

Defensa enzimática y productividad de tilapia con dietas de ensilado químico y germinado de frijol

Enzymatic defense and productivity of tilapia with chemical silage and bean sprout diets

Martha Elena Aguilera-Morales^{1*}, Fabiola Hernández-Sánchez², Mario Alberto de Jesús Domínguez-Magaña^{†1}, Cynthia Magaly Antonio-Cisneros², José Antonio Marina-Clemente¹

¹Instituto de Agroingenierías. Universidad del Papaloapan Campus Loma Bonita. Av. Ferrocarril s/n y s/colonia. CP. 68400. Loma Bonita, Oaxaca, México.

²Centro de investigaciones científicas. Campus Tuxtepec. Calle circuito central No. 200, Col. Parque industrial Tuxtepec. CP. 68301. Oaxaca, México.

*Autor de correspondencia: aguilena02@gmail.com

Artículo científico

Recibido: 24 de junio 2023

Aceptado: 13 de febrero 2024

RESUMEN. Después 60 días de experimentación se evaluó el efecto de tres dietas a base de ensilado químico (EQ) y germinado de frijol negro (GF) (DC = dieta control; D1 = EQ; D2 = GF; D3 = EQ+GF) sobre la defensa enzimática (superóxido dismutasa, SOD, y catalasa, CAT) del hígado de tilapias y los parámetros de producción (ganancia de peso, tasa de eficiencia proteica, sobrevivencia, factor de conversión alimenticia), previa caracterización química del EQ, GF y las dietas experimentales (análisis químico proximal, aminoácidos, ácidos grasos, sustancias antinutricionales, fenoles totales (CFT), flavonoides totales (FlvT) y capacidad antioxidante (CA). Fue aplicado un diseño de bloques al azar con tres réplicas utilizando 120 juveniles de tilapia var GIFT masculinizados con peso promedio 9.6 ± 0.12 g. El CFT, FlvT y CA fueron analizados mediante Pearson y coeficiente de correlación, la actividad enzimática y parámetros productivos con ANOVA de una vía y a *posteriori* Tukey (95%). La sobrevivencia fue 100% en todos los tratamientos y hubo diferencias significativas ($p < 0.05$) del efecto entre las dietas, siendo la D3 la mejor en crecimiento y parámetros de producción en los peces, sugiriendo una sinergia entre los componentes del EQ y el GF. Este último fue una fuente de antioxidantes que mejoró las actividades SOD y CAT, prometiendo promoción de la salud. La D3 representa una alternativa alimenticia para el crecimiento y promoción de la salud de la tilapia, previa prueba de desafío y evaluación con factores adversos, y comprobar su eficiencia en las siguientes etapas de crecimiento bajo condiciones reales.

Palabras clave: *Oreochromis noltoticus*, crecimiento, SOD, CAT, germinado de frijol negro.

ABSTRACT. After 60 days of experimentation, the effect of three diets based on chemical silage (CHS) and black bean sprouts (BS) was evaluated (DC = control diet; D1 = CHS; D2 = BS; D3 = CHS+BS) on enzymatic defense (activity of superoxide dismutase, SOD, and catalase, CAT) in the liver of tilapia, and production parameters (weight gain, protein efficiency rate, survival, feed conversion factor), prior chemical characterization of CHS, BS and the experimental diets (proximate chemical analysis, amino acids, fatty acids, anti-nutritional substances, total phenols (TPH), total flavonoids (TFI) and antioxidant capacity (AC)). A randomized block design was applied with three replications using 120 masculinized GIFT tilapia juveniles of average weight of 9.6 ± 0.12 g. TPH, TFlv, and AC were analyzed by Pearson, and correlation coefficient, enzymatic activity, and productive parameters were evaluated with a one-way ANOVA and a Tukey *post-hoc* test (95%). Survival was 100% in all treatments and there were significant differences ($p < 0.05$) in the effect on diets. The best diet in growth and production parameters in the fish was D3, suggesting a synergy between the components of CHS and BS. This last component was a source of antioxidants that improved SOD and CAT activities, promising health promotion. D3 represents an alternative food for the growth and health promotion of tilapia, prior challenge testing and evaluation with adverse factors, and verifying its efficiency in the following growth stages under real conditions.

Keywords: *Oreochromis noltoticus*, growth, SOD, CAT, black bean sprout.

Como citar: Aguilera-Morales ME, Hernández-Sánchez F, Domínguez-Magaña MAJ, Antonio-Cisneros CM, Marina-Clemente JA (2024) Defensa enzimática y productividad de tilapia con dietas de ensilado químico y germinado de frijol. Ecosistemas y Recursos Agropecuarios 11(1): e3971. DOI: 10.19136/era.a11n1.3971.

INTRODUCCIÓN

Los peces tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*), son fuente de proteínas, vitaminas y minerales, y una alternativa de seguridad alimenticia (FAO 2022). Su producción implica altos costos por alimentación y susceptibilidad a enfermedades debidas a prácticas de limpieza inadecuadas en los estanques, altas densidades de cultivo, deterioro de la calidad de agua, entre otros (Gaviria *et al.* 2021, Islam y Peñarubia 2021), que puede dar lugar a una respuesta de estrés fisiológico, ocasionado por aumento de radicales libres y especies reactivas de oxígeno, cuando exceden a los antioxidantes naturales produce un estrés oxidativo quebrantando la homeóstasis de los peces al debilitar su sistema inmune, haciéndolos vulnerables a microorganismos patógenos (Armenta-López *et al.* 2015, Aguilera *et al.* 2018).

El estrés oxidativo puede monitorearse en el hígado de los peces, a través de las enzimas superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GSH-Px) y glutatión reductasa (Armenta-López *et al.* 2015). Los ensilados químicos ácidos o biológicos son ricos en aminoácidos y se producen con una inversión mínima (Olsen y Toppe 2017, Da-Rocha *et al.* 2019, Gaviria *et al.* 2021). Su composición y calidad nutricional están condicionadas con el tipo y frescura de la materia prima que se utilice (Perea-Román *et al.* 2017, Gaviria *et al.* 2021). Los desechos de los productos pesqueros de agua dulce y marinos son de gran potencial para el ensilaje (Islam y Peñarubia 2021). Por otra parte, los germinados de leguminosas y cereales tienen un alto contenido de proteínas, minerales y compuestos con actividad biológica, por lo que son candidatos potenciales para mejorar la salud y la nutrición animal y humana; además de que se obtienen mediante una técnica simple y económica (Le *et al.* 2020) con un rendimiento de 3:1 (producto:semilla) (Akkad *et al.* 2021). Después de unas horas, las semillas en un medio húmedo experimentan imbibición o absorción de agua (70-80%), los aminoácidos se incrementan y se hacen biodisponibles; los almidones se transforman en azúcares simples mediante enzimas amilasas y las sustancias antinutricionales disminuyen, favoreciendo la eficiencia proteica (Díaz-Sánchez *et al.* 2017).

