

# SUSTITUCIÓN PARCIAL DE HARINA DE SARDINA CON *Moringa oleifera* EN ALIMENTOS BALANCEADOS PARA JUVENILES DE TILAPIA (*Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis niloticus*) CULTIVADA EN AGUA DE MAR

ASSESSMENT OF DIETS CONTAINING *Moringa oleifera* MEAL FOR JUVENILE TILAPIA (*Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis niloticus*) REARED IN SEAWATER

**Martha Elisa Rivas-Vega\***, Jorge Luis López-Pereira, Anselmo Miranda-Baeza y María Idalia Sandoval-Muy

Centro de Estudios Superiores del Estado de Sonora, Carretera a Huatabampo y Periférico Sur, Navojoa, Sonora, México. Tel/Fax: (52) 6424214576.

## RESUMEN

El incremento en la demanda de pescado para consumo humano ha ocasionado que los cultivos se intensifiquen y la demanda de alimentos balanceados para acuicultura se incrementa. La moringa (*Moringa oleifera*) representa una alternativa como ingrediente para sustituir parcialmente la harina de pescado en alimentos balanceados para tilapia, debido a su contenido de proteína y carbohidratos, pero no ha sido evaluado para tilapia cultivada en agua de mar. En el presente trabajo se muestran los resultados de la inclusión de harina de moringa en el crecimiento de tilapia (*O. mossambicus* x *O. niloticus*) cultivada en agua de mar y su digestibilidad in vivo. En el alimento balanceado, se incluyó harina de hoja de *M. oleifera*, sustituyendo 0, 10, 20 y 30 % de la proteína de la harina de sardina, los resultados sugieren que este ingrediente puede sustituir hasta en un 20% a la proteína de la harina de sardina, sin afectar el crecimiento de la tilapia. La digestibilidad de la proteína de la harina de moringa fue de 89 %. Se concluye que la harina de moringa puede ser incluida en el alimento sustituyendo parcialmente a la harina de sardina sin afectar el crecimiento de juveniles de tilapia roja.

**PALABRAS CLAVE:** *Moringa oleifera*, tilapia, agua de mar, proteína, digestibilidad.

\*Autor para correspondencia: Martha Elisa Rivas-Vega  
Correo electrónico: martha.rivas@cesues.edu.mx

Recibido: 28 de marzo de 2012

Aceptado: 28 de mayo de 2012

## ABSTRACT

The increase of fish demand for human consumption has caused that the cultures become more intensive and demand for aquaculture feed increases. The moringa (*Moringa oleifera*) is an important crop; it represents an alternative as an ingredient for fish balanced diet, moringa is a source of proteins and carbohydrates, however, its potential use in fish feeding has not been explored. Four diets were formulated. The moringa-meal inclusion was: 0, 10, 20 and 30 %. The diets were used to perform a growth trial and protein digestibility was determinate. The results suggest that this ingredient can substitute even in 20 % the protein of the sardine meal, without affecting the growth, survival and feed conversion ratio of juvenile tilapia. The digestibility of the protein of moringa was 89 %. In agreement to the obtained results it is suggested that moringa meal can be included in the juvenile tilapia (*O. mossambicus* x *O. niloticus*) diet, substituting partially the sardine meal.

**KEYWORDS:** *Moringa oleifera*, tilapia, sea water, protein, digestibility.

## INTRODUCCIÓN

La producción mundial de peces dulceacuícolas en el 2008 fue de 28,8 millones de t (54,7 % de la producción acuícola total), incluyendo la producción de tilapia (FAO, 2010). La capacidad de la tilapia de utilizar los nutrientes de diversas fuentes y de adaptarse a diferentes salinidades, además de la creciente demanda en mercados internacionales, la convierten en una especie de interés para la acuicultura.

La harina de pescado es la fuente proteica tradicionalmente usada en la elaboración de alimento balanceado para acuicultura, sin embargo, la identificación y uso de fuentes proteicas no convencionales para sustituirla, es un área de investigación en crecimiento en el campo de la nutrición acuícola. El desarrollo de estas investigaciones se hace necesario debido al aumento de los costos y la incierta disponibilidad de la harina de pescado y otros ingredientes tradicionalmente usados en la elaboración de alimentos balanceados para acuicultura (Fontainhas-Fernandes et al., 1999).

