

Efecto del enriquecimiento de alimento vivo en el perfil aminoacídico y lipídico de rotífero (*Brachionus plicatilis*)

Effect of live food enrichment on the amino acid and lipid profile of rotifers (*Brachionus plicatilis*)

¹Edgar A. Lopez-Lucero, ¹Mario A. Galaviz, ²Julio C. Segovia, ¹Rosario Jara-Montañez, ¹Fernando Barreto-Curiel*

¹Universidad autónoma de Baja California; Facultad de Ciencias Marinas

²Calle b No. 4615, colonia cactus harinera, La Paz, Baja California.

*Autor de correspondencia:
fbarreto8@uabc.edu.mx

Recibido: Septiembre 10 de 2022

Aceptado: Noviembre 30 de 2022

Resumen

El alimento vivo (fitoplancton y zooplancton) forman parte indispensable para la crianza y supervivencia en el cultivo de larvas de peces, moluscos y crustáceos. Especialmente, el rotífero, *Brachionus plicatilis*, el cual, es uno de los más utilizados como alimento vivo en larvas de peces, debido a que cuenta con características específicas, tal como, su tamaño microscópico (100-300 μ) y su acelerada reproducción. Debido a esto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el enriquecimiento del rotífero con diferentes dietas comerciales y determinar el efecto significativo en los análisis proximales (proteínas, lípidos, extracto libre de nitrógeno y cenizas) y su perfil de aminoácidos y ácidos grasos. Los rotíferos se alimentaron con cuatro mezclas de dietas comerciales, conocidas como enriquecedores (Rotigrow Plus + levadura de pan (T1); ORI-ONE (T2);

Rotigrow OneStep (T3) y Rotigrow Plus + levadura de pan (Saf Instant-Gold) + enriquecimiento (T4). La unidad experimental consistió en cuatro tanques cilíndricos de 100 L de volumen, llevado a cabo por el método de batch, cuya densidad inicial fue de 25 millones de organismos (250 rot ml⁻¹). Los resultados obtenidos en los análisis proximales mostraron que la dieta T1 de pan tienen una mayor cantidad de proteína cruda (60.2%), sin embargo, respecto a los lípidos totales, la dieta T2 presentó un mayor contenido lipídico de 14.2%. En el caso del perfil de ácidos grasos, la dieta T2 mostró un mayor porcentaje de PUFAs, alrededor del 48%, observando un enriquecimiento en los ácidos grasos C18:2n6, C18:3n3, C20:4n6, C22:6n3 (18.1, 6.0, 2.3, y 11.9%, respectivamente), no obstante, para el EPA (C20:5n3) el tratamiento de T1 fue el que presentó una mayor concentración (4.4%). Respecto al perfil aminoacídico y T1 de pan mostró el mayor contenido de aminoácidos esenciales (28.5%) y no esenciales (31.8%), mayor que el resto de los tratamientos.

Palabras clave: Rotífero (*Brachionus plicatilis*), enriquecimiento, perfil de aminoácidos y ácidos grasos.

Abstract

Live food (phytoplankton and zooplankton) is indispensable for the development and survival of fish, mollusks, and crustaceans in aquaculture. Rotifers (*Brachionus plicatilis*) are particularly important, as they are widely used to feed the fish larva due to their size (100-300 μ) and rapid growth rate. Therefore, the objective of this work was to enrich the rotifers with different supplements and detect any significant effects through proximal analysis (protein, lipids, nitrogen-free extracts, and ash), amino acid and fatty acids profile. Four different commercial feed mixtures were made

(Rotigrow Plus + bread yeast (T1); ORI-ONE (T2); Rotigrow OneStep (T3), and Rotigrow Plus + bread yeast + enriching agent (T4) to enrich rotifers feed. Four 100 L cylindrical tanks were used to stock with an initial density of 25 million organisms (250 rot ml⁻¹) per tank; daily feedings was administered based on the manufacturer's suggested dosage. The proximal analysis showed that the Rotigrow + bread yeast mixture contained higher protein content (60.22%), while T2 showed the highest lipid content at 14.23%. The fatty acid profile found in the ORI-ONE diet was the highest among the different diets at 48%, with enrichment identified of the C18:2n6, C18:3n3, C20:4n6, C22:6n3 (18.1, 6.0, 2.3, y 11.9%, respectively), non the less, EPA (C20:5n3) showed higher concentration (4.4%) with the T1 mixture and T1 also showed the highest amount of essential and non-essential amino acids (28.5 and 31.8%, respectively), and the protein content.

Keywords: Rotifer (*Brachionus plicatilis*), enrichment, profile of amino acids, fatty acids.

INTRODUCCIÓN

La acuicultura es considerada una de las actividades con gran potencial para lograr combatir la pobreza y disminuir los niveles de desnutrición en los países más pobres, gracias a su alto valor nutricional y a su continuo crecimiento (FAO, 2022). En este mismo sentido, la acuicultura enfrenta diversas limitaciones con respecto a los alimentos vivos y alimentos formulados, mismos que se ofrecen en las primeras etapas de crianza o alevinaje (Wikfors y Ohno, 2001; Camacho-Grageda *et al.*, 2008; Tacón *et al.*, 2022). El alimento vivo, fitoplancton y zooplancton, son un elemento esencial para la producción y altas tasas de supervivencia en el desarrollo larvario de peces, moluscos y crustáceos (Torretera y Tacon,1989), mismo que se considera hoy en día como un alimento "esencial", superando al alimento inerte en las primeras etapas de alimentación (Prieto, 2006; Kassim *et al.*, 2014). Esto es debido, a que la

