticos. Los niveles de inclusión inicialmente recomendados oscilaban entre 5 y 10% para peces y de 2 a 5 % para camarones (Hertrampf & Piedad-Pascual 2000). Mayores porcentajes de inclusión han sido probados con éxito, pero en niveles cercanos a la sustitución completa de la harina de pescado, se genera menor palatabilidad y menor crecimiento en peces. Rumsey *et al.* (1991) reportaron una disminución en el consumo de alimento en trucha arcoíris alimentada con dietas formuladas con altos niveles de levadura; dietas con contenidos mayores a 50% no fueron aceptadas. Sin embargo, varios estudios recientes han mostrado que los niveles dietarios de levadura pueden incrementarse sustancialmente después de provocar el rompimiento de la pared celular de las levaduras y al garantizar que las dietas se encuentren nutricionalmente bien balanceadas (Tabla 3).

Bacterias y material biofloculado seco

Varias especies de bacterias han generado interés debido a su gran adaptabilidad para ser cultivadas masivamente y también debido a su potencial de uso en acuicultura. Estudios preliminares han reportado acerca de la producción y aplicación exitosa de la bacteria fotosintética *Rhodospseudomonas palustris*, aunque otras especies han sido también investigadas en cuanto a su producción y desempeño nutricional (Kim & Lee 2000; Loo *et al.* 2013). Por otro lado, bacterias metanótrofas producidas con gas natural como fuente de carbono, han sido también investigadas como fuentes alternativas de nutrientes para animales terrestres y acuáticos. Entre estas bacterias, *Methylococcus capsulatus* ha sido probada en diferentes animales monogástricos terrestres y acuáticos (Øverland *et al.* 2010).

Gamboa Delgado, J. et al. 2017. La biomasa microbiana como ingrediente en la nutrición acuícola. En: Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Nieto-López, M.G., Villarreal-Cavazos, D. A., Gamboa-Delgado, J., López Acuña, L.M. y Galaviz-Espinoza, M. (Eds), Investigación y Desarrollo en Nutrición Acuicola Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México, pp. 213-263. ISBN 978-607-27-0822-8.

Bioensayos realizados en peces han demostrado que la calidad nutricional de una harina derivada de esta especie de bacteria se desempeña bien como fuente alternativa de proteína para reemplazar la harina de pescado en dietas formuladas para salmón del Atlántico (Aas *et al.* 2006). Varias iniciativas comerciales se han orientado a la producción de biomasa bacteriana a partir de desechos generados por las industrias de los alimentos y agrícolas. Uno de los principales cuellos de botella para estas iniciativas comerciales ha sido la dificultad para estandarizar un producto final nutricionalmente consistente que pueda ser ofrecido como un reemplazo de la harina de pescado o como aditivos dietarios. Sin embargo, ensayos preliminares han demostrado que la inclusión dietaria de esta biomasa microbiana se ha usado exitosamente para promover un mejor crecimiento, supervivencia y respuesta inmune en peces y crustáceos (Tabla 4). Por otro lado, la diversificación de las tecnologías orientadas a la producción de organismos acuáticos ha conllevado al desarrollo de nuevas metodologías encaminadas a promover una mayor producción en menores áreas. Entre estos métodos de producción alternativos, los sistemas basados en el fomento de comunidades microbianas (bioflóculos o biofloc) han sido aplicados para el cultivo de camarón y otros organismos. El principio nutricional de estos sistemas se basa en la formación de material biofloculado, principalmente conformado por agregados bacterianos. Investigaciones recientes sobre este tópico han sido reportadas en varios artículos de revisión e investigación (De Schryver *et al.* 2008; Avnimelech 2009; Emerenciano *et al.* 2012). Los sistemas basados en biofloc pueden ser de naturaleza autotrófica o heterotrófica, dependiendo de la presencia dominante de microalgas, bacterias, o ambas. Una diversa comunidad de microorganismos es frecuentemente fomentada por medio de inóculos y sustratos específicos. El material biofloculado, a su vez, provee sustrato para otros organismos y consiste en una nutritiva fuente adicional de alimento para los organismos en cultivo. Además de tratarse de un alimento de buena calidad y con disponibilidad continua, esta biomasa también ejerce un impacto positivo en la calidad del agua de los entornos de cultivo. Al final de los ciclos de producción en estos sistemas, el material biofloculado remanente puede representar un subproducto útil. De forma similar, las plantas de tratamiento para efluentes de algunas industrias, puede generar importantes cantidades de material biofloculado. Algunos estudios se han dirigido a investigar los efectos de la inclusión de material biofloculado seco en dietas para organismos acuáticos. Tales estudios

proponen aplicaciones nutricionales interesantes para un amplio rango de sub-productos generados por las industrias de los alimentos y bebidas, las cuales generan material microbiano biofloculado durante sus procesos de producción.

Tabla 2. Géneros y especies de microalgas usadas en algunos estudios nutricionales, niveles de inclusión de biomasa y principales efectos reportados en peces y crustáceos.

| Organismo de prueba | Microalga y método de producción | Nivel de inclusión dietario | Ventajas | Desventajas | Referencia |
|---|--|---|---|---|-----------------------------|
| Carpín <i>Carassius carassius</i> | <i>Chlorella</i> Estanques abiertos, biomasa liofilizada | 0, 75 y 100% de reemplazo de HP | Inclusión de la biomasa de microalga incrementó el crecimiento, la utilización del alimento y la actividad amilasa | Cariopcinosis en hepatocitos | Shi <i>et al.</i> 2017 |
| Dorada <i>Sparus aurata</i> | <i>Scenedesmus almeriensis</i> Foto-reactores tubulares a gran escala | 12, 20, 25 y 39 % del peso de la dieta | Todas las dietas produjeron TC similares, utilización de la proteína y actividad enzimática similares. Incremento en capacidad de absorción intestinal en peces que recibieron dietas con microalgas | El análisis de costos actual limita el uso a gran escala de esta microalga en alimentos para peces | Vizcaíno <i>et al.</i> 2014 |
| Trucha arcoiris <i>Oncorhynchus mykiss</i> | <i>Spirulina platensis</i> Producida industrialmente, | 2.5, 5.0, 7.5 y 10 % de una dieta de referencia | Sin diferencias significativas en crecimiento y TCA entre tratamientos. Similares contenidos de proteína en musculo | La mayoría de las dietas requirieron suplementación de metionina y lisina Menor contenido de lípidos | Teimouri <i>et al.</i> 2016 |

| | | | | | |
|--|---|---|---|--|----------------------------------|
| | comercialmente disponible | | Disminuyó la peroxidación de lípidos en filete al aumentar la cantidad de dietaria de <i>Spirulina</i> | en filete respecto a peces control | |
| Huayaípe <i>Seriola rivoliana</i> | <i>Haematococcus pluviialis</i> Subproducto derivado de la producción de astaxantina | HP reemplazada por una mezcla de <i>H. pluviialis</i> , aislado de soya y harina de calamar | Sin diferencias significativas en consumo de alimento, crecimiento y TCA en comparación a una dieta con HP, calamar y 5% <i>S. limacinum</i> Mayor retención de lípidos en dietas con 80% de ingredientes reemplazando HP. Menor pérdida de DHA. No se observó enteritis | La mayoría de las dietas requirieron suplementación de aminoácidos Peces alimentados con dieta conteniendo solo HP mostraron mayor retención de nitrógeno | Kissinger <i>et al.</i> 2016 |
| | <i>Schizochytrium limacinum</i> Producida industrialmente | <i>H. pluviialis</i> 2, 6, 11 y 14% de la dieta <i>S. limacinum</i> 5% de la dieta | | Los niveles de EPA disminuyeron al disminuir la HP | |
| Mero <i>Epinephelus lanceolatus</i> | <i>Schizochytrium limacinum</i> Producida industrialmente | 20, 40 y 80% de las fuentes de proteína marina contenidas en la dieta | La incorporación de esta microalga que aporta altas cantidades de lípidos permitió reemplazar completamente el aceite de pescado en las dietas con 40 y 80% de reemplazo. Mezcla de ingredientes útil para reemplazar 40% | TC, TCA, consumo de alimento, retención de N y lípidos se redujeron significativamente en peces alimentados con dietas con 80% de biomasa de | García-Ortega <i>et al.</i> 2016 |

| | | | | | |
|---|---|--|---|---|----------------------------|
| | | | de las proteínas de origen marino | microalga | |
| | | | Crecimiento y utilización de alimento similares entre tratamientos, similares índices hepato-somáticos, aumento del contenido de ácidos grasos con el aumento del nivel de inclusión en la dieta | El análisis de AA en dietas indicó que la metionina fue limitante en la dieta con 80% de biomasa de microalga | |
| | | | | Enteritis observada a altos niveles de remplazo | |
| Tilapia <i>Oreochromis niloticus</i> | <i>Spirulina</i> , <i>Chlorella</i> and <i>Schizochytrium</i> Producida industrialmente, comercialmente disponible | 30 % de una dieta de referencia conteniendo HP | Los coeficientes de digestibilidad aparente para AA aportados por ambas microalgas fueron similares a los AA de la harina de pescado <i>Spirulina</i> representa una buena proteína alternativa y <i>Schizochytrium</i> puede sustituir el aceite de pescado o los ácidos grasos insaturados | - | Sarker <i>et al.</i> 2016 |
| Lobina europea <i>Dicentrarchus labrax</i> | <i>Isochrysis</i> sp. Foto-bioreactores tipo panel, pared | 10 y 20% de la HP disponible en dieta | Similar desempeño en el crecimiento entre tratamientos | Menor digestibilidad de los lípidos y energía en peces recibiendo el mayor nivel de inclusión de microalga | Tibaldi <i>et al.</i> 2015 |

