

ARTÍCULO

Composición proximal y perfil de aminoácidos de estadios tempranos del pargo flamenco *Lutjanus guttatus*

Proximate composition and amino acid profiles of early stage of spotted rose snapper *Lutjanus guttatus*

María Isabel Abdo-de la Parra^{1,2}, Gustavo Alejandro Rodríguez-Montes de Oca³,
L. Estela Rodríguez-Ibarra¹, Patricia Domínguez-Jiménez¹, José Cristóbal Román-Reyes³, Gabriela Velasco-Blanco¹ y Leonardo Ibarra-Castro¹

¹Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Av. Sábalo-Cerritos S/N, CP 82010, Mazatlán, Sinaloa, México. abdo@ciad.mx

²Posgrado de Ciencias Agropecuarias del Colegio de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma de Sinaloa, Km. 17,5 Carretera Culiacán-Dorado, CP 8000 Culiacán, Sinaloa, México

³Laboratorio de Reproducción y Cultivo de Peces, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa, Paseo Claussen s/n, C.P. 82000, Mazatlán, Sinaloa, México

Abstract.- During early development stages, embryos and larvae of marine fish use amino acids (AA) as an energy source for aerobic catabolism and for maintaining osmolality of body fluids. Amino acid profile of eggs and larvae can be used to determine essential amino acid requirements (EAA). Better understanding the evolution of biochemical composition can improve nutritional needs at the start of exogenous feeding during early stages of fish larvae; high mortalities from nutritional deficiencies have been reported at this stage. The aim of this study was to determine the proximate chemical composition and AA profile of eggs, newly hatched larvae and larvae at 4 days post-hatch (DDE). Samples of previously mentioned stages were taken and the proximate composition and AA profile were determined using standard methods. The percentage of protein was significantly higher in the larvae 4 DDE lower in lipids. The amount of histidine, arginine and methionine was higher in the eggs and the rest of EAA was higher in the larvae at 4 DDE. The percentage of taurine was significantly higher in the eggs. These findings may serve as a guideline of EAA requirements for spotted rose snapper larvae at the onset of exogenous feeding and contribute to better feeding protocols and develop balanced diets to improve larval growth and survival.

Key words: Protein, lipids, amino acids, larvae, *Lutjanus guttatus*

Resumen.- Los embriones y las larvas de los peces marinos utilizan los aminoácidos (AA) como fuente de energía para el metabolismo aeróbico y para mantener la osmolalidad de los fluidos corporales durante los primeros estadios de desarrollo. El perfil de AA de los huevos y larvas puede utilizarse como un indicador aproximado del requerimiento de aminoácidos esenciales (AAE). Conocer la evolución de la composición bioquímica de los primeros estadios de las larvas de peces proporciona una fuente valiosa para comprender mejor las necesidades nutricionales para el comienzo de la alimentación exógena; etapa donde se han reportado altas mortalidades por deficiencias nutricionales. El objetivo fue determinar la composición química proximal y perfil de AA de huevos, larvas recién eclosionadas y larvas sin vitelo. Se tomaron muestras de los estadios mencionados y se determinó su contenido bromatológico y perfil de AA utilizando métodos estándar. El porcentaje de proteína fue significativamente mayor en las larvas sin vitelo y el porcentaje de lípidos fue menor. El porcentaje de histidina, arginina y metionina fue mayor en los huevos y el resto de AAE fue mayor en las larvas sin vitelo. El porcentaje de taurina fue significativamente mayor en los huevos. Los datos obtenidos podrán utilizarse como un indicador aproximado del requerimiento de AAE de las larvas de pargo flamenco al inicio de la alimentación exógena y coadyuvar a mejorar los protocolos de alimentación y al desarrollo de dietas balanceadas para mejorar el crecimiento y supervivencia de las larvas.

Palabras clave: Proteína, lípidos, aminoácidos, larvas, *Lutjanus guttatus*

INTRODUCCIÓN

En la actualidad todavía existen muchas lagunas en el conocimiento del requerimiento nutricional de larvas de peces marinos. Las pequeñas longitudes y la dificultad en aceptar microdietas inertes dificultan el progreso en este sentido (Hamre *et al.* 2013). Esta ausencia en el conocimiento de los requerimientos nutricionales de las larvas es una de las causas

de altas mortalidades y problemas de calidad comúnmente observados en la larvicultura marina (Conceição *et al.* 2010). La clave para el éxito y expansión competitiva de la industria acuícola es la alta producción de larvas saludables y de calidad. Aunque actualmente ya se producen grandes cantidades de larvas de peces marinos de muchas especies (Castelló 2011),

