



## **Investigación e Innovación en Nutrición Acuícola**

**Editores: Lucía Elizabeth Cruz Suárez,  
Mireya Tapia Salazar, Martha Guadalupe  
Nieto López, David A. Villarreal Cavazos,  
Julián Gamboa Delgado, y Carlos A.  
Martínez Palacios**

## **Investigación e Innovación en Nutrición Acuícola**

2022, Monterrey, Nuevo León, México

Editores: Lucía Elizabeth Cruz Suárez, Mireya Tapia Salazar, Martha Guadalupe Nieto López, David Alonso Villarreal Cavazos, Julián Gamboa Delgado y Carlos A. Martínez Palacios.

Programa Maricultura  
Facultad de Ciencias Biológicas  
Universidad Autónoma de Nuevo León 2022

Copias disponibles en:  
Universidad Autónoma de Nuevo León  
Facultad de Ciencias Biológicas  
**Programa Maricultura**  
Cd. Universitaria  
San Nicolás de los Garza, Nuevo León  
C.P. 66455  
Tel.+Fax. 818352 6380  
E-mail: [lucia.cruzsr@uanl.edu.mx](mailto:lucia.cruzsr@uanl.edu.mx)

Para citar alguna parte de ésta obra siga el siguiente estilo:

- Autores del escrito. 2022. Nombre del artículo. Editores: Lucía Elizabeth Cruz Suárez, Mireya Tapia Salazar, Martha Guadalupe Nieto López, David Alonso Villarreal Cavazos, Julián Gamboa Delgado y Carlos A. Martínez Palacios. Investigación e innovación en nutrición acuícola, Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México, pp.473 ISBN: 978-607-27-1732-9. El cuidado de la presente edición, así como su realización estuvo a cargo de los editores.

La reproducción total o parcial de ésta obra requiere la autorización escrita por los titulares del derecho de autor.

Los editores hacemos extensivo nuestro profundo agradecimiento:

- A las personas que colaboraron en la edición técnica de estas memorias

## Directorio

Dr. Santos Guzmán López  
Rector

Dr. Juan Paura García  
Secretario. General

Dr. Celso José Garza Acuña  
Secretario extensión y cultura

Lic. Antonio Ramos Revillas  
Director de Editorial Universitaria

Dr. José Ignacio González Rojas  
Director de la Facultad de Ciencias Biológicas

### Editores

Lucía Elizabeth Cruz Suárez, Denis Ricque Marie, Mireya Tapia Salazar, Martha Guadalupe Nieto López, David Alonso Villarreal Cavazos, Julián Gamboa Delgado, y Carlos A. Martínez Palacios.

Dirección de edición: Programa Maricultura, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Dra. Lucía Elizabeth Cruz Suárez, Av. Universidad S/N, Ciudad Universitaria, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, C.P. 66455  
Email: elicruz@hotmail.com, lucia.cruzsr@uanl.edu.mx  
Teléfonos: 52 8183526380

Primera edición 2022. ©Universidad Autónoma de Nuevo León. ©L. Elizabeth Cruz Suárez, ©Mireya Tapia Salazar, ©Martha Guadalupe Nieto López, ©David Alonso Villarreal Cavazos, ©Julián Gamboa Delgado, ©Carlos A. Martínez Palacios.

ISBN:978-607-27-1732-9. El cuidado y edición estuvo a cargo de los editores. El contenido es responsabilidad de los autores.

Párrafo legal: Reservado todos los derechos conforme a la ley. Prohibida la reproducción total o parcial de la obra sin previa autorización por escrito del titular propietario y editor de la obra.

## Desvelando el Potencial de las Algas para la Elaboración de Piensos Para Peces de Acuicultura

Alba Galafat Díaz, Antonio J. Vizcaíno Torres, M<sup>a</sup> Isabel Sáez Casado, Tomás F. Martínez Moya, F. Javier Alarcón López\*

Departamento de Biología y Geología. Ceimar-Universidad de Almería, 04120. Spain.

\*Corresponding author: [falarcon@ual.es](mailto:falarcon@ual.es)

---

### Resumen

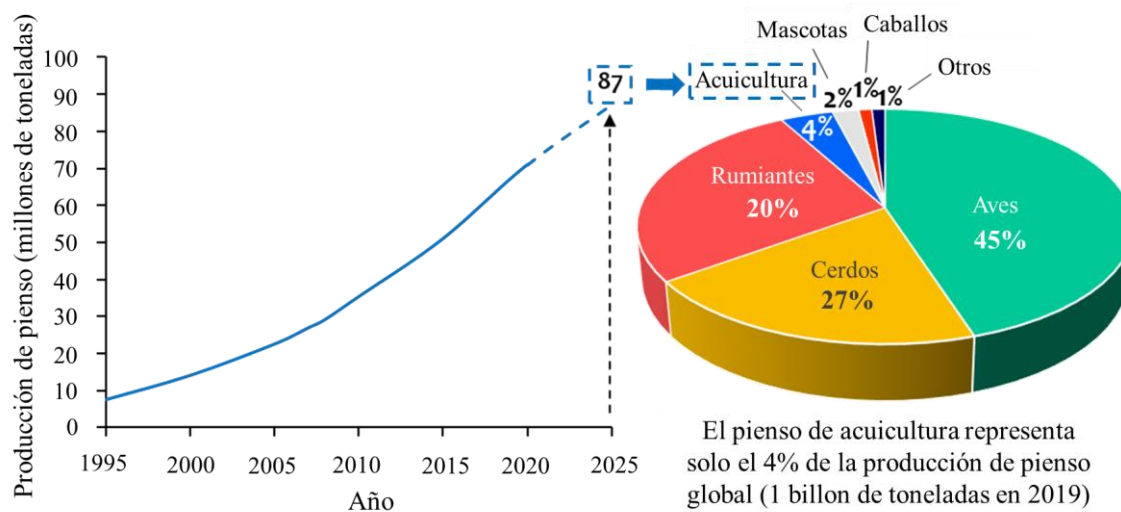
El desarrollo de piensos acuícolas sostenibles sigue siendo uno de los mayores desafíos de la acuicultura. En las últimas décadas se ha realizado un gran esfuerzo de investigación en la evaluación de ingredientes alternativos para poder reducir la dependencia sobre los ingredientes convencionales. Estos ingredientes alternativos deben de tener un valor nutricional adecuado, tener una buena disponibilidad para permitir su uso a escala industrial y ser económicamente asequibles. En este sentido, el uso de algas en piensos para acuicultura despierta un gran interés, principalmente por su composición nutricional y enorme variedad de compuestos bioactivos que contienen, así como por los beneficios que generan en los peces, como son la mejora del crecimiento, la composición proximal del músculo y funcionalidad digestiva, tal y como se evidencia en las numerosas publicaciones científicas al respecto. Sin embargo, existen ciertos aspectos que deben de considerarse para que la industria de elaboración de pienso de acuicultura pueda incorporarlas como ingredientes o aditivos en las fórmulas comerciales a gran escala, como son todos aquellos relacionados con la seguridad y las normativas regulatorias, la reducción de sus costes de producción, la variabilidad en su composición química, una mayor bioaccesibilidad de los nutrientes que contienen, o la presencia de factores antinutritivos, entre otros. Por lo tanto, en este trabajo se recopila información sobre la composición nutricional de las algas, y datos de estudios publicados en los que se describen sus efectos en los peces cuando se usan como ingrediente o como aditivo funcional en los piensos. Además, se discuten los principales retos para su uso generalizado en piensos comerciales y las perspectivas futuras.

Palabras clave: *algas, compuestos bioactivos, ingredientes alternativos, peces marinos, piensos*

## 1. La Demanda de Piensos para Acuicultura

Según las últimas estadísticas de la FAO, la producción de animales acuáticos logró un récord histórico en 2018, con 82,1 millones de toneladas, y se espera que alcance los 109 millones de toneladas en 2030 (FAO, 2020). Dentro de esta producción, la acuicultura basada en la producción de pescado con piensos manufacturados representa hoy en día casi el 50% de toda la producción acuícola. La Figura 1 muestra una proyección de la producción de piensos acuícolas hasta 2025. El crecimiento promedio ha sido de un 10 anual, y se espera que la producción de pienso aumente hasta 87 millones de toneladas para 2025, aunque esta cifra es bastante baja en comparación con la producción mundial de piensos para animales terrestres, ya que esta última supera los 1.000 millones de toneladas. A pesar de este hecho, los piensos acuícolas consumen el 70% de la harina de pescado, y más del 73% del aceite de pescado comercializado en el mundo.

Figura 1. Estimación de la producción de pienso de acuicultura para 2025



De hecho, la acuicultura todavía depende en gran medida de la harina y el aceite de pescado procedente de pesquerías como ingredientes de los piensos (Yadav *et al.*, 2020). Ambas materias primas se consideran los ingredientes más nutritivos, digestibles y con mayor palatabilidad para la producción de piensos acuícolas, siendo también la principal fuente de aminoácidos esenciales, fosfolípidos y ácidos grasos omega-3, entre los que destacan los ácidos docosahexaenoico (DHA) y eicosapentaenoico (EPA) (Yarnold *et al.*, 2019). Ambas materias primas provienen fundamentalmente de la pesca extractiva, por lo que los cambios en las capturas de las especies objetivo pueden afectar a su producción. Según la FAO (2020), las capturas de peces utilizados

para la producción de harina y aceite de pescado en 2018 (18 millones de toneladas) fue significativamente menor que la de 1994 (30 millones de toneladas). Esta reducción en el suministro de estas materias primas, junto con la creciente demanda impulsada por una industria acuícola en rápido crecimiento, han llevado a que los precios de la harina de pescado se tripliquen en la última década (los costes actuales de la harina y el aceite de pescado rondan los 1.120-1.730 y los 2.000 -2.200 USD por tonelada, respectivamente (HAMMERSMITH Marketing Ltd). En este escenario, aunque las tasas de inclusión de harina y aceite de pescado en los piensos de acuicultura se han reducido progresivamente, el aumento en la producción de las distintas especies de cultivo ha generado una demanda creciente de dichos ingredientes, principalmente atribuibles a la piscicultura (Naylor *et al.*, 2009). Por lo tanto, encontrar y testar fuentes alternativas de proteínas y lípidos con potencial para desarrollar alimentos acuícolas sostenibles y nutritivos sigue siendo uno de los grandes desafíos de la acuicultura actual (Yarnold *et al.*, 2019), y esta es la razón última por la que se está realizando un gran esfuerzo de investigación sobre este tema.

En este sentido, cualquier ingrediente alternativo de interés debe tener un valor nutricional comparable al de los ingredientes convencionales, y también debe de estar disponible a gran escala y ser económicamente factible su utilización en el pienso (Vizcaíno *et al.*, 2014). Los cultivos terrestres tradicionales, especialmente los cereales, las legumbres y sus derivados, son alternativas reales ya que presentan un bajo coste y se ha demostrado con éxito su uso en la elaboración de piensos de acuicultura cuando reemplazan parcialmente a la harina y al aceite de pescado, produciendo efectos positivos sobre el crecimiento de los peces. Sin embargo, a pesar de lo anterior, se ha comprobado que los ingredientes de origen vegetal presentan algunas desventajas que dificultan su inclusión en los piensos, especialmente cuando se utilizan en altos niveles de inclusión, como es una baja digestibilidad y palatabilidad, así como una limitada biodisponibilidad de nutrientes (Daniel, 2018). Además, estos ingredientes suelen tener perfiles nutricionales desequilibrados, con deficiencias en ciertos aminoácidos esenciales, como lisina, metionina, treonina y triptófano, y pueden contener factores antinutritivos que pueden afectar negativamente tanto la fisiología como al crecimiento de los peces. Por otro lado, los aceites vegetales (p. ej. aceite de colza, aceite de soja, aceite de girasol) son ricos en ácidos grasos n-6 pero pobres en ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (PUFAs) n-3, de tal forma que el uso excesivo de éstos puede alterar el perfil de ácidos grasos de los filetes de pescado (Shah *et al.*, 2018). Además, se han descrito fenómenos inflamatorios intestinales en salmones juveniles alimentados con un 20 %

de harina de soja, incluso cuando los periodos de alimentación fueron cortos (Booman *et al.*, 2018). En este caso, aunque el crecimiento de los peces no se afectó, la enteritis alteró la integridad de la mucosa intestinal y aumentó el riesgo de que los peces sufriesen patologías.

Todas estas consideraciones mencionadas son las razones por las que se han llevado a cabo numerosos estudios con el objetivo de evaluar otros ingredientes alternativos que no presenten dichas limitaciones. En este punto, es importante considerar que reemplazar la harina de pescado no es solo sustituir la proteína que este ingrediente proporciona, sino que supone sustituir todos los nutrientes importantes contenidos en esta materia prima (nucleótidos, ácidos grasos n-3, minerales, compuestos bioactivos, etc.). Debe tenerse en cuenta que los peces tienen requerimientos de nutrientes y no de ingredientes. Asimismo, el aceite de pescado también es más que una fuente de lípidos; es fuente de ácidos grasos n-3, pero también de colesterol, vitaminas, carotenoides y otros factores. Por esas razones, encontrar alternativas a la harina y el aceite de pescado es más que encontrar fuentes baratas de proteínas o lípidos, también es reemplazar el resto de los nutrientes esenciales que requieren los peces, incluyendo aminoácidos esenciales, nucleótidos, ácidos grasos, minerales, vitaminas y pigmentos.

En este sentido, las algas se posicionan como ingredientes alternativos interesantes para la elaboración de piensos de acuicultura (Figura 2). La composición química de algunas especies de algas ha llamado la atención de los investigadores como un recurso importante, no solo como fuente de proteínas y/o lípidos, sino también como aditivos potenciales para incorporar compuestos bioactivos y funcionales a los piensos (Shah *et al.*, 2018; Vizcaíno *et al.* al., 2019a).



Figura 2. Interés de las algas como ingredientes/aditivos para la producción de piensos de acuicultura.

## 2. Relevancia de las Algas en los Piensos de Acuicultura

Desde la década de 1980, las algas juegan un papel clave en la nutrición acuícola, ya sea para consumo directo o indirecto (Brown *et al.*, 1997). Sin embargo, ha sido en los últimos 15 años cuando se ha incrementado progresivamente el interés por este recurso como potencial alternativo a la harina y aceite de pescado debido a su valor nutricional, su rápido crecimiento en los sistemas en los que se cultiva, y su contenido en sustancias con capacidad antioxidante (Roy y Pal, 2015; Vizcaíno *et al.*, 2019b).