Estudios recientes muestran que, en la producción de algunas especies menores como conejos, gallinas, cerdos, entre otros, los germinados incorporados en la dieta mejoran el valor nutricional (Gidenne *et al.* 2004, Díaz-Sánchez 2017). Pero en peces de cultivo como la tilapia, no se ha probado su inclusión en la alimentación. Actualmente, es de gran interés la búsqueda de alternativas alimentarias innovadoras y económicas, que además de cubrir los requerimientos nutricionales, confieran protección a los peces contra estrés fisiológico ocasionado por patógenos o por prácticas inadecuadas de manejo durante el cultivo que pueden dar lugar a enfermedades y grandes pérdidas económicas. Por todo lo anterior, en este trabajo se explora por primera vez el uso combinado de dos técnicas sencillas de bajo costo, que aportan componentes de alto valor nutritivo que pueden dar lugar a una alternativa alimenticia eficiente que promueva el crecimiento y la salud de la tilapia en cultivo. Así, el objetivo de este estudio fue evaluar dietas a base de ensilado químico de subproductos pesqueros y germinado de frijol negro (*Phaseolus vulgaris*) sobre el desempeño productivo y la defensa enzimática de juveniles de tilapia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño experimental

Se aplicó un diseño de bloques completamente al azar, utilizando 120 juveniles de tilapia del Nilo var GIFT con peso promedio 9.06 ± 1.2 g revertidos sexualmente provenientes de la granja MOVIK del municipio de Loma Bonita, Oaxaca. Se utilizó un sistema de 12 estanques de 80 L con flujo constante de agua (0.5 L min^{-1}) separados en cuatro lotes, cada uno con tres réplicas, donde se colocaron 10 peces de forma aleatoria después de registrar su biometría (talla y peso). Los peces se manejaron siguiendo la guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio (NRC 2011) y las normas del Código Sanitario para los Animales Acuáticos (OMSA 2021). Durante el experimento se monitoreo cada semana el oxígeno disuelto (OD) y la temperatura con sonda multiparamétrica (YSI 550 Yellow Springs OH), el pH fue medido con medidor de campo (Hanna HI9810422) y el amonio mediante Kit químico para amoniaco en agua dulce (Hanna HI3824). Los valores promedio en que se mantuvieron fueron 30.02 ± 0.6 °C de temperatura, 5.83 ± 0.96 mg L⁻¹ de OD, 7.6 ± 0.1 de pH y el amonio fue menor a 0.5 ± 0.2 mg L⁻¹ de NH₃.

Dietas experimentales y régimen alimenticio

Mediante cuadrado de Pearson (Mendoza *et al.* 2022) y cubriendo los requerimientos de la NCR (2011) para juveniles de tilapia, se formularon cuatro dietas experimentales isoproteicas (35% PC) sustituyendo completamente la harina de pescado (D1 = ensilado químico (EQ), D2 = germinado de frijol (GF) y D3 = EQ + GF) y una dieta control con harina de pescado (DC) (Tabla 1). Cada dieta fue asignada a un lote de 10 peces y suministradas a los peces tres veces al día (8:00, 16:00 y 20:00 h) durante 30 días al 10% de su biomasa. Del día 31 al 60 fueron suministradas al 8% de la biomasa, en dos raciones al día (8:00 y 20: h).

Tabla 1. Composición de las dietas experimentales formuladas (g kg⁻¹).

Ingredientes	DC	D1	D2	D3
Harina de pescado (60%)	398	---	---	---
Ensilado químico (35%)	---	766	---	322.5
Harina de maíz (8%)	542	174	83	80
Germinado de frijol (32%)	---	---	917	537.5
Aceite de girasol	40	40	40	40
*Vitaminas	20	20	20	20
Total (g)	1000	1000	1000	1000

Composición de la premezcla de vitaminas (g kg⁻¹ premezcla): vitamina A, acetato (20,000 UI g⁻¹) 5; vitamina D3 (850,000 UI g⁻¹) 0.001; DL-alfa-tocoferil acetato (250 UI g⁻¹) 12; menadiona 2.4; tiamina-HCl 2.5; riboflavina (B2) 5; piridoxina-HCl (B6) 4; DL Ca pantotenato 0.012; ácido nicotínico 0.024; biotina 0.048; inositol 0.4; vitamina B12 4.8; ácido fólico 1.2; celulosa 962.62. Composición de la premezcla de minerales (g kg⁻¹ premezcla): cloruro de cobalto 0.04; sulfato cúprico pentahidratado 2.5; sulfato ferroso 40; sulfato de magnesio heptahidratado 283.98; sulfato de magnesio monohidratado 6.5; ioduro de potasio 0.67; selenito de sodio 0.1; sulfato de zinc heptahidratado 131.93; celulosa 534.28.

Elaboración del ensilado químico (EQ)

El ensilado se elaboró con el uso de subproductos pesqueros colectados en las pescaderías de los municipios de Alvarado y Veracruz Llave, Veracruz, México, tales como residuos de peces fileteados y pequeñas especies de pescado, se lavaron y molieron en una licuadora industrial (Torrey JR mod ML12 México) e hidrolizaron con ácido fórmico, ajustando el pH a 3.5 durante 72 horas a temperatura ambiente. Después de un período de estabilización de 10 días se añadió etoxiquina (300 ppm) (Sintetic mexicana) para reducir la oxidación lipídica (Olsen y Toppe *et al.* 2018). Al día 15 se decantó el aceite de pescado y se tomaron porciones de dos litros de ensilado, se evaporaron y se utilizaron en forma semi seca previo análisis químico proximal (AQP).

Producción del germinado de frijol (GF)

Se lavaron con agua potable 330 g de frijol negro jamapa, para luego desinfectarlos en una solución de NaClO (hipoclorito de sodio) al 5% V/V durante 15 minutos. Se enjuagaron con agua potable y se escurrieron sobre una malla plástica (Sangronis *et al.* 2006). Se colocó una base de 10 cm de arena esterilizada sobre la cual se sembraron 100 g de frijol en cinco cajones de madera (90 x 30 cm) con fondo de malla mosquitera, esparcidos en toda el área y cubiertos con 10 cm de arena. Los cajones se mantuvieron a cielo abierto resguardados de los rayos directos del sol y regaron durante 15 días. Los germinados de frijol se cosecharon y enjuagaron con agua potable y se les practicó un análisis químico proximal. Para la elaboración de las dietas, los germinados se molieron con agua caliente para desdoblar los almidones y mejorar la estructura del alimento (Del-Pino y Lajolo 2003).