| verde | | | | | | |
|---|---|--|--|---|--|---|
| Camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> | <i>Spirulina</i> sp. and <i>Nannochloropsis oculata</i> Comercialmente disponible | 50, 66, 75 y 100% del N dietario suministrado por HP | El reemplazo de 50% de HP mediante cada una de las microalgas, generó TC y supervivencias similares | El reemplazo completo de HP con ambas microalgas causó una reducción significativa en el peso final | | Gamboa-Delgado <i>et al.</i> <i>In press</i> |
| Camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> | <i>Schizochytrium</i> y <i>Grammatophora</i> Producida en cultivos en lote | 5 y 10 % del N dietario suministrado por HP | Las dietas suplementadas con 5% de <i>Schizochytrium</i> sp. generaron mayor crecimiento que una dieta de referencia (100% HP) | Contenido de cenizas muy alto (50-55%) en ambos tipos de biomasa microalgal | | Pacheco-Vega <i>et al.</i> 2017 |
| | | | La suplementación con <i>Grammatophora</i> sp. generó similares tasas de crecimiento y supervivencia | | | |
| Camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> | <i>Nanofrustulum</i> <i>Tetraselmis</i> Biomasa sin lípidos generada | 25 y 40 % de la proteína suministrada por la HP | Similares TC y tasas de supervivencia | Menor contenido de proteína en animales alimentados con mayores niveles de inclusión de biomasa de microalgas | | Kiron <i>et al.</i> 2012 |

| en instalación de biocombustibles | | | | | |
|---|--|--|---|---|--------------------------|
| Camarón tigre <i>Penaeus monodon</i> | <i>Entomoneis</i> <i>Melosira</i> <i>Stauroneis</i> <i>Chlorella</i> <i>Dunaliella</i> <i>Nannochloropsis</i> | 5% de la biomasa de cada especie otorgada en peso seco | Tasas de supervivencia mejoradas y significativamente mayor para <i>Melosira sp.</i> Pesos finales, índices de condición y perfiles de ácidos grasos y amino ácidos en músculo similares entre dietas | - | Li <i>et al.</i> 2016 |
| Policultivo de clorofíceas. Aisladas del medio natural y cultivadas | | | | | |
| | | | El músculo de camarones alimentados con microalgas mostró mayor contenido de astaxantina, mayores tasas de fagocitosis | | |
| Camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> | Combinación de diferentes especies cultivadas en agua verde | 10, 20, 30 y 40 % de la HP | Similares factores de conversión alimenticia en los tratamientos al comparar con el control. Mayor pigmentación en musculo al aumentar el nivel de microalgas en dietas | Las TC de los animales disminuyeron al incrementar los niveles dietarios de microalgas | Basri <i>et al.</i> 2015 |
| Camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> | <i>Haematococcus pluviialis</i> Subproducto de la | 12.5, 25, 37.5 y 50% de la HP | Reemplazo de 12.5% incrementó la tasa de crecimiento y redujo la TCA. Mayor pigmentación y niveles de astaxantina libre en musculo | Los efectos de altos niveles de inclusión de microalgas sobre la palatabilidad no se han evaluado | Ju <i>et al.</i> 2012 |

| | | | | | |
|---|---|--|--|--|----------------------------------|
| | extracción de astaxantina | | | | |
| Camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> | <i>Arthrospira</i> (<i>Spirulina platensis</i>) Foto-biorreactores expuestos | 25, 50, 75 y 100 % de la HP disponible | Sin diferencias significativas en las TC y supervivencia entre animales alimentados hasta con 75% de reemplazo de HP. Una sustitución del 25% incrementó el número de hemocitos granulares circulantes | La sustitución completa de HP conllevó a una reducción en las tasas de crecimiento, aumento en la TCA y deficiencias en AA | Macias-Sancho <i>et al.</i> 2014 |

HP: Harina de pescado, TC: Tasas de crecimiento, TCA: Tasas de conversión alimenticia, AA: Aminoácidos, N: Nitrógeno

Tabla 3. Diferentes tipos de biomasa de levaduras y sus efectos como ingredientes alternativos en alimentos acuícolas experimentales para peces y crustáceos

| Organismo de prueba | Levadura usada y método de producción | Nivel de inclusion dietario | Ventajas | Desventajas | Referencia |
|--|--|---|---|--|------------------------------|
| Tilapia del Nilo <i>Oreochromis niloticus</i> | Extracto de levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Mezcla orgánica certificada como fuente de proteína y aditivo funcional. | 1, 2, 4, y 8% de la dieta | Incremento de 33% en el consumo de alimento y 29% en TC en animales alimentados con el nivel mayor de reemplazo. Supervivencia, TCAy retención de proteína no fueron afectadas. Peces desafiados con <i>Aeromonas</i> mostraron similar supervivencia y respuesta inmune que animales control | Disminución lineal de los coeficientes de digestibilidad de la proteína y energía al aumentar la suplementación con levadura | Berto <i>et al.</i> 2015 |
| Trucha alpina <i>Salvelinus alpinus</i> | <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Levadura no procesada Extracto de | Cada ingrediente reemplazó el 40% de HP | TC, retención de proteína y AA no fueron afectados en peces recibiendo cada tipo de ingrediente en relación a peces control Similares TC y digestibilidad en peces recibiendo <i>Rhizopus oryzae</i> | Peces alimentados con levadura intacta exhibieron menor digestibilidad para proteína y AA Reducción en la función de barrera intestinal | Vidakovic <i>et al.</i> 2016 |

| | | | | | |
|---|--|---|--|---|---------------------------------|
| | levadura | | <i>S. cerevisiae</i> sin procesar aparenta ser una promisorio fuente de proteína para este pez | | |
| | Hongo <i>Rhizopus oryzae</i> | | | | |
| Cobia <i>Rachycentron canadum</i> | Mezcla certificada orgánica usada como fuente de proteína y aditivo funcional: nucleótidos y péptidos. | Proteína derivada de levadura reemplazando HP a 25, 50, 75 y 100% | Cobias alimentadas con la dieta conteniendo 25% de proteína de levadura mostraron similares TC y TCA que los peces control (100% HP) | La TC se redujo y aumentó la TCA al incrementar los niveles dietarios de proteína derivada de levadura por arriba del 25% | Lunger <i>et al.</i> 2006 |
| Tilapia <i>Oreochromis mossambicus</i> | Levadura <i>Torula Candida utilis</i> Comercialmente disponible | 25, 30, 35, 40 y 45% de la proteína dietaria | Mejor TCA, TEP y utilización del N al usar dietas con 25% de levadura torula. Una inclusión de 30% generó mayores TC. Digestibilidad de la proteína mayor a 80%. Posible reemplazar hasta 65% de la proteína animal con una mezcla de proteínas vegetales, incluyendo 30% de torula, sin efectos adversos en cultivo y beneficio económico | - | Olvera-Novoa <i>et al.</i> 2002 |
| Tilapia del Nilo | <i>Kluyveromyces</i> | 15 % del peso | Similar contenido de lípidos en | Mayor peso final en dietas | Ribeiro <i>et al.</i> 2014 |

| | | | | | |
|---|---|---------------------------------------|---|---------|----------------------------|
| <i>Oreochromis niloticus</i> | <i>marxianus</i> | de la dieta | hígado y músculo | control | |
| | Fermentación discontinua | | Mayor concentración de proteína en el filete. Similar contenido de AGAI en filete | | |
| Lobina híbrida <i>Morone chrysops</i> x <i>M. saxatilis</i> | Levadura de panificación <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 1, 2 y 4 % de la dieta | Ganancia de peso y TCA se incrementaron en peces alimentados con dietas suplementadas Exposición a <i>Streptococcus</i> no causó mortalidad. Menores signos de enfermedad en peces recibiendo dietas con 2 y 4% de levadura | - | Li & Gatlin 2003 |
| Panga <i>Pangasianodon hypophthalmus</i> x <i>Pangasius bocourti</i> | <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Compañía cervecera | 30, 45, 60 y 75 % de la HP disponible | El peso final y la TCA indicaron que la levadura puede usarse para reemplazar hasta 45% de la HP Similares eficiencias de alimentación, perfil hematológico y calidad de carne entre los tratamientos Incremento de la actividad lisozima | - | Pongpet <i>et al.</i> 2015 |

| | | | | | |
|---|--|---|---|--|-----------------------------------|
| Camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> | Levadura <i>Torula Candida utilis</i> Producida industrialmente | 7.5, 15, 30 y 60 % del nitrógeno dietario aportado por HP | Similares tasas de supervivencia entre tratamientos. Mayor TC en animales alimentados con dietas conteniendo levadura y HP que en animales alimentados con dietas con HP Asimilación del N y materia seca total a partir de la levadura torula se incrementó en relación al aumento de proporciones dietarias Levadura apta para sustituir hasta 60% de la HP | Costos de producción de este ingrediente aún son relativamente altos. Disminución en la incorporación de N en tejido muscular a un nivel de reemplazo del 60% | Gamboa-Delgado <i>et al.</i> 2016 |
| Camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> | Extracto de levadura aplicado para reemplazar HP Producto comercial | 15, 30, 45, 60 y 100% de la HP | Similar composición del musculo entre tratamientos. Todos los niveles de reemplazo causaron mayor digestibilidad de la proteína que la dieta basal (25% HP) Hasta 45% de la HP puede ser reemplazada por extracto de levadura | - | Zhao <i>et al.</i> 2017 |
| Langosta | Levadura y granos | Reemplazos | No se detectaron diferencias | Se necesita mayor | Muzinic <i>et al.</i> 2004 |

| | | | | |
|------------------------|---------------|-----------------|---------------------------------------|---------------------------|
| australiana | de destilería | parciales y | significativas en peso final ni | información acerca de los |
| <i>Cherax</i> | | totales de HP y | supervivencia | requerimientos de AA en |
| <i>quadricarinatus</i> | | harina de | | <i>Cherax</i> |
| | | camarón | La HP y la harina de camarón pueden | |
| | | | ser totalmente reemplazadas con | |
| | | | harina de soya y granos de destilería | |
| | | | con levadura | |

HP: Harina de pescado, TC: Tasas de crecimiento, TCA: Tasa de conversión alimenticia, TEP: Tasas de eficiencia proteica, AGAI: Ácidos grasos altamente insaturados, N: Nitrógeno.