mayoría de las larvas de peces son depredadores visuales y ayudan a generar larvas con un nado más veloz, organismos fuertes y activos (Luna-Figueroa *et al.*, 2018). Así como, incrementar el crecimiento, supervivencia, brillo corporal, resistencia a enfermedades, pigmentación, longevidad, además, se ha observado que no afecta de manera significativa la calidad del agua (Luna-Figueroa *et al.*, 2018, Burbano *et al.*, 2020). El efecto del enriquecimiento en alimento vivo ha sido estudiando en diversas larvas de especies de peces como pargo amarillo (*Lutjanus argentiventris*), huachinango del Pacífico (*Lutjanus peru*), Bacalao del Atlántico (*Gadus morhua*), Jurel aleta amarilla (*Seriola lalandi*), Dorada (*Sparus aurata*), Besugo de cola amarilla (*Acanthopagrus latus*), Pámpano dorado (*Trachinotus ovatus*), demostrando que incrementa la supervivencia de las larvas, tasa de crecimiento y parámetros productivos (Rodríguez *et al.*, 1997; García *et al.*, 2008; Rivas y García, 2014; Mejri *et al.*, 2021; Fu *et al.*, 2021; Morshedi *et al.*, 2022). En este mismo sentido, se han realizado diferentes pruebas de enriquecimiento y caracterización bioquímica de los rotíferos, dónde en últimas décadas se han utilizado distintas microalgas, levadura de pan, emulsiones de aceite marino y dietas comerciales (Morizane, 1991; Lubzens, 1987; Copeman *et al.*, 2002; Cavalin y Weirich, 2009). Estos enriquecedores van de la mano con el tiempo de incorporación o de enriquecimiento que se debe mantener el rotífero, por lo que en promedio se ha estimado que el tiempo oscila entre las 8 y 24 horas, obteniendo así la máxima incorporación nutricional (Klaoudatos *et al.*, 2004).

De manera general, la importancia de este alimento radica en el contenido esencial de macro y micronutrientes necesarios para el correcto desarrollo de las larvas, de manera específica; los aminoácidos (histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y

valina) y ácidos grasos esenciales (eicosapentaenoico (EPA), el ácido docosahexaenoico (DHA), ácido gammalinolénico (GLA) y al ácido araquidónico (AA) (Aires *et al.*, 2005, Guinot *et al.*, 2013; Luna-Figueroa *et al.*, 2018; Wax, 2019).

De manera particular, en el laboratorio de producción de peces marinos de la Unidad de Biotecnología en Piscicultura (UBP) de la Facultad de Ciencias Marinas (FCM) de la Universidad Autónoma de Baja California (UABC), campus Ensenada, no se cuenta aún con un protocolo de alimentación definido, apoyado por métodos o técnicas precisas para el enriquecimiento del alimento vivo como primera alimentación exógena, esto derivado del desconocimiento que se tiene sobre los aportes que existen en los diferentes productos comerciales para la nutrición del alimento vivo suministrado en las primeras etapas de cultivo. Por tal motivo, el objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de diferentes fuentes de enriquecedores en el cultivo de rotíferos como primer alimento vivo en el cultivo larvario de peces marinos.

MATERIALES Y METODOS

El bioensayo se llevó a cabo en el área de

alimento vivo de la Unidad de Biotecnología en Piscicultura (UBP-E20) de la Universidad Autónoma de Baja California (UABC), campus Ensenada. El sistema de cultivo fue conformado por cuatro tanques de forma cilíndrica de fibra de vidrio y un volumen de 100 L (Fig. 1). El método que se utilizó para el cultivo de rotífero fue el método de batch, el cual consistió en realizar la siembra de 25 millones de rotíferos (*B. plicatilis*) con una densidad de 250 rot ml⁻¹ diariamente. Cada tercer día se finalizó un ciclo, por lo tanto, se sembró nuevamente el tanque con las concentraciones iniciales y así complementar las tres repeticiones por tratamiento.

Los cultivos de rotífero fueron alimentados con una bomba peristáltica de cuatro canales marca Jebao Doser, modelo 2.4, (China) la cual suministró el alimento dosificado en 24 h. Las dietas o tratamientos (T1, T2, T3 y T4) fueron elaboradas de la siguiente manera; como primer paso, las dietas que contenían la levadura de pan o enriquecedor en polvo, se hidrataron previamente con 10 mL de agua (poner la relación de agua vs producto) y se dejó por 10 min en agitación continua, posteriormente fue integrada al contenedor de alimento de cada tratamiento a las concentraciones descritas en la Tabla 1.

Tabla 1 Tratamientos utilizados para enriquecimiento del rotífero (*Brachionus plicatilis*) por tres días de cultivo y alimentados por cuatro distintos enriquecedores de venta comercial.

Tratamiento	Enriquecedor	Marca	Dosificación (ml/1,000,000 de rot) *
T1	Rotigrow plus + levadura de pan	Reed Maricultu- re	0.9 ml de pasta + 0.6 gr de levadura** 0.45 gr día 1 y 0.4 gr día 2 y 3
T2	ORI-ONE	SKRETTING	3
T3	OneStep	Reed Maricultu- re	1.2 ml
T4	Rotigrow plus + levadura de pan + enriquecedor (N-Rich High PRO)	Reed Maricultu- re	0.9 ml de pasta + 0.6 gr de levadura + 0.4 ml/litro

*Las dosificaciones de alimentación fueron servidas tal como se recomienda por el proveedor

** Levadura Saf-Instant.

Cosecha de rotíferos

Una vez transcurridos los tres días de cultivo, los rotíferos fueron cosechados de las columnas individualmente y pasados por una malla de 80 µm de manera independiente para su retención. Posteriormente fueron lavados por 30 min con agua de mar, como proceso para eliminar las heces fecales o materia orgánica que pudieran contener. Al final del proceso fueron concentrados y enjuagados con agua destilada para la eliminación de sales presentes. La biomasa húmeda fue ultracongelada a -80°C y secada por medio de liofilización a -50°C, LABCONCO (FreeZone 2.5).