Se han evaluado fuentes de proteína no convencionales, principalmente de origen vegetal tales como semillas, hojas y subproductos agrícolas en el alimento para tilapia (El-Sayed 2006, Oliveira-Novoa et al., 2003). Moringa oleifera es un árbol que pertenece a la familia Moringaceae, es de rápido crecimiento, tolerante al calor y a las sequías. Las semillas presentan un alto contenido de lípidos y de proteínas (Olson y Fahey, 2011). Las hojas han sido ampliamente usadas para alimentación humana y animal con buenos resultados (Afuang et al., 2003; Richter et al., 2003), sin embargo, no se ha investigado su efecto en el alimento de tilapia cultivada en agua de mar.

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de diferentes niveles de inclusión de Moringa oleifera en el alimento sobre el crecimiento de juveniles de tilapia roja (*Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis niloticus*) cultivada en agua de

mar y determinar la digestibilidad de la harina de moringa.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Preparación de la Harina de Hojas de Moringa oleifera

Se recolectaron hojas de árboles de moringa (*Moringa oleifera*) en el campo experimental del Centro de Bachillerato Tecnológico Agropecuario (CBTA) 97, ubicado en Basconcoche, Etchojoa, Sonora, México (26° 57'31"N 109° 40'13"W). Se separaron las hojas, se lavaron con agua destilada y se secaron durante 24 h a 45 °C, en una estufa de convección de aire marca ShellLab (Sheldon Manufacturing, Inc. Cornelius, OR, USA), posteriormente las hojas se molieron en un molino Cyclotec y se tamizaron a 250 µm para producir la harina de moringa, la cual fue analizada en su composición proximal con los métodos de la AOAC (1990).

### Formulación y Elaboración de Alimentos

Se formularon seis alimentos experimentales isoproteicos (35 % de proteína) e isoenergéticos (17 kJ/g), que fueron: 1) cuatro alimentos para el ensayo de crecimiento, un alimento control con harina de sardina como fuente principal de proteína, y tres alimentos donde el 10, 20 y 30 % de la proteína de sardina fue reemplazada con proteína de moringa (Tabla 1); 2) dos alimentos de digestibilidad que fueron un alimento control con 35% de proteína, y otro donde se incorporó el 30% de moringa para evaluar la digestibilidad de la harina, en los cuales se adicionó el 1 % de óxido crómico (Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) como marcador inerte de digestibilidad (Tabla 2). Los alimentos se formularon utilizando el software Nutrion 5 PRO<sup>MR</sup>.

**Tabla 1.** Composición de ingredientes (g/kg) y composición química proximal (g/100g de materia seca) de los alimentos para juveniles de tilapia, usados para el experimento de crecimiento**Table 1.** Ingredient composition (g/kg) and chemical composition (g/100g dry mass) of the diets for juvenile tilapia used to growth trial

Alimento Ingrediente	Sustitución de proteína de harina de sardina			
	Control	10%	20%	30%
Harina de sardina <sup>a</sup>	260,0	234,0	208,0	182,0
Pasta de soya <sup>b</sup>	199,6	200,0	200,0	200,0
Harina integral de trigo <sup>b</sup>	464,1	381,0	297,5	213,9
Harina de moringa	0,0	108,6	218,2	327,7
Aceite de sardina <sup>a</sup>	25,2	25,2	25,2	25,2
Alginato de sodio <sup>d</sup>	20,0	20,0	20,0	20,0
Lecitina de soya <sup>k</sup>	10,0	10,0	10,0	10,0
Premezclade vitaminas <sup>e</sup>	8,0	8,0	8,0	8,0
Fosfato dibásico de sodio <sup>g</sup>	5,0	5,0	5,0	5,0
Premezclade minerales <sup>f</sup>	5,0	5,0	5,0	5,0
Cloruro de colina <sup>i</sup>	2,0	2,0	2,0	2,0
Vitamina C <sup>h</sup>	1,0	1,0	1,0	1,0
BHT <sup>l</sup>	0,1	0,1	0,1	0,1
<b>Composición química proximal</b>				
Proteína	35,0	35,0	35,0	35,0
Extracto etéreo	5,0	5,3	5,7	6,0
Fibra	4,8	5,2	5,8	6,3
Cenizas	2,9	4,0	5,2	6,3
ELN	39,4	38,7	37,7	36,6
Energía (kJ/g)	17,1	17,1	17,1	17,1

