

## Reemplazo de alto porcentaje de harina de pescado por ensilados pesqueros en dietas extrusadas para *Clarias gariepinus*

### Replacement of high percentage of fishmeal by fish silage in extruded diet for *Clarias gariepinus*

JOSÉ LLANES-IGLESIAS<sup>1</sup> Y GIULIANA PARISI<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Empresa de Desarrollo de Tecnologías Acuícolas. Carretera Central km 20, Loma de tierra, Cotorro, La Habana, Cuba, E-mail: jose@edta.alinet.cu

<sup>2</sup>Universidad de Florencia, ViadelleCascine 5 – 50144 Florence FI, Italia.

#### RESUMEN ABSTRACT

Un total de 270 alevines ( $10,7 \pm 0,06$  g de peso promedio) se distribuyeron al azar en tres tratamientos con tres repeticiones, según diseño completamente aleatorizado, para evaluar el remplazo de alto porcentaje de harina de pescado (HP) por ensilados de subproductos pesqueros (EP) en dietas extrusadas para *Clarias gariepinus*. Los tratamientos fueron el pienso para alevinaje de bagres con 25 % de HP (control) y dos dietas alternativas con 10 % (base seca) de EP; uno preparado con ácido sulfúrico al 98 % y el otro con ácido fórmico. Los animales se alimentaron durante 60 días. No se encontraron diferencias en los pesos finales (66,63 g; 66,27 g y 70,71 g) y conversión alimentaria (1,18; 1,18 y 1,15). Sin embargo, se encontraron diferencias ( $p = 0,001$ ) para la eficiencia proteica entre la dieta con HP (2,34) y los EP (3,09 y 3,18). Las supervivencias fueron excelentes en todos los tratamientos (> 96,66 %). El análisis económico mostró que las utilidades con los ensilados (US \$ 2 534,22/t y US \$ 2 430,05/t) fueron superiores al control (US \$ 1 689,44/t). Se concluye que los ensilados químicos de subproductos pesqueros pueden reemplazar elevado porcentaje de HP en dietas extrusadas para alevines de *Clarias gariepinus*, con un efecto económico positivo, al disminuir la importación de harina de pescado.

Palabras clave: ácidos, alimentación, bagres, silos químicos.

A total of 270 fingerlings ( $10,7 \pm 0,06$  g average weight) were randomly distributed in three treatments with three repetitions, according to a completely randomized design, to evaluate the replacement of high percentage of fishmeal (HP) by fishery by-product silage (FS) in extruded diets for *Clarias gariepinus*. The treatments were the feed for catfish fingerlings with 25 % HP (control) and two alternative diets with 10 % (dry basis) EP; one prepared with 98 % sulfuric acid and the other with formic acid. The animals were fed for 60 days. No differences were found in final weights (66,63; 66,27 and 70,71 g) and feed conversion (1,18; 1,18 and 1,15). However, differences ( $p = 0,001$ ) were found for protein efficiency between the HP diet (2,34) and the EP diets (3,09 and 3,18). Survivals were excellent in all treatments (> 96,66 %). The economic analysis showed that the profits with the silages (US\$ 2 534,22 and 2 430,05/t) were higher than the control (US\$ 1 689,44/t). It is concluded that chemical silage from fishery by-products can replace a high percentage of HP in extruded diets for *Clarias gariepinus* fingerlings, with a positive economic effect, by reducing the import of fishmeal.

Keywords: acids, food, catfish, chemical silos.

## INTRODUCCIÓN

La harina de pescado es la principal fuente de proteína para peces, pero el incremento de precios y la baja disponibilidad en el mercado motivaron investigaciones para su reemplazo parcial o total por otras fuentes de proteínas (Guzel *et al.*, 2011; Valenzuela & Morales, 2016). En Cuba, como parte de la sustitución de importaciones se trabaja en la búsqueda de alimentos alternativos que permitan contar con materias primas nacionales y de esta forma, contribuir a la sostenibilidad y soberanía alimentaria. En este contexto, los ensilados de subproductos pesqueros (EP) se consideran una alternativa práctica y económicamente viable para garantizar una producción piscícola sostenible (Perea *et al.*, 2018).