Desde un punto de vista nutricional, las microalgas pueden utilizarse como fuente natural de proteínas, lípidos, vitaminas y carotenoides (Shah *et al.*, 2018), mientras que las macroalgas son más apreciadas como fuentes de compuestos bioactivos, como pigmentos, polisacáridos, polifenoles y vitaminas (Moutinho *et al.*, 2018). Sin embargo, el valor nutricional de una determinada especie de alga depende de varios factores, como son el tamaño y la forma de las células, su digestibilidad, la presencia de factores antinutritivos, la producción de sustancias tóxicas y las necesidades nutricionales específicas de las especies animales objetivo para las que se destinen los suplementos de microalgas (Brown *et al.*, 1997).

La composición química de las algas ha sido ampliamente documentada en estudios previos (Tabla 1). En general, el contenido de proteína de las microalgas oscila entre el 30 y el 55 % (en



base a materia seca, MS) (López *et al.*, 2010), aunque existen algunos géneros, como *Anabaena* sp., *Chlorella* sp. o *Arthrospira* sp. (cianobacterias) con valores más altos (Venkataraman y Becker, 1985). En general, la proteína de microalgas muestra un perfil equilibrado de aminoácidos, similar al observado en otros ingredientes comúnmente utilizados en los piensos acuícolas (Becker, 2007). Las microalgas tienen un contenido en lípidos que oscila entre el 2 y el 50 % (MS), aunque algunos géneros superan el 80 %. Los valores habituales están en el rango de 20-50% (Chisti, 2007). El contenido de carbohidratos varía del 5 al 35%, y juega un papel importante en la digestibilidad de las microalgas (Percival y Turvey, 1974). En cuanto a las macroalgas, el contenido de proteína en las algas pardas oscila entre el 3 y el 15 %, y entre el 14 y el 47 % (MS) en el caso de las algas verdes y rojas (Arasaki y Arasaki, 1983). El contenido de lípidos totales es relativamente bajo (0,2-4% MS), mientras que la cantidad total de carbohidratos oscila entre 1,8 y 66% (MS) incluyendo azúcares simples, carbohidratos solubles, pectina, ácido algínico, carragenina y agar, entre otros (Wan *et al.*, 2019).

Tabla 1. Composición proximal (% peso seco) de diferentes especies de algas.

Microalgas marinas	Proteína	Lípidos	CHO	Fuente
<i>Anabaena</i> sp.	60,9	14,1	-	
<i>Dunaliella</i> sp.	52,3	20,3	-	
<i>Nannochloropsis gaditana</i>	44,9	27,0	-	
<i>N. gaditana</i>	33,2	27,9	15,9	Di Lena <i>et al.</i> (2020)
<i>Pavlova</i> sp.	24–29	9–14	6–9	Becker (1994)
<i>Porphyridium</i> sp.	20,1	4,8	-	
<i>Schizochytrium</i> sp.	12,5	40,2	38,9	Shields y Lupatsch (2012)
<i>Tetraselmis chuii</i>	46,5	12,3	25	Tibbetts <i>et al.</i> (2015)
<i>Tetraselmis</i> sp.	27,2	14,0	45,4	Shields y Lupatsch (2012)
<i>Tetraselmis suecica</i>	26,0	14,7	24,1	Di Lena <i>et al.</i> (2020)
<i>T. suecica</i>	36,0	12,9	-	
<i>Tisochrysis lutea</i>	43,6	17,8	-	
Microalgas dulceacuícolas				
<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	62,0	3,0	23,0	Becker (2007)
<i>Arthrospira maxima</i>	60-71	6-7	13-16	Becker (2007)
<i>Arthrospira platensis</i>	50-65	4-9	8-14	Becker (2007)
<i>A. platensis</i>	46,8	1,4	3,3	Molino <i>et al.</i> (2018)
<i>A. platensis</i>	36,8	7,2	-	
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	57,0	2,0	26,0	Becker (2007)

<i>Chlorella</i> sp.	43,2	6,5	-	
<i>Scenedesmus almeriensis</i>	42,8	9,6	-	
<i>S. almeriensis</i>	49,4	12,0	24,6	Sánchez <i>et al.</i> (2008)
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50–56	12–14	10–52	Becker (2007)
<i>Spirogyra</i> sp.	25,3	9,3		
<b>Macroalgas</b>				
<i>Gracilaria cornea</i>	13,5	0,8	39,8	Vizcaíno <i>et al.</i> (2016a)
<i>Gracilaria lameneiformis</i>	19,2	0,5	61,3	Xu <i>et al.</i> (2011)
<i>Laminaria digitata</i>	15,9	0,5	-	Marsham <i>et al.</i> (2007)
<i>Macrocystis pyrifera</i>	5,3-6,1	0,7	-	Cruz-Suárez <i>et al.</i> (2009)
<i>Ulva fasciata</i>	8,8-12,3	3,6-5,1	-	McDermid y Stuercke (2003)
<i>Ulva ohnoi</i>	19,2	3,2	29,9	Vizcaíno <i>et al.</i> (2019a)
<i>Ulva rigida</i>	14,9	1,2	50,4	Vizcaíno <i>et al.</i> (2016a)
<b>Ingredientes de referencia</b>				
<b>Harina de pescado</b>	65,0	12,7	-	
<b>Harina de soja</b>	50,1	2,7	-	

CHO: carbohidratos

### La proteína de las algas

El contenido de proteínas es el principal factor que determina el valor de una determinada especie de alga para su uso en nutrición acuícola (Spolaore *et al.*, 2006). La proteína de las microalgas de diferentes especies muestra perfiles de aminoácidos similares, que se caracterizan por un alto contenido en aminoácidos esenciales, como lo demuestra el estudio exhaustivo de 40 especies de microalgas realizado por Brown *et al.* (1997). Este estudio encontró que todas las especies mostraron una composición de aminoácidos similar, comparable a la de otros ingredientes convencionales. Por ejemplo, las biomásas de *Arthrospira* y *Chlorella* tienen un contenido de proteína superior al 50 %, cuya calidad es comparable a la de la levadura y la harina de soja (Kovač *et al.*, 2013).

En general, la leucina y la arginina son los aminoácidos predominantes en la proteína de microalgas. El contenido de ambos aminoácidos oscila entre 5 y 9 g por 100 g de proteína, mientras que la histidina y la metionina suelen ser los aminoácidos más limitantes, con valores en torno a 1,5 a 2 g por 100 g de proteína. Sin embargo, algunas especies como *Dunaliella*, *Scenedesmus* o *Arthrospira* (esta última es una cianobacteria) muestran un contenido de aminoácidos similar al de la harina de pescado (Tabla 2). La metionina suele ser el aminoácido más limitante en los

ingredientes utilizados para la fabricación de piensos de acuicultura, especialmente cuando se utilizan fuentes de proteínas vegetales terrestres para reemplazar ingredientes tradicionales como la harina de pescado (Mai *et al.*, 2006a; b; Tibbetts *et al.*, 2015). Por lo tanto, y en base a los requerimientos de aminoácidos de los peces de acuicultura (Wilson, 2003), la proteína de microalgas podría proporcionar la mayoría de los aminoácidos esenciales necesarios para un crecimiento adecuado de los animales.

Tabla 2. Perfil de aminoácidos (g por 100 g de proteína) de diferentes especies de algas.

Microalgas marinas	Arg	His	Ile	Leu	Lys	Met	Phe	Thr	Val	F
<i>Dunaliella sp.</i>	6,6	2,5	4,5	9,3	6,2	2,5	6,0	5,0	6,0	(2)
<i>Nannochloropsis gaditana</i>	5,2	1,6	3,9	7,3	4,3	1,2	4,7	4,6	4,9	(1)
<i>Tetraselmis suecica</i>	5,5	1,6	4,5	6,8	4,1	1,5	4,8	4,1	4,7	(1)
<i>Tisochrysis lutea</i>	6,6	1,8	4,1	6,9	3,8	1,3	5,9	4,6	5,0	(1)
Microalgas dulceacuícolas										
<i>Arthrospira platensis</i>	5,1	1,3	3,6	7,0	4,6	2,1	3,9	4,0	4,3	(1)
<i>Chlorella sp.</i>	2,3	0,4	1,8	5,0	2,7	0,6	3,3	2,4	3,0	(1)
<i>Scenedesmus almeriensis</i>	5,8	1,7	4,3	6,9	4,8	1,3	4,5	4,1	5,0	(1)
<i>Scenedesmus sp.</i>	6,4	2,6	4,4	9,2	6,6	2,4	5,6	5,6	6,2	(2)
Macroalgas										
<i>Ulva lactuca</i>	3,6	1,8	3,7	6,7	4,2	1,6	4,0	4,7	6,2	(4)
<i>Ulva rigida</i>	4,6	1,4	3,1	5,2	3,7	1,5	3,3	5,0	5,6	(4)
Ingredientes de referencia										
<b>Harina de pescado</b>	5,7	2,4	4,7	7,7	7,9	3,0	4,1	4,7	5,4	(5)
<b>Harina de soja</b>	7,3	2,7	4,5	7,7	6,4	1,4	5,0	3,9	4,8	(5)

F: fuente.(1) Vizcaíno *et al.* (2018); (2) Kent *et al.* (2015); (3) Kristaki *et al.* (2011); (4) Shuuluka *et al.* (2013); (5) Cho y Kind (2010).

De manera similar, la proteína de las macroalgas también puede considerarse que está relativamente bien equilibrada en términos de aminoácidos esenciales (Wan *et al.*, 2019). En términos generales, muchas especies contienen la mayoría de los aminoácidos esenciales y no esenciales (Gressler *et al.*, 2010). Aunque algunas especies comercialmente importantes, como el alga roja *Palmaria palmata*, carecen de algunos aminoácidos (p. ej., cisteína), aunque son ricas en ácido aspártico y glicina, con un contenido de aminoácidos esenciales totales comparable a la proteína de soja (Galland-Irmouli *et al.*, 1999).

La mayoría de los valores publicados sobre el contenido de proteína en las algas se basan en estimaciones de la proteína cruda, que cuantifica otros componentes nitrogenados de las algas, como glucosamidas, aminas, ácidos nucleicos y componentes de la pared celular, además de la proteína. Esto ocasiona generalmente una sobreestimación sobre el verdadero contenido de proteína (Becker, 2007). Por ejemplo, el nitrógeno no proteico puede alcanzar el 11,5% en *Arthrospira*. Sin embargo, incluso con esta sobreestimación, el valor nutricional de las algas es alto, con una calidad promedio similar e incluso superior a las fuentes de proteínas vegetales convencionales.

### **El perfil de lípidos y de ácidos grasos de las algas**

El contenido de ácidos grasos es otro factor que determina el valor nutricional de las algas (Shah *et al.*, 2018). Son numerosas las publicaciones científicas que describen el contenido de ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) de las especies de algas y, especialmente, de las microalgas utilizadas en acuicultura (Dunstan *et al.*, 1992; Volkman *et al.*, 1989).

En general, muchas de las especies de micro y macroalgas marinas poseen una alta proporción de PUFAs, especialmente ácidos grasos n-3 como ácido docosahexaenoico (22: 6n-3; DHA), ácido  $\alpha$ -linolénico (18: 3n-3; ALA) y ácido eicosapentaenoico (20: 5n-3; EPA) (Brown *et al.*, 1997; Wan *et al.*, 2019) (Tabla 3). Como se muestra en la Tabla 1, las macroalgas presentan contenidos en lípidos más bajos en comparación con los observados en algunas especies de microalgas, sin embargo, las algas marinas pueden mejorar el perfil de ácidos grasos de los alimentos (Wan *et al.*, 2019; Sáez *et al.*, 2020).

Tabla 3. Contenido en ácidos grasos poliinsaturados (% del total de ácidos grasos) de diferentes especies de algas.

Microalgas marinas	18:2n-6	18:3n-3	20:4n-6	20:5n-3	22:6n-3	F
<i>Dunaliella</i> sp.	6,3	15,6		0,2	0,2	(1)
<i>Nannochloropsis</i> sp.	3,5		4,6	30,1		(2)
<i>Schizochytrium</i> sp.	1-2	> 1	1	1-16	18-44	(3)
<i>Tetraselmis</i> sp.	9,7	16,2	1,0	4,7		(4)
<i>Tetraselmis</i> sp.	4-7	5-22	< 1-4	2-8	< 1	(3)
<i>Tetraselmis suecica</i>	6,9	14,9	2	6,2		(2)
<i>Tisochrysis lutea</i>	7,8	16,3	0,6	0,9	12,0	(2)
Microalgas dulceacuícolas						
<i>Scenedesmus</i> sp.	4,7	20,8				(4)
<i>Arthrospira</i> sp.	7,7			5,5		(5)
<i>Chlorella</i> sp.	17,5	20,0				(4)
<i>Scenedesmus almeriensis</i>	6,3	27,9				(6)
<i>Scenedesmus</i> sp.	1-6	> 1-3				(3)
Macroalgas						
<i>Ulva lactuca</i>	9,5	0,1	1,8	1,6	0,2	(7)
<i>Ulva ohnoi</i>	2,6	9,7		0,3		(8)
<i>Ulva rigida</i>	14,3	5,2	0,5	0,4	0,5	(9)

(1) Mourente *et al.* (1990); (2) Serval *et al.* (1994); (3) Tibbetts *et al.* (2018); (4) Pratoomyot *et al.* (2005); (5) Sahu *et al.* (2013); (6) Vizcaíno *et al.* (2019b); (7) Cardoso *et al.* (2017); (8) Sáez *et al.* (2020); (9) Ivanova *et al.* (2013).

En general, los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) n-3 de cadena larga están presentes principalmente en especies de microalgas marinas. Los ácidos grasos como ARA, EPA y DHA pueden ser producidos por microalgas como *Porphyridium*, *Nannochloropsis* y *Schizochytrium* sp. De hecho, esta última especie se puede utilizar como fuente de PUFAs debido al alto contenido de DHA (hasta un 49% de lípidos totales) (Ren *et al.*, 2010). Por otro lado, las microalgas verdes (Chlorophyta) son deficientes en PUFAs de cadena larga, pero contienen otros ácidos grasos, como los ácidos grasos linoleico y linolénico, que son esenciales para muchas especies de peces de agua dulce. Por lo tanto, el contenido de ácidos grasos hace que las algas (especialmente las microalgas) sean un ingrediente novedoso y valioso para reemplazar el aceite de pescado, dado que la biomasa puede utilizarse para imitar el perfil promedio de ácidos grasos que se encuentra en el aceite de pescado. Sin embargo, el uso de una sola especie de microalga no suele permitir obtener una

alternativa al aceite de pescado, ya que deben de mezclarse al menos dos cepas de microalgas marinas para lograr este objetivo.