Análisis químicos proximal (AQP)

Se siguieron las técnicas para alimentos del Manual Association of Analytical Communities (AOAC 2016) que incluyó humedad por técnica de secado a peso constante (método 945.16), proteína cruda por método de Kjendhal (método 2001.11), extracto etéreo mediante el método de extracción Soxhlet (método 2003.05), fibra cruda por método de Weende (método 978.10) y cenizas por combustión en mufla a 550 °C (método 942.05). Se realizó un perfil de ácidos grasos mediante cromatografía de gas (CG) 6850 acoplado a un espectrofotómetro de masas 5975 MSD CVL Angilent Technologies, y perfil de aminoácidos (método oficial 982.30E; a,b,c; chp. 45.3.05). Se analizaron las sustancias anti fisiológicas: ácido tánico en forma cualitativa (Lastra *et al.* 2000), ácido fítico (Haug y Lantzsch 1983), sustancias tóxicas cualitativamente (alcaloides) (Coy *et al.* 2014) y factores que afectan la digestión (saponinas) por espectrofotometría (Lozano *et al.* 2012).

Cuantificación de fenoles totales (CFT), flavonoides totales (FLvT) y capacidad antioxidante (CA)

Se realizaron al GF y las dietas experimentales por triplicado con ayuda de un espectrofotómetro Velab VE-5100UV. El CFT se cuantificó mediante el método Folin–Ciocalteu (Ghiassi *et al.* 2012) y lectura de absorbancia a 765 nm. Los resultados fueron expresados en mg equivalentes de ácido gálico (mg EAG 100 g de muestra). Los FLvT se medieron de acuerdo con Ramírez *et al.* (2021) tomando 250 µL del extracto de la muestra la cual se mezcló con 1 000 µL de agua desionizada; enseguida se añadieron 75 µL de NaNO₂ (5%) y se dejó reposar cinco minutos. Después, 75 µL de AlCl₃ (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU) al 10 % fue adicionado junto con 500

μL de NaOH (1 M). La mezcla fue centrifugada a 3 500 rpm durante 5 minutos. Los FLvT fueron expresados en $\text{mg CAT } 100 \text{ g}^{-1}$ de muestra, las absorbancias se midieron a 510 nm.

La CA se determinó mediante el porcentaje del radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo, Sigma-Aldrich D9132-1) (Jiménez-Ruíz *et al.* 2019) y el cambio en la absorbancia a 610 nm. La actividad se expresó de la siguiente forma: % de inhibición del DPPH = (Ac-Am) / Ac. Donde: Ac = absorbancia del control, y Am = absorbancia de la muestra.

Evaluación de la actividad enzimática en el hígado de la tilapia del Nilo

Se sacrificaron tres peces por estanque mediante shock térmico en hielo. Se extrajo el hígado de cada pez, se enjuagaron en solución salina y mantuvieron a -80°C hasta su utilización. Los hígados (0.50 g) se homogenizaron con 0.5 mL de solución tampón Tris 10.0 mM pH 7.5 y luego centrifugaron a 4 000 rpm (10 minutos). Los restos celulares en el sobrenadante se desecharon. La parte sólida fue resuspendida en 1 mL de solución tampón, se centrifugó a 10 000 rpm durante 60 minutos y se utilizó el sobrenadante (fracción soluble pos mitocondrial) para la determinación de las actividades enzimáticas (Ríos *et al.* 2013).

La actividad de la enzima super óxido dismutasa (SOD, EC 1.15.1.1) se cuantificó por el método modificado de Hidalgo *et al.* (2017). Para lo cual se oxido azul nitro tetrazolium (NBT) por la acción del radical superóxido, mezclando en tubos de ensaye 1.5 mL de mezcla reactiva (L-metionina 13 mM, NBT 0.75 mM, 20 mM de riboflavina en buffer de fosfatos 50 mM a pH 7.8) y 250 μL del homogenizado de hígado. La mezcla fue expuesta a la luz no incandescente durante 20 minutos y luego se midió la absorbancia a 560 nm.

La actividad de la enzima catalasa (CAT, EC 1.11.1.6) se determinó midiendo la tasa de descomposición en peróxido de hidrógeno (H_2O_2) 40 mM y lectura a 240 nm (Hidalgo *et al.* 2017). Se mezclaron 2.9 mL de H_2O_2 con 30 μL de homogenizado de hígado y se midió la absorbancia en intervalos de 20 segundos durante tres minutos. Las actividades de las enzimas SOD y la CAT se expresaron en U mg^{-1} de proteína.

Parámetros de producción

Cada 15 días se registró el peso de los peces y la cantidad de alimento proporcionado; con estas variables, se calcularon los parámetros de producción en base a las siguientes fórmulas (Khalil *et al.* 2015): Ganancia de Peso (GP) = peso final (g) – peso inicial (g), supervivencia (S) = $100 * (\text{número final} \div \text{número inicial})$, factor de conversión alimenticia (FCA) = alimento ingerido (g) \div peso ganado (g) y la tasa de eficiencia proteica (TEP) = ganancia de peso \div proteína consumida.

Análisis estadísticos

Para cada dieta se determinó la media \pm desviación estándar. El CFT, FLvT y CA se analizaron mediante Pearson, regresión lineal y coeficiente de correlación. La actividad enzimática y parámetros productivos se evaluaron para los supuestos de normalidad y homocedasticidad. En caso de cumplirse los supuestos, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía y una prueba *a posteriori* de Tukey. En caso de no cumplirse los supuestos, se realizó un análisis de Kruskal-Wallis y la prueba *a posteriori* de Nemenyi. El nivel de significancia de las todas las pruebas aplicadas fue $\alpha = 0.05$. Todos los análisis se realizaron con el software SPSS versión 17.

RESULTADOS

El EQ mostró valores mayores en su composición química proximal y perfil de ácidos grasos poliinsaturados (AGPs) que el GF (Tabla 2). Como se puede observar, el GF presentó el mayor contenido de ácido linoleico (7.56 g 100 g⁻¹ muestra), CFT (230 mg AGE 100⁻¹ g de muestra), FLvT (673.8 mg AGE 100⁻¹ g) e inhibición de DPPH o CA (76 %). Mientras que la cantidad de ácido tánico fue mínima (11.2 mg g⁻¹).

Tabla 2. Análisis químico proximal (AQP), ácidos grasos poliinsaturados (AGPs), sustancias anti nutricias (SA), contenido de fenoles totales (CFT), contenido de flavonoides totales (CFLvT) y capacidad antioxidante (CA) del ensilado químico (EQ) y el germinado de frijol (GF).