Tabla 4. Diferentes fuentes de biomasa bacteriana y mezclas complejas microbianas de material seco biofloculado y sus efectos nutricionales al ser incluidos como ingredientes en dietas experimentales para peces y crustáceos.

| Organismo de prueba | Material microbiano utilizado y método de producción | Nivel de inclusion dietario | Ventajas | Desventajas | Referencia |
|--|--|--|---|---|------------------------------|
| Salmón del Atlántico <i>Salmo salar</i> | <i>Methylococcus capsulatus</i> Producida a base de metano como fuente de carbono | 30% de una dieta con HP y harina de soya | El consumo de alimento acumulado no fue diferente entre tratamientos La biomasa microbiana puede ser usada para prevenir la enteritis inducida por la harina de soya | La digestibilidad de la proteína cruda y lípidos se redujo con la inclusión de biomasa microbiana | Romarheim <i>et al.</i> 2011 |
| Salmón del Atlántico <i>Salmo salar</i> | <i>Methylococcus capsulatus</i> Producida a base de metano como fuente de carbono | 25 y 50% de los AA disponibles | La digestibilidad de la arginina fue mejorada al incrementar los niveles de biomasa microbiana | La digestibilidad del nitrógeno disminuyó al incremental el nivel dietario de biomasa bacteriana | Skrede <i>et al.</i> 1998 |
| Salmón del Atlántico | <i>Methylococcus capsulatus</i> | Harina de proteína | Las TCA fueron significativamente mayores en animales alimentados con | Las TCA fueron significativamente | Aas <i>et al.</i> 2006 |

| | | | | | |
|---|--|---|---|---|---------------------------|
| <i>Salmo salar</i> | <i>Alcaligenes acidovorans</i> <i>Bacillus brevis</i> <i>B. firmus</i> | bacteriana incluida a 4.5, 9, 18 y 36% de la dieta | dietas conteniendo 18 y 36% de reemplazo El incremento en los niveles dietarios de proteína de biomasa microbiana redujo el N branquial y renal y la energía invertida en mantenimiento Fuente de proteína alternativa viable para reemplazar la HP en alimento para salmón | mayores en los individuos del tratamiento 36% La digestibilidad del N, AA, lípidos, energía y cobre se redujeron significativamente al incrementar los niveles de proteína derivada de biomasa bacteriana | |
| Pámpano de Florida <i>Trachinotus carolinus</i> | Biomasa bacteriana seca fermentada | 0, 4, 9 y 13% de la HP en dieta | No se observaron diferencias significativas en el peso final de los peces Hasta 13% de biomasa bacteriana seca fermentada pudo ser incluida en dietas para pámpano sin afectar negativamente el crecimiento | - | Rhodes <i>et al.</i> 2015 |
| Trucha arcoíris <i>Oncorhynchus</i> | Biomasa bacteriana Comercialmente | Biomasa bacteriana reemplazó 25, | La dieta con 25 % de biomasa bacteriana no influenció las TC, el consumo de alimento, ni la eficiencia de | Reducción en las TC en al usar los mayores niveles de biomasa bacteriana. | Perera <i>et al.</i> 1995 |

| | | | | | |
|---|--|---|--|---|------------------------------|
| <i>mykiss</i> | disponible | 63 y 100% de la HP | absorción al comparar con una dieta con 100% HP | Disminución en la absorción de nitrógeno. Aumento en la excreción de urea | |
| Camarón tigre <i>Penaeus monodon</i> | Biomasa microbiana/Bioactivo microbiano Novacq™ Biomasa bacteriana producida a partir de sustratos de bajo costo | 5 y 10% del peso de la dieta | La inclusión dietaria de biomasa microbiana compensó el reemplazo de HP y aceite de pescado. Mayores TC reportadas en camarones alimentados con dietas conteniendo el bioactivo microbiano | - | Glencross <i>et al.</i> 2014 |
| Camarón tigre <i>Penaeus monodon</i> | Biomasa microbiana/Bioactivo microbiano Novacq™ | 10% de una dieta suministrada en tres diferentes raciones | La adición de biomasa microbiana a la dieta generó mejoras significativas en el crecimiento (en general, 26% de incremento) en todos los tratamientos | - | Arnold <i>et al.</i> 2016 |
| Camarón tigre <i>Penaeus monodon</i> | Producto bioactivo derivado de biomasa microbiana Novacq™ | 5.5 % del régimen dietario para maduración | - | La inclusión de biomasa microbiana en las dietas para maduración no mejoró el desempeño | Goodall <i>et al.</i> 2016 |

reproductivo

| | | | | | |
|---|--|---|--|--|-----------------------------------|
| Camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> | Material biofloculado seco obtenido como subproducto de granjas de camarón | 7.5 a 30% de la HP disponible | La supervivencia, ganancia de peso y TCA fueron significativamente mejoradas en mediante el tratamiento con 30% de harina de biofloc | - | Dantas <i>et al.</i> 2016 |
| | | | Ingrediente referido como una alternativa coso-efectiva derivada de un subproducto | | |
| Camarón blanco <i>Litopenaeus vannamei</i> | Material biofloculado seco obtenido de un sistema experimental para crianza de tilapia | 25, 50, 75 y 100% del nitrógeno dietario suministrado por la HP | La dieta que suministró 25% de nitrógeno a partir del biofloc, fue la única que generó crecimiento comparable a la dieta con 100% HP | Las TC disminuyeron al suministrar dietas hasta con 50 y 75% de biofloc. La incorporación del nitrógeno dietario aportado por el biofloc seco al músculo fue menor que el aportado por HP. | Gamboa-Delgado <i>et al.</i> 2017 |

HP: Harina de pescado, TC: Tasas de crecimiento, TCA: Tasas de conversión alimenticia, AA: Aminoácidos. N: Nitrógeno

Metodologías para evaluar el desempeño nutricional de la biomasa microbiana

Atractabilidad y palatabilidad

Una buena atractabilidad y palatabilidad dietaria son dos características organolépticas que conducen al inicio y continuación de la respuesta alimenticia en la mayoría de los animales acuáticos. La aguda quimo-recepción de peces y crustáceos permite una rápida detección de sustancias de bajo peso molecular, tales como aminoácidos y ácidos nucleicos (Grasso & Basil 2002; Hara 2005; Rønnestad *et al.* 2013). La mayoría de las sustancias que estimulan a las células sensoriales olfativas y gustativas de peces, se caracterizan por tener bajo peso molecular (<1000 Da) y por tener características nitrogenadas y anfóteras (Hara 1993). Todas estas características químicas aplican a los aminoácidos, betaínas y nucleótidos. El alto contenido de nucleótidos en los microorganismos los convierte en agentes eficientes para mejorar la palatabilidad de una dieta. Los extractos de levadura son frecuentemente utilizados en la industria de los alimentos como mejoradores del sabor, en particular debido al alto contenido de ácido glutámico y nucleótidos (*e.g.* guanosin-monofosfato) conocidos por sus propiedades estimulantes ejercidas sobre peces (Ferreira *et al.* 2010; Berto *et al.* 2015; Li & Gatlin 2006); sin embargo, altas concentraciones dietarias de ácidos nucleicos pueden afectar negativamente la palatabilidad de las dietas. Lunger *et al.* (2006) reportaron que juveniles de cobia alimentados con dietas en las cuales la harina de pescado se reemplazó por completo por una proteína de levadura, presentaron bajas tasas de ingestión y bajas tasas de crecimiento.

Digestibilidad

La estimación de los coeficientes de digestibilidad aparente provee un indicador acerca de la disponibilidad de los nutrientes contenidos en un ingrediente específico y por lo tanto puede utilizarse como parte de los criterios de selección de ingredientes alternativos y tradicionales. La información generada a partir de estos coeficientes facilita la selección de ingredientes para mejorar el valor nutricional de los alimentos, así como para disminuir los costos de producción. La digestibilidad de un ingrediente o insumo depende principalmente

de su composición química y de la fisiología digestiva de la especie a la cual se alimenta (Brunson *et al.* 1997). Varios estudios han sido desarrollados para explorar la digestibilidad de diferentes fuentes de biomasa microbiana seca en varias especies de animales acuáticos. En general, estos estudios han demostrado que la biomasa microbiana tiende a mostrar altos coeficientes aparentes de digestibilidad para la materia seca y para la proteína. Por ejemplo, en bioensayos realizados con camarón blanco, se ha demostrado que algunos tipos de levaduras generan coeficientes de digestibilidad aparentes que resultan similares a aquellos obtenidos para la harina de pescado (82 a 86%, para la proteína cruda) (Cruz-Suárez *et al.* 2009; Villarreal-Cavazos 2011). En peces, Oliva-Teles & Goncalves (2001) reportaron que juveniles de lobina marina (*Dicentrarchus labrax*) alimentados con dietas formuladas con levadura *Saccharomyces cerevisiae*, mostraron coeficientes de digestibilidad altos para la materia seca (72 a 86%), proteína (87 a 93 %) y energía (82 a 95%); sin embargo, los coeficientes para materia seca y energía disminuyeron significativamente al aumentar los niveles dietarios de levadura. La fragmentación de la pared celular microbiana incrementa significativamente el valor nutricional de las levaduras en peces y crustáceos. Zhao *et al.* (2017) demostraron recientemente que al reemplazar toda la harina de pescado por un extracto de levadura en dietas para camarón, fue todavía posible mantener altos coeficientes de digestibilidad para la materia seca (81%) y la proteína cruda (93%), tal efecto puede ser atribuido a la remoción de las paredes celulares. Rumsey *et al.* (1991) previamente reportaron un efecto similar en truchas, en donde la digestibilidad del nitrógeno se incrementó al remover todo el material derivado de la pared celular y al aplicar una subsecuente separación del nitrógeno en fracciones de aminoácidos y ácidos nucleicos. En el caso de la biomasa derivada de bacterias y microalgas, Skrede *et al.* (1998) reemplazaron 25 y 50% de los aminoácidos dietarios de un alimento, con proteína derivada de bacterias (*Methylococcus capsulatus*, *Alcaligenes acidovorans*, *Bacillus brevis* y *B. firmus*). Estas bacterias fueron cultivadas usando gas natural como fuente de carbono, para posteriormente evaluar su digestibilidad en salmón del Atlántico. La digestibilidad de los aminoácidos estuvo en un rango de 52 a 92%, y ésta disminuyó consistentemente al aumentar los niveles dietarios de proteína bacteriana, excepto para el aminoácido arginina. En un estudio reciente, Sarker *et al.* (2016) desarrollaron un experimento con tilapia del Nilo y reportaron

una alta digestibilidad de los ácidos grasos (57-95%) y los aminoácidos (86-94%), respectivamente suministrados por biomasa de microalgas *Schizochytrium* y *Spirulina*.