<sup>a</sup> Industrias Barda, Yavaros, Sonora, México<sup>b</sup> Alimentos Colpac S.A. de C.V., Navojoa, Sonora, México<sup>d</sup> Química Meyer Cat. Num. 6780. México, D.F.<sup>e</sup> Composición de la premezcla de vitaminas (g/kg premezcla): Acetato de Vitamina A (20,000 UI/g) 5; Vitamina D<sub>3</sub> (850,000 UI/g) 0.001; Acetato de dl-alfa-tocoferol (250 UI/g) 12; Menadiona 2.4; Tiamina-HCl 2.5; Riboflavina (B<sub>2</sub>) 5; Piridoxina-HCl (B<sub>6</sub>) 4; DL Pantotenato de calcio 0.012; Ácido Nicotínico 0.024; Biotina 0.048; Inositol 0.4; Vitamina B<sub>12</sub> 4.8; Ácido Fólico 1.2; Celulosa 962.62.<sup>f</sup> Composición de la premezcla de minerales (g/kg 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.<sup>g</sup> SIGMA Cat. Num. C1879. SIGMA-ALDRICH Chemical Company, St. Louis, MO, USA<sup>h</sup> Stay C 35% agente activo. Roche, México, D.F.<sup>i</sup> SIGMA Cat No. S-0876. SIGMA-ALDRICH Chemical Company, St. Louis, MO, USA.<sup>k</sup> ODONAJI, Distribuidora de Alimentos Naturales y Nutricionales S.A. de C.V. México, D.F.<sup>l</sup> HydroxytoluenoButilado, ICN Cat. No.101162. Aurora, Ohio, USA

**Tabla 2.** Composición de ingredientes de alimentos (g/kg) para determinar digestibilidad *in vivo* de harina de hojas de *M.oleifera* para tilapia cultivada en agua de mar

Ingrediente	Control	30 % moringa
Harina de sardina	257,4	179,4
Pasta de soya	197,6	137,7
Harina integral de trigo	459,4	320,2
Harina de Moringa	0,0	300,0
Aceite de sardina	25,0	17,4
Alginato de sodio	19,8	13,8
Lecitina de soya	9,9	6,9
Premezclade vitaminas	7,9	5,5
Fosfato dibásico de sodio	4,9	3,5
Premezcla deminerales	4,9	3,5
Cloruro de colina	1,9	1,4
Vitamina C	0,9	0,7
Butilhidroxitolueno	0,1	0,1
Óxido de cromo	10,0	10,0

Para la elaboración de los alimentos, los ingredientes sólidos se molieron finamente en un pulverizador Cyclotec, y se tamizaron a 250  $\mu\text{m}$ , después se mezclaron adicionando primero los ingredientes secos, posteriormente se adicionó una emulsión de aceite-lecitina, después se agregó agua, para finalmente pasar la pasta resultante a través de un molino de carne, se obtuvo un alimento de 5 mm de diámetro, los cuales se cortaron manualmente y se secaron a 40 °C, durante 12 h en una estufa de convección de aire. Los alimentos fueron elaborados en el Laboratorio de Nutrición del Centro de Estudios Superiores del Estado de Sonora (CESUES), Unidad Académica Navojoa, Sonora, México.

### Aclimatación de los Organismos Experimentales en Agua Salada

Los organismos experimentales de tilapia *O. mossambicus* x *O. niloticus*, con peso promedio

de 5g se mantuvieron durante 15 días en agua dulce, durante este tiempo se les proporcionó un alimento comercial para tilapia API Tilapia 1, con 40 % de proteína y 7 % de lípidos, la ración alimenticia fue del 5 % de la biomasa de los peces, distribuida en tres raciones al día. Después de este periodo, los organismos fueron aclimatados al agua salada de manera gradual, aumentando diariamente la salinidad en 10 unidades prácticas de salinidad (ups), hasta llegar a 33 ups (Martínez, 2003).

### Bioensayo de Crecimiento de Juveniles de tilapia Alimentada con Diferentes Niveles de Harina de Hojas de Moringa oleifera.