### **Los carbohidratos de las algas**

La composición de polisacáridos de las microalgas varía notablemente entre especies (Brown, 2002). En general, la glucosa es el azúcar predominante en algunas microalgas comúnmente evaluadas en acuicultura, como *Tisochrysis* sp. y *Chlorella* sp. (28-86% de carbohidratos totales). Asimismo, otros monosacáridos como manosa, fucosa, galactosa y xilosa, entre otros, están presentes en las microalgas, aunque en diferentes proporciones. La mayoría de estos azúcares son componentes de la pared celular, y juegan un papel clave como barrera protectora que, a su vez, reduce la biodisponibilidad de los nutrientes intracelulares. Los polisacáridos extracelulares pueden interferir con la absorción de nutrientes o, por el contrario, ser agentes aglutinantes útiles cuando se trata de formar gránulos de pienso.


Por otro lado, los carbohidratos constituyen uno de los principales componentes de algas marinas, alcanzando valores del 2% al 66%. Diversos tipos de polisacáridos están presentes en las algas marinas y pueden influir tanto en la calidad del alimento (como agentes gelificantes y estabilizantes) como en los propios animales, constituyendo una fuente de polisacáridos distintos del almidón. Si bien ciertas fracciones de carbohidratos, como el ulvano o el  $\beta$ -glucano, pueden tener efectos funcionales en los peces, otros carbohidratos complejos, como polisacáridos no amiláceos, pueden inducir efectos negativos sobre la absorción de nutrientes, el rendimiento del crecimiento y la morfología intestinal. Esto último puede ser de gran interés en el caso de peces carnívoros, en los que los carbohidratos se digieren y metabolizan relativamente mal para ser utilizados como fuente de energía (Wan *et al.*, 2019). La eficiencia de los peces para digerir la pared celular de las algas depende tanto de la composición de los carbohidratos, como de las uniones existentes entre los monómeros que los componen, y también de la existencia o no de las enzimas digestivas adecuadas en las diferentes especies de peces. En general, las especies herbívoras y omnívoras poseen una gama más amplia de carbohidrasas que las que presentan los peces carnívoros.

## Los pigmentos de las algas

A grandes rasgos, las algas tienen un contenido adecuado en carotenoides de alto valor, como el  $\beta$ -caroteno y la astaxantina (Figura 3), que se utilizan comúnmente en la acuicultura por sus propiedades colorantes y antioxidantes, mejorando la calidad y el valor comercial de los peces (Yarnold *et al.*, 2019). El  $\beta$ -caroteno es uno de los pigmentos más demandados con una amplia variedad de aplicaciones en el mercado: i) provitamina A (retinol) en alimentos y piensos, ii) como colorante alimentario, aditivo para cosméticos y preparaciones multivitamínicas, y iii) como aditivo alimentario en la categoría de antioxidantes. Este pigmento puede ser producido naturalmente por el género *Dunaliella*, que puede sintetizar y acumular hasta el 16% de su peso seco en forma de  $\beta$ -caroteno (Lers *et al.*, 1990). La astaxantina es otro pigmento que puede ser sintetizado por las microalgas *Haematococcus*, *Chlorella zofingiensis* y *Chlorococcum* sp. (Del Campo *et al.*, 2004). Este compuesto presenta tal actividad antioxidante que se ha propuesto como “supervitamina E” (Nakagawa *et al.*, 2011). Como colorante natural, la astaxantina se usa comúnmente como fuente de pigmentación en la industria acuícola (Canales-Gómez *et al.*, 2010), y en general, es considerado el carotenoide más importante en el cultivo del salmón y la trucha arco iris (Shah *et al.*, 2016; Tolasa *et al.*, 2005). Estos pigmentos no pueden ser sintetizados *de novo* por los salmónidos y, por lo tanto, deben suministrarse a través del alimento.

**Astaxantina**


CC1=C(C)C(=O)C(=C(C)C)C(=O)C1



- Propuesto como “Super vitamina E” con actividad antioxidante
- Utilizado como pigmentante en filetes de salmón
- Protege a los peces contra enfermedades

**Beta caroteno**


CC1=C(C)C(=O)C(=C(C)C)C(=O)C1




- Diferentes aplicaciones: pimento, precursor de la vitamina A en piensos, y como aditivo para promover la salud

**Luteína**

CC1=C(C)C(=O)C(=C(C)C)C(=O)C1



- Usado como pigmento



Estos compuestos juegan un papel en la estimulación del sistema inmune en peces

Figura 3. Interés de las algas como fuente de pigmentos en los piensos de acuicultura.

Recientemente, Sales *et al.* (2020) analizaron la composición de la fracción carotenoide obtenida de la microalga *Nannochloropsis gaditana* (Tabla 4), y encontraron que la violaxantina, el  $\beta$ -caroteno y la neoxantina eran los más abundantes en los extractos, y el éster de vaucheroxantina y cantaxantina, los menos abundantes. Estos autores evaluaron el extracto lipídico de *N. gaditana* como aditivo para piensos de juveniles de dorada. El uso de los compuestos extraídos, en lugar de toda la biomasa microalgal, puede ser eficaz para mejorar la biodisponibilidad de estos compuestos. De hecho, los pigmentos extraídos de *Arthrospira platensis*, *Haematococcus pluvialis* y *Chlorella* sp. han sido incorporados con éxito como suplementos para la alimentación de larvas de *Lates calcarifer* (Gora *et al.*, 2019).

Tabla 4. Contenido en carotenoides ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) del extracto lipídico no saponificable obtenido de *Nannochloropsis gaditana* (Datos de Sales *et al.*, 2020).

Carotenoides	Extracto lipídico no saponificable
Neoxantina	754,97 $\pm$ 149,19
Violaxantina	2137,29 $\pm$ 254,97
Anteraxantina	417,51 $\pm$ 70,36
Vauqueroxantina	78,81 $\pm$ 10,60
Zeaxantina	58,32 $\pm$ 8,14
Ester Vauqueroxantina	13,47 $\pm$ 2,38
Cantaxantina	14,09 $\pm$ 2,24
$\beta$ -caroteno	925,51 $\pm$ 145,40
<b>Total</b>	<b>4399,97 <math>\pm</math> 643,27</b>

### 3. El Uso de Algas Como Ingrediente en Piensos de Acuicultura

El perfil nutricional y la variedad de compuestos nutraceuticos presentes en las algas justifican su uso potencial como ingrediente y también como aditivo en piensos para peces de acuicultura. De hecho, existe abundante literatura científica centrada en la evaluación de piensos suplementados con algas, ya sea como fuente de proteína, o de lípidos, y como aditivos funcionales para piensos acuícolas (Tabla 5 y 6).



Tabla 5. Estudios recientes sobre aplicación de microalgas en piensos.

Microalgas	Pez	Uso	Efectos en el pez
<i>Arthrospira</i> sp.	<i>Pelteobagrus fulvidraco</i>	4% IA	(↔) Crecimiento, (↑) Respuesta antioxidante e inmune
<i>Arthrospira</i> sp.	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	7.5% RFM	(↔) Crecimiento, (↑) Concentración de carotenoides en piel y filete (↑) actividad enzimática digestiva, (↑) Estructura de la mucosa intestinal, y (↓) oxidación lipídica del músculo
<i>Arthrospira</i> sp.	<i>Sparus aurata</i>	4% IA	(↑) crecimiento, (↑) actividad de enzimas antioxidantes y metabolismo lipídico
<i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Paralichthys olivaceus</i>	15% RFM	(↔) crecimiento, factor de condición, eficiencia proteica y composición proximal
<i>Desmodesmus</i> sp.	<i>Salmo salar</i>	10% RFM	(↔) Consumo de alimento, crecimiento (↑) pigmentación verdosa de la piel
<i>Isochrysis</i> sp.	<i>Dicentrarchus labrax</i>	36% RFO	(↑) consumo de alimento y crecimiento
<i>Nannochloropsis</i> y <i>Isochrysis</i> sp.	<i>Gadus morhua</i>	15% RFM	(↔) crecimiento y utilización del alimento
<i>Nannochloropsis</i> y <i>Schizochytrium</i> sp.	<i>P. olivaceus</i>	100% RFO	(↔) crecimiento, composición proximal e integridad intestinal
<i>Nannochloropsis</i> sp.	<i>D. labrax</i>	15% RFM	(↔) crecimiento y utilización del alimento
<i>Pavlova viridis</i> y <i>Nannochloropsis</i> sp.	<i>D. labrax</i>	100% RFO	(↔) crecimiento, digestibilidad y utilización del alimento
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	<i>S. salar</i>	6% RFM	(↔) crecimiento y utilización del alimento (↑) actividad enzimática intestinal y superficie de absorción
<i>Scenedesmus almeriensis</i>	<i>S. aurata</i>	38% RFM	(↔) consumo de alimento, crecimiento, composición proximal (↑) contenido en PUFAs n-3
<i>Scenedesmus</i> sp.	<i>S. salar</i>	10% RFM	(↔) salud y calidad nutricional del filete
<i>Schizochytrium</i> sp.	<i>S. salar</i>	5% RFM	(↑) crecimiento, utilización del alimento y contenido en PUFAs n-3 en el filete
<i>Schizochytrium</i> sp.	<i>Oreochromis niloticus</i>	100% RFO	(↔) crecimiento
<i>Spirulina maxima</i>	<i>O. niloticus</i>	30% RFM	(↑) crecimiento y conversión alimentaria
<i>Spirulina</i> sp.	<i>Puntius gelius</i>	20% RFM	

<i>T. galbana</i> , <i>S. almeriensis</i> y <i>N. gaditana</i>	<i>Solea senegalensis</i>	15% RFM	(↔) crecimiento y utilización del alimento (↑) Capacidad de absorción intestinal
<i>Tetraselmis suecica</i>	<i>D. labrax</i>	20% RFM	(↔) crecimiento

**Uso:** **RFM:** sustitución de harina de pescado; **RFO:** sustitución de aceite de pescado; **IA:** inclusión de alga.

**S:** (1) Liu *et al.* (2020); (2) Teimuri *et al.* (2013); (3) Galafat *et al.* (2020); (4) Rahimnejad *et al.* (2017); (5) Kiron *et al.* (2016); (6) Tibaldi *et al.* (2015); (7) Walker y Berlinsk (2011); (8) Qiao *et al.* (2014); (9) Valente *et al.* (2019); (10) Haas *et al.* (2016); (11) Sørensen *et al.* (2016); (12) Vizcaíno *et al.* (2014); (13) Gong *et al.* (2019); (14) Kousoulaki *et al.* (2015); (15) Sarker *et al.* (2016); (16) Rincón *et al.* (2012); (17) Hajiahmadian *et al.* (2012); (18) Vizcaíno *et al.* (2018); (19) Tulli *et al.* (2012).

Tabla 6. Estudios recientes sobre aplicación de macroalgas como ingrediente/aditivo en piensos de acuicultura.

Macroalgas	Pez	Uso	Efectos en el pez	S
<i>Palmaria palmata</i>	<i>Salmo salar</i>	15% IA	(↔) crecimiento y utilización del alimento	(1)
<i>Porphyra dioica</i> y <i>Ulva</i> sp.	<i>Oreochromis niloticus</i>	10% IA	(↔) crecimiento y composición corporal	(2)
<i>Sargassum horneri</i>	<i>Scophthalmus maximus</i>	10% IA	(↔) crecimiento (↑) respuesta inmune no específica y resistencia a bacterias patógenas	(3)
<i>Ulva lactuca</i>	<i>Solea senegalensis</i>	10% IA	(↔) crecimiento y utilización del alimento	(4)
<i>U. ohnoi</i>	<i>S. senegalensis</i>	5% IA	(↓) crecimiento y actividad proteasa. (↑) superficie de absorción intestinal	(5)
<i>U. rigida</i> y <i>Gracilaria cornea</i>	<i>Sparus aurata</i>	15% IA	(↔) crecimiento y composición corporal (↔) estructura intestinal	(6)

**Use:** **AI:** algae inclusion. **Effect:** (↓) reduced; (↑) increased/improved; (↔) no effect. **S:** <sup>(1)</sup> Wan *et al.* (2016); <sup>(2)</sup> Silva *et al.* (2015); <sup>(3)</sup> Wang *et al.* (2019); <sup>(4)</sup> Moutinho *et al.* (2018); <sup>(5)</sup> Vizcaíno *et al.* (2019a); <sup>(6)</sup> Vizcaíno *et al.* (2016a).

En estudios previos se ha comprobado que la sustitución de la harina de pescado por algas en el pienso a un bajo nivel (alrededor del 0,5 - 10%) ejerce efectos positivos sobre los animales. Por ejemplo, la inclusión de hasta un 7,5% de *Arthrospira* sp. en las dietas para trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) no afectó negativamente el crecimiento y la utilización de nutrientes. El peso y la concentración de carotenoides en la piel y los filetes fueron mayores en los peces alimentados con una dieta suplementada con microalgas al 7,5% (Teimouri *et al.*, 2013). Del mismo modo, se han evaluado con éxito dietas para salmón atlántico (*Salmo salar*) con un 5 o 10%

de reemplazo de la harina de pescado por biomasa de *Scenedesmus* sp. y *Desmodesmus* sp. al 5 o 10%, sin causar efectos negativos sobre el crecimiento, la utilización de nutrientes y la composición proximal del músculo de los peces (Kiron *et al.*, 2016), e incluso se informó de un incremento en el contenido total de PUFAs n-3 en el pescado (Gong *et al.*, 2019). La inclusión de hasta un 15% de *Nannochloropsis gaditana*, *Tisochrysis lutea* y *Scenedesmus almeriensis* resultó exitosa en dietas para lenguado senegalés (*Solea senegalensis*). Vizcaíno *et al.* (2014) también señalaron que la inclusión de hasta un 38% de *S. almeriensis* en dietas para juveniles de dorada (*S. aurata*) causó un efecto positivo en la funcionalidad intestinal.

Por otro lado, las microalgas podrían ser un ingrediente clave para diseñar una alternativa al aceite de pescado que contenga ácidos grasos esenciales, como EPA y ARA. Recientemente, Tibaldi *et al.* (2015) obtuvieron resultados alentadores en peces marinos. Estos autores utilizaron biomasa de *T. lutea* para sustituir hasta un 36% del aceite de pescado, y no encontraron efectos adversos sobre el crecimiento de la lubina europea (*Dicentrarchus labrax*). De manera similar, *Schizochytrium* sp. se ha utilizado con éxito en diferentes especies de peces. El alto contenido de DHA de este microorganismo heterótrofo ha permitido la sustitución total del aceite de pescado en dietas para tilapia (*Oreochromis niloticus*) (Sarket *et al.*, 2016). Los resultados obtenidos revelaron efectos positivos sobre el crecimiento y la utilización de nutrientes, así como una acumulación de PUFAs n-3 en los filetes del pescado.