El bagre africano (*Clarias gariepinus*) es la principal especie de cultivo intensivo en Cuba y su alimentación se realiza con alimento húmedo (40-45 % de materia seca) constituido por pienso vegetal y EP (Toledo & Llanes, 2013). Por un proyecto internacional (AID010713-IPEPAC), de la Agencia Italiana para la Cooperación Allosviluppo (AICS) se extendió esta metodología de alimentación a la provincia de Sancti Spiritus donde se previó la extrusión del mismo. Por tal motivo, surgió la necesidad de realizar nuevos estudios que permitieran una mayor eficiencia en el reciclaje de los subproductos pesqueros y el alimento terminado.

En estudios realizados por Llanes & Parisi (2020) se evaluaron dos dietas extrusadas con 10 % (base seca) de ensilados químicos de subproductos pesqueros en bagres africanos. Estos autores obtuvieron mejores indicadores productivos y económicos respecto al pienso comercial (control) que contenía 10 % de HP. De ahí, que el objetivo de este trabajo fue evaluar el reemplazo de alto porcentaje de HP por ensilados químicos de subproductos pesqueros en dietas extrusadas para *Clarias gariepinus*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El bioensayo se realizó en el Laboratorio de Nutrición de la Empresa de Desarrollo de Tecnologías Acuícolas (EDTA), en el municipio Cotorro, La Habana.

### Animales, diseño experimental y tratamientos

Los alevines de *Clarias gariepinus* procedían del área de alevinaje de la Unidad de Desarrollo e Innovación (UDI), El Dique, de la Empresa de Desarrollo de Tecnologías Acuícolas (EDTA). Estos fueron sometidos una semana de adaptación en una piscina de cemento de 4,5 m<sup>2</sup>, donde recibieron el pienso de alevines de bagre (35 % de proteína bruta). Finalizado este tiempo, se pescaron y seleccionaron 270 peces de 10,4 ± 0,06 g de peso promedio, los que se distribuyeron al azar en tres tratamientos con tres repeticiones según diseño completamente aleatorizado. Las unidades experimentales consistieron en nueve tanques circulares de cemento de 68 L, donde se colocaron 30 peces y se mantuvo el flujo de agua a 0,2 L/min las 24 h.

Los tratamientos fueron el pienso para alevinaje de bagres (control) y dos dietas alternativas con ensilado químico de subproductos pesqueros; uno elaborado con ácido sulfúrico al 98 % (EPS) y el otro con ácido fórmico (EPF) (Tabla 1). Ambos ácidos se adquirieron en la firma comercial MERCK.

Tabla 1. Composición porcentual y química de las dietas experimentales para alevines de *Clarias gariepinus* (g/100 g peso seco)

Ingredientes	D-I Control	D-II EPS	D-III EPF
Harina de pescado	25	-	-
Ensilado con ácido sulfúrico (EPS)	-	10	-
Ensilado con ácido fórmico (EPF)	-	-	10
Harina de soya	30	40	40
Harina de trigo	25	25	25
Salvado de trigo	15	20	20
Aceite de soya	4	3	3
Fosfato di cálcico	-	1	1
Premezcla de vitaminas y minerales*	1	1	1
Total	100	100	100
Materia seca	88,11	88,46	89,11
Proteína bruta	34,50	27,91	27,39
Extracto etéreo	7,54	7,66	7,36
Fibra bruta	4,55	4,97	4,81
Cenizas	8,32	7,18	7,13
Energía digestible (MJ/kg)	12,40	12,11	11,96
PB/ED (g/MJ)	27,82	23,04	22,90

\* Mezcla vitamínica-mineral (kg de dieta): vitamina A, 500 IU; vitamina D, 100 IU; vitamina E, 75 000 mg; vitamina K, 20 000 mg; vitamina B<sub>1</sub>, 10 000 mg; vitamina B<sub>3</sub>, 30 000 mg; vitamina B<sub>6</sub>, 20 000 mg; vitamina B<sub>12</sub>, 100 mg; vitamina D, 60 000 mg; niacina, 200 000 mg; ácido fólico, 500 mg; biotina, 0,235 mg; selenio, 0,2 g; hierro, 80 g; manganeso, 100 g; zinc, 80 g; cobre, 15 g; cloruro de potasio, 4 g; óxido de manganeso, 0,6 g; bicarbonato de sodio, 1,5 g; yodo, 1,0 g; cobalto, 0,25 g.