Análisis proximales.

Se realizaron análisis proximales de los cuatro tratamientos de rotíferos al final del periodo de exposición al enriquecimiento. La humedad, proteínas, lípidos y cenizas se expresaron en porcentaje de contenido. El extracto libre de nitrógeno (NFE) se obtuvo por diferencia (Jobling, 2001). La composición bioquímica de los rotíferos de los cuatro tratamientos se realizó por triplicado siguiendo las metodologías propuestas por la "Association of Official Analytical Chemists" (AOAC, 1995) en el laboratorio de Nutrición Acuícola de la FCM.

Determinación de aminoácidos

Para el análisis de aminoácidos (AAs) en cada uno de los tratamientos, se tomaron 100 mg de las muestras previamente desgrasadas y secas. Estas fueron hidrolizadas con 5 ml de una mezcla de HCl 6N con 0.06% de fenol, en viales de vidrio de 25 ml. La hidrólisis se llevó a cabo incubando cada una de las muestras por 24 hrs a 110°C. Después del tiempo de hidrólisis, las muestras se llevaron a un volumen final de 100 ml, donde se filtró con acrodiscos de 0.45 µm (P.N. 4426T) a un vial de 1.5 ml previamente limpio, calcinado y de color ámbar. Las muestras fueron refrigeradas a -30°C hasta su procesamiento en el HPLC. La derivatización se realizó directamente en el HPLC Agilent (Mod. 1200 infinity series). De manera general, se tomaron 2.5 µl del buffer de fosfatos (Part Num. 5061-3339), seguido de 0.5 µl de muestra con relación 1:1:1 de OPA: FMOC

(Ortoftaldehído: Fluorenylmethyloxycarbonyl), posteriormente fueron inyectadas en secuencia continua en el HPLC. Para la separación de los AAs se utilizó una columna C18 de fase reversa Zorbax eclipse AAA (4.5 X 150 mm 3.5µm, P.N. 963400-902), donde se empleó un volumen de inyección de 5 µl. Para la corrida, se utilizó un gradiente de buffer de fosfato de sodio al 40mM (Sigma aldrich, cat num. 71500-250g) y una mezcla de acetonitrilo al 45% Metanol 45% y agua grado HPLC 10%, a un flujo de 1mL/min. El sistema está acoplado a un detector de fluorescencia (1260 FLD series, Agilent technologies, USA) y un detector de DAD (1260 DAD-UV, Agilent technologies, USA), mismos que están configurados en dos longitudes de onda, 340/450 nm y 266/305 nm excitación/emisión y para el DAD, 380nm (OPA) y 262nm (FMOC). La curva de calibración se realizó utilizando una solución de AAS estándares (P.N. 061-3330) con concentraciones de 50 a 350 pmol. Y como último, se estimó el área bajo la curva con el programa "OpenLAB" (Agilent Technologies 2000 copyright), obteniendo así el porcentaje de AAs, respecto al contenido de proteína en las muestras.

Determinación de ácidos grasos

De manera general la extracción de ácidos grasos para cada una de las muestras se realizó por medio de la técnica descrita por Folch *et al.* (1957), con modificaciones tales como agregar 0.01% de Butil-hidroxi-tolueno o BHT (C₁₅H₂₄O) como solución antioxidante. Para la obtención del perfil de ácidos grasos, estos fueron separados, identificados y cuantificados en cromatografía de gases, donde se utilizó un cromatógrafo de gases AGILENT GC 7820A, equipado con un inyector Split/Splitless, un detector de ionización de flama (FID) y una columna capilar AGILENT 122-2361 DB-23 60 m x 0.25 mm con un diámetro interno de 15 µm. Los cálculos se efectuaron mediante el software GC Chemstation Data Analysis. La temperatura inicial de inyección fue de 50°C durante 1 min, después se llevó a 190°C a una tasa de 25°C por minuto, posteriormente se aumentó a 230°C a una tasa de 6°C por minuto y se utilizó nitrógeno (N₂) como gas acarreador a 0.9 ml min⁻¹. Los ácidos grasos fueron identificados por

comparación con los tiempos de retención de los siguientes estándares: 37 Component FAME Mix (Supelco/Sigma- Aldrich®), GLC 87, GLC 96 (Nu-Chek Prep®), RM-2, RM-6 y GLC 90 (Supelco/Sigma-Aldrich®) y además se utilizaron PUFAs de aceites marinos (PUFA1 y 3, Supelco/Sigma-Aldrich®), como patrón de identificación. La composición de cada ácido graso se calculó de acuerdo con el área correspondiente en el cromatograma respectivo. Se utilizó el ácido graso C19:0 como estándar interno.

Análisis estadístico

Todos los resultados obtenidos en este trabajo fueron procesados y comparados con la media obtenida por tratamiento en cada uno de los parámetros, esto es debido a que las muestras por cada tratamiento se realizaron en pool.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

El contenido de proteína, lípidos, cenizas y ELN del rotífero enriquecido (*B. plicatilis*) se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Composición proximal del rotífero (*Brachionus plicatilis*) enriquecidos con cuatro distintos tratamientos por 3 días de cultivo.