En los últimos años, las macroalgas también han sido evaluadas como un recurso novedoso y sostenible para la fabricación de alimentos acuícolas (Vizcaíno *et al.*, 2016a; 2019a). A pesar de que su contenido en proteína es bajo en comparación con otros ingredientes utilizados en la elaboración de piensos, las algas marinas son ricas en compuestos biológicamente activos, como polisacáridos, pigmentos, polifenoles y vitaminas, que pueden ejercer ciertos efectos beneficiosos en los peces (Wan *et al.*, 2019). En general, existen numerosos estudios que revelan resultados positivos en términos de crecimiento, supervivencia y utilización de nutrientes en diferentes especies de peces de piscifactoría cuando se alimentan con piensos enriquecidos con algas marinas hasta un nivel de inclusión del 10-15%. Algunas especies del género *Ulva* han sido evaluadas con éxito como ingrediente para la alimentación de dorada (Vizcaíno *et al.*, 2016a), lenguado senegalés (Moutinho *et al.*, 2018) o tilapia (Silva *et al.*, 2015) sin que se hayan descrito efectos negativos sobre el crecimiento y la utilización de nutrientes. De manera similar, la inclusión de hasta un 10% de *Sargassum horneri* no causó efectos adversos sobre el crecimiento de juveniles de rodaballo

(*Scophthalmus maximus*), y mejoró la actividad de ciertas enzimas asociadas al sistema inmune no específico y la resistencia contra bacterias patógenas (Wan *et al.*, 2019).

En resumen, los efectos beneficiosos descritos en literatura asociados al uso de las algas ha sido diversos, tales como: i) mejora del crecimiento, utilización del alimento y tasa de supervivencia, ii) aumento del metabolismo de los lípidos, iii) propiedades antioxidantes, iv) mejora de la composición corporal y la calidad del filete, v) mejora de la pigmentación de la piel y del filete, vi) mejora de la integridad de la mucosa intestinal, vii) mejora de las actividades enzimáticas digestivas, viii) refuerzo del sistema inmune, y, ix) mejora de la resistencia al estrés y frente a patógenos.

Teniendo en cuenta la composición nutricional y los efectos producidos sobre los animales, parece que las algas son ingredientes/aditivos interesantes para su inclusión en los piensos para piscicultura. Las especies de peces herbívoras y omnívoras toleran bien altos niveles de inclusión de algas en comparación con las especies de peces carnívoros. Sin embargo, los resultados sugieren que el nivel óptimo de inclusión de algas en la dieta debería variar según la especie concreta de alga y de pez de cultivo considerados. En este sentido, el efecto de las algas parece ser dosis dependiente y especie específico y, en consecuencia, es difícil establecer una regla general sobre el uso de algas en alimentos de acuicultura. Por lo tanto, se debe llevar a cabo un estudio específico para cada caso concreto, siendo necesaria una investigación más profunda para cada caso concreto.

#### **4. Los Retos Actuales en el uso de las Algas en Piensos de Acuicultura**

##### **Aspectos normativos y de seguridad de las algas en piensos acuícolas**

El uso de algas en alimentos y piensos es cada vez más relevante, ya que los componentes de las algas tienen el potencial de ser competitivos con los mismos componentes de otros orígenes. Por ejemplo, las microalgas utilizadas comúnmente para la producción de suplementos alimenticios, como las especies del género *Isochrysis*, *Chaetoceros*, *Tetraselmis*, *Pavlova*, *Skeletonema*, *Dunalliella*, *Nannochloropsis*, *Phaedactylum* o *Chlorella*, no producen toxinas, pero, debe tenerse en cuenta que, incluso dentro de una especie determinada, existen diferencias entre cepas tóxicas y no tóxicas. Por ello, es muy importante conocer sus aspectos de seguridad a nivel de especie. La competitividad de los productos a base de algas se basa no solo en aspectos técnicos y económicos, sino también en la normativa que regula su uso (Enzing *et al.*, 2014). La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) ha analizado los aspectos de seguridad de las algas

utilizadas en piensos. La comercialización de algas o sus componentes en el mercado de la Unión Europea para la alimentación humana y animal está regulada por tres disposiciones legales: i) Reglamento CE 178/2002, sobre seguridad alimentaria; ii) Reglamento CE 258/97, sobre nuevos alimentos e ingredientes alimentarios; y iii) el reglamento CE 1924/2006, sobre declaración de propiedades nutricionales y de salud para los alimentos. Dado que varios compuestos derivados de las algas se utilizan como aditivos para piensos, también se aplica el Reglamento (CE) 1333/2008. En el pasado, antes de la comercialización, las empresas productoras de alimentos y piensos estaban obligados a solicitar una autorización para el uso de proteína derivada de algas en los piensos con arreglo a la Directiva 82/471 / CEE. La evaluación de la seguridad y el valor nutricional debe realizarse de acuerdo con las directrices de la Directiva 83/228 / CEE utilizando la “Guía para la evaluación de biomasas para uso en la nutrición animal” publicada por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA, 2011).

Las algas pertenecen al grupo “algas y procariotas” en el Anexo I del Reglamento CE 752/2014. Las algas o sus productos utilizados como pienso deben cumplir todos los niveles máximos legales mencionados en la Directiva 2002/32/CE. El reglamento UE 68/2013 estableció el “Catálogo de Materias Primas” e incluye las algas dentro del grupo 7 de la lista de materias primas para la alimentación, concretamente en “Otras plantas, algas y productos derivados de las mismas” (Tabla 7). Dentro de la Unión Europea, la EFSA requiere la evaluación de la seguridad de cualquier compuesto nuevo destinado a su uso en alimentos y piensos antes de que se autorice su comercialización.

Tabla 7. Información en el grupo “Otras plantas, algas y productos derivados de las mismas” (fuente: Reglamento (UE) n° 68/2013 de la Comisión, de 16 de enero de 2013, sobre el Catálogo de materias primas para piensos).

Nombre <sup>(1)</sup>	Descripción	Declaraciones obligatorias
<b>Algas</b>	Algas vivas o procesadas, incluidas las algas frescas, refrigeradas o congeladas. Puede contener hasta un 0,1% de agentes antiespumantes	Proteína Lípidos Cenizas
<b>Algas secas</b>	Producto obtenido por secado de algas. Este producto puede haber sido lavado para reducir el contenido de yodo. Puede contener hasta un 0,1% de agentes antiespumantes	Proteína Lípidos Cenizas
<b>Harina de algas</b>	Producto de la fabricación de aceite de algas, obtenido por extracción de algas. Puede contener hasta un 0,1% de agentes antiespumantes	Proteína Lípidos Cenizas
<b>Aceite de algas</b>	Producto de la elaboración de aceite a partir de algas obtenido por extracción. Puede contener hasta un 0,1% de agentes antiespumantes	Lípidos Humedad si > 1%
<b>Extracto de algas</b>	Extracto acuoso o alcohólico de algas que contiene principalmente hidratos de carbono. Puede contener hasta un 0,1% de agentes antiespumantes	
<b>Harina de macroalgas</b>	Producto obtenido por desecación y trituración de macroalgas, en particular algas pardas. Este producto puede haber sido lavado para reducir el contenido de yodo. Puede contener hasta un 0,1% de agentes antiespumantes	Cenizas

(1) El nombre debe de venir acompañado de la especie de la que procede.

### El coste económico de las algas

El uso de algas en lugar de harina de pescado en los piensos de acuicultura permitiría desvincular la producción acuícola de las pesquerías silvestres. Hasta ahora, la harina y el aceite de pescado son sustancialmente más baratos que las microalgas, lo que impide que éstas ingresen al mercado de alimentos acuícolas, aunque, la falta de alternativas a las microalgas para la alimentación de larvas y juveniles de peces asegura un mercado para las microalgas en los criaderos de peces. Por

tanto, el uso de algas como ingrediente de piensos en alimentos acuícolas parece prometedor, ya que las microalgas presentan un contenido adecuado de proteínas y lípidos. Se pueden utilizar en piensos con niveles de inclusión de alrededor del 10 % y, además, se han comprobado que producen ciertos efectos positivos en la salud de los animales. La sustitución de la harina de soja en la producción de piensos compuestos representa un mercado potencialmente interesante para las algas (Pereira *et al.*, 2020). Las perspectivas para el uso de microalgas como aditivos para piensos son prometedoras, debido al diverso rango de efectos positivos que han sido descritos sobre la salud y el estado de condición general de los peces. Además, el objetivo en ciertos países de reducir el uso de antibióticos es un factor impulsor para aplicar otros aditivos alimentarios que mejoran la salud, siendo las algas y sus derivados candidatos potenciales para este fin.

Un factor crítico que determinará la viabilidad comercial de las algas es su competitividad en comparación con otras fuentes de materias primas que actualmente están en el mercado. Por ejemplo, una aplicación importante para la producción de microalgas es la extracción de lípidos para la obtención de biocombustibles. Sin embargo, aunque la biomasa de algas es una alternativa más ecológica y respetuosa con el medio ambiente, el biocombustible aún no es competitivo en comparación con los combustibles fósiles (Cuéllar-Bermúdez *et al.*, 2015). La misma situación se aplica en el caso de las algas para alimentos acuícolas comerciales. La competitividad de las microalgas podría incrementarse aún más adoptando una visión holística, y maximizando la extracción de todos los componentes de alto valor disponibles en la biomasa mediante una biorefinería en cascada. De manera similar, las macroalgas marinas son ideales para la biorefinería en cascada, porque contienen muchos componentes de alto valor, junto con componentes voluminosos de bajo valor que se consideran materias primas con cierto valor económico para la industria (Cian *et al.*, 2012). Actualmente, el coste más elevado de las microalgas en comparación con los ingredientes tradicionales (Figura 4) limita su aplicación en la alimentación de especies de peces de alto valor económico (Yarnold *et al.*, 2019). Se ha estimado que se necesitarían precios de harina de algas de 0,66 y 2,65 € por kg para reemplazar la harina de pescado y la harina de soja, respectivamente, en las dietas para tilapia (un pez de valor relativamente bajo). El estudio de Vizcaíno *et al.* (2014) señala que las tecnologías de cultivo deberían reducir sustancialmente el costo de producción de microalgas, pero incluso considerando un costo de 5,5 € por kg, el precio de la biomasa de microalgas sigue siendo una limitación importante para su utilización a gran escala en la industria de piensos acuícolas (Norsker *et al.*, 2011). Dado que las algas son costosas

de producir, especialmente las microalgas, es probable que su uso como ingredientes mayoritarios para fórmulas de piensos acuícolas requiera de una mayor eficiencia de producción y una mayor reducción de costes mediante el uso de enfoques de biorrefinería. Sin embargo, su principal ventaja, desde un punto de vista económico, es su riqueza en ácidos grasos, pigmentos, vitaminas, minerales y compuestos bioactivos, lo que las convierte en excelentes aditivos y suplementos de alto valor biológico para incluir en una amplia gama de alimentos acuícolas, incluso cuando se usan en bajos niveles de inclusión.

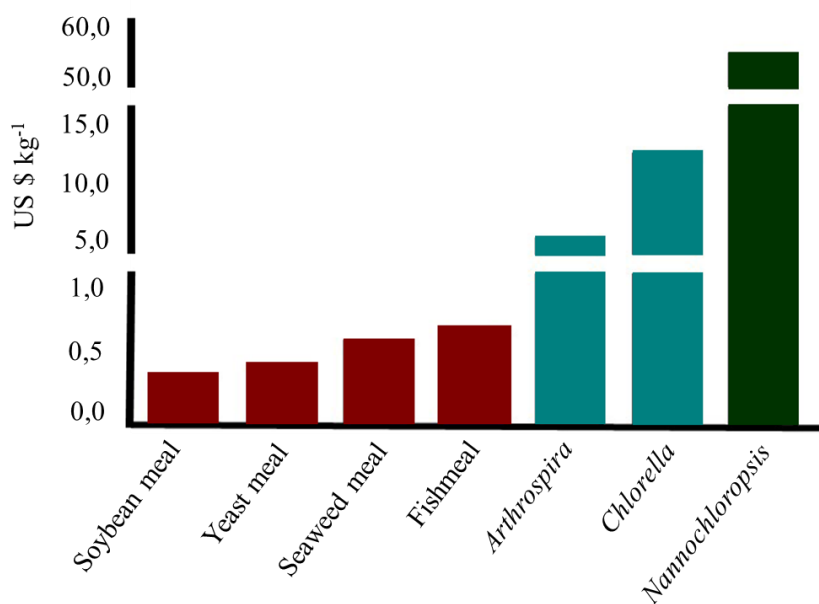


Figura 4. Comparación de los precios de distintos ingredientes para la formulación de piensos con las microalgas. Imagen modificada de Yarnold *et al.* (2019).

Un ejemplo de biorrefinería en cascada ha sido el recientemente finalizado proyecto SABANA (subvención # 727874 del Programa de Investigación e Innovación Horizonte 2020 de la Unión Europea), que tuvo como objetivo desarrollar una biorefinería integrada a gran escala basada en microalgas para la obtención de productos de alto valor para la acuicultura. En este proyecto, se utiliza agua de mar natural y luz solar para el producir microalgas. En lugar de fertilizantes químicos, los efluentes de actividades agroindustriales se utilizan como fuente de nutrientes para producir grandes cantidades de biomasa que se procesa para obtener productos para su uso en piensos acuícolas. Este proyecto se estructura en dos grandes actividades; i) la mejora de la



tecnología para la producción de biomasa a gran escala (incluidos los aspectos biológicos, de ingeniería y de sustentabilidad), y ii) el desarrollo de métodos para la utilización integral de la biomasa (incluyendo cosecha, procesamiento y evaluación de productos comerciales). El objetivo de este proyecto ha sido conseguir un proceso con residuo cero en una instalación de 1 hectárea ubicada en la Universidad de Almería, con capacidad para producir biomasa de algas con un coste económico en torno a 1 € por kg de peso seco.