### Preparación de los ensilados

Se utilizaron subproductos del fileteado de tilapias, los cuales se molieron en molino de carne (*JAVAR 32*, Colombia). La pasta resultante se dividió en dos porciones; una se mezcló con 2 % de ácido sulfúrico al 98 % (p/v) y la otra 2 % de ácido fórmico (p/v), almacenándose en dos recipientes plásticos con tapa durante siete días. Ambos ácidos se adquirieron en la firma comercial MERCK.

### Preparación de las dietas

Las harinas (pescado, soya y trigo) y el salvado de trigo se molieron en molino de martillo a tamaño de partícula de 250  $\mu\text{m}$ . Las mezclas se realizaron en mezcladora (*HOBART MC-600*, Canadá) por 10 min y posteriormente se adicionaron el aceite de soya, la mezcla vitamino-mineral y los EP en forma húmeda (10 % de inclusión calculada en base seca y previa neutralización con 2,5 % de carbonato de calcio), y se continuó el mezclado por 5 min. La aglomeración de las dietas se realizó en extrusora (*DGP 70*, China) con diámetro de 3 mm y los pellets se secaron en estufa (*Selecta*, España) a 60 °C por 24 h. El alimento control se preparó en iguales condiciones a los experimentales. Las determinaciones bromatológicas se realizaron según los métodos descritos por Latimer (2016) y la energía digestible se calculó según los coeficientes calóricos referidos por Toledo *et al.* (2015).

### Procedimiento experimental

Diariamente se tomaron los valores de temperatura y oxígeno disuelto con Oxímetro digital (*HANNA*, Rumania) y una vez por semana los niveles de amonio con un kit colorimétrico de aguas (*Aquamerck*, Alemania). Las dietas se ofrecieron al 6 % del peso corporal en dos raciones (9:00 y 15:30 h) durante 60 días. Cada 15 días se ajustaron las raciones y al final del bioensayo se realizó pesaje individual a todos los animales en balanza digital (*Sartorius*, Alemania) para el cálculo de los siguientes indicadores productivos:

Peso medio final.

Conversión alimentaria (FCA) = Alimento añadido/Ganancia peso.

Eficiencia proteica (EP) = Ganancia en peso/Proteína suministrada.

Supervivencia (S) = No. Animales finales/No. Animales iniciales x 100.

### Análisis estadístico

Se verificaron los supuestos de normalidad a partir de las dójimas de Shapiro & Wilk (1965) y homogeneidad de varian-

za de clasificación simple mediante el paquete estadístico INFOSTAT versión 2012 Di Rienzo *et al.* (2012). Cuando se encontraron diferencias ( $p < 0,05$ ), las medias se compararon por la dójima de rangos múltiples de Duncan (1955).

### Análisis económico

Se realizó según Toledo *et al.* (2015). Se calcularon los costos de las dietas a partir de los precios internacionales de las materias primas para agosto de 2020 (<http://www.indexmundi.com>) (Tabla 2), más el 45 % por conceptos de gastos adicionales (transportación, maquila y administrativos) para Cuba (Tabla 2). Estos valores se multiplicaron por las conversiones alimentarias para conocer los costos de alimentación; los cuales se consideraron el 60 % de los gastos totales de producción. El valor de la producción (US \$ 3 400,00/t) y de los ensilados se obtuvieron de los registros del Departamento de Economía de la EDTA.