Nombre del tratamiento	Tratamiento	Proteína cruda (%)	Lípidos totales (%)	Ceniza (%)	ELN (%)
Rotigrow + levadura de pan	T1	60.2	11.2	17.2	11.3
ORI-ONE	T2	42.6	14.2	18.6	24.6
One Step	T3	<u>47.3</u>	<u>9.5</u>	18.3	24.8
Levadura de pan + Rotigrow plus + enriquecedor	T4	50.2	12.9	19.6	17.3

ELN= Extracto libre de nitrógeno = 100- (Proteína+ Lípidos+ Cenizas)

De manera general, el tratamiento T1 mostró una mayor concentración de proteína cruda de 62.2% y la menor concentración se observó en el tratamiento T2 (42.6%). Sin embargo, en este último tratamiento (T2) se presentó una mayor concentración de grasa cruda, 14.2%. Con lo que respecta al contenido de cenizas, se observaron variaciones desde 17.2 hasta 19.6% (T4 y T1, respectivamente). De manera particular, se conoce que el rotífero varía su contenido de proteína cruda de 42 hasta 60% (Øie y Olsen, 1997; Hamre, 2016; Duy Khoa *et al.*, 2021), siendo estas variaciones causadas por la calidad y cantidad de alimento proporcionado (Seiffert *et al.*, 2001).

En este mismo sentido, existe una estrecha relación con las variables fisicoquímicas y composi-

ción espectral de luz en las que se producen las microalgas o enriquecedores para los rotíferos, impactado drásticamente en la composición nutricional del alimento vivo (Lehmuskero *et al.*, 2018). En los resultados de este experimento se observó el mayor contenido proteico en el tratamiento T1 (62.2%), por lo que se puede inferir que el enriquecedor "Rotigrow + levadura de pan", es un promotor de síntesis proteica para el rotífero, ayudando así a incrementar el contenido de proteína cruda y, por ende, a incrementar sus perfiles de aminoácidos tanto esenciales como no esenciales, impactando en una mayor supervivencia en las primeras etapas larvales de los organismos acuáticos Tabla 3.

Tabla 3. Contenido de aminoácidos en el rotífero *Brachionus plicatilis* alimentado con cuatro distintos enriquecedores durante 3 días de cultivo.

Aminoácidos	T1	T2	T3	T4
<i>Aminoácidos esenciales</i>				
HIS	0.9	0.6	0.7	0.8
ARG	4.5	3.3	3.6	3.7
THR	2.8	2.0	2.2	2.3
VAL	3.5	2.5	2.8	2.9
MET	1.3	0.9	1.1	1.1
LYS	3.2	2.1	2.6	2.7
ILE	3.2	2.3	2.6	2.7
LEU	5.3	3.7	4.2	4.5
PHE	3.6	2.6	2.9	3.1
Subtotal	28.5	20.0	22.7	23.8
<i>Aminoácidos no esenciales</i>				
ASP	6.7	4.9	5.4	5.5
SER	3.8	2.7	3.0	3.1
GLU	10.2	7.3	8.1	8.6
GLY	3.0	2.1	2.4	2.5
ALA	3.3	2.4	2.6	2.8
PRO	1.9	1.2	1.4	1.6
CYS	nd	nd	nd	nd
TYR	2.7	2.0	2.2	2.3
Subtotal	31.8	22.6	25.0	26.4
Otros				
TAU	nd	nd	nd	nd
Total	60.2	42.6	47.7	50.2

Esta última aseveración ha sido reportada por distintos autores (Srivastava *et al.*, 2006; Koiso *et al.*, 2009; Guevara *et al.*, 2011; Fehér *et al.*, 2013; Mæhre *et al.*, 2013; Lee *et al.*, 2019; Duy Khoa *et al.*, 2021), dónde un mayor contenido de proteína en el alimento vivo contribuye en la obtención del máximo crecimiento, supervivencia, rentabilidad de los cultivos de organismos acuáticos (Zaki y Saad, 2010; Segovia, 2019). Otras de las características de relevancia en los contenidos nutricionales del rotífero, es la grasa cruda, ya que este parámetro nutricional nos pudiera inferir la calidad y cantidad de los ácidos grasos presentes en el alimento vivo (Das *et al.*, 2012; Kandathil *et al.*, 2020). En este trabajo, se mostró que el tratamiento T2 fue el que obtuvo una mayor concentración de grasa, superando el 14% en su contenido proximal. Esto pudiera estar relacionado con las características nutricionales del enriquecedor, ya que ORI ONE contenía un mayor porcentaje de grasa (17.0%), respecto a los otros enriquecedores. Por tal motivo, se pudiera inferir que el tratamiento T2 ayudará a la nutrición de larvas en las primeras etapas ya que es rico en ácidos grasos esenciales. De manera general y lo observado en otros trabajos, se muestra que el contenido de grasa varía desde 8 a 17%, (Øie y Olsen, 1997; Guevara *et al.*, 2011; Hamre, 2016; Duy Khoa *et al.*, 2021), por lo que los resultados obtenidos en este experimento concuerdan con lo reportado por otros autores.

Los aminoácidos son divididos en esenciales y no esenciales, sin embargo, ambos juegan un papel importante en el desarrollo de los organismos acuáticos (Tacon, 1989; Wu, 2010). Dentro de estos dos bloques de aminoácidos, se encuentran algunos aminoácidos limitantes, los cuales regulan las rutas metabólicas de los organismos, impactando en la salud, supervivencia, crecimiento y reproducción (Wu, 2009). En este mismo sentido, la Lisina (Lys) y Metionina (Met), son consi-

derados aminoácidos limitantes, ya que su contenido en fuentes proteicas terrestres se ven disminuidos, afectando de manera drástica el metabolismo de organismos carnívoros marinos (Mai *et al.*, 2006). El contenido de aminoácidos del rotífero (*B. plicatilis*) se muestra en la Tabla 4.