### **La variabilidad en la composición de nutrientes**

Un desafío adicional, particularmente relevante en la producción de algas, es la variabilidad en su composición nutricional, que depende en gran medida de la especie concreta, el medio de crecimiento, el período de recolección y el método de producción, entre otros factores. Por ejemplo, el contenido en proteína puede variar según la estación, la temperatura y el lugar en el que se cultivan y/o cosechan las algas (Joubert y Fleurence, 2008). La proporción relativa de distintas proteínas también puede diferir, cambiando consecuentemente las concentraciones de aminoácidos. Por ejemplo, el monitoreo anual de *Palmaria palmata* recolectada en la costa atlántica mostró que los niveles de proteína eran más altos en los meses de invierno y primavera, variando del 9 al 25% y alcanzando su punto máximo en mayo (Galland-Irmouli *et al.*, 1999). En el caso de las microalgas, Adams *et al.* (2013) describieron que el efecto a corto plazo de la limitación de nitrógeno generalmente produce un aumento en el contenido de lípidos y carbohidratos, y una disminución en la tasa de crecimiento y el contenido de proteína cruda, aunque el grado de esta respuesta varía notablemente entre especies. A la luz de los datos, se espera que el desarrollo de protocolos para optimizar la composición bioquímica de las algas juegue un papel importante en los futuros procesos de producción.

## La presencia de factores antinutritivos

La presencia de factores antinutritivos es uno de los problemas más importantes derivados del uso de nuevos ingredientes en los piensos acuícolas. Estos compuestos pueden ejercer efectos negativos sobre la absorción de nutrientes y micronutrientes, dificultando el normal funcionamiento de determinados órganos, por lo que representan uno de los principales inconvenientes que limitan su uso práctico en piensos (Vizcaíno *et al.*, 2020).

Los factores antinutritivos comprenden una amplia variedad de compuestos, como inhibidores de proteasa, fitohemaglutininas, lectinas, ácido fítico, saponinas, fitoestrógenos o antivitaminas (Prabhu *et al.*, 2017). En general, estas sustancias se han relacionado con piensos elaborados con ingredientes de origen vegetal, aunque estudios recientes también han documentado su presencia en algunas especies de algas (Oliveira *et al.*, 2009; Mæhre, 2015; Vizcaíno *et al.*, 2020). En general, la capacidad de las microalgas para inhibir las proteasas digestivas de los peces resultó baja, con valores de inhibición inferiores al 20% frente a los ensayos de control (Vizcaíno *et al.*, 2020). Sin embargo, otros estudios señalaron la existencia de inhibidores de la proteasa en algunas especies de macroalgas como *Ulva rigida*, *Ulva ohnoi*, *Gracilaria cornea* y *Sargassum* sp., que pueden ocasionar no solo un menor grado de proteólisis en el tracto digestivo, sino también un aumento de la secreción pancreática como compensación frente a los efectos antinutricionales (Sáez *et al.*, 2013; Diken *et al.*, 2016; Vizcaíno *et al.*, 2019a; 2020).

Sáez *et al.* (2013) evaluaron el efecto de la inclusión de *Gracilaria cornea* y *Ulva rigida* como ingredientes sobre la actividad proteolítica intestinal de juveniles de dorada. Los resultados obtenidos evidenciaron que las proteasas digestivas se vieron afectadas por las dietas suplementadas con algas, ya que los peces mostraron diferentes niveles de actividad de las enzimas proteolíticas alcalinas intestinales después tras 70 días de alimentación. En particular, las actividades proteolíticas digestivas en los peces alimentados con dietas suplementadas con *Ulva* fueron significativamente más bajas que las de los peces alimentados con la dieta de control. La presencia de inhibidores de proteasa en macroalgas puede contribuir a la disminución progresiva de la actividad proteolítica en peces alimentados con las dietas que incluyen niveles crecientes de *Ulva*. Sin embargo, la disminución en el nivel de actividad de la proteasa alcalina no estuvo acompañada por una disminución en el crecimiento de los peces y la utilización de alimento, ya que todos los peces crecieron de manera similar. Santigosa *et al.* (2010) demostraron la existencia de un mecanismo de compensación contra los inhibidores de la proteasa en doradas que fueron

alimentadas con una dieta enriquecida en inhibidor de tripsina de soja. Un fenómeno similar podría explicar el resultado con *Ulva*.

Vizcaíno *et al.* (2020) también evaluaron en la biomasa de *Ulva ohnoi* la existencia de sustancias capaces de inhibir a las proteasas digestivas de la dorada, el lenguado senegalés y la lubina. En ese estudio, se obtuvieron gráficos de inhibición y zimogramas para ilustrar la respuesta de las proteasas de pescado tras su incubación con *U. ohnoi* cruda o tratada térmicamente. Las proteasas digestivas de estos peces marinos mostraron susceptibilidad frente a los potenciales inhibidores de la proteasa presentes en *Ulva*, aunque se necesitó una concentración considerablemente alta para producir valores elevados de inhibición. Según la estimación de Vizcaíno *et al.* (2020), la cantidad de *Ulva* requerida para alcanzar el 50% de inhibición de las proteasas digestivas correspondería con un nivel de inclusión en el pienso de aproximadamente un 40% a un 53%, resultando estas inclusiones poco factibles o usuales en la formulación práctica de piensos comerciales. Además, el efecto de un tratamiento térmico de *Ulva* puso de manifiesto que estos potenciales inhibidores fueron susceptibles a la temperatura. De hecho, cuando se sometió la biomasa a un tratamiento a 80 °C durante 15 min se redujo su capacidad inhibidora en un 50%, y en más de un 75% cuando se aplicaron tratamientos más prolongados. La desactivación de factores antinutritivos también es un tema importante a considerar en el procesamiento de materias primas durante la fabricación del pienso, y en el caso de *U. ohnoi*, el tratamiento térmico parece ser suficiente para inactivar estos compuestos.

### **La digestibilidad de las algas**

No solo la composición de nutrientes de las algas determina su interés como ingredientes en los alimentos acuícolas, sino también factores como el poder atrayente del alimento (por ejemplo, el olor, el sabor), accesibilidad (por ejemplo, el tamaño de célula, la flotabilidad) y la disponibilidad de nutrientes. Las características de la pared celular de la mayoría de las algas es un factor que limita su digestibilidad y la asimilación de sus nutrientes intracelulares, especialmente en los peces carnívoros que presentan una digestión rápida (por ejemplo, como ocurre en lubina o en rodaballo). La eficiencia de los peces para digerir las paredes celulares depende, por un lado, de la composición de carbohidratos que conforman la pared celular, de cómo están vinculados esos carbohidratos entre sí, y de la existencia de las carbohidrasas digestivas adecuadas del pescado. En general, las especies herbívoras y omnívoras poseen una amplia gama de carbohidrasas, pero los peces

carnívoros no, y este hecho debe tenerse en cuenta a la hora de formular piensos acuícolas (Shi *et al.*, 2017). En consecuencia, puede ser razonable pensar que cualquier estrategia dirigida a mejorar la biodisponibilidad de los nutrientes intracelulares podría ser de gran interés para el uso de algas en alimentos acuícolas. Se han evaluado varios procedimientos con el objetivo de liberar estos componentes de las algas (Tibbetts *et al.*, 2017; Teuling *et al.*, 2019) pero, cuando se trata de lisis celular a gran escala, la hidrólisis enzimática es probablemente una de las estrategias más prometedoras, sobre todo debido a su viabilidad económica. Al utilizar este procedimiento, incluso un nivel bajo de inclusión de algas hidrolizadas podría mejorar aspectos fisiológicos en los peces, de una manera similar a cuando se incluyen mayores cantidades de algas crudas en los piensos (Tchorbanov y Bozhkova, 1988; Galafat *et al.*, 2020). De manera alternativa, la fermentación también puede aumentar la digestibilidad de las proteínas debido a la degradación de los polisacáridos recalcitrantes de la pared celular de las algas. Esto último ya ha sido descrito tras la fermentación de la biomasa de *Palmaria palmata* utilizando el hongo *Trichoderma pseudokoningii*, donde se observó que se disminuía el contenido de xilano (Marrion *et al.*, 2003).

Han sido pocas las investigaciones realizadas con el objetivo de conocer la capacidad de las enzimas digestivas de los peces para digerir la proteína de las algas (Tibbetts *et al.*, 2015; 2016; Vizcaíno *et al.*, 2019b). La evaluación *in vitro* realizada por Vizcaíno *et al.* (2019b) evidenció que la hidrólisis proteica de las microalgas alcanza valores cercanos al 50%, siendo éstos similares a los descritos en otras materias primas comúnmente utilizadas en piensos, como el concentrado de proteína de soja o la harina de pescado. En algunas especies de microalgas, como *Tysochrysis* sp. o *Dunaliella* sp., se pueden alcanzar valores de hidrólisis más altos (> 75%) tras la simulación digestiva con extractos enzimáticos de *S. aurata*. La elevada proteólisis podría estar relacionada con el hecho de que estas microalgas no tienen pared celular y, en consecuencia, es razonable que las células puedan ser fácilmente hidrolizadas por las enzimas digestivas de los peces (Vizcaíno *et al.*, 2019b). Por el contrario, en otras especies, como *Nannochloropsis* sp., *Chlorella* sp. o *Scenedesmus* sp., la proteína es menos susceptible a la acción de las proteasas, por lo que los valores de proteólisis son inferiores al 50%. Estas microalgas sí que poseen una pared celular gruesa que contiene celulosa, hemicelulosa, pectina y glicoproteína, lo que parece determinar una menor biodisponibilidad de los componentes intracelulares (Bernaerts *et al.*, 2018). A pesar de la presencia de actividad amilasa intestinal en algunos peces marinos, como en la dorada, la ausencia de actividad celulasa digestiva impide la degradación de la pared celular de las algas. La

degradación eficaz de la pared celular celulósica de las algas es un factor clave para mejorar la biodisponibilidad de nutrientes en animales monogástricos, sobre todo en peces. En consecuencia, parece recomendable incluir un pre-tratamiento de la biomasa algal que permita la ruptura o debilitamiento de la pared celular antes de usarla en la fabricación de los piensos.

## **5. Evaluación de las Algas en Piensos Acuícolas**

### **Efecto sobre el crecimiento y la utilización de nutrientes**

Los resultados obtenidos sobre el efecto de la inclusión de microalgas en la alimentación de peces son variados (Shah *et al.*, 2018; Roohani *et al.*, 2019; Walker y Berlinsky, 2011; Gong *et al.*, 2019). Las diferencias en la respuesta parecen estar influenciadas por varios factores, como la especie de pez y alga, el nivel de inclusión y la composición nutricional del alga (Shah *et al.*, 2018). Varias especies de microalgas, como *Tisochrysis lutea*, *Tetraselmis suecica*, *Nannochloropsis gaditana*, *Arthrospira platensis* y *Scenedesmus almeriensis*, han sido evaluadas con éxito en diferentes peces de cultivo (Figura 5). La inclusión de *T. suecica* (5%) mejoró el rendimiento de crecimiento de los alevines de dorada (Vizcaíno *et al.*, 2016b). Asimismo, Vizcaíno *et al.* (2018) confirmaron que hasta un 15% de inclusión de microalgas en el pienso no causó efectos negativos en el crecimiento de los juveniles de lenguado senegaleses. El estudio de Perera *et al.* (2020) evaluó dos compuestos comerciales extraídos de microalgas, i) LB-GREENboost® (LBGb), y ii) LB-GUThealth® (LBGh) desarrollados por LifeBioencapsulation S.L. (Almería, España), incluidos al 0,5% y al 1% en piensos, y describe que a pesar de que el uso de estos aditivos algales no aumentaron el crecimiento de los peces, sí que tuvo un efecto significativo en la utilización de nutrientes, reduciéndose el índice de conversión alimenticia (FCR) (Perera *et al.*, 2020). En los estudios mencionados, la inclusión de microalgas no afectó la ingesta de alimento, aunque se ha descrito un comportamiento alimentario alterado y una disminución del consumo de alimento cuando se usan niveles de inclusión de algas más elevados (Dellaire *et al.*, 2007).

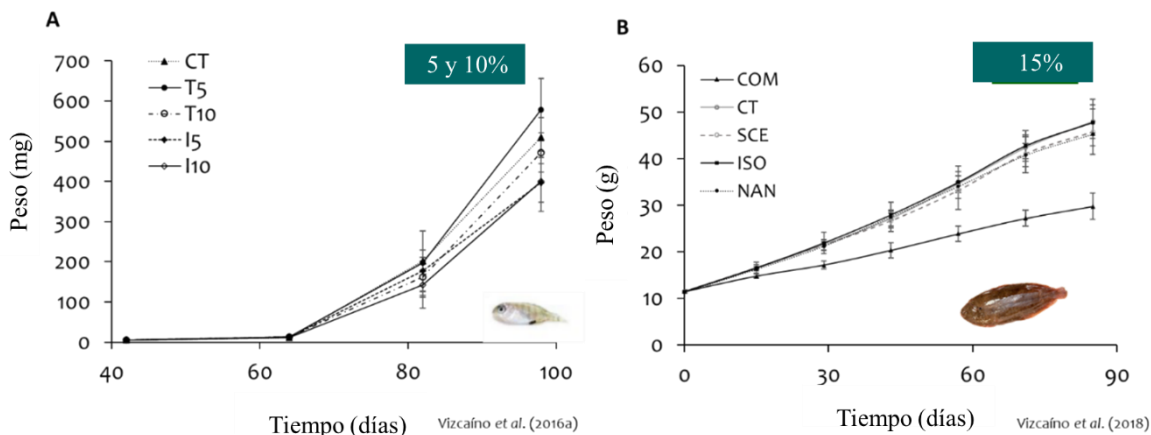


Figura 5. Ejemplos de los efectos de las dietas suplementadas con microalgas en el crecimiento de los peces. A) Alevines de dorada alimentados con un pienso control (CT), y *Tetraselmis suecica* (T5 y T10) e *Isochrysis galbana* (I5 y I10) incluidos al 5 y 10% en la dieta. B) Juveniles de lenguado senegalés alimentados con un pienso comercial (COM), control (CT), *Scenedesmus almeriensis* (SCE), *Isochrysis galbana* (ISO) y *Nannochloropsis gaditana* (NAN) al 15% de inclusión.