Tabla 2. Precios internacionales de las materias primas que se utilizaron en la formulación de las raciones experimentales (US \$/t)

Materias primas	US \$
Harina de pescado	1 479,92
Harina de soya	384,55
Harina de trigo	198,42
Salvado de trigo	70,00
Aceite de soya	866,94
Fosfato dicálcico	423,10
Mezcla Vit.-mineral	1 975,11

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante el período experimental la temperatura y el oxígeno disuelto del agua de los recipientes oscilaron entre 25,7-26,9 °C y entre 5,1-6,0 mg/L, respectivamente. El nivel de amoníaco se mantuvo cercano a 0,01 mg/L, a través de la circulación de agua; los que se consideran de confort para el buen desempeño productivo de la especie (Toledo *et al.*, 2015).

Se observó el rápido consumo de ambas dietas con EP, lo que evidencia su buena aceptabilidad por los peces durante todo el bioensayo. Por el contrario, Llanes *et al.* (2017) ensilaron subproductos cárnicos con 1 % de ácido sulfúrico al 98 % (p/v) y los incorporaron en una ración extrusada para bagres

africanos y obtuvieron el mayor consumo de alimento y los mejores indicadores productivos con el pienso comercial, lo que atribuyeron a los altos niveles de grasa saturada de los subproductos cárnicos y a la acidez de la ración.

Es importante señalar que el valor de pH del ensilado con ácido sulfúrico al 98 % osciló entre 3,2-3,4 durante su almacenamiento; valores superiores a los obtenidos en ensilados cárnicos que presentaron pH de 1,81 (Portales *et al.*, 2015) y 2,06 (Llanes *et al.*, 2017) a los siete días de almacenados. Esto pudiera indicar que la concentración de escamas y espinas de los subproductos de tilapia contribuyen con el efecto buffer sobre la acidez del ensilado, que posteriormente se completa su neutralización con el carbonato de calcio para su incorporación a las dietas extrusadas.

No se encontraron diferencias en los indicadores de crecimiento y la conversión alimentaria ( $p < 0,05$ ) entre el control y las dietas de EP (Tabla 3). Estos resultados fueron mejores comparados con los alcanzados por Llanes & Parisi (2020), al lograr sustituir 15 % más de HP, con iguales dietas experimentales y los de Llanes *et al.* (2017) con ensilado cárnico en la misma especie. También, a los que reportaron Guzel *et al.* (2011), al sustituir 50 % de la HP por EP en truchas arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) y a los informados por Bringas *et al.* (2018), quienes solo lograron sustituir 9 % de harina de soya por la inclusión de 5 % de ensilado fermentado de subproductos de tilapias en bagres americanos (*Ictalurus punctatus*). Estas variaciones pueden ser posibles por los diferentes hábitos alimentarios de las especies, el material ensilado, los ingredientes y sus niveles de inclusión en las raciones, así como la calidad del agua.

Tabla 3. Comportamiento productivo de alevines de *Clarias gariepinus* al sustituir la harina de pescado por ensilados químicos de subproductos pesqueros

Indicadores	D-I Control	D-II EPS	D-III EPF	±EE	p
Peso final (g)	66,63 ± 3,51	66,27 ± 3,08	70,71 ± 3,44	-	0,652
Conversión alimentaria	1,18	1,18	1,15	0,01	0,316
Eficiencia proteica	2,34 <sup>a</sup>	3,09 <sup>b</sup>	3,18 <sup>b</sup>	0,13	0,001
Supervivencia (%)	100	100	96,66	0,78	0,125

a, b, fila con letras distintas indican diferencias para ( $p < 0,05$ ) según Duncan (1955).

Debe tenerse en cuenta además, que el bagre africano es una especie omnívora con tendencias carnívoras (Toledo *et al.*, 2015), pero se explota hace 20 años con una alimentación fundamentalmente a base de pienso vegetal; por lo que se pudiera predecir que a partir de las múltiples generaciones de descendientes haya una adaptación de su fisiología digestiva a la utilización más eficiente de este tipo de proteína que les permite ser más eficaz con la proteína de origen animal.