La densidad utilizada fue de 100 organismos/ $\text{m}^3$  distribuidos aleatoriamente en acuarios de 60 L, con peso promedio inicial de  $8,0 \pm 0,0\text{g}$ . Los tratamientos se asignaron aleatoriamente a los acuarios, utilizando tres acuarios por tratamiento. Al inicio del bioensayo, el alimento se suministró a razón del 10 % de la biomasa, posteriormente, la cantidad de alimento se ajustó diariamente en base al alimento residual, el cual se suministró dos veces al día. Se realizaron cinco biometrías durante el experimento, en intervalos de 15 días entre una y otra. Los criterios para evaluar los diferentes tratamientos fueron: ganancia en peso, supervivencia, tasa relativa de crecimiento, factor de conversión alimenticia y eficiencia proteica.

### Bioensayo de Digestibilidad *in vivo* de la Harina de Hojas de Moringa oleifera para *O. mossambicus* x *O. niloticus*.

Para el bioensayo de digestibilidad se utilizaron juveniles de tilapia roja (*O. mossambicus* x *O. niloticus*), con un peso promedio de  $13,9 \pm 0,7\text{g}$ , distribuyéndose aleatoriamente a una densidad de 100 organismos/ $\text{m}^3$  por acuario (60 L) y 6 acuarios por tratamiento. Durante el experimento se mantuvieron las siguientes condiciones: 27°C, 35 ups y 5 mg/L de oxígeno disuelto. Los organismos se alimentaron durante 7 días con los dos alimen-

tos experimentales (un alimento control y uno con 30% de harina de moringa), antes de iniciar la colecta de heces, la cual se llevó a cabo por sifoneo, después de una hora de alimentar. Las heces se colectaron tres veces al día, se lavaron con agua destilada y se congelaron a -20 °C hasta su análisis. Al final del bioensayo las heces se liofilizaron, utilizando una liofilizadora TELSTAR (Modelo Lyoquest-55) y se les determinó el contenido de óxido de cromo (Olvera-Novoa, 1994) y proteínas (AOAC, 1990).

La digestibilidad aparente de la materia seca se determinó como:

$$CDA_{MS} (\%) = 100 - \left[ \left( \frac{\%Cr_2O_3 \text{ en alimento}}{\%Cr_2O_3 \text{ en heces}} \right) * 100 \right]$$

La digestibilidad aparente de la proteína se determinó como (Cho *et al.*, 1982).

$$CDA_{proteína} (\%) = 100 - 100 \left[ \left( \frac{\%Cr_2O_3 \text{ en alimento}}{\%Cr_2O_3 \text{ en heces}} \right) * \left( \frac{\% \text{ Nutriente en heces}}{\% \text{ Nutriente en alimento}} \right) \right]$$

El Coeficiente de Digestibilidad Aparente de los Ingredientes (CDAI) fue calculado basado en el porcentaje de sustitución del ingrediente probado (Forster, 1999) usando la siguiente ecuación:

$$CDAI \text{ de nutrientes } (\%) = \frac{(a + b) * CAD \text{ nutriente en alimento de prueba} - a * CAD \text{ nutriente en alimento de referencia}}{b}$$

Donde:

a = Contribución del nutriente del alimento de referencia al contenido de nutriente del alimento de prueba = (nivel de nutriente en el alimento de referencia)\*(100-i).

b = Contribución de nutriente del ingrediente probado al contenido de nutriente del alimento de prueba = (nivel de nutriente en el ingrediente probado)\*i.

i = Nivel de ingrediente probado en el alimento de prueba.