Del mismo modo, los efectos de las macroalgas en los peces parecen ser especie específicos y dependen de la proporción de biomasa utilizada. Se ha descrito que un bajo nivel de inclusión en el pienso ejerce efectos positivos sobre el crecimiento y la utilización de nutrientes (Vizcaíno *et al.*, 2016a; 2019a). Por el contrario, Valente *et al.* (2006) encontraron que la incorporación de un 10% de *Gracilaria cornea* afectó negativamente al crecimiento en *Dicentrarchus labrax*. Estos efectos perjudiciales se han atribuido a la posible existencia de factores antinutritivos, como ya describieron Vizcaíno *et al.* (2020), que podrían afectar a la biodisponibilidad y/o digestibilidad de los nutrientes. En este sentido, Vizcaíno *et al.* (2019a) encontraron que el valor de conversión del alimento (FCR) aumentó como resultado de incorporar un 5% de *Ulva onhoi* en dietas experimentales para juveniles de lenguado senegalés. Este hecho podría ser consecuencia del alto contenido en polisacáridos solubles e insolubles que acelerarían el tránsito del alimento por el tracto digestivo, lo que aumentaría la FCR, e incluso perjudicaría la tasa de crecimiento específico (Vizcaíno *et al.*, 2016a). Sin embargo, Moutinho *et al.* (2018) describieron que la alimentación de los peces con un 10% de *U. lactuca* durante 5 meses no causó ningún efecto detectable en el crecimiento (desde 23 g hasta 60 g de peso corporal) o la utilización del alimento en juveniles de lenguado senegalés. A la luz de los datos, la respuesta dispar descrita en la literatura después de la administración de *Ulva* podría estar relacionada con diferencias en factores como la madurez

fisiológica del pez, la especie concreta de *Ulva*, la duración de la prueba de alimentación e incluso el nivel de inclusión de las algas marinas.

### **Efecto sobre la composición proximal del músculo**

En general, el uso de microalgas en piensos acuícolas produce efectos diferentes sobre la composición química de los peces. Así, mientras que Vizcaíno *et al.* (2014) encontraron que la inclusión de *Scenedesmus almeriensis*, hasta un 39%, en dietas para juveniles de dorada no afectó la composición corporal de los peces. Otros estudios mostraron que las microalgas pueden modificar el contenido de proteínas y lípidos en el hígado y músculo (Vizcaíno *et al.*, 2016b; Galafat *et al.*, 2020). Específicamente, en este último estudio se encontró que las microalgas disminuyen el contenido en lípidos musculares de alevines y juveniles de dorada. Resultados similares fueron descritos por Roohani *et al.* (2019), quienes describieron que *Spirulina platensis* aumentó el contenido de proteína y disminuyó el contenido de lípidos en juveniles de *Salmo trutta*. Estos autores señalaron que varios compuestos presentes en las algas, especialmente vitaminas, minerales, aminoácidos esenciales y ácidos grasos, podrían activar el metabolismo de los peces y, en particular, el uso de lípidos como fuente de energía, lo que ocasionaría una reducción de su acumulación a nivel tisular. En el caso de las macroalgas, Sáez *et al.* (2020) también describieron una reducción en el contenido de lípidos musculares en ejemplares de lenguado senegalés alimentados con dietas suplementadas con *Ulva onhoi* al 5%, y Ergün *et al.* (2009) describieron que los peces alimentados con dietas enriquecidas con *Ulva* mostraron un mayor contenido de proteína muscular. Estudios previos atribuyeron los efectos sobre el metabolismo de los lípidos y la acumulación de grasa muscular al alto contenido de vitamina C de *Ulva* (Ortiz *et al.*, 2006). De los estudios mencionados anteriormente, queda claro que la suplementación con algas es una estrategia interesante dirigida a modular la composición del músculo de pescado, lo que podría ser muy deseable en términos de calidad de los productos de la acuicultura.

Otra ventaja de la utilización de algas en la alimentación de los peces es que los animales generalmente reflejan en el músculo los perfiles de ácidos grasos de la dieta. De esta manera, la inclusión de biomasa de algas con un perfil de ácidos grasos apropiado puede producir un aumento significativo en el contenido de PUFAs n-3 en el filete. En cuanto a la modulación del contenido de ácidos grasos, García-Márquez *et al.* (2020) describieron una reducción de los niveles de ácidos grasos saturados en el músculo y un incremento de ARA, EPA y DHA en tilapias alimentadas,

durante un corto periodo (30 días), con dietas enriquecidas con *Scenedesmus almeriensis*. En este caso, la sustitución parcial de los ingredientes derivados del pescado, en un 25%, por *S. almeriensis*, y su administración en un período corto de tiempo representan una oportunidad para que los productores mejoren el valor nutricional del músculo en tilapia. En el lenguado senegalés, la suplementación del pienso con un 5% de *Ulva* también redujo el contenido de lípidos totales del músculo, y favoreció la retención selectiva de PUFAs n-3, especialmente los ácidos eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA) (Sáez *et al.*, 2020). Un efecto similar fue observado por Vizcaíno *et al.* (2016b) en alevines de dorada alimentados con piensos suplementados con bajo niveles de microalgas, mientras que la inclusión de *Tetraselmis suecica* aumentó significativamente la proporción de 18:3n-3, la adición de *Tisochrysis galbana* aumentó el contenido de DHA en los tejidos de los peces. Además, el uso de aceite de algas que contiene EPA y DHA fue eficaz para la sustitución total del aceite de pescado en peces marinos alimentados con piensos elaborados con un bajo nivel de harina de pescado (15%), y aseguró una calidad nutricional mejorada del filete, incrementándose el contenido de DHA (Carvalho *et al.*, 2020). Los resultados de los estudios anteriores indican claramente que las algas y sus derivados son útiles para proporcionar PUFAs n-3 en los piensos acuícolas, y que pueden contribuir a reducir el uso de aceite de pescado.

### **5.3. Los efectos sobre la funcionalidad intestinal**

Uno de los aspectos más importantes relacionados con la inclusión de algas en el alimento es su efecto sobre la funcionalidad e integridad intestinal de los peces, dado que el crecimiento está directamente relacionado con los procesos de digestión y absorción de nutrientes (Vizcaíno *et al.*, 2019a). De hecho, una de las funciones clave del epitelio intestinal es completar las etapas finales de la digestión, así como absorber los nutrientes de la dieta. Un intestino sano ayuda a una mejor absorción para aumentar la biodisponibilidad de los nutrientes de los piensos mientras que también actúa como una barrera física para evitar la difusión de patógenos y toxinas desde la luz al interior de la mucosa. Una sola capa de células epiteliales separa el lumen intestinal del tejido estéril subyacente, y cualquier alteración en la integridad de la barrera activa fuertemente las células inmunes y causa inflamación crónica en los tejidos intestinales. Es por esto que la integridad de la mucosa intestinal es un factor clave en la nutrición de los peces.



Al respecto, diversos estudios realizados por Vizcaíno *et al.* (2014; 2016a; 2016b; 2018; 2019a) demostraron que la inclusión de algas induce cambios notables en la actividad de varias enzimas involucradas en los procesos de digestión y absorción intestinal. Las enzimas pancreáticas e intestinales del borde en cepillo están correlacionadas con el estado nutricional de los peces (Alarcón *et al.*, 1998). Por tanto, sus actividades se utilizan como indicadores de la capacidad digestiva y absorptiva de la mucosa intestinal en los peces. A la vista de estas consideraciones, en los estudios anteriormente referidos, la cuantificación de las actividades enzimáticas se diferenció en dos grupos; i) por un lado, las actividades proteasa alcalina total, tripsina y quimotripsina se utilizaron como indicadores de la capacidad digestiva para hidrolizar las proteínas de la dieta, y ii) por otro lado, las actividades leucina aminopeptidasa y fosfatasa alcalina se utilizaron como indicadores de la capacidad de absorción intestinal. Los resultados obtenidos en dorada y lenguado senegalés mostraron ausencia de efectos negativos sobre la actividad de las enzimas de la secreción pancreática o sobre las enzimas del borde en cepillo; por el contrario, se observó un aumento de la actividad de las enzimas asociadas a la membrana del borde en cepillo debido a la inclusión de algunas microalgas (*Scenedesmus almeriensis*, *Tisochrysis lutea* o *Tetraselmis suecica*). Estas enzimas juegan un papel clave en las etapas finales de digestión de las proteínas de la dieta, permitiendo la absorción y el transporte de aminoácidos a través de los enterocitos. En particular, la fosfatasa alcalina es una enzima dominante en la mucosa intestinal y se usa comúnmente como indicador de la integridad intestinal y como marcador general de la absorción de nutrientes. Por esta razón, el aumento de estas actividades puede estar asociado con una mejora en la eficiencia general de los procesos de digestión y absorción. En cuanto al uso de piensos suplementados con algas, Vizcaíno *et al.* (2016; 2019a) describieron resultados contradictorios: mientras que *Ulva lactuca* provocó una disminución de la actividad proteolítica intestinal en dorada y en los juveniles de lenguado senegalés, el uso de *Ulva onhoi* aumentó la actividad de fosfatasa alcalina en lenguado senegalés. Una explicación de este efecto diferencial podría atribuirse a los diferentes niveles de inclusión utilizados en ambos experimentos. De esta forma, parece que un mayor nivel de inclusión determina una menor actividad proteolítica digestiva. En el caso de *Ulva* sp., Vizcaíno *et al.* (2019b) sugirieron su uso como aditivo para mejorar el epitelio intestinal del lenguado senegalés, pero solo durante un corto período de tiempo, con el fin de minimizar los efectos indeseables observados sobre las enzimas proteolíticas digestivas. En cualquier caso, un tracto gastrointestinal saludable también es crucial para un crecimiento óptimo del pez. Según Sweetman *et al.* (2008), el

estudio de la mucosa intestinal puede utilizarse como una valiosa herramienta para conocer cómo la dieta u otros factores, como enfermedades infecciosas o compuestos anti-nutricionales, pueden influir en su estructura y morfología. Una de las principales limitaciones del uso de proteínas de origen vegetal en los piensos acuícolas es su impacto sobre el sistema digestivo, incluida la reducción de la altura de las vellosidades y de los enterocitos, la disminución de la integridad del borde en cepillo y la vacuolización supranuclear en los enterocitos, la presencia de leucocitos en la *lamina propria* y submucosa, así como la presencia de diferentes signos de inflamación, entre otros (Cerezuela *et al.*, 2012). La microscopía óptica y electrónica son herramientas útiles para evaluar cómo las dietas suplementadas con algas afectan la integridad de la mucosa intestinal de los peces. Así, las imágenes obtenidas de microscopía electrónica de transmisión y barrido (TEM y SEM) de secciones intestinales de peces alimentados con dietas suplementadas con algas se han utilizado para evaluar la integridad del borde en cepillo apical. De esta forma, mientras que las imágenes TEM ofrecen información sobre la longitud, el diámetro y la superficie de absorción de las microvellosidades, las imágenes SEM permiten medir el área apical de los enterocitos. Los estudios realizados en peces marinos (dorada y lenguado senegalés) en diferentes estadios de desarrollo (alevines y juveniles) revelaron que la inclusión de algas generó cambios positivos en la longitud de las microvellosidades que incrementaron la superficie de absorción en los enterocitos (Vizcaíno *et al.*, 2014; 2016b; 2019a). En general, estos estudios revelaron un aumento general de la capacidad de absorción a nivel de intestino en peces alimentados con dietas suplementadas con microalgas.

## 6. Conclusiones

Las algas presentan un gran potencial para su uso en nutrición acuícola, no sólo por su composición nutricional, que las convierte en un prometedor recurso para tratar de disminuir la dependencia de las harinas y aceites de pescado, sino también por la presencia de una gran cantidad de compuestos bioactivos, que las hacen especialmente interesantes para su uso como ingrediente funcional, ya que existen numerosas evidencias de que mejoran la nutrición de los animales, su estado fisiológico, y posibilitan una producción acuícola sostenible. Sin embargo, a pesar de los continuos esfuerzos y de los efectos beneficiosos observados sobre distintos aspectos del crecimiento y el estado de condición general de los peces, aún existen ciertos aspectos en los que es necesario seguir avanzando para permitir un uso industrial generalizado de las algas en los

piensos de acuicultura, siendo la heterogeneidad en su composición química, su baja digestibilidad y su elevado coste, algunas de las principales limitaciones que deben de ser resueltas.

### **Agradecimientos**

Parte de los resultados presentados han sido generados en el marco de los siguientes proyectos de investigación; SABANA (grant # 727874) financiado por el Programa de Investigación e Innovación Horizon 2020; AquaTech4Feed financiado por MCIN/AEI/10.13039/501100011033 y “NextGenerationEU”/PRTR en el marco de la convocatoria ERA-NET BioBlue COFUND; DORALGAE (RTI2018-096625-B-C31) financiado por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades del Gobierno de España y los fondos FEDER; y el proyecto ALGADIET II financiado por el programa Pleamar de la Fundación Biodiversidad del Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico y el Fondo Europeo Marítimo y de Pesca.