La eficiencia proteica fue mayor para las dietas con EP, debido que con menores niveles de proteína dietética se alcanzaron iguales ganancias de peso respecto al control. Esto se relaciona con una mayor disponibilidad de proteína parcialmente hidrolizada y energía. Además, la acidificación de los EP mejora la digestibilidad de los nutrientes y la disponibilidad de fósforo y, por ende, el crecimiento de los animales (Toledo & Llanes, 2013; Suárez *et al.*, 2018). También, se evidencia ahorro de proteínas por el aporte de aceite de los EP que proporcionan una menor relación proteína/energía respecto al control y no se desfavorecieron los indicadores productivos.

Bringas *et al.* (2018) caracterizaron los subproductos del fileteado de tilapias y encontraron todos los aminoácidos esenciales y particularmente adecuadas concentraciones de lisina (7,29 g/100 g de proteína) y metionina (3,99 g/100 g de proteína); que en formulaciones para peces hay que cuantificar por ser limitantes en la mayoría de los ingredientes proteicos (Abdo-de la Parra *et al.*, 2017), fundamentalmente en piensos vegetales. Además, los autores reportaron el perfil de ácidos grasos donde las mayores concentraciones fueron para ácido palmítico C16:0 (25,56 %), palmitoleico C16:1 (6,70 %), linoleico C18:2n-6 (34,31 %) y linoléico C18:3n-3 (11,51 %) y la proporción de ácidos grasos n-6/n-3 fue de 2,3 a 1, muy favorables en la nutrición de bagres africanos.

Raa & Gilberg (1982) informaron que los ensilados químicos presentan altos coeficientes de hidrólisis proteica debido a la actividad de enzimas digestivas, específicamente proteasas del propio pescado que aumentan las proteínas de bajo peso molecular. El aumento en el contenido de péptidos liberados y aminoácidos libres puede generar mayor potencial quimioattractante y consecuentemente incrementar

el estímulo nutritivo en peces carnívoros y omnívoros (Valenzuela & Morales, 2016).

Las supervivencias, fueron excelentes (mayor que 96,66 %), lo que indica que la inclusión de ensilados químicos de pescado en dietas extrusadas no promueve mortalidad en alevines y no influye de forma negativa en los indicadores productivos (Tabla 3).

Se corroboró que no hubo diferencias entre la utilización de los ácidos sulfúrico y fórmico, respecto a los indicadores de crecimiento y eficiencia alimentaria (Tabla 3). Por tanto, cualquiera de los dos se puede usar en la elaboración de EP para incorporarlos en dietas secas siempre que se neutralicen y verifique el pH antes de su incorporación a la ración.

Según la literatura que se consultó, los primeros EP para alimentar peces se elaboraron con ácidos minerales (sulfúrico y clorhídrico) y se obtuvieron buenos resultados, pero los silos no se encontraron protegidos de hongos *Aspergillus flavus*, productor de aflatoxinas capaces de crecer en la superficie lipídica de los EP (Raa & Gilberg, 1982). De ahí que, para retener el crecimiento bacteriano con ácidos minerales, el pH debe oscilar entre 2-3, por tanto, se necesitará de rigurosa neutralización para su incorporación a raciones secas.

Un trabajo reciente (Perea *et al.*, 2018) informaron que prefieren ácidos orgánicos, fundamentalmente el fórmico, porque aunque son más costosos el precio se contrarresta

por su poder antifúngico y por asegurar la conservación del producto por más tiempo y sin provocar descenso excesivo del pH (próximo a 4). Esto es cuestión importante en la fabricación de piensos extrusados.

En Cuba existen experiencias productivas de utilización de EP con ácido sulfúrico que tienen una conservación adecuada hasta 8-10 días de almacenamiento, los cuales sin previa neutralización se utilizan en la elaboración de raciones húmedas (40-50 % de materia seca) que suplen el 20-30 % de la alimentación diaria en bagres africanos con buenos resultados zootécnicos (Toledo *et al.*, 2013). Esto pudiera indicar que en dietas húmedas el porcentaje de agua presente en la ración diluye la concentración de acidez, lo que no ocurre en dietas extrusadas, donde la extrusión concentra la acidez de la ración.