Componentes AQP (g 100g ⁻¹)	EQ	GF
Humedad	59.0 ± 0.30	63.20 ± 0.37
Cenizas	3.22 ± 0.12	1.30 ± 0.45
Fibra cruda	0.00 ± 0.00	1.72 ± 0.60
Proteína cruda	30.52 ± 0.18	26.21 ± 0.60
Extracto etéreo	2.12 ± 0.13	1.01 ± 0.37
ELN (extracto libre de nitrógeno)	5.13 ± 0.31	4.56 ± 0.71
AGPs (g 100g ⁻¹ muestra)		
C18:2, Ac. Linoleico	2.74 ± 0.05	7.56 ± 0.11
C18:3, Ac. Linolénico, ALA	1.91 ± 0.03	2.83 ± 0.06
C20:5, Ac. Eicosapentaenoico EPA	7.57 ± 0.09	1.93 ± 0.07
C22:6, Ac. Docosaheptaenoico, DHA	5.52 ± 0.11	1.74 ± 0.05
Total, de Ac. Grasos poliinsaturados	17.74 ± 0.08	14.06 ± 0.04
SA (mg g ⁻¹)		
Ácido tánico	ND	11.2 ± 0.12
CFT (mg AGE 100 ⁻¹ g)	NE	230
FlvT (mg AGE 100 ⁻¹ g)	NE	673.8
CA (% inhibición de DPPH)	NE	76

Media ± desviación estándar. n = 3. ND: No detectado. NE: No evaluado.

Comparando el aporte de aminoácidos de los ingredientes EQ y GF utilizados, el primero presentó los 10 aminoácidos esenciales para el crecimiento de la tilapia de acuerdo a la NRC, destacando el contenido de lisina y metionina (6.47 y 4.71 g 100 g⁻¹, respectivamente) (Tabla 3). El GF aportó nueve de los 10 aminoácidos para el crecimiento, resaltando los contenidos de histidina, arginina, valina, leucina y fenilalanina (4.57, 6.1, 5.7, 6.73 y 5.79 g 100 g, respectivamente), pero no se detectó triptófano y se tuvo deficiente metionina.

Tabla 3. Requerimientos de aminoácidos esenciales para el crecimiento de la tilapia establecidos por la National Research Council (NRC 2011) y contenido de aminoácidos (g 100g⁻¹ PC) del EQ y del GF.

Aminoácido	NRC (2011)	EQ	GF
Lisina	5.12	6.47 ± 0.23	5.48 ± 0.91
Triptófano	1	1.18 ± 0.12	ND
Histidina	1.72	3.19 ± 0.31	4.57 ± 0.44
Arginina	4.20	2.82 ± 0.19	6.1 ± 0.19
Treonina	3.75	2.73 ± 0.31	2.6 ± 0.42
Valina	2.8	4.82 ± 0.35	5.7 ± 0.13
Metionina	2.68	4.71 ± 0.28	0.86 ± 0.18
Isoleucina	3.11	6.16 ± 0.11	3.28 ± 0.31
Leucina	3.39	5.11 ± 0.23	6.73 ± 0.11
Fenilalanina	3.75	3.29 ± 0.24	5.79 ± 0.22

Media ± desviación estándar. n: 3. ND = no detectado. EQ: ensilado químico de subproductos pesqueros. GF: germinado de frijol negro.

Contenido de fenoles totales (CFT), flavonoides totales (FLvT) y capacidad antioxidante (CA) en las dietas experimentales.

Se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en el contenido de CFT, FLvT y CA entre las distintas dietas (Tabla 4). No se detectó CFLvT en la DC ni en D1. El contenido de los fenoles fue alto en D2 y D3, siendo significativamente mayor en D2 que presentó un CFT de 297 mg AGE 100⁻¹ g, CFLvT 551.2 mg AGE 100⁻¹ g y CA 85% de inhibición de DPPH.

Tabla 4. Contenido de fenoles totales (CFT), flavonoides totales (FLvT) y capacidad antioxidante (CA) con su en las dietas experimentales (promedio ± desviación estándar).

	DC	D1	D2	D3
CFT (mg AGE 100 ⁻¹ g)	^a 27 ± 0.21	^b 8.3 ± 0.17	^c 297 ± 0.16	^d 138 ± 0.21
CFLvT (mg AGE 100 ⁻¹ g)	ND	ND	^a 551.2 ± 0.19	^b 234.6 ± 0.18
CA (% inhibición de DPPH)	^a 42 ± 0.20	^b 11.4 ± 0.19	^c 85 ± 0.21	^d 73 ± 0.20

ND = No detectado. n = 3. a, b, c, d. Literales diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Hubo correlación ($R^2 = 1$, $p < 0.05$) entre el CFT y FLvT (Figura 1 A) así como entre la CA y el CFT (Figura 1 B) en las dietas D2 y D3.

Actividades enzimáticas en el hígado de la tilapia

Se detectaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en los valores de las actividades enzimáticas SOD y CAT en el hígado de los peces alimentados con las dietas D2 (2.6 - 1.7 U mg⁻¹, respectivamente) y D3 (3.4 - 2.2 U mg⁻¹, respectivamente) respecto a la DC (4.5 U mg⁻¹,

respectivamente) y D1 (Figura 2). Las actividades enzimáticas tuvieron una correlación inversamente proporcional a la CA (Figura 3).

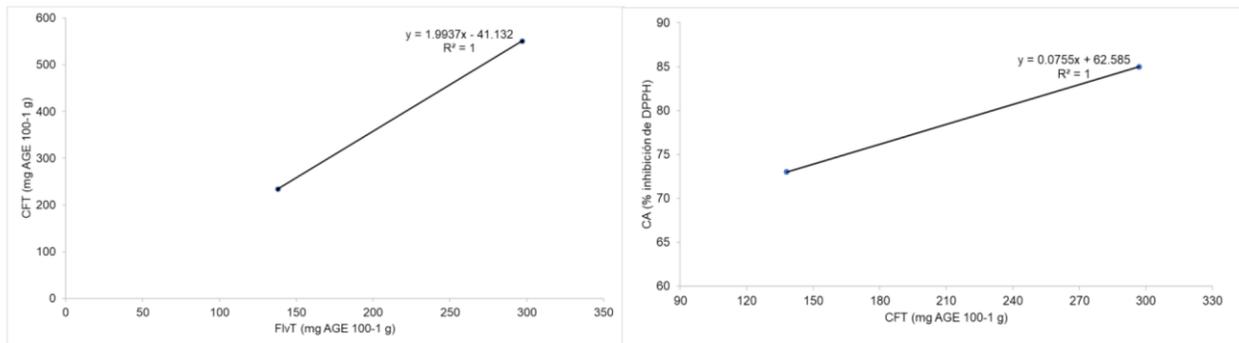


Figura 1. A. Correlación del contenido de fenoles totales (CFT) con el contenido de flavonoides totales (FLvT) y B, correlación de la capacidad antioxidante (CA) con CFT en las dietas D2 y D3.