Asimilación y contribución al crecimiento

El origen de los nutrientes suministrados por diferentes ingredientes y su incorporación final en el tejido de los animales en crecimiento pueden ser evaluados mediante varias metodologías analíticas. Aunque algunos métodos aplicados en crustáceos se han basado en la estimación de las eficiencias de asimilación de la materia orgánica (Condrey *et al.* 1972), las técnicas más frecuentemente aplicadas para estimar la asimilación de nutrientes están representadas por metodologías que utilizan mediciones de radio-isótopos o isótopos estables. Tales técnicas isotópicas surgieron en las ciencias geológicas y son ahora utilizadas ampliamente en estudios de ecología y nutrición. En nutrición acuícola, las metodologías isotópicas han permitido elucidar la utilización fisiológica de nutrientes derivados de ingredientes alternativos a la harina de pescado y derivados de fuentes alternativas de proteína para organismos acuáticos (Conceição *et al.* 2007; Le Vay & Gamboa-Delgado 2011). La aplicación de isótopos estables se basa en la determinación de las abundancias naturales de isótopos de carbono y nitrógeno (por ejemplo, ^{12}C y ^{13}C para carbono, ^{14}N y ^{15}N para nitrógeno), entre varios otros elementos. Tales abundancias naturales tienden a ser consistentes en diversos tipos de alimento o ingredientes y estas firmas isotópicas específicas son transferidas a los tejidos de los organismos consumidores. Estas características permiten diseñar estudios orientados a la determinación del origen y destino de nutrientes. Al integrar los valores isotópicos de los animales consumidores y sus dietas en modelos de mezclado isotópico (modelos de balance de masa), es posible obtener un indicador de las proporciones relativas de nutrientes aportadas al crecimiento de un organismo (Phillips & Gregg 2001; Phillips 2012). En una serie de estudios realizados en nuestro laboratorio, se han aplicado análisis isotópicos de nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$), con el objetivo de evaluar en camarón blanco del Pacífico las contribuciones proporcionales de nitrógeno dietario aportado por diversos tipos de proteína microbiana, la cual ha sido suministrada en forma de biomasa de microalgas, levadura y harina de bioflóculos (Tabla 5). En estos bioensayos, los animales son alimentados con dietas formuladas con diferentes

proporciones de una harina de pescado de referencia y diferentes proporciones de ingredientes derivados de biomasa microbiana. Los ingredientes son seleccionados en función de sus propiedades nutricionales, pero también tomando en cuenta sus valores isotópicos naturales de nitrógeno, los cuales deben de ser diferentes a los de la harina de pescado para facilitar subsecuentes estimaciones.

Tabla 5. Eficiencias de asimilación relativas del nitrógeno dietario aportado por diferentes tipos de biomasa microbiana (BM) y aportado por harina de pescado (HP). Valores porcentuales estimados a partir de análisis isotópicos de nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$).

| Microorganismo / Biomasa microbiana | Proporción en dieta (%) | | Contribución al crecimiento tisular (%) | | Referencia |
|---|-------------------------------|-----------------|---|-----------------|--|
| | HP | BM | HP | BM | |
| Levadura <i>Torula</i> <i>Candida utilis</i> | 85 | 15 ^a | 86 | 14 ^a | Gamboa-Delgado <i>et al.</i> 2016 |
| | 70 | 30 ^a | 73 | 27 ^a | |
| | 40 | 60 ^a | 49 | 51 ^b | |
| Microalgas | | | | | |
| <i>Spirulina</i> + | 33 | 33 ^a | 36 | 50 ^b | Gamboa-Delgado <i>et al.</i> |
| <i>Nannochloropsis</i> <i>oculata</i> | | 33 ^a | | 14 ^b | <i>Submitted</i> |
| Microalgas | | | | | |
| <i>Grammatophora</i> | 90 | 10 ^a | 93 | 7 ^a | Pacheco-Vega <i>et al.</i> <i>In press</i> |
| <i>Schizochytrium</i> | 90 | 10 ^a | 92 | 8 ^a | |
| | 75 | 25 ^a | 94 | 6 ^b | |

| | | | | | |
|-----------------------------------|----|-----------------|----|-----------------|-----------------------------------|
| Harina de biofloc | | | | | |
| derivada de un cultivo de tilapia | 50 | 50 ^a | 59 | 41 ^a | Gamboa-Delgado <i>et al.</i> 2017 |
| | 25 | 75 ^a | 36 | 64 ^b | |

* Superíndices indican diferencias significativas (pruebas de bondad de ajuste Chi-cuadrada) entre las contribuciones esperadas (dietas) y observadas (tejido muscular) de nitrógeno dietario incorporado desde los diferentes ingredientes de origen microbiano.

Eventualmente, análisis isotópicos de nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$) son aplicados a ingredientes y tejido muscular para estimar las contribuciones proporcionales de nitrógeno dietario suministrado por los ingredientes al crecimiento del camarón. En general, los resultados generados a partir de estos bioensayos indican que las proteínas de origen microbiano son asimiladas rápidamente y además son incorporadas en el tejido muscular en proporciones que son frecuentemente similares a las proporciones de biomasa microbiana incluidas en las dietas experimentales (Tabla 5). La biomasa producida a partir de las microalgas *Spirulina* y *Nannochloropsis* contiene altos niveles de proteína cruda (59 y 43%); sin embargo, solamente el nitrógeno dietario aportado por *Spirulina* contribuyó al crecimiento en una magnitud mayor que la harina de pescado. Lo anterior se debe posiblemente a que el perfil de aminoácidos de la *Spirulina* es más apropiado para el camarón que el perfil de la biomasa de *Nannochloropsis*. Resultados obtenidos de estos y otros estudios han indicado que al sustituir la harina de pescado en altos niveles ó incluso completamente por algún tipo de biomasa microbiana, se genera una disminución en las proporciones de nitrógeno microbiano contribuyente al crecimiento, así como una disminución en las tasas de crecimiento de los animales consumidores. Dietas formuladas con diferentes niveles de levadura *Torula* (7.5, 15, 30, 60%) sustituyendo a la harina de pescado, generaron crecimiento similar o mayor al promovido por una dieta control conteniendo solamente harina de pescado como fuente de proteína. Las proporciones de aporte de nitrógeno dietario al crecimiento muscular fueron similares a las proporciones establecidas en las dietas, excepto para la sustitución de 60% de harina de pescado, en donde la mayor contribución provino de este ingrediente y no de la levadura. La sustitución total de

Gamboa Delgado, J. et al. 2017. La biomasa microbiana como ingrediente en la nutrición acuícola. En: Cruz-Suárez, L.E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Nieto-López, M.G., Villarreal-Cavazos, D. A., Gamboa-Delgado, J., López Acuña, L.M. y Galaviz-Espinoza, M. (Eds), Investigación y Desarrollo en Nutrición Acuícola Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México, pp. 213-263. ISBN 978-607-27-0822-8.

harina de pescado por *Torula*, generó una ganancia de peso significativamente menor que el resto de las dietas. En el caso de la harina obtenida a partir de bioflóculos bacterianos, ésta presentó un nivel de proteína cruda de 24%, el cual es relativamente bajo comparado con la biomasa de levadura *Torula*, pero mayor al estimado en algunas microalgas (*Schizochytrium*). El material biofloculado proveniente de diferentes fuentes (granjas acuícolas, plantas de tratamiento) puede ser extremadamente variable en cuanto a sus propiedades bromatológicas.

Inmuno-estimulación

El efecto inmuno-estimulante que muchos aditivos dietarios confieren a los animales consumidores encaja bien en la definición de alimentos funcionales, los cuales se definen como alimentos que generan beneficios fisiológicos adicionales al cubrimiento de los requerimientos nutricionales básicos (Newaj-Fyzul & Austin 2015). Por ejemplo, un alimento funcional puede mejorar el estado de salud y resistencia y por lo tanto reducir la incidencia de una enfermedad. Es ampliamente conocido el hecho de que algunos alimentos presentan propiedades profilácticas y/o inmuno-estimulantes. Como se mencionó antes, la intensificación de las prácticas acuícolas implica incrementos significativos en las densidades de siembra de los organismos. Tales ambientes estresantes requieren soluciones prácticas para reducir los riesgos de enfermedades infecciosas o aquellas asociadas a la producción de hormonas de respuesta al estrés. Adicionalmente, debido a que existe una creciente preocupación relacionada al excesivo uso de antibióticos, se han impuesto prohibiciones al uso de estos en la mayoría de los países europeos en donde se desarrollan actividades acuícolas. En vista de esto, se ha fomentado la investigación sobre los efectos inmuno-nutricionales de varios ingredientes sobre los organismos acuáticos y reviste una gran importancia actual (Ringo *et al.* 2012). Los efectos inmuno-estimulantes (innato y adaptativo) promovidos por nucleótidos derivados de microorganismos han sido ampliamente demostrados en animales acuáticos (Li & Gatlin 2006; Daniels *et al.* 2010; Biswas *et al.* 2012). Devresse (2000) y Li *et al.* (2007) consideran que los nucleótidos son nutrientes clave para el sistema inmune de los camarones. Por lo tanto, la suplementación de estos, o de sustratos que contienen alta cantidad de nucleótidos, tales como las levaduras

y sus derivados, pueden mejorar la resistencia a las enfermedades y mejorar las tasas de crecimiento. Li & Gatlin (2006) han realizado una síntesis acerca de los avances de investigación sobre los nucleótidos en la nutrición de peces. Los autores declaran que aunque diversos productos derivados de levaduras se han utilizado en formulaciones nutricionales para camarones, el papel de los nucleótidos derivados de levaduras (y otros microorganismos) permanece ampliamente sin descifrar.

También existe evidencia que indica que algunos ácidos grasos (DHA, EPA, ARA) derivados de microalgas pueden ejercer efectos inmuno-estimulantes sobre los organismos acuáticos (Carton-Kawagoshi & Caipang 2015). Similarmente, se ha reportado que diversos componentes de las células microbianas presentan propiedades inmuno-estimulantes. Entre estos se encuentran los lipopolisacáridos, β -glucanos, dipéptidos de muramil y preparaciones bacterianas tratadas con calor (Sakai, 1999). Se requiere investigación adicional sobre el papel nutricional de los nucleótidos y también sobre la gran cantidad de componentes derivados de las paredes y citoplasmas microbianos. El desarrollo de inmuno-estimulantes mejorados dependerá de un mejor conocimiento de los mecanismos de acción de estos componentes microbianos sobre las respuestas fisiológicas promovidas en los animales acuáticos.