El análisis económico (Tabla 4) mostró que las dietas con EP fueron menos costosas, por no incluir HP que tiene el costo más alto de todos los insumos proteicos (Tabla 2). De igual forma, los costos de alimentación y gastos totales de producción fueron menores con EP, debido al menor costo de las dietas y las similares conversiones alimentarias respecto al pienso comercial. Por tanto, proporcionaron las mayores utilidades y ahorros en la producción de una tonelada de pescado entero. Por su parte, Llanes & Parisi (2020) tuvieron menos ahorros con iguales dietas (\$ US 557,65 y 367,35), debido a que el pienso comercial tuvo 10 % de HP.

Tabla 4. Análisis económico de la producción de *Clarias gariepinus* con las dietas experimentales (US \$/t)

Indicador	D-I Control	D-II EPS	D-III EPF
Costo de la ración	869,78	440,23	506,06
Costo de alimentación	1 026,34	519,47	581,97
Gasto total de producción	1 710,56	865,78	969,95
Utilidades	1 689,44	2 534,22	2 430,05
Ahorro	-	844,78	740,61

Valor de producción: \$ US 3 400,00/t de pescado entero.

Utilidades = Valor de producción – Gasto total.

En cuanto a los EP, la utilización del ácido sulfúrico al 98 % fue la más económica por producirse en el país, mientras el ácido fórmico es un insumo importado. Así, el costo del procesamiento de estos subproductos por técnicas de ensilaje

con ácido sulfúrico al 98 % fue de US \$ 0,362/kg de materia seca (MS), mientras que con fórmico fue de US \$ 0,816/kg de MS. Estos montos pueden variar en dependencia del precio de los ácidos y los subproductos pesqueros, pero la tenden-

cia es a ser menores, en comparación con el uso de la HP (US \$ 1,47/kg).

Se evidenció que el reemplazo de la HP por EP en la formulación de alimentos acuícolas repercute en la reducción de los costos de alimentación y en la obtención de mayores utilidades, lo que coincide con estudios anteriores de Guzel *et al.* (2011), Perea *et al.* (2018) y Llanes & Parisi (2020). La HP es el ingrediente proteico clave en alimentos acuícolas por su alto valor nutritivo, pero su alto precio no sustenta el desarrollo de una piscicultura intensiva para especies de agua dulce de bajo valor comercial. Además, su producción en el país no se justifica por la poca disponibilidad de subproductos pesqueros. De ahí, que una alternativa es EP que se elabora con igual materia prima, aunado a la calidad y digestibilidad de su proteína (Valenzuela & Morales, 2016).

## CONCLUSIONES

Los ensilados químicos de subproductos pesqueros reemplazaron alto porcentaje de harina de pescado en dietas extrusadas para alevines de *Clarias gariepinus*, con un efecto económico positivo, al disminuir la importación de harina de pescado.

## AGRADECIMIENTO

Al Centro Nacional de Producción de Animales de Laboratorios (CENPALAB) por el apoyo brindado en la adquisición de las materias primas para la elaboración de las dietas experimentales.