## Referencias bibliográficas

- Adams C, Godfrey V, Wahlen B, Seefeldt L & Bugbee B (2013) Understanding precision nitrogen stress to optimize the growth and lipid content trade off in oleaginous green microalgae. *Bioresource Technology* 131, 188–194. DOI: 10.1016/j.biortech.2012.12.143
- Alarcón FJ, Díaz M, Moyano FJ & Abellán E (1998) Characterization and functional properties of digestive proteases in two sparids; gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and common dentex (*Dentex dentex*). *Fish Physiology and Biochemistry* 19, 257–267. DOI: 10.1023/A:1007717708491
- Arasaki S & Arasaki T (1983) Low calorie, high nutrition vegetables from the sea. To help you look and feel better. Japan Publications, Tokyo. Inc pp. (1), 6–196.
- Becker EW (1994) *Microalgae: Biotechnology and Microbiology*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Becker E (2007) Micro-algae as a source of protein. *Biotechnology Advances* 25, 207–210.
- Bernaerts TMM, Gheysen L, Kyomugasho C, Jamsazzadeh Kermani Z, Vandionant S, Foubert I, Hendrickx ME & Van Loey AM (2018) Comparison of microalgal biomasses as functional food ingredients: Focus on the composition of cell wall related polysaccharides. *Algal Research* 32, 150–161. DOI: 10.1016/j.algal.2018.03.017
- Booman M, Forster I, Vederas JC, Groman DB & Jones SRM (2018) Soybean meal-induced enteritis in Atlantic salmon (*Salmo salar*) and Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) but not in pink salmon (*O. gorbuscha*). *Aquaculture* 483, 238–243. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2017.10.025
- Brown MR (2002) Nutritional value and use of microalgae in aquaculture. *Avances en Nutrición Acuícola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola* 3, 281–292.
- Brown MR, Jeffrey SW, Volkman JK & Dunstan GA (1997) Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture* 151, 315–331. DOI: 10.1016/S0044-8486(96)01501-3
- Canales-Gómez E, Correa G & Viana MT (2010) Effect of commercial carotene pigments (astaxanthin, cantaxanthin and  $\beta$ -carotene) in juvenile abalone *Haliotis rufescens* diets on the color of the shell of nacre. *Veterinaria Mexico* 41, 191–200.
- Cardoso C, Ripol A, Afonso C, Freire M, Varela J, Quental-Ferreira H, Pousão-Ferreira P & Bandarra N (2017) Fatty acid profiles of the main lipid classes of green seaweeds from fishpond aquaculture. *Food Science and Nutrition* 5(6), 1186–1194. DOI: 10.1002/fsn3.511
- Carvalho M, Montero D, Rosenlund G, Fontanillas R, Ginés R & Izquierdo M (2020) Effective complete replacement of fish oil by combining poultry and microalgae oils in practical diets for gilthead sea bream (*Sparus aurata*) fingerlings. *Aquaculture* 529, 735696. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2020.735696
- Cerezuela R, Fumanal M, Tapia-Paniagua ST, Meseguer J, Morriño MA & Esteban MA (2012) Histological alterations and microbial ecology of the intestine in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) fed dietary probiotics and microalgae. *Cell Tissue Research* 350, 477–489. DOI: 10.1007/s00441-012-1495-4
- Chisti Y (2007) Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances* 25(3), 294–306. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2007.02.001

- Cian RE, Martínez-Augustin O & Drago SR (2012) Bioactive properties of peptides obtained by enzymatic hydrolysis from protein byproducts of *Porphyra columbina*. *Food Research International* 49, 364–372. DOI: 10.1016/j.foodres.2012.07.003
- Cruz-Suárez LE, Tapia-Salazar M, Nieto-López MG, Guajardo-Barbosa C & Ricque-Marie D (2009) Comparison of *Ulva clathrata* and the kelps *Macrocystis pyrifera* and *Ascophyllum nodosum* as ingredients in shrimp feeds. *Aquaculture Nutrition* 15, 421–430. DOI: 10.1111/j.1365-2095.2008.00607.x
- Cuellar-Bermudez SP, Aguilar-Hernandez I, Cardenas-Chavez DL, Ornelas-Soto N, Romero-Ogawa MA & Parra-Saldivar R (2015) Extraction and purification of high-value metabolites from microalgae: Essential lipids, astaxanthin and phycobiliproteins. *Microbiology Biotechnology* 8, 190–209. DOI: 10.1111/1751-7915.12167
- Dallaire V, Lessard P, Vandenberg G & de la Noüe J (2007) Effect of algal incorporation on growth, survival and carcass composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry. *Bioresource Technology* 98, 1433–1439. DOI: 10.1016/j.biortech.2006.05.043
- Daniel N (2018) A review on replacing fishmeal in aqua feeds using plant protein sources. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies* 6(2), 164–179.
- Del Campo JA, Rodríguez H, Moreno J, Vargas MA, Rivas J & Guerrero MG (2004) Accumulation of astaxanthin and lutein in *Chlorella zofingiensis* (Chlorophyta). *Applied Microbiology and Biotechnology* 64, 848–854. DOI: 10.1007/s00253-003-1510-5
- Di Lena G, Casini I, Lucarini M, del Pulgar JS, Aguzzi A, Caproni R, Gabrielli P & Lombardi-Boccia G (2020) Chemical characterization and nutritional evaluation of microalgal biomass from large-scale production: a comparative study of five species. *European Food Research and Technology* 246(2), 323–332. DOI: 10.1007/s00217-019-03346-5
- Diken G, Demir O & Naz M (2016) The inhibitory effects of different diets on the protease activities of *Argyrosomus regius* (Pisces, Scianidae) larvae as a potential candidate species. *Journal of Applied Animal Research* 46(1), 1–6. DOI: 10.1080/09712119.2016.1263200
- Dunstan GA, Volkman JK, Jeffrey SW & Barrett SM (1992) Biochemical composition of microalgae from the green algal classes Chlorophyceae and Prasinophyceae. 2. Lipid classes and fatty acids. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 161(1), 115–134. DOI: 10.1016/0022-0981(92)90193-E
- Enzing C, Ploeg M & Barbosa M (2014) Microalgae-based products for the food and feed sector: an outlook for Europe. IPTS Inst.
- European Food Safety Authority (EFSA) (2011) Guidance on the assessment of microbial biomasses for use in animal nutrition. *EFSA Journal* 9(3), 2117
- Ergün S, Soyutürk M, Güroy B, Güroy D & Merrifield, D (2009) Influence of *Ulva* meal on growth, feed utilization, and body composition of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) at two levels of dietary lipid. *Aquaculture International* 17(4), 355. DOI: 10.1007/s10499-008-9207-5
- FAO (2020) The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action. Rome. <https://doi.org/10.4060/ca9229en>

- Galafat A, Vizcaíno AJ, Sáez MI, Martínez TF, Jerez-Cepa I, Mancera JM & Alarcón FJ (2020) Evaluation of *Arthrospira* sp. enzyme hydrolysate as dietary additive in gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. *Journal of Applied Phycology* 32, 3089–3100. DOI: 10.1007/s10811-020-02141-0
- Galland-Irmouli AV, Fleurence J, Lamghari R, Luçon M, Rouxel C, Barbaroux O, Bronowicki JP, Villaume C & Gueant JL (1999) Nutritional value of proteins from edible seaweed *Palmaria palmata* (dulse). *The Journal of Nutritional Biochemistry* 10, 353–359. DOI: 10.1016/s0955-2863(99)00014-5
- García-Márquez J, Rico RM, Sánchez-Saavedra MDP, Gómez-Pinchetti JL, Acién FG, Figueroa FL, Alarcón FJ, Moriñigo MA & Abdala-Díaz RT (2020) A short pulse of dietary algae boosts immune response and modulates fatty acid composition in juvenile *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture Research* 51, 4397–4409. DOI: 10.1111/are.14781
- Gong Y, Bandara T, Huntley M, Johnson ZI, Dias J, Dahle D, Sørensen M & Kiron V (2019) Microalgae *Scenedesmus* sp. as a potential ingredient in low fishmeal diets for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture* 501, 455–464. DOI: 10.1016/J.AQUACULTURE.2018.11.049
- Gora AH, Ambasankar K, Sandeep KP, Rehman S, Agarwal D, Ahmad L & Ramachandran K (2019) Effect of dietary supplementation of crude microalgal extracts on growth performance, survival and disease resistance of *Lates calcarifer* (Bloch, 1790) larvae. *Indian Journal of Fisheries* 66, 64–72. DOI: 10.21077/ijf.2019.66.1.79076-09
- Gressler V, Yokoya NS, Fujii MT, Colepicolo P, Mancini Filho J, Torres RP & Pinto E (2010) Lipid, fatty acid, protein, amino acid and ash contents in four Brazilian red algae species. *Food Chemistry* 120(2), 585–590. DOI: 10.1016/j.foodchem.2009.10.028
- Haas S, Bauer JL, Adakli A, Meyer S, Lippemeier S, Schwarz K & Schulz C (2016) Marine microalgae *Pavlova viridis* and *Nannochloropsis* sp. as n-3 PUFA source in diets for juvenile European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Journal of Applied Phycology* 28, 1011. DOI: 10.1007/s10811-015-0622-5
- Hajiahmadian M, Vajargah MF, Farsani HG & Chorchchi MM (2012) Effect of *Spirulina platensis* meal as feed additive on growth performance and survival rate in golden barb fish, *Punius gelius* (Hamilton, 1822). *Journal of Fisheries International* 7, 61–64. DOI: 10.3923/jfish.2012.61.64
- Ivanova V, Stancheva M & Petrova D (2013) Fatty acid composition of black sea *Ulva rigida* and *Cystoseira crinita*. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 19(S1), 42–47.
- Joubert Y & Fleurence J (2008) Simultaneous extraction of proteins and DNA by an enzymatic treatment of the cell wall of *Palmaria palmata* (Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology* 20, 55–61. DOI: 10.1007/s10811-007-9180-9
- Kent M, Welladsen HM, Mangott A & Li Y (2015) Nutritional evaluation of Australian microalgae as potential human health supplements. *PloS One* 10, 2. DOI: 10.1371/journal.pone.0118985
- Kiron V, Sørensen M, Huntley M, Vasanth GK, Gong Y, Dahle D & Paliawadana AM (2016) Defatted biomass of the microalga, *Desmodesmus* sp., can replace fishmeal in the feeds for Atlantic salmon. *Frontiers in Marine Science* 3, 67. DOI: 10.3389/fmars.2016.00067

- Kousoulaki K, Østbye TKK, Krasnov A, Torgersen JS, Mørkøre T & Sweetman J (2015) Metabolism, health and fillet nutritional quality in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets containing n-3-rich microalgae. *Journal of Nutritional Science*, 4, e24. DOI: 10.1017/jns.2015.14
- Kovač DJ, Simeunović JB, Babić OB, Mišan AC & Milovanović IL (2013) Algae in food and feed. *Food and Feed Research* 40(1), 21–31. DOI: 10.2791/3339
- Lers A, Biener Y & Zamir A (1990) Photoinduction of massive beta-carotene accumulation by the alga *Dunaliella bardawil*: kinetics and dependence on gene activation. *Plant Physiology* 93, 389–95. DOI: 10.1104/pp.93.2.389
- Liu C, Liu H, Han D, Xie S, Jin J, Yang Y & Zhu X. (2020) Effects of dietary *Arthrospira platensis* supplementation on the growth performance, antioxidation and immune related-gene expression in yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). *Aquaculture Reports* 17, 100297. DOI: 10.1016/j.aqrep.2020.100297
- López CV, Cerón MC, Acién FG, Segovia C, Chisti Y & Fernández JM (2010) Protein measurements of microalgal and cyanobacterial biomass. *Bioresource Technology* 101, 7587–7591. DOI: 10.1016/j.biortech.2010.04.077
- Mæhre HK (2015) Seaweed proteins—how to get to them? Effects of processing on nutritional value, bioaccessibility and extractability. Tesis Doctoral. Norwegian College of Fishery Science, Faculty of Biosciences, Fisheries and Economics. The Arctic University of Norway.
- Mai K, Wan J, Ai Q, Xu W, Liufu Z, Zhang L, Zhang C & Li H (2006a) Dietary methionine requirement of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea* R. *Aquaculture* 253(1-4), 564–572. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2005.08.010
- Mai K, Zhang L, Ai Q, Duan Q, Zhang C, Li H, Wan J & Liufu Z (2006b) Dietary lysine requirement of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. *Aquaculture* 258(1-4), 535–542. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2006.04.043
- Marrion O, Schwertz A, Fleurence J, Gueant JL & Villaume C (2003) Improvement of the digestibility of the proteins of the red alga *Palmaria palmata* by physical processes and fermentation. *Molecular Nutrition Food Research* 47, 339–344. DOI: 10.1002/food.200390078
- Marsham S, Scott GW & Tobin ML (2007) Comparison of nutritive chemistry of a range of temperate seaweeds. *Food Chemistry* 100, 1331–1336. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.11.029
- McDermid KJ & Stuercke B. (2003) Nutritional composition of edible Hawaiian seaweeds. *Journal of Applied Phycology* 15, 513–524. DOI: 10.1023/B:JAPH.0000004345.31686.7f
- Molino A, Iovine A, Casella P, Mehariya S, Chianese S, Cerbone A, Rimauro J & Musmarra D (2018) Microalgae characterization for consolidated and new application in human food, animal feed and nutraceuticals. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 15(11), 2436. DOI: 10.3390/ijerph15112436
- Mourente G, Lubian LM & Odriozola JM (1990) Total fatty acid composition as a taxonomic index of some marine microalgae used as food in marine aquaculture. *Hydrobiologia* 203(3), 147–154. DOI: 10.1007/BF00005683
- Moutinho S, Linares F, Rodriguez JL, Vera Sousa & Valente LMP (2018) Inclusion of 10% seaweed meal in diets for juvenile and on-growing life stages of Senegalese sole (*Solea senegalensis*). *Journal of Applied Phycology* 30(6), 3589–3601. DOI: 10.1007/s10811-018-1482-6

- Nakagawa K, Kiko T, Miyazawa T, Burdeos GC, Kimura F, Satoh A & Miyazawa T (2011) Antioxidant effect of astaxanthin on phospholipid peroxidation in human erythrocytes. *British Journal of Nutrition* 105(11), 1563–1571. DOI: 10.1017/S0007114510005398
- Naylor RL, Hardy RW, Bureau DP, Chiu A, Elliott M, Farrell AP, Forster I, Gatlin DM, Goldberg RJ, Hua K & Nichols PD (2009) Feeding aquaculture in an era of finite resources. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106(36), 15103–15110. DOI: 10.1073/pnas.0905235106
- Norsker NH, Barbosa MJ, Vermuë MH & Wijffels RH (2011) Microalgal production – a close look at the economics. *Biotechnology Advances* 29, 24–27. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2010.08.005
- Oliveira MN, Ponte-Freitas AL, Urano-Carvalho AF, Taveres-Sampaio TM, Farias DF, Alves-Teixeira DI, Gouveia ST, Gomes-Pereira J & Castro-Catanho de Sena MM (2009) Nutritive and non-nutritive attributes of washed-up seaweeds from the coast of Ceará, Brazil. *Food Chemistry* 11, 254–259. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.12.004
- Ortiz J, Romero N & Robert P (2006) Dietary fiber, amino acid, fatty acid and tocopherol contents of the edible seaweeds *Ulva lactuca* and *Durvillaea antarctica*. *Food Chemistry* 99(1), 98–104. DOI: 10.1016/j.foodchem.2005.07.027
- Percival EE & Turvey JR (1974) Polysaccharides of algae. CRC, handbook of microbiology, condensed edition, 532nd ed, ed. AL Laskin, and HA Lechevalier. Cleveland: CRC Press Inc.
- Perera E, Sánchez-Ruiz D, Sáez MI, Galafat A, Barany A, Fernández-Castro M, Vizcaíno AJ, Fuentes J, Martínez TF, Mancera JM, Alarcón FJ & Martos-Sitcha JA (2020) Low dietary inclusion of nutraceuticals from microalgae improves feed efficiency and modifies intermediary metabolisms in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Scientific Report* 10, 18676. DOI: 10.1038/s41598-020-75693-3
- Pereira H, Sardinha M, Santos T, Gouveia L, Barreira L, Dias J & Varela J (2020) Incorporation of defatted microalgal biomass (*Tetraselmis* sp. CTP4) at the expense of soybean meal as a feed ingredient for juvenile gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Algal Research* 47, 101869. DOI: 10.1016/j.algal.2020.101869
- Prabhu KS, Siveen KS, Kuttikrishnan S, Iskandarani A, Tsakou M, Achkar IW, Therachiyil L, Krishnankutty R, Parray A, Kulinski M, Merhi M, Dermime S, Mohammad RM & Uddin S (2017) Targeting of X-linked inhibitor of apoptosis protein and PI3-kinase/AKT signaling by embelin suppresses growth of leukemic cells. *PLoS One* 12, e0180895. DOI: 10.1371/journal.pone.0180895
- Pratoomyot J, Srivilas P & Noiraksar T (2005) Fatty acids composition of 10 microalgal species. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 27(6), 1179–1187.
- Rahimnejad S, Lee SM, Park HG & Choi J (2017) Effects of dietary inclusion of *Chlorella vulgaris* on growth, blood biochemical parameters, and antioxidant enzyme activity in olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Journal of the World Aquaculture Society* 48(1), 103–112. DOI: 10.1111/jwas.12320
- Ren LJ, Ji XJ, Huang H., Qu L., Feng Y., Tong Q.Q. & Ouyang P.K. (2010) Development of a stepwise aeration control strategy for efficient docosahexaenoic acid production by *Schizochytrium* sp. *Applied Microbiology and Biotechnology* 87(5), 1649–1656. DOI: 10.1007/s00253-010-2639-7