Desempeño reproductivo

Existe una información muy escasa acerca de los efectos de la adición dietaria de biomasa microbiana sobre el desempeño reproductivo de peces y crustáceos. Goodall *et al.* (2016) reportaron recientemente que la inclusión de biomasa microbiana en dietas para reproductores de camarón tigre (*P. monodon*) no mejoró el desempeño de los reproductores domesticados en términos de madurez gonadal y producción de huevecillos y nauplios. Es bien conocido que los reproductores de peces y crustáceos requieren dietas frescas de alta calidad nutricional, con altos contenidos de proteína y lípidos, en particular ácidos grasos poli-insaturados. Es por lo tanto razonable asumir que varios tipos de microorganismos pueden ser empleados para suministrar estos componentes; sin embargo, esto posiblemente requerirá una combinación de especies microbianas. Por ejemplo, las microalgas

pertenecientes a los géneros *Schizochytrium* y *Haematococcus* presentan un alto contenido de lípidos, mientras que las microalgas *Spirulina* y *Scenedesmus* pueden contener un alto contenido de proteína en base seca (Duong *et al.* 2015; Kissinger *et al.* 2016).

Las levaduras también pueden representar una fuente de nutrientes específicos para organismos reproductores. Koch *et al.* (2011) reportaron que al adicionar 2% de levadura de cerveza a dietas para reproductores de tilapia se obtuvo una mejora significativa en la supervivencia de los alevines en relación a los efectos promovidos por una dieta de referencia conteniendo solamente proteínas de origen vegetal. En el cultivo de moluscos y equinodermos, el uso de especies específicas de microalgas (algunas de estas concentradas como pasta o polvo) es actualmente una práctica común. Esto se debe a que mediante estas, se promueve el desarrollo gonadal y la salud de los reproductores. Chen *et al.* (2012) usaron una mezcla de pescado macerado, yema de huevo, levadura y *Spirulina* para promover exitosamente la maduración gonadal del pepino marino *Apostichopus japonicas*.

Efectos prebióticos y probióticos

La biomasa microbiana derivada de diferentes microorganismos ha sido también extensivamente probada respecto a sus efectos prebióticos y probióticos. Los prebióticos pueden definirse como elementos de la dieta que no son digeribles pero en cambio estimulan el crecimiento o la actividad de uno o más tipos de bacterias en el tracto digestivo. Los probióticos, en cambio, son microorganismos vivos que al ser agregados como suplemento en la dieta, favorecen el desarrollo de flora microbiana. Los entornos de cultivo y el alimento formulado pueden usarse como vehículos para proveer prebióticos y probióticos; en particular, las esporas derivadas de bacterias benéficas son muy viables para ser administradas como suplementos en alimentos formulados. Ha sido reportado que los organismos cultivados en sistemas intensivos muestran un estado de salud y un nivel de supervivencia significativamente mejorado cuando se manipula la microflora del tracto (e incluso la flora microbiana ambiental) con organismos probióticos o mediante el uso de prebióticos (Olafsen 2001; Rengpipat *et al.* 2000). Aunque falta mucha investigación sobre el modo de acción de los probióticos, se cree que sus efectos se deben a interacciones

inhibitorias, competencia por sitios de adhesión y estimulación inmunológica, entre otros. El uso de probióticos ha tomado auge en acuicultura debido a sus efectos sobre la prevención de enfermedades y por la evidente mejora en el estado nutricional de los animales en cultivo. Similarmente, el interés por su uso aumentó como consecuencia de la presión ejercida por desarrollar un tipo de acuicultura libre de terapéuticos y más amigable ambientalmente. Aunque ha sido demostrado que los probióticos viables vivos son mejores que los no viables inactivados por calor (Panigrahi *et al.* 2005), es muy posible que los ingredientes de origen microbiano inculdos en alimentos acuícolas también ejerzan un efecto atenuado pero positivo como probióticos y prebióticos.

Aspectos económicos de la producción de biomasa microbiana

El incremento en la demanda de productos acuícolas y pesqueras ha ejercido una fuerte presión sobre los recursos marinos (McClanahan *et al.* 2015). Esto se ha visto reflejado en incrementos constantes de precio. Por ejemplo, el precio de la harina de pescado se ha incrementado de \$ 600 USD por tonelada en 1995 a \$ 1700 USD por tonelada en 2015 (IM 2016). Claramente se requieren fuentes alternativas de proteína, y esta necesidad ha conllevado a la investigación intensiva. Existe una tendencia histórica a la reducción de la harina de pescado incluida en dietas para acuicultura, mientras que también las tasas de conversión alimenticia han tendido a reducirse (Olsen & Hasan 2012). Los costos estimados de producción para generar un kilogramo de biomasa microbiana son altamente variables, pero en general también se ha experimentado una reducción progresiva tanto en los costos de producción como en los precios de venta gracias a nuevas tecnologías implementadas. Loo *et al.* (2013) han reportado que los costos estimados de producción de microalgas y levaduras para operaciones de larvicultivo se encontraban previamente en un amplio rango de 46 a 600 USD por kilogramo de biomasa seca. Sin embargo, métodos recientes de producción para bacterias y levaduras han disminuido significativamente estos números y se encuentran actualmente en un rango de 1 a 79 USD por kilogramo de biomasa seca (Rosenberry 2011; Pongpet *et al.* 2015). Los principales costos de producción están representados por la obtención de sustratos de cultivo y la energía requerida para las operaciones de cultivo, cosecha, secado, etc. Por lo tanto, técnicas de producción menos

onerosas se han enfocado en el uso de sustratos no convencionales para producir biomasa microbiana en una forma sustentable y económica. Por ejemplo, Lee & Kim (2001) demostraron que los costos de producción de la levadura torula *Candida utilis* puede reducirse hasta 1.08 - 2.76 USD kg usando melaza en lugar de medios de cultivo complejos.

Métodos alternativos para la producción de levaduras y bacterias a partir del uso de sustratos representados por desechos de las industrias agrícolas y de los alimentos, se encuentran actualmente en etapa experimental o piloto comercial (Dantas *et al.* 2016; Nouska *et al.* 2015). No obstante, otros procesos ya han sido estandarizados, escalados y patentados. Algunos de estos productos serán exclusivamente orientados al sector de la nutrición animal y la acuicultura (Glencross *et al.* 2014; WEF 2015; BFD 2015). Frecuentemente, el uso de la biomasa microbiana recién cosechada requiere tratamientos post-cosecha aplicados para concentrar la cantidad de proteína, para mejorar la digestibilidad o para satisfacer aspectos de inocuidad. Todos estos procesos tienden a aumentar el precio por unidad de biomasa microbiana producida. Vizcaíno *et al.* (2014) realizaron un estudio para utilizar la microalga *Scenedesmus almeriensis* como un ingrediente de reemplazo de harina de pescado en dietas para dorada, pero se considera que los precios de producción deben disminuir ya que, por ahora, el precio (7 a 14 USD Kg) limita el uso de esta biomasa a gran escala. Acién *et al.* (2012) demostraron que los costos de producción de una instalación real para la producción de microalgas de esta misma especie pueden reducirse de 75 a 14 USD kg mediante la simplificación de las tecnologías de producción y el escalamiento de la producción (en particular los foto-biorreactores). De la misma forma, Norsker *et al.* (2011) calcularon los costos de producción para generar biomasa de microalgas en tres diferentes sistemas operando a escala comercial: estanques abiertos, foto-biorreactores tubulars horizontales y foto-biorreactores en panel. Para los tres sistemas, los costos de producción para un kilogramo fueron 5.50, 4.45 y 6.62 USD, respectivamente. Los elementos más costosos en el proceso de producción estuvieron representados por el establecimiento de condiciones de irradiación óptima, el mezclado de fluídos, la procuración de alta eficiencia fotosintética, los medios de cultivo y el dióxido de carbono suplementario. Después de optimizar la producción respecto a cada uno de estos

factores, el precio resultante de la biomasa microalgal fue de 0.77 USD kg. Los autores declaran que a este nivel de precio, las microalgas denotarían ser un insumo promisorio como alimento o suplemento nutricional, así como una fuente rentable de biocombustibles y de compuestos orgánicos específicos.

Retos actuales y futuros

Las técnicas de producción mejoradas y la aplicación de nuevos métodos para aumentar el valor nutricional de los productos microbianos finales son dos de los aspectos que determinarán que tan rápido la biomasa microbiana será usada de forma común como parte de los alimentos acuícolas. Los métodos industriales más avanzados para generar biomasa microbiana corresponden a aquellos aplicados a la producción de levaduras. Sin embargo, aún hay varios puntos que mejorar; por ejemplo, los aspectos moleculares relacionados a la adaptación de las levaduras a las adversas condiciones de cultivo, se encuentran poco explorados (Gómez-Pastor *et al.* 2011). El mejoramiento de cada una de las etapas de producción aportará una mayor producción de biomasa y productos finales derivados de ésta. Básicamente, cualquier modificación de la biomasa microbiana en las etapas de postproducción, tiende a incrementar los costos de producción; por lo tanto, es requerida investigación adicional para evaluar las características nutricionales de la biomasa microbiana tratada bajo diversos métodos y comparada contra la biomasa intacta. Actualmente se aplican diversos métodos para mejorar las propiedades nutricionales de los productos finales destinados a ciertos organismos consumidores. La pared celular de los microorganismos puede imponer restricciones para estos animales. Por ejemplo, la pared celular representa 10% de la biomasa microalgal en peso seco y representa un problema para la completa digestión o utilización de esta biomasa para humanos y para organismos no-rumiantes. Procedimientos innovadores orientados a romper la pared celular de los microorganismos son actualmente necesarios para incrementar la biodisponibilidad de los nutrientes. Resultados de varios estudios indican que al remover las paredes celulares o al extraer productos específicos, se obtienen claros beneficios nutricionales e inmunológicos, al comparar los efectos con la biomasa microbiana sin tratar. Rumsey *et al.* (1991) han reportado que después de romper las paredes celulares de las levaduras, se obtuvo un

incremento de 20% en la absorción de nitrógeno en trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*). Estudios recientes realizados en peces y crustáceos han demostrado que el crecimiento, la utilización de nutrientes, la digestibilidad de las dietas y las respuestas inmunológicas se han mejorado significativamente mediante la inclusión dietaria de extractos de levaduras (Biswas *et al.* 2012; Berto *et al.* 2015; Zhao *et al.* 2017).