De manera particular, el tratamiento T1 mostró una mayor concentración de aminoácidos tanto esenciales, como no esenciales (28.5 y 31.8%). Sin embargo, el tratamiento T2 mostró una menor concentración en ambas fuentes de aminoácidos (20 y 22.6%). Por tal motivo, y resaltando algunos aminoácidos de gran importancia en el crecimiento de los organismos acuáticos, el tratamiento T1 (Rotigrow + levadura de pan) mostró un mayor contenido en Lys con 3.2%, Met con 1.3% y Arginina (Arg) con 4.5%. Estos aminoácidos son considerados esenciales en los organismos acuáticos, mismos que ejecutan diferentes funciones metabólicas, tales como: transporte de lípidos (beta oxidación en la membrana mitocondrial), osmoregulación, estructuras de membranas, precursores de neurotransmisores, transmetilaciones, transulfuraciones, síntesis de cisteína y taurina, incremento en el sistema inmune, desarrollo gástrico intestinal y eliminación del amoníaco (Wilson, 2002; Harpaz, 2005; Zhou, 2005; Bouckenooghe *et al.*, 2006; Mai *et al.*, 2006). Nuestros resultados obtenidos en el contenido de aminoácidos han sido mayores a lo encontrado por Waqalevu *et al.* (2019), donde el rotífero enriquecido mostró un contenido de Lys, Met y Arg de 1.40, 1.92 y 2.29%, respectivamente. Mientras que Duy Khoa *et al.* (2021) realizaron un enriquecimiento de rotífero con aceite de huevas de salmón y obtuvieron un contenido de arginina y lisina de 3.36 y 1.88%. Por tal motivo, nuestros resultados muestran que los rotíferos enriquecidos del tratamiento T1, podrán obtener un mejor desempeño en la estimulación temprana de larvas de organismos acuáticos marinos

Tabla 4. Contenido de ácidos grasos en el rotífero *Brachionus plicatilis* alimentado con cinco distintos enriquecedores durante 3 días de cultivo.

Ácidos grasos	T1	T2	T3	T4
C13:0	8.4	5.6	11.1	6.2
C14:0	1.8	1.1	2.2	8.3
C15:0	0.8	0.5	0.6	0.6
C16:0	11.9	17.9	10.8	18.3
C18:0	5.1	5.0	4.5	3.9
C22:0	0.5	0.7	0.5	nd
C24:0	nd	1.0	0.6	2.6
ΣSFA	28.4	31.8	30.2	39.9
C14:1	nd	0.5	1.0	nd
C16:1	13.5	1.1	14.0	9.3
C18:1n9	14.0	8.4	14.5	11.9
C18:1n7	3.0	1.7	3.9	2.2
C20:1n9	1.7	2.6	1.9	1.1
C22:1n9	0.4	0.7	nd	0.4
C24:1n9	0.5	0.8	0.5	0.5
ΣMUFA	33.3	15.8	35.9	25.5
C16:3n4	1.5	1.3	1.3	1.2
C18:2n6	13.7	18.1	10.7	8.5
C18:3n4	0.4	nd	nd	nd
C18:3n3	4.3	6.0	1.9	1.7
C18:4n3	1.3	0.8	nd	nd
C20:3n6	0.7	1.2	0.8	nd
C20:3n3	0.9	0.6	2.7	0.7
C20:4n6	1.5	2.3	0.8	1.4
C20:5n3	4.1	3.5	3.9	4.4
C22:5n3	1.6	2.3	1.9	1.7
C22:6n3	3.4	11.9	5.0	10.6
ΣPUFA	33.4	48.0	28.8	30.0
NID	4.9	4.4	5.1	4.6

De manera general, se ha observado que el alimento vivo es esencial en las primeras etapas de vida de los organismos acuáticos, esto, debido a su alta calidad nutricional, principalmente el contenido de ácidos grasos esenciales (como el ARA (20:4n-6), EPA (20:5n-3) y DHA (C22:6 n-3)), los aminoácidos y su contenido de enzimas digestivas (Das *et al.*, 2012; Kandathil *et al.*, 2020). El contenido de ácidos grasos del rotífero (*B. plicatilis*) se observa en la Tabla 4. De manera general, T4 obtuvo una mayor concentración de ácidos grasos saturados (SFA) con 39.9%, y se observó una menor concentración en el T1. En cuanto al contenido de ácidos grasos monoinsaturados, la mayor concentración fue mostrado en tratamiento T3 (35.9%) y la menor concentración se observó en el T2. Sin embargo, T2 obtuvo una mayor concentración de ácidos grasos poliinsaturados (PUFAS) de 48%, destacando ARA (C20:4n6) y DHA (C22:6n3) con una concentración de 2.3 y 11.9%. Cabe mencionar que la mayor concentración de EPA (C20:5n3) fue observado en el tratamiento T4 de 4.4% del 100% de los ácidos grasos metilados. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Hamre *et al.* (2008), quien realizó un experimento utilizando enriquecimiento de yodo y selenio, el cual mostró contenidos de 1.6, 6.2, y 10.5% de ARA, EPA y DHA incrementando un 32% en supervivencia de larvas de bacalao del Atlántico. Waqalevu *et al.* (2019) obtuvo un mejor resultado con una dieta de *Chlorella vulgaris*, enriquecido con DHA y aceite de emulsión de huevos de salmón con un contenido de ARA, EPA y DHA de $0.37 \pm 0.04 \text{ mg g}^{-1}$, $0.72 \pm 0.07 \text{ mg g}^{-1}$ y $1.81 \pm 0.18 \text{ mg g}^{-1}$. Sin embargo, estos autores observaron una menor tasa de supervivencia con respecto al tratamiento *C. vulgaris* -DHA, atribuyendo estas diferencias al déficit de aminoácidos libres y proteína soluble. Por otro lado, Ghaderpour y Estévez (2020), encontraron un mayor contenido de DHA (335.1 mg g^{-1}) en los rotíferos enriquecidos con pimiento rojo y una mayor concentración de ARA y EPA (172.7 mg g^{-1} y 10.0 mg g^{-1}) en los enriquecidos por *Nannochloropsis*. Algunos autores han atribuido algunos beneficios que genera el contenido de ácidos grasos esenciales en las larvas de peces, moluscos y crustáceos, donde incrementa o favorece el desarrollo del sistema nervioso y

cardiovascular, los efectos antiinflamatorios, estrés, pigmentación, crecimiento, supervivencia, formación de eicosanoides?, longitud estándar, longitud de cabeza, diámetro ocular, el número de rayos de la aleta caudal (Zaki y Saad, 2010; Hee-Jin Kim *et al.*, 2014; Matsui *et al.*, 2020; Samat *et al.*, 2020; Sol *et al.*, 2022). Sin embargo, Kotani *et al.* (2013) resalta que un contenido por arriba del 18% de DHA en rotíferos, muestra un impacto negativo en larvas de la dorada roja y que lo correcto es mantenerlo entre 6 y 13% para rotíferos.