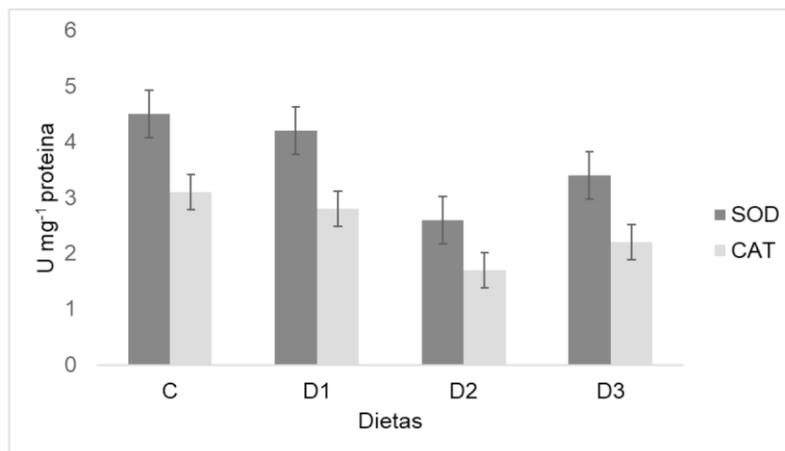


Figura 2. Efecto de las dietas sobre la actividad enzimática SOD y CAT en los hígados de la tilapia. Los datos representan la media ± error estándar de n = 3.

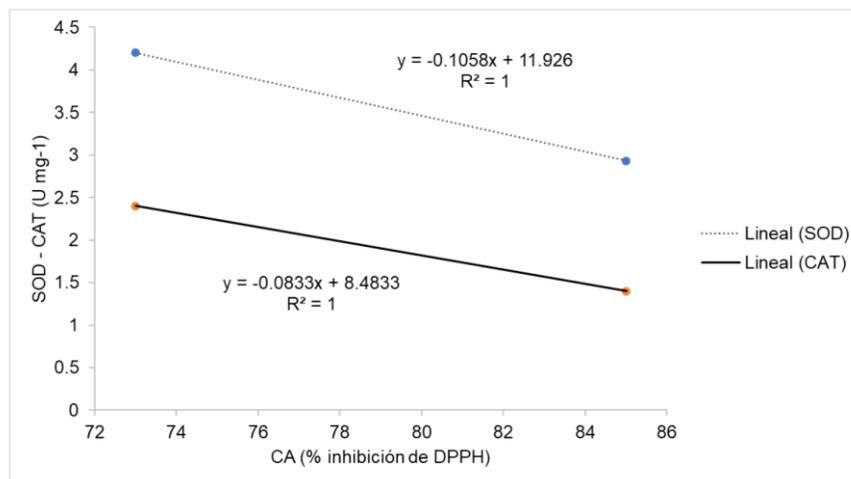


Figura 3. Correlación de las actividades SOD y CAT en el hígado de las tilapias la CA de las dietas.

Parámetros de producción

La sobrevivencia fue del 100% en todos los tratamientos. Todas las dietas evaluadas promovieron el crecimiento de los peces sin comprometer su salud y tuvieron diferencias significativas ($p < 0.05$) en los parámetros productivos. Las tilapias alimentadas con la D3 presentaron mayor talla, su GP fue de 23.5 g, seguida de DC (21.6 g), D1 (20.52 g) y D2 (18.21 g). La interacción de proteína y nutrientes en las dietas representada por TEP tuvo correspondencia con la GP y el FCA de cada dieta. La dieta significativamente mejor en base al FCA, GP y TEP fue la D3 (1.4, 18.3 y 1.6 g, respectivamente) seguida de la DC (Tabla 5).

Tabla 5. Composición química proximal ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$) de las dietas experimentales y los parámetros productivos de crecimiento de la tilapia (*O. niloticus*).

	DC	D1(EQ)	D2(GF)	D3(EQ+GF)
Materia seca	96.01 ± 0.11	95.42 ± 0.17	96.22 ± 0.08	95.61 ± 0.09
Cenizas	8.40 ± .12	10.30 ± 0.15	9.61 ± 0.12	10.83 ± 0.11
Fibra cruda	7.50 ± 0.31	9.42 ± 0.40	8.21 ± 0.25	8.53 ± 0.11
Proteína cruda	35.20 ± 0.09	35.11 ± 0.10	35.40 ± 0.7	35 ± 0.04
Extracto etéreo	8.70 ± 0.22	9.50 ± 0.31	9.40 ± 0.26	10.52 ± 0.22
ELN	36.21 ± 0.09	30.62 ± 0.11	33.53 ± 0.10	30.41 ± 0.10
Parámetros productivos				
Peso inicial promedio (g)	5.16 ± 1.23	5.11 ± 1.20	5.10 ± 1.22	5.14 ± 1.23
Peso final promedio (g)	^a 21.60 ± 0.32	^a 20.52 ± 0.41	^b 18.20 ± 0.37	^c 23.50 ± 0.34
S (%)	100	100	100	100
GP (g)	^a 16.44 ± 0.62	^a 15.41 ± 0.43	^b 13.10 ± 1.71	^c 18.36 ± 1.64
TEP	^a 1.57 ± 0.06	^a 1.55 ± 0.06	^b 1.51 ± 0.04	^c 1.64 ± 0.05
FCA	^a 1.61 ± 0.92	^a 1.70 ± 0.18	^b 1.84 ± 0.14	^c 1.48 ± 0.23

Media ± desviación estándar. n = 3. ELN: extracto libre de nitrógeno. S: sobrevivencia. GP: ganancia de peso. TEP: tasa de eficiencia proteica. FCA: factor de conversión alimenticia. Letras diferentes dentro de mismo renglón indican diferencias estadísticas (Tukey, $p < 0.05$).

DISCUSIÓN

Tanto el EQ como el GF fueron fuentes proteicas, aunque con mayor aporte el EQ debido a su origen animal y tipo de materia prima utilizada. Al respecto, Gaviria *et al.* (2021) reportan un aporte de 8.8% de PC de un EQ obtenido de vísceras de tilapia roja, mientras que Da-Rocha *et al.* (2019), a partir de un ensilado de residuos de tilapia obtuvieron 33% de PC y, Perea-Román *et al.* (2017) con vísceras enteras obtuvieron 25.1% de PC. En esta investigación la PC obtenida estuvo dentro del rango de los trabajos mencionados (30.5%), ya que los residuos utilizados contenían aproximadamente 30% de carne adherida a los huesos e incluía algunas pequeñas especies enteras de peces. El contenido de PC del GF (26.2%) fue similar al valor obtenido por Sangronis *et al.* (2006), el cual es superior a lo reportado para frijol negro sin germinar (Evangelho *et al.* 2017). El EQ aportó los 10 aminoácidos esenciales requeridos para el crecimiento de juveniles de tilapia del Nilo

establecidos por la NRC (2011), mientras que el GF aportó ocho aminoácidos, con deficiencias de triptófano y metionina, lo cual sugiere fue una limitante para el crecimiento de los peces en la D2. Dichos aminoácidos son relevantes para la composición de la canal y desempeño productivo (Lopera y Poveda 2009, Torres y Hurtado 2012). La cantidad de taninos (11.2 mg g^{-1}) identificados en los GF no representó riesgo alguno para los peces; ya que se requieren cantidades superiores a 3 g para alterar la digestión y absorción de las proteínas (Le *et al.* 2020), además de que el uso de agua caliente en la mezcla de los ingredientes durante la elaboración de las dietas reduce la cantidad de taninos (Del-Pino y Lajolo 2003). El uso de plantas aun con sustancias antinutricionales puede utilizarse siempre y cuando no altere el crecimiento de los peces (González *et al.* 2014).