## Análisis de Datos

Se realizaron pruebas de homocedasticidad y normalidad de los datos para determinar el uso de métodos paramétricos o no paramétricos (Zar, 1999; Sokal y Rohlf, 2000). Los resultados de crecimiento y digestibilidad obtenidos se analizaron utilizando un análisis de varianza de una vía paramétrico y una prueba de comparación de medias de Tukey con un valor de  $\alpha = 0,05$ , cuando existieron diferencias significativas entre los tratamientos (Zar, 1999). Los análisis se realizaron utilizando el software STATISTICA<sup>MR</sup> 5,0.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La harina de hojas de moringa (*M. oleifera*) tuvo un contenido de proteína y extracto etéreo de 290 g/kg y 40 g/kg, respectivamente, lo que permitió sustituir a la proteína de la harina de sardina en un 10, 20 y 30 %. El peso final de las tilapias disminuyó conforme se aumentó el nivel de inclusión de moringa en los alimentos experimentales, y se encontraron diferencias significativas entre el alimento control y con 30 % de moringa ( $P < 0,05$ ; Tabla 3). Los diferentes niveles de inclusión de moringa en el alimento no afectaron a la supervivencia de las tilapias en los diferentes tratamientos ( $P > 0,05$ ; Tabla 3). Nguyen *et al.* (2009) sustituyeron totalmente la harina de pescado con pasta de soya y harina de algodón, sin encontrar diferencias significativas en el crecimiento de tilapia nilótica ( $4,78 \pm 0,07$  g de peso inicial), además probaron el enriquecimiento con metionina (0,6 g/kg de alimento), sin encontrar un efecto significativo en el crecimiento de la tilapia, en el presente trabajo se formularon los alimentos balanceados manteniendo el nivel de proteína recomendado para tilapia (35g/kg de alimento), así como el contenido teórico de aminoácidos esenciales recomendados para tilapia (NRC, 1993), por lo que el efecto en el crecimiento no puede ser atribuido a una deficiencia en el contenido de aminoácidos esenciales.

Afuang *et al.* (2003) encontraron que la ha-

**Tabla 3.** Parámetros zootécnicos de crecimiento de juveniles de tilapia roja alimentadas con dietas con diferente nivel de inclusión de *M. oleifera*

**Table 3.** Final weight, survival and feed conversion ratio of juvenile tilapia fed with diets containing *M. oleifera* meal

Tratamiento	Peso inicial (g)	Peso final (g)	FCA <sup>1</sup>	Alimento consumido (g/día)	Supervivencia (%)
Control	8,0 <sup>a</sup> ±0,0	26,3 <sup>a</sup> ±3,6	2,8 <sup>a</sup> ±0,8	3.8±0.7	93 <sup>a</sup> ±11
10	8,0 <sup>a</sup> ±0,0	25,8 <sup>ab</sup> ±1,7	2,8 <sup>a</sup> ±0,4	4.2±0.9	93 <sup>a</sup> ±11
20	7,9 <sup>a</sup> ±0,0	22,0 <sup>ab</sup> ±1,8	3,4 <sup>ab</sup> ±0,5	4.60±.3	93 <sup>a</sup> ±11
30	8,2 <sup>a</sup> ±0,0	21,2 <sup>b</sup> ±3,2	3,9 <sup>b</sup> ±1,2	3.7±0.2	100 <sup>a</sup> ±0

<sup>1</sup> Factor de Conversión Alimenticia.

Letras diferentes sobre las columnas indican diferencias significativas entre los tratamientos  $P < 0,05$

rina de hojas de moringa extraídas con metanol puede incluirse en el alimento para tilapia nilótica hasta en un 22 % sin afectar el crecimiento.

Richter et al. (2003) evaluaron la harina de hojas de moringa en tilapia nilótica, encontrando que una sustitución mayor del 10% de la proteína de la harina de pescado, afecta significativamente su crecimiento, este efecto fue atribuido a su alto contenido de saponinas, ya que la moringa no fue sometida a ningún proceso para disminuir el contenido de factores antinutricionales. En el presente trabajo no se evaluó el contenido de saponinas de la harina de hojas de moringa, sin embargo se observa que a pesar de que la harina evaluada no fue sometida a un proceso para disminuir los niveles de anti nutrientes, el nivel de inclusión en el alimento de *O. mossambicus* x *O. niloticus* fue de 20 %, y es mayor que para la tilapia nilótica.

Bijina et al. (2011) encontraron que las hojas de moringa contienen inhibidores de proteasas, que inhiben efectivamente la actividad in vitro una gran variedad de enzimas del tipo serín proteasas con actividad tipo tripsina y tipo quimotrip-

sina. La digestión de las proteínas en el intestino de la tilapia está determinada básicamente por la hidrólisis de las serín proteasas, específicamente las del tipo tripsina en el intestino (Uscanga et al., 2010; Wang et al., 2010).