CONCLUSIONES

El contenido nutricional del rotífero (*Brachionus plicatilis*) puede ser ampliamente modificado en función del alimento enriquecido que se proporcione. Por lo tanto, el tratamiento Rotigrow Plus + levadura de pan, fue el tratamiento que mostró un mayor contenido de proteína cruda, incrementando su contenido de aminoácidos esenciales y no esenciales resaltando el valor de Lys, Met y Arg). Respecto al contenido de grasa cruda y ácidos grasos, el tratamiento ORI-ONE mostró un mayor contenido de lípidos totales (14.2%) y por ende se observó un incremento en el contenido de ácidos grasos poliinsaturados esenciales, como lo son; ARA, EPA y DHA.

Literatura citada

- Aires, D., Capdevila, N., Segundo, M.J. (2005). Ácidos grasos esenciales. 24 (4), pp. 96-102.
- AOAC. (1995). Asociación de Químicos Analíticos Oficiales. Métodos oficiales de análisis de AOAC International Vol. 1. AOAC International, Arlington, VA.
- Bouckenooghe, T., Remacle, C., Reusens, B. (2006). ¿Es la taurina un nutriente funcional? Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care. 9 (6): 728-733. PMID: 17053427. doi: 10.1097/01.mco.0000247469.26414.55
- Burbano, M.F., Torres, G.A., Prieto, M.J., Gamboa, J.H., Chapman, F.A. (2020). Increased survival of larval spotted rose snapper *Lutjanus guttatus*

- (Steindachner, 1869) when fed with the copepod *Cyclopina* sp. and *Artemia* nauplii. *Aquaculture*. 519: 1-6.
- Camacho-Grajeda, M.V., Kotani, T., Sakakura, Y. Atsushi, H. (2008). Effects of feeding copepod and *Artemia* on early growth and behaviour of the selffertilizing fish, *Rivulus marmoratus*, under laboratory conditions. *Aquaculture* 281, pp. 100-105.
- Cavalin, F. G., & Weirich, C. R. (2009). Larval performance of aquacultured Florida pompano (*Trachinotus carolinus*) fed rotifers (*Brachionus plicatilis*) enriched with selected commercial diets. *Aquaculture*. 292 (1): 67-73. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.03.042>
- Copeman, L. A., Parrish, C. C., Brown, J. A., & Harel, M. (2002). Effects of docosahexaenoic, eicosapentaenoic, and arachidonic acids on the early growth, survival, lipid composition and pigmentation of yellow-tail flounder (*Limanda ferruginea*): A live food enrichment experiment. *Aquaculture*, 210(1): 285-304. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00849-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00849-3)
- Das, P., Mandal, S., Bhagabati, S., Akhtar, M., Singh, S. (2012). Important live food organisms and their role in aquaculture. *Frontiers in aquaculture*. 5(4): 69-86.
- Duy Khoa, T. N., Waqalevu, V., Honda, A., Matsui, H., Truong, N. X., Sakaguchi, K., Kawaji, H., Ishikawa, M., Shiozaki, K., Kotani, T. (2021). Enrichment effects of fermented by-product of Shochu distillery on *Brachionus plicatilis* sp. rotifer and larviculture performance in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture*. 535. 736352. ISSN:0044-8486. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736352>
- FAO. 2022. Versión resumida de El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2022. Hacia la transformación azul. Roma, FAO. <https://doi.org/10.4060/cc0463es>
- Fehér, M., Baranyai, E., Simon, E., Bársony, P., Szűcs, I., Posta, J., & Stündl, L. (2013). The interactive effect of cobalt enrichment in *Artemia* on the survival and larval growth of barramundi, *Lates calcarifer*. *Aquaculture*. 414-415, 92- 99. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.07.031>
- Folch, J., Lee, M., Stanley, G. (1957). A simple method of isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226: 497-509.
- Fu Z, Yang R, Zhou S, Ma Z and Zhang T (2021) Effects of Rotifers Enriched With Different Enhancement Products on Larval Performance and Jaw Deformity of Golden Pompano Larvae *Trachinotus ovatus* (Linnaeus, 1758). *Front. Mar. Sci.* 7:626071. doi: 10.3389/fmars.2020.626071
- García, A., Parrish, C., Brown, J. (2008). Use of enriched rotifers and *Artemia* during larviculture of Atlantic cod (*Gadus morhua* Linnaeus, 1758): effects on early growth, survival and lipid composition. *Aquaculture Research*. 39(4): 406-419. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01816.x>.
- Ghaderpour, S. y Estevez, A. (2020). Effect of Short-Term Rotifer Enrichment with Marine Phospholipids on Growth, Survival, and Composition of Meager (*Argyrosomus regius*) Larvae. *Frontiers in Marine Science*. 7(579002): 1-11. ISSN:2296-7745. DOI=10.3389/fmars.2020.579002
- Guevara M., Bastardo L., Cortez R., Arredondo-Vega B., Romero L., Gómez P. (2011). Pastas de *Rhodomonas salina* (Cryptophyta) como alimento para *Brachionus plicatilis* (Rotifera). *SciELO*. 59(4): 1503-1515. ISSN:0034-7744
- Guinot D., Monroig O., Hontoria F., Amat F., Varó I. y Navarro J. C. (2013). Enriched on-grown *Artemia* metanauplii actively metabolise highly unsaturated fatty acid-rich phospholipids. *Aquaculture*. 412-413, pp. 173-178.
- Hamre, K., Mollán, T.A., Øystein, S., Børre, E. (2008). Rotifers enriched with iodine and selenium increase survival in Atlantic cod (*Gadus morhua*) larvae. *Aquaculture*. 284 (1-4): 190-195. ISSN: 0044-8486. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.07.052>