## REFERENCIAS

- Abdo-de la Parra, M. I., Rodríguez, G. A., Rodríguez, L. E., Domínguez, P., Román, J. C., Velasco G. & Ibarra, L. (2017). Composición proximal y perfil de aminoácidos de estadios tempranos del pargo flamenco *Lutjanus guttatus*. *Rev. Biol. Mar. Oceanogr.*, 52(2), 325-332. DOI: <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-19572017000200011>.
- Bringas, L., Zamorano, A., Rojo, J., González, M. L., Pérez, M., Cárdenas, J. L. & Navarro, G. (2018). Evaluación del ensilado fermentado de subproductos de tilapias y su utilización como ingrediente en dietas para bagre del canal. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*, XX (2), 85-94. DOI: <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v20i2.604>. Disponible: <http://biotecnia.unison.mx> [Consultado: marzo 23, 2019].
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., González, L., Tablada, M. & Robledo, C. W. (2012). Infostat versión 2012. Grupo Infostat. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Disponible: <http://www.infostat.com.ar> [Consultado: octubre 9, 2013].
- Duncan, D. B. (1955). Multiple Range and Multiple F Tests. *Biometrics*, 11(1), 1. ISSN: 0006-341X. DOI: 10.2307/3001478.
- Guzel, S., Yaslak, H., Gullu, K. & Ozturk, E. (2011). The effect of feed made from fish processing waste silage on the growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *African Journal of Biotechnology*, 10(25), 5053-5059. DOI: 10.5897/AJB11.367. Disponible online en: <http://www.academic-journals.org/AJB>
- Latimer, G. W. (2016). *Official methods of analysis of AOAC International* (20<sup>th</sup> ed.), Rockville, MD: AOAC International. ISBN: 978-0-935584-87-5. Disponible: <http://www.direct-textbook.com/isbn/9780935584875> [Consultado: septiembre 22, 2016].
- Levene, H. (1960). Robust tests for the equality of variance. In: I Olkin, *Contributions to Probability and Statistics: Essays in Honor of Harold Hotelling*, Stanford University Press, pp. 278. ISBN: 978-0-8047-0596-7.
- Llanes, J. E., Toledo, J., Portales, A. & Sarduy, L. (2017). Partial replacement of fishmeal by meat silage in extruded diets for *Clarias gariepinus*. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 51 (1), 1-7. ISSN: 0034-7485.
- Llanes, J. E. & Parisi, G. (2020). Evaluación de dos ensilados de subproductos pesqueros elaborados con ácidos sulfúrico y fórmico en dietas extrusadas para *Clarias gariepinus*. *Revista Cubana de Investigaciones Pesqueras*, 37(2). En prensa. ISSN 0138-8452.
- Perea, C., Garcés, Y. J., Muñoz, L. S. Hoyos, J. L. & Gómez, J. A. (2018). Valoración económica del uso de ensilaje de residuos piscícolas en la alimentación de *Oreochromis* spp. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 16(1), 43-51. DOI: <http://dx.doi.org/10.18684/bsaa.v16n1.623>. [Consultado: febrero 22, 2019].
- Portales, A., Llanes, J. E. & Toledo, J. (2015). Caracterización del ensilado químico de subproductos cárnicos para peces. *Revista Cubana de Investigaciones Pesqueras*, 32(1), 36-39.
- Raa, J. & Gildberg, A. (1982). Fish Silage: A review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 16(4), 383-419.
- Shapiro, S. S. & Wilk, M. B. (1965). An Analysis of Variance Test for Normality (Complete Samples). *Biometrika*, 52(3/4), 591. ISSN: 0006-3444, DOI: 10.2307/2333709.
- Suárez, L., Montes, J. & Zapata, J. (2018). Optimización del contenido de ácidos en ensilados de vísceras de Tilapia Roja (*Oreochromis* spp.) con análisis del ciclo de vida

- de los alimentos derivados. *Información Tecnológica*, 29(6), 83-94. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642018000600083>. [Consultado: noviembre 6, 2018].
- Toledo, J. & Llanes, J. (2013). Alternativas para la alimentación de organismos acuáticos. Experiencias con agregados de ensilado realizadas en Cuba. En: G. Depello, E. Witchiinsky y G. Wicki (Eds.), *Nutrición y alimentación para la acuicultura de recursos limitados* (pp. 57-79). Secretaria de Agricultura, Ganadería y Pesca. Buenos Aires. Argentina.
- Toledo J., Llanes J. & Romero, C. (2015). Nutrición y alimentación de peces de aguas cálidas. *AcuaCUBA*, 17(1), 5-29.
- Valenzuela, C. & Morales, M. S. (2016). Ensilado de pescado seco: una alternativa tentadora para alimentación animal. *Salmon expert*, 41, 55-58. DOI: <https://www.researchgate.net/publication/313251381>. [Consultado: enero 14, 2019].