Los aportes de los AGPI de las dietas cumplieron los requerimientos para el crecimiento establecidos en NRC (2011) y fueron similares a los reportados por Waters *et al.* (2013), quienes al igual que El Sayed (2019), refieren que los AGPI de cadena larga como los ácidos araquidónicos (ARA; 20:4n-6), eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA), son esenciales para el crecimiento, desarrollo y supervivencia de los peces al ser componentes importantes de los fosfolípidos de las membranas celulares además de su utilidad en el mantenimiento de las funciones fisiológicas normales de las membranas y la modulación de eventos fundamentales de transducción de señales.

Los valores altos de CFT y FLvT en las dietas D2 y D3 indican que el GF es una fuente de antioxidantes, que no se perdieron durante el mezclado del alimento, sin embargo, en la D3, el pH del EQ afectó el contenido de los antioxidantes, desprotonando algunos polifenoles y reduciendo la capacidad antioxidante (Spanopoulos *et al.* 2010). Los resultados son congruentes con lo reportado por Xue *et al.* (2016) y Cardador *et al.* (2020) quienes tuvieron contenidos altos de fenoles totales, flavonoides y capacidad antioxidante en germinados de frijol negro, mencionando que tal contenido está influenciado por la técnica y condiciones del proceso de germinado, el genotipo de la semilla de frijol, acidez o alcalinidad del suelo, temperatura entre otros. Sobre lo mismo, Borges *et al.* (2022) mencionan que durante la germinación el CFT se incrementa hasta un 70%. Por otra parte, la actividad de los antioxidantes se relaciona con diversos factores como su estructura, medio en el que se encuentran o sus propiedades químicas (Jiménez-Ruiz *et al.* 2019, Akkad *et al.* 2021). De acuerdo con Ghiassi *et al.* (2012) y Gaviria *et al.* (2021) la presencia de compuestos fenólicos en materia vegetal se asocia con una capacidad antibacteriana y/o antifúngica, así como protección contra radicales libres en los organismos. Al respecto, Lizárraga *et al.* (2018) reportan que la incorporación de polifenoles de fuentes vegetales y con CA menor a 60% han contribuido a reducir el estrés y mejorar el sistema inmune innato en peces omnívoros, herbívoros y carnívoros.

El hígado de los peces es uno de los órganos con mayor actividad metabólica y sufre daño oxidativo ante los estímulos estresantes (Armenta-López *et al.* 2015). Las enzimas SOD y CAT son componentes críticos del sistema enzimático de defensa antioxidante, y son la primera línea de defensa contra la toxicidad de las especies reactivas del oxígeno (ERO) (Shi *et al.* 2022). Cuando los organismos son alterados por algún factor interno o externo, se producen especies reactivas de oxígeno que alteran el estado fisiológico incrementando la actividad de las enzimas SOD, CAT y glutatión peroxidasa (GPx) (Hidalgo *et al.* 2017). En esta investigación se consideraron como estímulos estresantes la luz directa que incidía sobre los estanques transparentes, el acercamiento del personal que alimentaba y la manipulación durante las biometrías, explicando así los valores

altos de las actividades enzimáticas SOD y CAT en las dietas DC y D1. En los peces alimentados con las dietas D2 y D3 las actividades enzimáticas SOD y CAT en el hígado disminuyeron, principalmente en D2 que tuvo los mayores valores, evidenciando un efecto positivo, el cual se asoció al contenido de CFT y FLvT aportado por el GF. Existen varios reportes sobre el alto contenido de fenoles totales y flavonoides en el frijol negro asociados a su color, y contenido en fibra dietética, se menciona que los compuestos fenólicos y fitoesteroles tienen beneficios en la salud humana (Guajardo *et al.* 2013, Mendoza *et al.* 2019). Por otra parte, Ibrahim *et al.* (2019) encontraron que con la suplementación de harina de hojas de rúcula seca (fuente de antioxidantes) en dietas para tilapia estresadas por calor o frío disminuyeron las actividades de SOD y CAT y mejoró el crecimiento. Mientras que Khalil *et al.* (2015) y Elabd *et al.* (2017) refieren que los usos de vegetales ricos en antioxidantes reducen la actividad enzimática. Sobre lo mismo Armenta-López *et al.* (2015) mencionan que varias sustancias antioxidantes de origen vegetal como el licopeno, vitamina C y E, extracto de ajo, inulina entre otros, han demostrado una mejora en las actividades SOD y CAT y del sistema inmune innato en diversos peces. Lo anterior, sugiere que los resultados pueden tener un efecto promotor y protector de la salud en los peces, y ser una estrategia prometedora para contrarrestar los estímulos estresantes de cada etapa del proceso productivo, favoreciendo así el rendimiento de los peces en cultivo.

Los parámetros de producción están en el rango de lo reportado para juveniles de tilapia (Khalil *et al.* 2015). La dieta D3 a base de EQ+GF mejoró el rendimiento de la producción de tilapia al obtener el mayor peso final, ganancia de peso y factor de conversión alimenticia (Tabla 4). Las evidencias sugieren que el crecimiento de los peces fue afectado por el contenido y composición de aminoácidos, ácidos grasos y CFT y FLvT presentes en el EQ y en el GF. Al respecto, Olsen y Toppe (2017) explican que el bajo pH del EQ da lugar a la licuefacción de los subproductos pesqueros debido a la autólisis de enzimas endógenas, produciendo una mezcla de proteínas, péptidos cortos, aminoácidos libres, ácidos grasos y minerales que hacen al ensilado un alimento altamente nutritivo. Mientras, Aisha *et al.* (2015) refieren que el crecimiento está influenciado por la concentración de ácidos grasos esenciales como el linoleico y linolénico. Lo anterior, coincide con los resultados de esta investigación. Con las observaciones obtenidas se puede considerar que el GF enriqueció la D3 favoreciendo el crecimiento y disminuyendo las actividades enzimáticas SOD y CAT y aumentando la CA en el hígado de las tilapias. Mientras que Sahin *et al.* (2010) e Imtiaz y Burhan (2012) refieren que un alto contenido de polifenoles eleva la capacidad antioxidante además de mejorar las propiedades nutricionales. En el GF el contenido de nutrientes y compuestos con actividad biológica fueron resultado del aumento de la actividad metabólica al reactivarse las enzimas que estaban inactivas durante el proceso de germinación (Ochame *et al.* 2015).