Además de las diversas técnicas empleadas para romper las paredes celulares, existe otro rango de metodologías aplicadas para remover el típicamente alto contenido de ácidos nucleicos presentes en la biomasa microbiana (Skrede *et al.* 2009; Oliveira & Oliva-Neto 2011). Por ejemplo, la levadura contiene entre 6 y 15% de ácidos nucleicos comparado al 2% en los productos cárnicos (Arora *et al.* 1991). Los animales terrestres monogástricos son incapaces de tolerar altos niveles de nucleótidos dietarios (>4 g de purinas y pirimidinas por día) debido a que se producen altas concentraciones de ácido úrico en plasma, además de la generación de gota a partir del metabolismo de las purinas. Adicionalmente, existen estudios que reportan efectos adversos de los nucleótidos sobre el metabolismo de otros nutrientes (Rumsey *et al.* 1992; Devresse 2000). En nutrición humana, un contenido de ácidos nucleicos de 1% en los alimentos ingeridos es considerado como el límite superior (Weissermel & Arpe 2003). De forma interesante, los peces parecen capaces de tolerar niveles de ácidos nucleicos dietarios significativamente mayores gracias a la presencia de la enzima hepática uricasa (urato oxidasa) (Kinsella *et al.* 1985; Oliva-Teles & Goncalves 2001). Do Huu *et al.* (2012) determinaron la semi-escencialidad de los nucleótidos en la dieta del camarón tigre y definieron un rango dietario óptimo de entre 0.48 y 0.56 %. Estudios adicionales en crustáceos y en otros organismos acuáticos son actualmente requeridos para definir los efectos de diferentes niveles de inclusión dietaria de los nucleótidos al ser administrados como inmuno-estimulantes. Tales estudios también arrojarían nueva información sobre los límites superiores de inclusión. Existen otras aproximaciones para manipular el valor nutricional de la biomasa microbiana. Becker (2007) reportó en un estudio sobre biomasa de microalgas, el efecto de diferentes métodos de tratamiento post-cosecha (secado por aire, secado en tambor, secado al sol) sobre diferentes cualidades nutricionales de la biomasa obtenida. En el caso de la producción de biomasa bacteriana, Loo *et al.* (2013) indican en un estudio que el perfil nutricional de una

biomasa bacteriana deficiente en lípidos puede ser mejorado al cultivar las bacterias en sustratos alternativos derivados de las industrias de los alimentos. Sustratos alternativos y sustentables que también han sido probados para generar biomasa bacteriana, incluyen el uso de desechos agrícolas, efluentes de procesadoras de aceite de palma y los lodos activados de las plantas de tratamiento de agua.

Conclusiones

La producción futura de biomasa microbiana y los diversos ingredientes derivados de ésta, se incrementará significativamente no solo debido al desarrollo de técnicas mejoradas de producción, sino también en respuesta a una creciente demanda y a una diversificación de las aplicaciones en la nutrición acuícola. Como se ha observado frecuentemente con otros insumos, altas producciones pueden conllevar a menores precios. Sin embargo, el precio de la biomasa microbiana será significativamente dependiente de la reducción de los costos de producción. En este contexto, el uso de sustratos alternativos y menos onerosos, representa uno de los principales aspectos que conllevaran a precios más competitivos. Por ejemplo, Gómez-Pastor *et al.* (2011) consideran que la producción industrial de levadura se beneficiaría a partir de nueva investigación orientada a las eficiencias fermentativas y a la identificación de elementos causantes de estrés en la producción de levadura, algunos de estos aspectos también aplican a la producción de microalgas bajo condiciones heterotróficas. El futuro de la producción de biomasa microbiana para su uso en alimentos acuícolas también dependerá del mejoramiento de las técnicas de producción para lograr un mejor valor nutricional de los productos finales, todo esto a través de innovaciones creativas. La aplicación de técnicas genéticas convencionales y tecnologías de ADN, permitirán la continuación del desarrollo adaptativo de los microorganismos cultivados (Poulose & Bright Singh 2014). Por otro lado, diversas técnicas de evaluación nutricional y la disponibilidad de instrumentación analítica más sensible, facilitarán la investigación nutricional acerca de los efectos de la biomasa microbiana sobre la fisiología de los organismos acuáticos.

Referencias

- Aas TS, Grisdale-Helland B, Terjesen BF, Helland SJ (2006) Improved growth and nutrient utilisation in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets containing a bacterial protein meal. *Aquaculture* **259**: 365–376.
- Ación FG, Fernández JM, Magán JJ, Molina E (2012) Production cost of a real microalgae production plant and strategies to reduce it. *Biotechnology Advances* **30**: 1344-1353.
- Adedayo MR, Ajiboye EA, Akintunde JK, Odaibo A (2011) Single cell proteins: as nutritional enhancer. *Advances in Applied Science Research* **2**: 396-409.
- Arnold S, Smullen R, Briggs M, West M, Glencross B (2016) The combined effect of feed frequency and ration size of diets with and without microbial biomass on the growth and feed conversion of juvenile *Penaeus monodon*. *Aquaculture Nutrition* **22**: 1340-1347.
- Arora DK, Mukerji KG, Marth EH (1991) Handbook of Applied Mycology, vol. 3: Foods and Feeds Marcel Dekker, Inc., New York. 636 pp.
- Avnimelech Y (2009) Biofloc Technology - A Practical Guide Book. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA. 181 pp.
- Basri NA, Shaleh SRM, Matanjun P, Noor NM, Shapawi R (2015) The potential of microalgae meal as an ingredient in the diets of early juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Applied Phycology* **27**: 857-863.
- Becker EW (2007) Micro-algae as a source of protein. *Biotechnology Advances* **25** 207–210.
- Béné C, Barange M, Subasinghe R, Pinstrup-Andersen P, Merino G, Hemre G-I, Williams M (2015) Feeding 9 billion by 2050 - Putting fish back on the menu. *Food Security* **7**: 261-274.
- Berto RdS, Pereira GdV, Mourião JLP, Martins ML, Fracalossi DM (2015) Yeast extract on growth, nutrient utilization and haemato-immunological responses of Nile tilapia. *Aquaculture Research*. doi: 10.1111/are.12715
- BFD 2015. Biofuels Digest. Calysta: Biofuels Digest's 2015 5-Minute Guide update. J. Lane. <http://www.biofuelsdigest.com/bdigest/2015/05/13/calysta-biofuels-digests-2015-5-minute-guide-update/>
- Bi Z, He BB (2013) Characterization of microalgae for the purpose of biofuel production. *Trans ASABE* **56**:1529–1539.
- Biswas G, Korenaga, H, Nagamine R, Kono T, Shimokawa H, Itami T, Sakai M (2012) Immune stimulant effects of a nucleotide- rich baker's yeast extract in the kuruma shrimp, *Marsupenaeus japonicus*. *Aquaculture* **366–367**: 40–45.
- Brown MR, Jeffrey SW, Volkman JK, Dunstan GA (1997) Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture* **151**: 315-331.

- Brunson JF, Romaine RP, Reigh RC (1997) Apparent digestibility of selected ingredients in diets for white shrimp *Penaeus setiferus* L. *Aquaculture Nutrition* **3**: 9–16.
- Carton-Kawagoshi RJ, Caipang CM (2015) Algal-derived products and their role in shrimp immunity. In: Caipang, C.M., Bacano-Maningas, M.B.I. Fagutao, F.F. (eds.) *Biotechnological advances in shrimp health management in the Philippines*, pp. 73-88. Research Signpost, Kerala, India.
- Chen W, Wang W, Yu W (2012) The technique of gonad promotion of *Apostichopus japonicus* indoors in winter. *Fisheries Science* **11**: 43-44 (in Chinese)
- Cherubini F (2010) The Biorefinery concept: Using biomass instead of oil for producing energy and chemicals. *Energy Conversion and Management* **51**: 1412–1421.
- Conceição LEC, Morais S, Rønnestad I (2007) Tracers in fish larvae nutrition: A review of methods and applications. *Aquaculture* **267**: 62–75.
- Condrey R, Gosselink J, Bennett H (1972) Comparison of the assimilation of different diets by *Penaeus setiferus* and *P. aztecus*. *Fisheries Bulletin* **70**: 1281–1292.
- Cruz-Suárez LE, Tapia-Salazar M, Villarreal-Cavazos D, Beltran-Rocha JC, Nieto-López MG, Lemme A, Ricque-Marie D (2009) Apparent dry matter, energy, protein and amino acid digestibility of four soybean ingredients in white shrimp *Litopenaeus vannamei* juveniles. *Aquaculture* **292**: 87-94.
- Daniels CL, Merrifield DL, Boothroyd DP, Davies SJ, Factor JR, Arnold KE (2010) Effect of dietary *Bacillus* spp. and mannan oligosaccharides (MOS) on European lobster (*Homarus gammarus* L.) larvae growth performance, gut morphology and gut microbiota. *Aquaculture* **304**: 49–57.
- Dantas EM, Valle BCS, Brito CMS, Calazans NKF, Peixoto SRM, Soares RB (2016) Partial replacement of fishmeal with biofloc meal in the diet of postlarvae of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Nutrition* **22**: 335-342.
- De Francesco M, Parisi G, Pérez-Sánchez J, Gómez-Réqueni P, Médale F, Kaushik SJ, Mecatti M, Poli BM (2007) Effect of high-level fish meal replacement by plant proteins in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) on growth and body/fillet quality traits. *Aquaculture Nutrition* **13**: 361–372.
- De Schryver P, Crab R, Defoirdt T, Boon N, Verstraete W (2008) The basics of bio-flocs technology: the added value for aquaculture. *Aquaculture* **277**: 125–137.
- Devresse B (2000) Nucleotides—a key nutrient for shrimp immune system. *Feed Mix* **8**: 20–22.
- Dewapriya P, Kim S (2014) Marine microorganisms: an emerging avenue in modern nutraceuticals and functional foods. *Food Research International* **56**: 115-125.
- Doelle HW (1994) *Microbial Process Development*. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd. NJ, USA. 308 pp.
- Do Huu H, Tabrett S, Hoffmann K, Koppel P, Lucas JS, Barnes AC (2012) Dietary nucleotides are semiessential nutrients for optimal growth of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Aquaculture* **366–367**, 115–121.