- Hamre, K. (2016). Nutrient profiles of rotifers (*Brachionus* sp.) and rotifer diets from four different marine fish hatcheries. *Aquaculture*. Vol. 450:136-142. ISSN: 0044-8486. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.07.016>
- Harpaz, S. (2005). L-Carnitine and its attributed functions in fish culture and nutrition – a review. *Aquaculture*. 249:3–21.
- Hee-Jin, K., Yoshitaka, S., Isao, M., Toshio, N., Kazushi, T., Haruyuki, F., Atsushi, H. (2014). Feeding effect of selenium enriched rotifers on larval growth and development in red sea bream *Pagrus major*. *Aquaculture*. 432: 273-277. ISSN: 0044-8486. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.05.021>.
- Jobling, M. (2001). Nutrient partitioning and the influence of feed composition on body composition. In: Houlihan, D., Boujard, T., Jobling, M. (Eds.), *Food Intake in Fish*. Blackwell Science, Oxford, pp. 354–375.
- Kandathil, D., AkbarAli, I., Schmidt, B., John, E., Sivanpillai, S., Thazhakot, S. (2020). Improvement of nutritional quality of live feed for aquaculture: An overview. *Aquaculture Research*. 51(1): 1-17. <https://doi.org/10.1111/are.14357>.
- Kassim, Z., John, A., Chin, L., Zakaria, N., Asgnari, N. (2014). Sustainable technique for selected live feed culture. En: Hernandez-Vergara, M. and Perez-Rostro, C. (Eds.), *Sustainable Aquaculture Techniques*, Croatia. pp. 105-133.
- Klaoudatos, S. D., Iakovopoulos, G., & Klaoudatos, D. S. (2004). *Pagellus erythrinus* (Common Pandora): A promising candidate species for enlarging the diversity of aquaculture production. *Aquaculture International*. 12(3): 299–320. <https://doi.org/10.1023/B:AQUI.0000036186.31318.4a>
- Koiso, M., Yoshikawa, M., Kuwada, H., & Hagiwara, A. (2009). Effect of maternal diet on survival and life history parameters of next generations in the rotifer *Brachionus plicatilis* sp. complex. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 75(5): 828–833. <https://doi.org/10.2331/suisan.75.828>
- Kotani, T., Fushimi, H., Ota, Y., Miyajima, A., Sudo, K., Hayashi, M., Sato, N., Sato, S. (2013). Effect of dha amount in *Shiomitsu bowamushi* on red sea bream seedling production and breeding results. *The Japan Society of Fisheries Growth*. 61(4): 321-330. ISSN: 2185-0194. <https://doi.org/10.11233/aquaculturesci.61.321>
- Lee, M.C., Park, J. C., Yoon, D.-S., Choi, H., Shin, K.-H., Kim, H.-J., ... Lee, J.-S. (2019). Lipid metabolism modulation by five different food types in the monogonont marine rotifer *Brachionus koreanus*. *Aquaculture*. 503, 596–601. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.12.043>
- Lehmuskero, A., Chauton, M., Boström, T. (2018). Light and photosynthetic microalgae: A review of cellular-and molecular-scale optical processes. *Progress in Oceanography*, 168: 43-56. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2018.09.002>.
- Lubzens, E. (1987). Raising rotifers for use in aquaculture. *Hydrobiologia*. 147(1): 245–255. <https://doi.org/10.1007/bf00025750>
- Luna-Figueroa, J., Arce Uribe, E., y Figueroa Torres, J. (2018). Ventajas e inconvenientes del uso de alimento vivo en la nutrición de peces. *Inventio: la génesis de la cultura universitaria en Morelos*, 14 (33), pp. 39-43.
- Mæhre, H. K., Hamre, K., & Elvevoll, E. O. (2013). Nutrient evaluation of rotifers and zooplankton: Feed for marine fish larvae. *Aquaculture Nutrition*, 19(3), 301– 311. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2012.00960.x>
- Mai, K., Wan, J., Ai, Q., Xu, W., Liufu, Z., Zhang, L., Zhang, C., Li, H. (2006). Dietary methionine requirement of juvenile yellow croaker *Pseudosciaena crocea* R. *Aquaculture*. 251:564–572.
- Matsui, H., Shiozaki, K., Okumura, Y., Ishikawa, M., Waqalevu, V., Hayasaka, O., Honda A., Kotani, T. (2020). Effects of phosphorous deficiency of a microalga *Nannochloropsis oculata* on its fatty acid profiles and intracellular structure and the effectiveness in rotifer nutrition. *Algal Research-Biomass Biofuels and Bioproducts*. 49. 101905. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101905>.