CONCLUSIONES

La dieta de ensilado a base de subproductos pesqueros más germinado de frijol tuvo mejor desempeño productivo y mejoró la defensa enzimática de juveniles de tilapia; la dieta puede sustituir la harina de pescado y cubrir los requerimientos nutricionales para el crecimiento. También aporta los aminoácidos y ácidos grasos poliinsaturados esenciales para el crecimiento, así

como fenoles y flavonoides totales. Se observó una mejora de las actividades enzimáticas SOD y CAT, parte de la primera línea de defensa, Pero se requiere que la dieta sea sometida al desafío de factores de cultivo adversos como algún patógeno de incidencia frecuente y evaluarse, al igual que su eficiencia en las siguientes etapas de crecimiento bajo condiciones de cultivo normal.

AGRADECIMIENTOS

Al programa para el desarrollo profesional docente (PRODEP) de la Secretaría de Educación Pública de México y a la Universidad del Papaloapan por el apoyo económico para la realización de esta investigación.

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran que no tienen intereses en competencia.

LITERATURA CITADA

- Aguilera Morales ME, Canales Martínez MM, Ávila González E, Flores Ortiz CM (2018) Nutrients and bioactive compounds of the *Lemna gibba* and *Ulva lactuca* as possible ingredients to functional foods. Latin American Journal of Aquatic Research 46 (4): 709-716. <http://dx.doi.org/10.3856/vol46-issue4-fulltext-8>
- Aisha A, Raja AS, Farooq AS, Shaukat AS, Khalid MA (2015) Chemical composition and biological activities of leaves of *Zizyphus mauritiana* L native to Pakistan. Journal Botany 47 (1): 367-376. [https://www.pakbs.org/pjbot/PDFs/47\(1\)/51.pdf](https://www.pakbs.org/pjbot/PDFs/47(1)/51.pdf) Fecha de consulta: 12 Julio de 2023.
- Akkad R, Buchko A, Johnston S, Han J, House J, Curtis J (2021) Sprouting improves the flavour quality of faba bean flours. Food Chemistry 364: 130355. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130355>
- AOAC (2016) Official Methods of Analysis of AOAC International. (20Ed.). Gaithersburg, E.U.U. 3172 p.
- Armenta-López GE, Sumaya-Martínez MT, Spanopoulos-Hernández M, Balois-Morales R, Sánchez-Herrera M, Jiménez-Ruiz E (2015) Inclusion of natural antioxidant compounds in fish feeds to counteract oxidative stress. Revista Bio Ciencias 3(2): 68-78. <http://dx.doi.org/10.15741/revbio.03.02.01>
- Cardador MA, Martínez TY, Gallardo VT, Sánchez CXM, Martínez HJ, Corzo RLJ, Jiménez MC (2020) Effect of instant controlled pressure-drop on the non-nutritional compounds of seeds and sprouts of common black bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Molecules 25(6): 1464. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules25061464> PMID: 32213962.
- Coy BCA, Parra J, Cuca SLE (2014) Caracterización química del aceite esencial e identificación preliminar de metabolitos secundarios en hojas de la especie *Raputia heptaphylla* (rutaceae). Revista Elementos 4: 1-9. <https://doi.org/10.15765/e.v4i4.513>
- Da-Rocha SNJ, Silva RF, Gonçalves AA, Coelho EMG (2019) Tilapia processing waste silage (TPWS): An alternative ingredient for *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931) diets in biofloc and clear water system. Aquaculture and Fisheries 4(5): 214-218. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2019.04.005>
- Del-Pino VH, Lajolo FM (2003) Inhibitory effect of carioca bean tannins on phaseolin digestibility assessed by two multi-enzymatic systems. Food Science Technology 23 (1): 49-53. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612003000100011>
- Díaz-Sánchez MF, Martín-Cabrejas MA, Martínez-Pérez M, Savón-Valdés LL, Aguilera Y, Benítez V, Torres-Cárdenas V, Coto-Valdés G, González-Conde A, Sarmiento-Menéndez M, Hernández-Herrera Y (2017) Germinados de

- leguminosas temporales: Una alternativa para la alimentación animal. Cuban Journal of Agricultural Science 51(3): 381-390.
- Elabd H, Wang HP, Shaheen A, Yao H, Abbass A (2017) Anti-oxidative effects of some dietary supplements on yellow perch (*Perca flavescens*) exposed to different physical stressors. *Aquaculture Reports* 8: 21–30. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2017.09.002>
- El-Sayed FM (2019) *Tilapia culture*. 2a edition. ESELVIERE. <https://shop.elsevier.com/books/tilapia-culture/el-sayed/978-0-12-816541-6>. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.046>
- Evangelho JA, Levien VN, Zanella PV, De Berríos JJ, Guerra DAR, DaRosa ZE (2017) Black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) protein hydrolysates: physicochemical and functional properties. *Food Chemistry* 214 (1): 460-467
- FAO (2022) *The state of world fisheries and aquaculture*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Contributing to food security and nutrition for all. Rome. 237p.
- Gaviria YS, Figueroa OA, Zapata JE (2021) Efecto de la inclusión de ensilado químico de vísceras de tilapia roja (*Oreochromis spp.*) en dietas para pollos de engorde sobre los parámetros productivos y sanguíneos. *Información Tecnológica* 32(3): 79-88. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642021000300079>
- Ghiassi Tarzi B, Gharachorloo M, Baharinia M, Mortazavi SA (2012) The effect of germination on phenolic content and antioxidant activity of chickpea. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* 11(4): 1137–1143.
- Gidenne T, Mirabito L, Jehl N, Pérez JM, Arveux P, Bourdillon A, Briens C, Duperray J, Corrent E (2004) Impact of replacing starch by digestible fiber, at two levels of lignocelluloses, on digestion, growth and digestive health of the rabbit. *Animal Science* 78: 389-398.
- González Salas R, Romero Cruz O, Valdiviá Navarro M, Ponce-Palafox JT (2014) Los productos y subproductos vegetales, animales y agroindustriales: Una alternativa para la alimentación de la tilapia. *Revista Bio Ciencias* 2(4): 240-251. <https://doi.org/10.15741/revbio.02.04.02>
- Guajardo FD, Serna SSO, Gutiérrez UJA (2013) Evaluation of the antioxidant and antiproliferative activities of extracted saponins and flavonols from germinated black beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chemistry* 141(2): 1497-1503 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.04.010>
- Haug W, Lantzsch HJJ (1983) Sensitive method for the rapid determination of phytate in cereals and cereal products. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 34: 1423. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740341217>
- Hidalgo MC, Morales AE, Arizcun M, Abellán E, Cardenete G (2017) Regional asymmetry of metabolic and antioxidant profile in the sciaenid fish shi drum (*Umbrina cirrosa*) white muscle response to starvation and refeeding redox. *Biology* 11: 682–687. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.01.022>
- Islam MJ, Peñarubia OR (2021) Seafood waste management status in Bangladesh and potential for silage production. *Sustainability* 13: 2372. <https://doi.org/10.3390/su13042372>
- Ibrahima RE, El-Houseinya W, Behairyb A, Abo-Elmaatyc A, Al-Sagheerd AA (2019) The palliative role of *Eruca sativa* leaves dietary supplementation against oxidative stress, immunosuppression, and growth retardation in temperature-stressed *Oreochromis niloticus*. *Journal of Thermal Biology* 84: 26-35. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2019.05.026>
- Imtiaz H, Burhan U (2012) Optimization effect of germination on functional properties of wheat flour by response surface methodology. *International Research Journal of Plant Science* 3(3): 031-037.
- Jiménez-Ruiz EI, Rodríguez-Carpena JG, Hernández-Ortega GP, Sumaya-Martínez MT, Balois-Morales R, Sánchez-Herrera LM, Peraza-Gómez V (2019) Antioxidant properties of a tilapia (*Oreochromis niloticus*) diet with the inclusion of avocado by-product. *Revista Biotecnica* 21(3): 163-169. <https://doi.org/10.18633/biotecnica.v21i3.1053>
- Khalil F, Mehri A, Refaey M (2015) Impact of dietary rocket (*Eruca sativa*) leaves or seeds on growth performance, feed utilization, biochemical and physiological responses of *Oreochromis niloticus* fingerlings. *Asian Journal of Animal Science* 9: 134-147. <http://dx.doi.org/10.3923/ajas.2015.134.147>
- Lastra VH, Rodríguez LE, Ponce de León RH, González Sanabria ML (2000) Método analítico para la cuantificación de taninos en el extracto acuoso de romerillo. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 5(1): 17-22.
- Lizárraga VCE, Hernández C, González AGA, Basilio HJ (2018) Propiedades antioxidantes e inmunoestimulantes de polifenoles en peces carnívoros de cultivo. *CienciaUAT* 12(2): 127-136
- Le TN, Chiu CH, Hsieh PC (2020) Bioactive compounds and bioactivities of *Brassica oleracea* L. var. italica sprouts and microgreens: An updated overview from a nutraceutical perspective. *Plants* 9: 1-23. <https://doi.org/10.3390/plants9080946>