En el presente estudio se evaluó la actividad del inhibidor de tripsina en la harina de hojas de moringa, encontrándose una actividad de 0,001 unidades de tripsina inhibida (UTI) por mg de muestra, esta actividad se considera muy baja si se compara con otros ingredientes vegetales utilizados para la elaboración de alimentos balanceados como la soya (105,5 UTI/mg) cuando no ha sido procesada térmicamente y para el frijol común *Phaseolus vulgaris* (10,9 UTI/mg) (Kakade et al., 1974; Dhurandhar y Chang, 1990). Francis et al. (2001) mencionan que la presencia de factores antinutricionales puede ser variable dependiendo de la fuente y el procesamiento de los ingredientes, en el caso de la moringa procesada bajo las condiciones establecidas en el presente estudio, la actividad del inhibidor de tripsina es poco considerable.

La digestibilidad de la harina de hojas de moringa para tilapia no ha sido evaluada para tilapia, en el presente estudio se determinó que la digestibilidad de la proteína de este ingrediente fue de  $89,1 \pm 2,9$  % en juveniles de tilapia roja (*O. mossambicus* x *O. niloticus*). La digestibilidad de los ingredientes vegetales evaluados para tilapia nilótica ha sido variable, Garduño-Lugo y Olvera Novoa (2008) encontraron que la proteína de las hojas de cacahuate para *O. niloticus* presentó entre 80 y 83 % de digestibilidad; El-Shafai et al. (2004) encontraron que la digestibilidad de la proteína de la harina de lenteja de agua fue de 79%, mientras que El-Saidyy Saad (2008) estimaron que la digestibilidad de la proteína de harina de frijol yorimón (*Vigna unguiculata*) fue de 68%. La digestibilidad de la proteína de moringa determinada en el presente trabajo es menor con respecto a la digestibilidad de la proteína de la pasta de soya,

la cual en algunos estudios, se ha reportado hasta de 94,8 % (Reigh *et al.*, 1990; Hossain *et al.*, 1992; Nengas *et al.*, 1995; Sullivan y Reigh, 1995), esta diferencia se puede atribuir a múltiples aspectos como: que la pasta de soya ha sido sometida a un proceso de extracción de aceite, lo que ocasiona que la digestibilidad de la proteína se incremente, por la inactivación de inhibidores de proteasas, o bien por el procesamiento térmico que se aplica durante el proceso de fabricación de las pastas o harinas, el cual puede causar mayor disponibilidad de nutrientes, por mencionar algunos (Francis *et al.*, 2001).

## CONCLUSIONES

La harina de hojas de moringa puede sustituir hasta un 20 % a la proteína de la harina de sardina, sin afectar significativamente el crecimiento, factor de conversión alimenticia y supervivencia de juveniles de tilapia cultivada en agua de mar. La proteína de la moringa es altamente digerible al incorporarse en dietas balanceadas para juveniles de tilapia roja cultivada en agua de mar, por lo tanto la harina de moringa puede ser considerada como un ingrediente potencial para la tilapia roja, sin embargo, se requieren estudios adicionales que disminuyan o inactiven los compuestos antinutricionales reportados para *Moringa oleifera*.

## REFERENCIAS

- Afuang, W., Siddhuraju, P., y Becker, K. 2003. Comparative nutritional evaluation of raw, methanol extracted residues and methanol extracts of moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves on growth performance and feed utilization in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Aquaculture Research*. 34: 1147-1159.
- AOAC. 1990. *Official Methods of Analysis*. 15th Ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C. 1094 pp.
- Bijina, B., Chellappan, S., Basheer, S.M., Elyas, K.K., Bahkali, A.H. y Chandrasekaran, M. 2011. Protease inhibitor from *Moringa oleifera* leaves: Isolation, purification, and characterization. *Process Biochemistry*. 46: 2291-2300.
- Cho, C.Y., Slinger S.J. y Bayley, H.S. 1982. Bioenergetics of salmonid fishes: energy intake, expenditure and productivity. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 73B: 24-41.
- Dhurandhar, N.V. y Chang, K.C. 1990. Effect of cooking on firmness, trypsin inhibitors, lectins and cystine/cysteine content of navy and red kidney beans (*Phaseolus vulgaris*). *Journal of food science*. 55:470-474.
- El-Saidy, D.M.S.D. y Saad, A.S. 2008. Evaluation of Cow Pea Seed Meal, *Vignasinensis*, as a Dietary Protein Replacer for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), Fingerlings. *Journal Of The World Aquaculture Society* . 39:636-645.
- El-Sayed, A.M. 2006. *Tilapia culture*. CAB International, Wallingford, Oxfordshire, UK. 277.
- El-Shafai, S.A., El-Gohary, F.A., Verreth, J.A.J., Schrama, J.W. y Gijzen, H.J. 2004. Apparent digestibility coefficient of duckweed (*Lemna minor*), fresh and dry for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Aquaculture Research*. 35: 574-586.
- FAO. 2010. *El Estado mundial de la pesca y la acuicultura*. Italia – Roma. <http://www.fao.org/docrep/007/y5600s/y5600s00.htm>.
- Francis, G., Makkar, H.P.S. y Becker, K. 2001. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*. 199:197-227.
- Fontainhas-Fernandes, A., Gomes, E., Reis Henriques, M. A., Coimbra, J. 1999. Replacement of fish meal by plant proteins in the diet of Nile tilapia: digestibility and growth performance. *Aquaculture International* 7: 57-67.
- Forster, I. 1999. A note on the method of calculating digestibility coefficients of nutrients provided by single ingredients to feeds of aquatic animals. *Aquaculture Nutrition*. 5: 143-145.
- Garduño-Lugo, M. y Olvera-Novoa, M.A. 2008. Potential of the use of peanut (*Arachis hypogaea*) leaf meal as a partial replacement for fish meal in diets for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) *Aquaculture Research*, 2008, 39, 1299-1306.