- Duong VT, Ahmed F, Thomas-Hall SR, Nowak K, Schenk PM (2015) High protein- and high lipid-producing microalgae from outback Australia as potential feedstock for animal feed and biodiesel. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* **3**: 53.
- Emerenciano M, Ballester ELC, Cavalli RO, Wasielesky W (2012) Biofloc technology application as a food source in a limited water exchange nursery system for pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817). *Aquaculture Research* **43**: 447–457.
- EPA (1995) Food and Agricultural Industries in AP 42, Fifth Edition, Volume I.
- FAO/WHO (1973) Energy and protein requirement. Report of a Joint FAO/WHO ad hoc Expert Committee, vol. 52. FAO Geneva.
- Fábregas J, Herrero C (1985) Marine microalgae as a potential source of single cell protein (SCP). *Applied Microbiology and Biotechnology* **23**: 110–113.
- Ferreira IMPLVO, Pinho O, Vieira E, Tavela JG (2010) Brewer's *Saccharomyces* yeast biomass: characteristics and potential applications. *Trends in Food Science and Technology* **21**: 77–84.
- Francis G, Makkar HPS, Becker K (2001) Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture* **199**: 197–227.
- Gamboa-Delgado J, Márquez-Reyes JM (2017) Potential of microbial-derived nutrients for aquaculture development. *Reviews in Aquaculture*. In press. doi: 10.1111/raq.12157
- Gamboa-Delgado J, Fernández-Díaz B., Nieto-López MG, Cruz-Suárez LE (2016) Nutritional contribution of torula yeast and fish meal to the growth of shrimp *Litopenaeus vannamei* as indicated by natural nitrogen stable isotopes. *Aquaculture* **453**: 116–121.
- Gamboa-Delgado J, Rodríguez Montes de Oca GA, Román-Reyes JC, Villarreal-Cavazos, D, Nieto-López M, Cruz-Suárez LE (2017) Assessment of the relative contribution of dietary nitrogen from fish meal and biofloc meal to the growth of shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture Research* **48**: 2963–2972.
- Gamboa-Delgado J, Rojas-Casas MG, Nieto-López MG, Cruz-Suárez LE (2013) Simultaneous estimation of the nutritional contribution of fish meal, soy protein isolate and corn gluten to the growth of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) using dual stable isotope analysis. *Aquaculture* **380-383**: 33–40.
- García-Ortega A, Trushenski TJ, Kissinger K (2016) Evaluation of fish meal and fish oil replacement by soybean protein and algal meal from *Schizochytrium limacinum* in diets for giant grouper *Epinephelus lanceolatus*. *Aquaculture* **452**: 1–8.
- Ginsberg C, Brown S, Walker S (2008) Bacterial Cell Wall Components. In: Fraser-Reid BO, Tatsuta K, Thiem J (eds.) *Glycoscience*, pp 1535–1600. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Glencross B, Irvin S, Arnold S, Blyth D, Bourne N, Preston N (2014) Effective use of microbial biomass products to facilitate the complete replacement of fishery resources in diets for the black tiger shrimp. *Penaeus monodon*. *Aquaculture* **431**: 12–19.

- Gómez-Pastor R, Pérez-Torrado R, Garre E, Matallana E (2011) Recent advances in yeast biomass production. In: Matovic D (ed.) Biomass - Detection, production and usage, pp. 201-222. InTech, Rijeka, Croatia.
- Goodall JD, Wade NM, Merritt DJ, Sellars MJ, Salee K, Coman GJ (2016) The effects of adding microbial biomass to grow-out and maturation feeds on the reproductive performance of black tiger shrimp, *Penaeus monodon*. *Aquaculture* **450**: 206-212.
- Grasso FW, Basil JA (2002) How lobsters, crayfishes, and crabs locate sources of odor: current perspectives and future directions. *Current Opinion in Neurobiology* **12**: 721-727.
- Hara TJ (1993) Chemoreception. In: Evans DH (ed.) The Physiology of Fish. pp. 191-218, CRC Press, Boca Raton, FL.
- Hara TJ (2005) Olfactory responses to amino acids in rainbow trout: revisited. In: Reutter K, Kapoor BG (eds) Fish Chemosenses, pp. 31-64. Science Publishers, Inc. Enfield, NH.
- Hertrampf JW, Piedad-Pascual F (2000) Handbook on Ingredients for Aquaculture Feeds, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. 573 pp.
- Huang YT, Su CP (2014) High lipid content and productivity of microalgae cultivating under elevated carbon dioxide. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* **11**: 703-710.
- IM, Index Mundi (2016) Index Mundi data portal. <http://www.indexmundi.com> Accessed January 2016.
- Ju ZY, Deng D-F, Dominy W (2012) A defatted microalgae (*Haematococcus pluvialis*) meal as a protein ingredient to partially replace fishmeal in diets of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*, Boone, 1931). *Aquaculture* **354-355**: 50-55.
- Kaushik, SJ, Covès D, Dutto G, Blanc D (2004) Almost total replacement of fish meal by plant protein sources in the diet of a marine teleost, the European seabass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture* **230**: 391-404.
- Kim J-K, Lee BK (2000) Mass production of *Rhodospseudomonas palustris* as diet for aquaculture. *Aquacultural Engineering* **23**: 281-293.
- Kiron V, Phromkunthong W, Huntley M, Archibald I, De Scheemaker G (2012) Marine microalgae from biorefinery as a potential feed protein source for Atlantic salmon, common carp and whiteleg shrimp. *Aquaculture Nutrition* **18**: 521-531.
- Koch JFA, Pezzato LE, Barros MM, Teixeira CP, Junior ACF, A Padovani CR (2011) Levedura como pronutriente em dietas para matrizes e alevinos de tilápia-do-nilo. *Revista Brasileira de Zootecnia* **40**: 2281-2289.
- Kinsella JE, German B, Shetty J (1985) Uricase from fish liver: isolation and some properties. *Comparative Biochemistry and Physiology* **82B**: 621-624.
- Kissinger KR, García-Ortega A, Trushenski JT (2016) Partial fish meal replacement by soy protein concentrate, squid and algal meals in low fish-oil diets containing *Schizochytrium limacinum* for longfin yellowtail *Seriola rivoliana*. *Aquaculture* **452**: 37-44.

- Kobayashi M, Kurata SI (1978) The mass culture and cell utilization of photosynthetic bacteria. *Process Biochemistry* **13**: 27-30.
- Kumar V, Sinha AK, Makkar HP, De Boeck G, Becker K (2012) Phytate and phytase in fish nutrition. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **96**: 335–64.
- Le Vay L, Gamboa-Delgado J (2011) Naturally-occurring stable isotopes as direct measures of larval feeding efficiency, nutrient incorporation and turnover. *Aquaculture* **315**: 95-103.
- Lee B-K, Kim JK (2001) Production of *Candida utilis* on molasses in different culture types. *Aquacultural Engineering* **25**:111–124.
- Li Y, Xiao G, Mangott A, Kent M, Pirozzi I (2016) Nutrient efficacy of microalgae as aquafeed additives for the adult black tiger prawn, *Penaeus monodon*. *Aquaculture Research* **47**: 3625-3635.
- Li P, Gatlin III DM (2006) Nucleotide nutrition in fish: Current knowledge and future applications. *Aquaculture* **251**: 141–152.
- Li P, Gatlin III DM (2003) Evaluation of brewers yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as a feed supplement for hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *M. saxatilis*). *Aquaculture* **219**: 681– 692.
- Li P, Lawrence AL, Castille FL, Gatlin DM (2007) Preliminary evaluation of a purified nucleotide mixture as a dietary supplement for Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone). *Aquaculture Research* **38**: 887–890.
- Liu W, Pearce CM, McKinley RS, Forster IP (2016) Nutritional value of selected species of microalgae for larvae and early post-set juveniles of the Pacific geoduck clam, *Panopea generosa*. *Aquaculture* **452**: 326-341.
- Loo PL, Vikineswary S, Chong VC (2013) Nutritional value and production of three species of purple non-sulphur bacteria grown in palm oil mill effluent and their application in rotifer culture. *Aquaculture Nutrition* **19**: 895–907.
- Loosli JK, McDonald IW (1968) Nonprotein nitrogen in the nutrition of ruminants. FAO Agricultural Studies No. 75. 94 pp.
- Lunger AN, Craig S, McLean E (2006) Replacement of fish meal in cobia (*Rachycentron canadum*) diets using an organically certified protein. *Aquaculture* **257**: 393–399.
- Macias-Sancho J, Poersch LH, Bauer W, Romano LA, Wasielesky W, Tesser MB (2014) Fishmeal substitution with *Arthrospira* (*Spirulina platensis*) in a practical diet for *Litopenaeus vannamei*: effects on growth and immunological parameters. *Aquaculture* **426–427**: 120–125.
- Mahasneh IA (1997) Production of single cell protein from five starins of the microalga *Chlorella* sp. (Chlorophyta). *Cytobiosciences* **90**: 153-161.
- Martínez-Rocha L, Gamboa-Delgado J, Nieto-Lopez MG, Ricque-Marie D, Cruz-Suarez LE (2012) Incorporation of dietary nitrogen from fish meal and pea meal (*Pisum sativum*) in muscle tissue of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed low protein compound diets. *Aquaculture Research* **44**: 847-859.

- McClanahan T, Allison EH, Cinner JE (2015) Managing fisheries for human and food security. *Fish and Fisheries* **16**: 78–103.
- Miller BM, Litsky W (1976) Single Cell Protein in Industrial Microbiology. McGraw-Hill Book Co., New York. 406 pp.
- Muzinic LA, Thompson KR, Morris A, Webster CD, Rouse DB, Manomaitis L (2004) Partial and total replacement of fish meal with soybean meal and brewers' grains with yeast in practical diets for Australian red claw crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Aquaculture* **230**: 359–376.
- Nasseri AT, Rasoul-Amini S, Morowvat MH, Ghasemi Y (2011) Single cell protein: production and process. *American Journal of Food Technology* **6**: 103–116.
- Newaj-Fyzul A, Austin B (2015) Probiotics, immunostimulants, plant products and oral vaccines, and their role as feed supplements in the control of bacterial fish diseases. *Journal of Fish Diseases* **38**: 937–955.
- Nguyen TH, Fleet GH, Rogers PL (1998) Composition of the cell walls of several yeast species. *Applied Microbiology and Biotechnology* **50**: 206–212.
- Norsker N-H, Barbosa MJ, Vermuë MH, Wijffels RH (2011) Microalgal production – A close look at the economics. *Biotechnology Advances* **29**: 24–27.
- Nouska C, Mantzourani I, Alexopoulos A, Bezirtzoglou E, Bekatorou A, Akrida-Demertzi K, Demertzis P, Plessas S (2015) *Saccharomyces cerevisiae* and kefir production using waste pomegranate juice, molasses, and whey. *Czech Journal of Food Sciences* **33**: 77-282.
- National Research Council (NRC) (2011) Nutrient Requirements of Fish. The National Academies Press, 360 p. Washington, DC, USA.
- Olafsen JA (2001) Interactions between fish larvae and bacteria in marine aquaculture. *Aquaculture* **200**: 223-247.
- Olaizola M (2003) Commercial development of microalgal bio- technology: From the test tube to the marketplace. *Biomolecular Engineering* **20**: 459–466.
- Olaizola M (2000) Commercial production of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* using 25,000-liter outdoor photobioreactors. *Journal of Applied Phycology* **12**:499–506.
- Oliva-Teles A (2012) Nutrition and health of aquaculture fish. *Journal of Fish Diseases* **35**: 83-108.
- Oliva-Teles A, Goncalves P (2001) Partial replacement of fishmeal by brewer's yeast (*Saccaromyces cerevisiae*) in diets for sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture* **202**: 269–278.
- Oliveira AM, Oliva Neto P (2011). Improvement in RNA extraction from *S. cerevisiae* by optimization in the autolysis and NH₃ hydrolysis. *Brazilian Archives of Biology and Technology* **54**: 1007-1018.
- Olsen RL, Hasan MR (2012) A limited supply of fishmeal: impact on future increases in global aquaculture production. *Trends in Food Science & Technology* **27**: 120–128.
- Olvera-Novoa MA, Martinez-Palacios CA, Olivera-Castillo L (2002) Utilization of torula yeast (*Candida utilis*) as a protein source in diets for tilapia (*Oreochromis mossambicus* Peters) fry. *Aquaculture Nutrition* **8**: 257-264.