- Lopera BN, Poveda P (2009) Exigencias nutricionales en peces tropicales: factores y métodos de estimación. *Revista Colombiana de Ciencia Animal* 2(2): 54-66.
- Lozano M, Ticona E, Carrasco C, Flores Y, Almanza GR (2012) Cuantificación de saponinas en residuos de quinua real *Chenopodium quinoa* willd. *Revista Boliviana de Química* 29(2): 131-138.
- Mendoza MGD, Hernández GPA, Plata PFX, Martínez GJA, Arcos GJL, Lee RHA (2022) Nutrición animal cuantitativa. Editorial CBS. Universidad Autónoma Metropolitana. México. 622p.
- Mendoza SM, Pérez RIF, Wall MA, Martínez GAI, Gallegos CMA, Reynoso CR (2019) Chemically induced common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) sprouts ameliorate dyslipidemia by lipid intestinal absorption inhibition. *Journal of Functional Foods* 52: 54-62 <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.10.032>
- NRC (2011) Nutrient requirements of warm water fishes and shellfishes. Washington DC: National Academy Press. 392 p. <https://doi.org/10.17226/13039>
- Ocheme O, Adedeji O, Lawal G, Zakari U (2015) Effect of germination on functional properties and degree of starch. *Journal of Food Research* 4(2): 159-165. <https://doi.org/10.5539/jfr.v4n2p159>
- Olsen RL, Toppe J (2017) Fish silage hydrolysates: no only a feed nutrient, but also a useful feed additive. *Trends in Food Science & Technology* 66: 93-97 <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.06.003>
- OMSA (2021) Código Sanitario para los Animales Acuáticos. Organización mundial de sanidad animal. 23a ed. WOAHOIE. 316p.
- Perea-Román C, Hoyos-Concha JL, Garcés-Caicedo YJ, Muñoz-Arboleda LS, Gómez-Peñaranda JA (2017) Evaluación de procesos para obtener ensilaje de residuos piscícolas para alimentación animal. *Ciencia en Desarrollo* 8(2): 47-58. <https://doi.org/10.19053/01217488.v8.n2.2017.6174>
- Ramírez RSC, Ortega OH, Fortis HM, Nava SJM, Orozco VJA, Preciado RP (2021) Nanopartículas de quitosano mejoran la calidad nutracéutica de germinados de triticale. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 12(4): 579-589. <https://doi.org/10.29312/remexca.v12i4.2929>
- Ríos MV, Guzmán-Guillén R, Prieto AI, Moreno IM, Cameán AM (2013) Alteración de biomarcadores de estrés oxidativo en Tilapia (*Oreochromis niloticus*) expuesta a dosis repetidas de cilindropermopsina por diferentes vías de exposición. *Revista Toxicológica* 30: 149-160.
- Sahin K, Orhan CM, Tuzcu Ali S, Sahin N, Hayirli A (2010) Epigallocatechin-3-gallate prevents lipid peroxidation and enhances antioxidant defense system via modulating hepatic nuclear transcription factors in heat-stressed quails. *Poultry Science* 89(10): 2251-2258. <https://doi.org/10.3382/ps.2010-00749>
- Sangronis E, Rodríguez M, Cava R, Torres A (2006) Protein quality of germinated *Phaseolus vulgaris*. *European Food Research and Technology* 222: 144-148. <http://dx.doi.org/10.1007/s00217-005-0137-4>
- Shi Q, Xiong X, Wen Z, Qin C, Li R, Zhang Z, Gong Q, Wu X (2022) Cu/Zn superoxide dismutase and catalase of Yangtze Sturgeon, *Acipenser dabryanus*: Molecular cloning, tissue distribution and response to fasting and refeeding. *Fishes* 7(35): 1-16. <https://doi.org/10.3390/fishes7010035>
- Spanopoulos HM, Ponce PJT, Quintero BG, Ruelas IJ, Tiznado CM, Hernández GC, Shirai K (2010) Production of biological silage from fish waste, the smoked yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) and fillet of tilapia (*Oreochromis sp*) for feeding aquaculture species. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* (9): 167-178.
- Torres NMD, Hurtado NL (2012) Requerimientos nutricionales para tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*). *ORINOQUIA* 16(1): 63-68. <https://doi.org/10.22579/20112629.266>
- Watters CA, Rosner LS, Franke AA, Dominy WG, Klinger-Bowen R, Tamaru CS (2013) Nutritional enhancement of long-chain omega-3 fatty acids in Tilapia (*Oreochromis honorum*). *Israeli Journal of Aquaculture Bamidgah* 65: 1-7.
- Xue Z, Wang C, Zhai L, Yu W, Chang H, Kou X, Zhou F (2016) Bioactive compounds and antioxidant activity of mung bean (*Vigna radiata* L.), soybean (*Glycine max* L.) and black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) during the germination process. *Czech Journal of Food Science* 34: 68-78. <http://doi.org/10.17221/434/2015-CJFS>