- Hossain M.A., Nahar N., Kamal M. y Islam M.N. 1992 Nutrient digestibility coefficients of some plant and animal proteins for Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Aquaculture in the Tropics*. 7:257-266.
- Kakade, M.L., Rackis, J.J., McGhee, J.E. y Poski, G. 1974. Determination of trypsin inhibitor activity in soy products. A collaborative analysis of improved procedure. *Cereal Chemistry*. 51:376.
- Martínez, C.T.M. 2003. Adaptación y crecimiento de las tilapias *Oreochromis niloticus*, *Oreochromis aureus*, *Oreochromis mossambicus* x *Oreochromis niloticus* en agua salada. Tesis de doctorado. Universidad de Colima, Posgrado Interinstitucional en Ciencias Pecuarias. 82 pp.
- NRC. 1993. *Nutrient Requirements of Fish*. National Academy Press, Washington, D.C.
- Nengas I., Alexis M.N., Davies S.J. y Petrichakis G. 1995. Investigation to determine digestibility coefficients of various raw materials in diets for gilthead sea bream, *Sparus aurata* L. *Aquaculture Research*. 26:185-194.
- Nguyen, T.N., Davis, D.A., y Saoud, I.P. 2009. Evaluation of alternative protein sources to replace fish meal in practical diets for juvenile tilapia, *Oreochromis* spp. *Journal of the World Aquaculture Society*. 40:113-121.
- Olson, M.E. y Fahey, J.W. 2011. Moringa oleifera: un árbol multiusos para las zonas tropicales secas. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 82:1071-1082.
- Reigh, R.C., Braden, S.L. y Craig, R.G. 1990. Apparent digestibility coefficients for common feed stuffs in formulated diets for red swamp crayfish, *Procambarus clarkii*. *Aquaculture*. 84:321-334.
- Richter, N., Siddhuraju, P. y Becker, K. 2003. Evaluation of nutritional quality of Moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves as alternative protein source for tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Aquaculture*. 217: 599-611.
- Sokal, R. y Rohlf, F. 2000. *Biometry*. 3rd Ed. Freeman. San Francisco, USA.
- Sullivan, J.A. y Reigh, R.C. 1995. Apparent digestibility of selected feed stuffs in diets for hybrid striped bass (*Morone saxatilis* x *Morone chrysops*). *Aquaculture*. 138: 313-322.
- Uscanga, A., Moyano, F.J. y Alvarez, C.A. 2010. Assessment of enzymatic efficiency on protein digestion in the tilapia *Oreochromis niloticus*. *Fish Physiology and Biochemistry*. 36: 1079-1085.
- Wang, Q., Gao, Z.X., Zhang, N., Shi, Y., Xie, X.L. y Chen, Q.X. 2010. Purification and Characterization of Trypsin from the Intestine of Hybrid Tilapia (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58:655-659.
- Zar, J.H. 1999. *Biostatistical analysis*. Prentice-Hall. New Jersey. USA.