- Øverland M, Tauson A-H, Shearer K, Skrede A (2010) Evaluation of methane- utilising bacteria products as feed ingredients for monogastric animals. *Archives of Animal Nutrition* **64**:171–89.
- Pacheco-Vega JM, Gamboa-Delgado J, Alvarado-Ibarra AG, Nieto-López MG, Tapia-Salazar M, Cruz-Suárez LE (2017) Nutritional contribution of fish meal and microbial biomass produced from two endemic microalgae to the growth of shrimp *Litopenaeus vannamei* as indicated by natural stable isotopes. *Latin American Journal of Aquatic Research*. *Accepted*.
- Panigrahi A, Kiron V, Puangkaew J, Kobayashi T, Satoh S (2005) The viability of probiotic bacteria as a factor influencing the immune response in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture* **243**: 241-254.
- Pelczar MJ, Chan ECS (2010) Microbiology - An Application Based Approach - Tata McGraw Hill, New Delhi, India. 919 pp.
- Perera WMK, Carter CG, Houlihan DF (1995) Feed consumption, growth and growth efficiency of rainbow trout [*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)] fed on diets containing a bacterial single-cell protein. *British Journal of Nutrition* **73**: 591–603.
- Perez-García O, Escalante FME, de-Bashan LE, Bashan Y (2011) Heterotrophic cultures of microalgae: metabolism and potential products. *Water Research* **45**:11–36.
- Phillips DL (2012) Converting isotope values to diet composition: the use of mixing models. *Journal of Mammalogy* **93**: 342–352.
- Phillips DL, Gregg JW (2001) Uncertainty in source partitioning using stable isotopes. *Oecologia* **127**: 171–179. (see also erratum, *Oecologia* **128**: 204).
- Phillips S (2005) Environmental impacts of marine aquaculture issue paper. Pacific States Marine Fisheries Commission. 28 p.
- Pongpet J, Ponchunchoovong S, Payooha K (2015) Partial replacement of fishmeal by brewer's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) in the diets of Thai Panga (*Pangasianodon hypophthalmus* × *Pangasius bocourti*). *Aquaculture Nutrition*. doi: 10.1111/anu.12280
- Poulose S, Bright Singh IS (2014) Optimization of culture conditions for the production of single cell protein from marine yeast *Candida* MCCF 101 as feed supplement in aquaculture. *Journal of Aquatic Biology & Fisheries* **2**: 283-289.
- Rengpipat S, Rukpratanporn S, Piyatiratitivorakul S, Menasaveta P (2000) Immunity enhancement in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) by a probiont bacterium (*Bacillus* S11). *Aquaculture* **191**: 271-288
- Rhodes MA, Zhou Y, Davis, DA (2015) Use of dried fermented biomass as a fish meal replacement in practical diets of Florida pompano, *Trachinotus carolinus*. *Journal of Applied Aquaculture* **27**: 29-39.
- Ribeiro CS, Moreira RG, Cantelmo OA, Esposito E (2014) The use of *Kluyveromyces marxianus* in the diet of Red-Stirling tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus) exposed to natural climatic variation: effects on growth performance, fatty acids, and protein deposition. *Aquaculture Research* **45**: 812–827.

- Ringo E, Olsen RE, Gonzalez-Vecino J, Wadsworth S, Song SK (2012) Use of immunostimulants and nucleotides in aquaculture: a review. *Journal of Marine Science: Research & Development* **2**: 1–22.
- Rønnestad I, Yúfera M, Ueberschär B, Ribeiro L, Sæle Ø, Boglione C (2013) Feeding behaviour and digestive physiology in larval fish: current knowledge, and gaps and bottlenecks in research. *Reviews in Aquaculture* **5 (Suppl. 1)**: S59–S98.
- Rosenberry B (2011) Shrimp News International. Oberon FMR.
<http://www.shrimpnews.com/FreeReportsFolder/FeedsFolder/OberonFMR62011.html>
- Romarheim OH, Øverland M, Mydland LT, Skrede A, Landsverk T (2011) Bacteria grown on natural gas prevents soybean meal-induced enteritis in Atlantic salmon. *Journal of Nutrition* **141**: 124–130.
- Rumsey GL, Winfree RA, Hughes SG (1992) Nutritional value of dietary nucleic acids and purine bases to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* **108**: 97–110.
- Rumsey GL, Hughes SG, Smith RR, Kinsella JE, Shetty KJ (1991) Digestibility and energy values of intact, disrupted and extracts from dried yeast fed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Animal Feed Science and Technology* **33**: 185-193.
- Sakai M. (1999) Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture* **172**: 63-92.
- Sarker PK, Gamble MM, Kelson S, Kapuscinski AR (2016) Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) show high digestibility of lipid and fatty acids from marine *Schizochytrium* sp. and of protein and essential amino acids from freshwater *Spirulina* sp. feed ingredients. *Aquaculture Nutrition* **22**: 109-119
- Shi X, Luo Z, Chen F, Wei CC, Wu K, Zhu XM, Liu X (2017) Effect of fish meal replacement by *Chlorella* meal with dietary cellulase addition on growth performance, digestive enzymatic activities, histology and myogenic genes' expression for crucian carp *Carassius auratus*. *Aquaculture Research* **48**: 3244-3256.
- Singh J, Gu S (2010) Commercialization potential of microalgae for biofuels production. *Renewable & Sustainable Energy Reviews* **14**: 2596–2610.
- Skrede A, Berge GM, Storebakken T, Herstad O, Aarstad KG, Sundstøl F (1998) Digestibility of bacterial protein grown on natural gas in mink, pigs, chicken and Atlantic salmon. *Animal Feed Science and Technology* **76**: 103-116.
- Skrede A, Mydland LT, Øverland M. 2009. Effects of growth substrate and partial removal of nucleic acids in the production of bacterial protein meal on amino acid profile and digestibility in mink. *Animal Feed Science and Technology* **18**:689–698.
- 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**:146–158.
- Teimouri M, Amirkolaie AK, Yeganeh S (2013) The effects of *Spirulina platensis* meal as a feed supplement on growth performance and pigmentation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* **396–399**: 14–19.

- Teimouri M, Yeganeh S, Amirkolaie AK (2016) The effects of *Spirulina platensis* meal on proximate composition, fatty acid profile and lipid peroxidation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) muscle. *Aquaculture Nutrition* **22**: 559-566.
- Tibaldi E, Chini Zittelli G, Parisi G, Bruno M, Giorgi G, Tulli F, Venturini S, Tredici MR, Poli BM (2015) Growth performance and quality traits of European sea bass (*D. labrax*) fed diets including increasing levels of freeze-dried *Isochrysis* sp. (T-ISO) biomass as a source of protein and n-3 long chain PUFA in partial substitution of fish derivatives, *Aquaculture* **440**: 60-68.
- Vidakovic A, Langeland M, Sundh H, Sundell K, Olstorpe M, Vielma J, Kiessling A, Lundh T (2016) Evaluation of growth performance and intestinal barrier function in Arctic Charr (*Salvelinus alpinus*) fed yeast (*Saccharomyces cerevisiae*), fungi (*Rhizopus oryzae*) and blue mussel (*Mytilus edulis*). *Aquaculture Nutrition* **22**: 1348-1360.
- Vizcaíno AJ, López G, Sáez MI, Jiménez JA, Barros A, Hidalgo L, Camacho-Rodríguez J, Martínez TF, Cerón-García MC, Alarcón FJ (2014) Effects of the microalga *Scenedesmus almeriensis* as fishmeal alternative in diets for gilthead sea bream, *Sparus aurata*, juveniles. *Aquaculture* **431**: 34-43.
- WEF 2015. Water Environment Federation. Highlights: Turning Beer Waste into Animal Feed. J. Fulcher. <http://news.wef.org/turning-beer-waste-into-animal-feed/>
- Weissermel K, Arpe H-J (2003) Industrial Organic Chemistry: Fourth Edition. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim. 492 pp.
- Weyer KM, Bush DR, Darzins A, Willson BD (2010) Theoretical maximum algal oil production. *Bioenergy Research* **3**: 204-213.
- Zhang HY, Piao XS, Li P, Yi JQ, Zhang Q, Li QY, Liu JD (2013) Effects of single cell protein replacing fish meal in diets on growth performance, nutrient digestibility, and intestinal morphology in weaned pigs. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* **26**: 1320-1328.
- Zhao L, Wang W, Huang X, Guo T, Wen W, Feng L, Wei L (2017) The effect of replacement of fish meal by yeast extract on the digestibility, growth and muscle composition of the shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Research* **48**: 311-320.
- Zhao Y, Yu B, Mao XB, He J, Huang ZQ, Mao Q, Chen DW (2012) Effect of dietary bacterial lysine by-product meal supplementation on growth performance and excretion of purine base derivatives in growing-finishing pig. *Livestock Science* **149**:18-24.