- Morizane, T. (1991). A review of automation and mechanization used in the production of rotifer in Japan. Rotifer and microalgae culture systems. Proceeding of US-Asia workshop. pp. 79-88. Honolulu, Hawaii: The Oceanic Institute.
- Morshedi, V., Mozanzadeh, M. T., Hamed, S., Naserifard, I., Ebrahimi, H., Naser Agh, Nafisi, M., Azodi, M., Rashidian, G. 2022. Enrichment of livefeed with very low level of docosahexaenoic acid (DHA) is enough for yellowtail sea bream (*Acanthopagrus latus*) larvae. *Aquaculture Reports* (26) 101310.
- Nandy, A. C., Majunder, S.K. y Chakraborty, R.K. (1976). Experiments on the mass culture of *Brachionus Mulleri Pallas* in glass aquaria. Central Inland Fisheries Research Institute.
- Øie, G., Olsen, Y. (1997). Protein and lipid content of the rotifer *Brachionus plicatilis* during variable growth and feeding condition. In: Hagiwara, A., Snell, T., Lubzens, E., Tamaru, C. (eds) *Live Food in Aquaculture. Developments in Hydrobiology*, vol 124. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-017-2097-7_39.
- Prieto Guevara, M. J. (2006). Alimento vivo y su importancia en acuicultura. *Revista Electrónica de Ingeniería en Producción Acuícola*, 2 (2).
- Rivas García, L. M. (2014). Influencia del alimento vivo sobre el crecimiento y supervivencia durante el desarrollo temprano del huachinango del Pacífico (*Lutjanus peru*) y del pargo amarillo (*Lutjanus argentiventris*) (Tesis de maestría). Centro de Investigaciones Biológicas del Noreste, S.C. Recuperado de: https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1001/546/1/rivas_1.pdf
- Rodriguez, C. Pkrez, J.A., Diaz, M., Izquierdo, M.S., Lorenzo, A., FernGndez-Palacios, H. 2022. Influence of the EPA/DHA ratio in rotifers on gilthead seabream (*Sparus aurata*) larval development. *Aquaculture* 150 (1997) 77-89.
- Samat, N. A., Yusof, F. M., Rasdi, N. W., Karim, M. (2020). Enhancement of Live Food Nutritional Status with Essential Nutrients for Improving Aquatic Animal Health: A Review. *Animals*. 10(12): 1-27. EISSN: 2076-2615. <https://doi.org/10.3390/ani10122457>
- Segovia Salas, J. C. (2019). Efecto del enriquecimiento de rotíferos (*Brachionus plicatilis*) y *Artemia* sp. con taurina sobre el crecimiento y sobrevivencia de larvas de *Totoaba macdonaldi*. Universidad Autónoma de Baja California, Facultad de Ciencias Marinas. pp: 1-53.
- Seiffert, M., Cerqueira, V., Madureira, L. (2001). Effect of dietary (n-3) highly unsaturated fatty acids on growth and survival of fat snook (*Centropomus parallelus*, Pisces: Centropomidae) larvae during first feeding. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 34: 645-651. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2001000500013>.
- Sol, J., Li, J., Li, Y., Du, J., Zhao, N., Mai, K., Ai, Q. (2022). Regulation of $\Delta 6$ Fads2 Gene Involved in LC-PUFA Biosynthesis Subjected to Fatty Acid in Large Yellow Croaker (*Larimichthys crocea*) and Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Biomolecules*. 12(5): 1-20. EISSN: 2218-273X. <https://doi.org/10.3390/biom12050659>
- Srivastava, A., Hamre, K., Stoss, J., Chakrabarti, R., & Tonheim, S. K. (2006). Protein content and amino acid composition of the live feed rotifer (*Brachionus plicatilis*): With emphasis on the water soluble fraction. *Aquaculture*, 254(1), 534-543.
- Tacón, A. G. (1989). Nutrición y alimentación de peces y camarones cultivados manual de capacitación. FAO. Recuperado el 01 de mayo del 2022 de: <https://www.fao.org/3/ab492s/AB492S00.htm#TOCwu>
- Tacón, A. G. (2022). Future Feeds: Suggested Guidelines for Sustainable Development. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, Vol. 30 (2), 271-279.

- Torrentera Blanco, L. y Tacón Albert, G.J. (1989). La reproducción de alimento vivo y su importancia en la acuicultura una diagnosis. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Recuperado el 04 de mayo del 2021 de: <https://www.fao.org/3/ab473s/AB473S00.htm#TOC>
- Waqalevu, V., Honda, A., Dossou, S., Duy Khoa, T.N., Matsui, H., Mzengereza, K., Liu, H., Ishikawa, M., Kazuhiro, S., Kotani, T. (2019). Effect of oil enrichment on *Brachionus plicatilis* rotifer and first feeding red sea bream (*Pagrus major*) and Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture*. 510: 73-83. ISSN: 0044-8486. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.05.039>
- Wax, E. (2019). Aminoácidos. MedlinePlus. Recuperado el 04 de mayo del 2021 de: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/002222.htm>
- Wikfors, G., Ohno, M. (2001). Impact of algal research in aquaculture. *Journal of Phycology*, 37(6), 968-974. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2001.01136.x>.
- Wilson, R. P. (2002). Protein and amino acids. In: Halver JE, Hardy RW (eds) *Fish Nutrition*, 3rd edition. Elsevier Science. San Diego, USA, pp 144-179.
- Wu, G. (2009). Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. Springer-Verlag. Vol. 37: 1-17. DOI:10.1007/s00726-009-0269-0.
- Wu, G. (2010). Functional Amino Acids in Growth, Reproduction, and Health. *American Society for Nutrition*. 1:31-37. Doi:10.3945/an.110.1008.
- Zaki, M., Saad, H. (2010). Comparative study on growth and survival of larval and juvenile *Dicentrarchus labrax* rearing on rotifer and *Artemia* enriched with four different microalgae species. *African Journal of Biotechnology*. 9(24): 3676-3688. ISSN: 1684-5315. <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/82463>
- Zhou, X. (2005). Use of synthetic lysine in fish feeds: a review on research and application. *Feed Ind.* 27:1-7.

Agradecimientos

Se agradece al Dr. Conal True, Profesor de la Facultad de Ciencias Marinas, por su valioso apoyo en la infraestructura prestada, así como al M en C, Raúl A. Herrera, por su colaboración durante el desarrollo experimental.