- Rincón DD, Velásquez HA, Dávila MJ, Semprun AM, Morales ED & Hernández JL (2012) Substitution levels of fishmeal by *Arthrospira (Spirulina) maxima* meal in experimental diets for red tilapia fingerlings (*Oreochromis sp.*). *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 25(3), 430–437.
- Roohani AM, Kenari AA, Kapoorchali MF, Borani MS, Zorriehzahra MJ, Smiley AH, Esmaili M & Rombenso AN (2019) Effect of spirulina *Spirulina platensis* as a complementary ingredient to reduce dietary fishmeal on the growth performance, whole-body composition, fatty acid and amino acid profiles, and pigmentation of Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*) juveniles. *Aquaculture Nutrition* 25, 633–645. DOI: 10.1111/anu.12885
- Roy SS & Pal S (2015) Microalgae in aquaculture: a review with special emphasis to nutritional value and fish dietetics. *Proceedings of the Zoological Society* 68, 1–8. DOI: 10.1007/s12595-013-0089-9
- Sáez MI, Martínez TF & Alarcón FJ (2013) Effect of the dietary of seaweeds on intestinal proteolytic activity of juvenile sea bream, *Sparus aurata*. *International Aquafeed* 16(2), 38–40.
- Sáez MI, Vizcaíno A, Galafat A, Anguís V, Fernández-Díaz C, Balebona MC, Alarcón FJ & Martínez TF (2020) Assessment of long-term effects of the macroalgae *Ulva ohnoi* included in diets on Senegalese sole (*Solea senegalensis*) fillet quality. *Algal Research* 47, 101885. DOI: 10.1016/j.algal.2020.101885
- Sahu A, Pancha I, Jain D, Paliwal C, Ghosh T, Patidar S, Bhattacharya S & Mishra S (2013) Fatty acids as biomarkers of microalgae. *Phytochemistry* 89, 53–58. DOI: 10.1016/j.phytochem.2013.02.001
- Sales R, Cerón-García MC, Navarro-López E, González-López C, Tsuzuki MY, Acién-Fernández FG, Alarcón FJ & Molina-Grima E (2020) Processing *Nannochloropsis gaditana* biomass for the extraction of high-value biocompounds. *Journal of Applied Phycology* 32, 3113–3122. DOI: 10.1007/s10811-020-02156-7
- Sánchez JF, Fernández JM, Acién FG, Rueda A, Pérez-Parra J & Molina E (2008) Influence of culture conditions on the productivity and lutein content of the new strain *Scenedesmus almeriensis*. *Process Biochemistry* 43, 398–405. DOI: 10.1016/j.procbio.2008.01.004
- Santigosa E, Sáez de Rodrigáñez MA, Rodiles A, García-Barroso F & Alarcón FJ (2010) Effect of diets containing a purified soybean trypsin inhibitor on growth performance, digestive proteases and intestinal histology in juvenile sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture Research* 41, e187–e198. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2010.02500.x
- 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(1), 109–119. DOI: 10.1111/anu.12230
- Servel MO, Claire C, Derrien A, Coiffard L & De Roeck-Holtzhauer Y (1994) Fatty acid composition of some marine microalgae. *Phytochemistry* 36(3), 691–693. DOI: 10.1016/S0031-9422(00)89798-8
- Shah MMR, Liang Y, Cheng JJ & Daroch M (2016) Astaxanthin-producing green microalga *Haematococcus phувialis*: from single cell to high value commercial products. *Frontiers in Plant Science* 7, 531. DOI: 10.3389/fpls.2016.00531
- Shah MR, Lutz GA, Alam A, Sarker P, Chowdhury MK, Parsaeimehr A, Liang Y & Daroch M (2018) Microalgae in aquafeeds for a sustainable aquaculture industry. *Journal of Applied Phycology* 30(1), 197–213. DOI: 10.1007/s10811-017-1234-z

- 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. DOI: 10.1111/are.13154
- Shields RJ & Lupatsch I (2012) Algae for aquaculture and animal feeds. *TATuP-Zeitschrift für Technikfolgenabschätzung in Theorie und Praxis* 21, 23–37. DOI: 10.14512/tatup.21.1.23
- Shuuluka D, Bolton JJ & Anderson RJ (2013) Protein content, amino acid composition and nitrogen-to-protein conversion factors of *Ulva rigida* and *Ulva capensis* from natural populations and *Ulva lactuca* from an aquaculture system, in South Africa. *Journal of Applied Phycology* 25(2), 677–685. DOI: 10.1007/s10811-012-9902-5
- Silva DM, Valente LMP, Sousa-Pinto I, Pereira R, Pires MA, Seixas F & Rema P (2015) Evaluation of IMTA-produced seaweeds (*Gracilaria*, *Porphyra*, and *Ulva*) as dietary ingredients in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L., juveniles. Effects on growth performance and gut histology. *Journal of Applied Phycology* 27, 1671–1680. DOI: 10.1007/s10811-014-0453-9
- Slocombe SP, Ross M, Thomas N, McNeill S & Stanley MS (2013) A rapid and general method for measurement of protein in micro-algal biomass. *Bioresource Technology* 129, 51–57. DOI: 10.1016/j.biortech.2012.10.163
- Sørensen M, Berge GM, Reitan KI & Ruyter B (2016) Microalga *Phaeodactylum tricorutum* in feed for Atlantic salmon (*Salmo salar*) –Effect on nutrient digestibility, growth and utilization of feed. *Aquaculture* 460, 116–123. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2016.04.010
- Spolaore P, Joannis-Cassan C, Duran E & Isambert A (2006) Commercial applications of microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 101, 87–96. DOI: 10.1263/jbb.101.87
- Sweetman J, Dimitroglou A, Davies S & Torrecillas S (2008) Gut morphology: a key to efficient nutrition. *International Aquafeed* 11, 26–30.
- Tchorbanov B & Bozhkova M (1988) Enzymatic hydrolysis of cell protein in green algae *Chlorella* and *Scenedesmus* after extraction with organic solvents. *Enzyme Microbiology Technology* 10, 233–238. DOI: 10.1016/0141-0229(88)90072-5
- 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. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2013.02.009
- Teuling E, Wierenga PA, Agboola JO, Gruppen H & Schrama JW (2019) Cell wall disruption increases bioavailability of *Nannochloropsis gaditana* nutrients for juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 499, 269–282. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2018.09.047
- 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 seabass (*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. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2015.02.002

- Tibbetts SM, Milley JE & Lall SP (2015) Chemical composition and nutritional properties of freshwater and marine microalgal biomass cultured in photobioreactors. *Journal of Applied Phycology* 27, 1109–1119. DOI: 10.1007/s10811-014-0428-x
- Tibbetts SM, MacPherson T, McGinn PJ & Fredeen AH (2016) *In vitro* digestion of microalgal biomass from freshwater species isolated in Alberta, Canada for monogastric and ruminant animal feed applications. *Algal Research* 19, 324–332. DOI: 10.1016/j.algal.2016.01.016
- Tibbetts SM, Yasumaru F & Lemos D (2017) *In vitro* prediction of digestible protein content of marine microalgae (*Nannochloropsis granulata*) meals for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Algal Research* 21, 76–80. DOI: 10.1016/j.algal.2016.11.010
- Tibbetts SM (2018) The potential for ‘next-generation’, microalgae-based feed ingredients for salmonid aquaculture in context of the blue revolution. In *Microalgal Biotechnology* (pp. 151–175). IntechOpen. DOI: 10.5772/intechopen.73551
- Tolasa S, Cakli S & Ostermeyer U (2005) Determination of astaxanthin and canthaxanthin in salmonid. *European Food Research and Technology* 221(6), 787–791. DOI: 10.1007/s00217-005-0071-5
- Tulli F, Chini Zittelli G, Giorgi G, Poli BM, Tibaldi E & Tredici MR (2012) Effect of the inclusion of dried *Tetraselmis suecica* on growth, feed utilization, and fillet composition of European sea bass juveniles fed organic diets. *Journal of Aquatic Food Product Technology* 21, 188–197. DOI: 10.1080/10498850.2012.664803
- Valente LMP, Custódio M, Batista S, Fernandes H & Kiron V (2019) Defatted microalgae (*Nannochloropsis* sp.) from biorefinery as a potential feed protein source to replace fishmeal in European sea bass diets. *Fish Physiology and Biochemistry* 45(3), 1067–1081. DOI: 10.1007/s10695-019-00621-w
- Valente LMP, Gouveia A, Rema P, Matos J, Gomes EF & Pinto IS (2006) Evaluation of three seaweeds *Gracilaria bursa-pastoris*, *Ulva rigida* and *Gracilaria cornea* as dietary ingredients in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture* 252, 85–91. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2005.11.052
- Venkataraman LV & Becker EW (1985) Biotechnology and utilization of algae: the Indian experience. Department of Science & Technology and Central Food Technological Research Institute, Mysore, India.
- 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. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2014.05.010
- Vizcaíno AJ, Mendes SI, Varela JL, Ruiz-Jarabo I, Rico R, Figueroa FL, Abdala R, Moriñigo MA, Mancera JM & Alarcón FJ (2016a) Growth, tissue metabolites and digestive functionality in *Sparus aurata* juveniles fed different levels of macroalgae, *Gracilaria cornea* and *Ulva rigida*. *Aquaculture Research* 47(10), 3224–3238. DOI: 10.1111/are.12774
- Vizcaíno AJ, Saéz MI, López G, Arizcun M, Abellán E, Martínez TF & Alarcón FJ (2016b) *Tetraselmis suecica* and *Tisochrysis lutea* meal as dietary ingredients for gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) fry. *Journal of Applied Phycology* 28(5), 2843–2855. DOI: 10.1007/s10811-016-0845-0
- Vizcaíno AJ, Rodiles A, López G, Sáez MI, Herrera M, Hachero I, Martínez TF, Cerón-García MC & Alarcón FJ (2018) Growth performance, body composition, and digestive functionality of Senegalese sole (*Solea*

- senegalensis* Kaup, 1858) juveniles fed diets including microalgae freeze-dried biomass. *Fish Physiology and Biochemistry* 44(2), 661–677. DOI: 10.1007/s10695-018-0462-8
- Vizcaíno AJ, Fumanal M, Sáez MI, Martínez TF, Moriñigo MA, Fernández-Díaz, C, Anguís V, Balebona MC & Alarcón FJ (2019a) Evaluation of *Ulva ohnoi* as functional dietary ingredient in juvenile Senegalese sole (*Solea senegalensis*): Effects on the structure and functionality of the intestinal mucosa. *Algal Research* 42, 101608. DOI: 10.1016/j.algal.2019.101608
- Vizcaíno AJ, Sáez MI, Martínez TF, Ación FG & Alarcón FJ (2019b) Differential hydrolysis of proteins of four microalgae by the digestive enzymes of gilthead sea bream and Senegalese sole. *Algal Research* 37, 145–153. DOI: 10.1016/j.algal.2018.11.018
- Vizcaíno AJ, Galafat A, Sáez MI, Martínez TF & Alarcón FJ (2020) Partial characterization of protease inhibitors of *Ulva ohnoi* and their effect on digestive proteases of marine fish. *Marine Drugs* 18(6), 319. DOI: 10.3390/md18060319
- Volkman JK, Jeffrey SW, Nichols PD, Rogers GI & Garland CD (1989) Fatty acid and lipid composition of 10 species of microalgae used in aquaculture. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 128(3), 219–240. DOI: 10.1016/0022-0981(89)90029-4
- Walker AB & Berlinsky DL (2011) Effects of partial replacement of fishmeal protein by microalgae on growth, feed intake, and body composition of Atlantic cod. *North American Journal of Aquaculture* 73, 76–83. DOI: 10.1080/15222055.2010.549030
- Wan AHL, Simon JD, Soler-Vila A, Fitzgerald R & Johnson MP (2019) Macroalgae as a sustainable aquafeed ingredient. *Reviews in Aquaculture* 11(3), 458–492. DOI: 10.1111/raq.12241
- Wang C, Hu W, Wang L, Qiao H, Wu H & Xu Z (2019) Effects of dietary supplementation with *Sargassum horneri* meal on growth performance, body composition, and immune response of juvenile turbot. *Journal of Applied Phycology* 31(1), 771–778. DOI: 10.1007/s10811-018-1590-3
- Wilson RP (2003) Amino acids and proteins. In *Fish Nutrition* (pp. 143–179). Academic Press.
- Xu S, Zhang L, Wu Q, Liu X, Wang S, You C & Li Y (2011) Evaluation of dried seaweed *Gracilaria lemaneiformis* as an ingredient in diets for teleost fish *Siganus canaliculatus*. *Aquaculture International* 19, 1007–1018. DOI: 10.1007/s10499-011-9418-z
- Yadav G, Meena DK, Sahoo AK, Das BK & Sen R (2020) Effective valorization of microalgal biomass for the production of nutritional fish-feed supplements. *Journal of Cleaner Production* 243, 118697. DOI: 10.1016/j.jclepro.2019.118697
- Yarnold J, Karan H, Oey M & Hankamer B (2019) Microalgal aquafeeds as part of a circular bioeconomy. *Trends in Plant Science* 24(10), 959–970. DOI: 10.1016/j.tplants.2019.06.005