los porcentajes de supervivencia casi siempre son bajos o altamente variables. Además, los problemas de calidad como las deformidades del esqueleto siguen siendo el cuello de botella. Al menos, parte de estos problemas derivan de una nutrición subóptima (Conceição *et al.* 2010). Las proteínas son nutrientes indispensables para la estructura y función de todos los organismos, incluidos los peces. Estos requieren una mezcla balanceada de aminoácidos esenciales (AAE) y no esenciales (AANE) (Ibarz *et al.* 2011). Numerosos investigadores han determinado el requerimiento cuantitativo de AAE para varias especies de peces (Monentcham *et al.* 2010). La mayoría se han basado en estudios de dosis-respuesta que son costosos y largos, especialmente cuando se pretende determinar el requerimiento de todos los AAE (Ibarz *et al.* 2011). Algunos autores utilizan la composición de aminoácidos (AA) del cuerpo completo o de los huevos de peces para estimar el requerimiento correspondiente a cada especie (Saavedra *et al.* 2015). Este método es menos costoso y constituye una alternativa para estimar el requerimiento de AA (Monentcham *et al.* 2010). Los AA son los precursores de muchas vías para la síntesis de componentes biológicos, formando proteínas y pueden usarse como sustratos para producir energía (Wu 2009, Finn & Fyhn 2010). La deficiencia de uno o más AA altera la síntesis de proteínas y el crecimiento (Conceição *et al.* 1998). Además, el perfil de AA puede estar asociado con la calidad de huevos (Seoka *et al.* 2004) flotabilidad, rango de fertilización y viabilidad, así como, el estado nutricional de las larvas y actividad metabólica (Kwasek *et al.* 2009) y su requerimiento nutricional (Dabrowski *et al.* 2005). Los AA frecuentemente son monitoreados en la ontogenia de los peces para comprender el metabolismo de los mismos y como un indicador de la calidad nutricional de reproductores y huevos (Sink *et al.* 2010). Para alcanzar el éxito en el desarrollo embrionario y larval, es necesario en la dieta un perfil de AA adecuado para el crecimiento del pez. Al igual que otras especies de peces marinos, el pargo flamenco *Lutjanus guttatus* (Steindachner, 1869) tiene cambios morfológicos importantes y eventos fisiológicos como el consumo de la gota de aceite y vitelo, primera alimentación, desarrollo del sistema digestivo y metamorfosis antes de que el proceso de digestión se lleve a cabo normalmente (Abdo de la Parra *et al.* 2015). Estos eventos están relacionados a cambios nutricionales, incluyendo cambios ontogénicos en el perfil de AA y la actividad de enzimas digestivas. Los AA libres son producidos por la hidrólisis de la proteína del vitelo (Song *et al.* 2016) y actúan como reguladores osmóticos y como sustratos de energía para el desarrollo así como para la síntesis de proteínas (Finn *et al.* 1996). El pool de AA libres es consumido progresivamente después de la fertilización en la mayoría de los peces y el uso preciso de la secuencia varía con la especie

(Song *et al.* 2016). El perfil de AA de la proteína también sufre cambios específicos en cada especie durante el desarrollo larval; por ejemplo las larvas *Piaractus mesopotamica* utilizan ciertos AA como la lisina y metionina y retienen otros para el desarrollo de estadios tardíos, tales como la histidina y triptófano; lo cual deja una diferencia en el perfil de AA de la larva (Portella *et al.* 2013). Estos cambios en el perfil de AA de las larvas de peces tienen importantes implicaciones en términos de requerimientos de AA. Conceição *et al.* (2003, 2010) sugieren que el perfil de AAE de las larvas de peces pueden utilizarse como un estimado preliminar del requerimiento de AA. El presente estudio se realizó para determinar el contenido proximal y el perfil de AA de huevos, larvas recién eclosionadas y larvas sin vitelo de pargo flamenco *Lutjanus guttatus* para coadyuvar a determinar el requerimiento de AAE de las larvas y poder optimizar los protocolos de alimentación y desarrollar dietas con un adecuado perfil de AAE.

MATERIALES Y MÉTODOS

OBTENCIÓN Y MANEJO DE HUEVOS FERTILIZADOS Y LARVAS

Los huevos fertilizados de *Lutjanus guttatus* (100 mL) se obtuvieron de la planta piloto para la producción de juveniles marinos del CIAD, Unidad Mazatlán; se lavaron con agua destilada y se congelaron a -4°C para su posterior análisis. Otra muestra del mismo lote de huevos (200 mL) se incubó en un tanque circular de fibra de vidrio con agua de mar a 35 y 28°C. Posteriormente, se tomó una muestra de larvas recién eclosionadas, las cuales se lavaron con agua destilada y se congelaron para determinar el contenido bromatológico y perfil de aminoácidos. El resto de las larvas se mantuvieron en el mismo tanque de incubación bajo las mismas condiciones y se colectaron cuando consumieron en su totalidad la gota de aceite y vitelo, antes de iniciar la alimentación exógena (4 DDE). Las larvas obtenidas se enjuagaron con abundante agua destilada y se congelaron para su análisis posterior.

MORFOMETRÍA DE HUEVOS Y LARVAS

Una muestra de 50 huevos fertilizados se observó en un microscopio ocular Olympus® CX31 con el objetivo 4X equipado con un micrómetro ocular 10X/20 para determinar el diámetro del huevo y de la gota de aceite de cada uno los huevos.

Se tomaron 50 larvas recién eclosionadas para determinar su longitud total (LT), diámetro de la gota de aceite y tamaño del vitelo. Cada una se colocó mediante una pipeta Pasteur en un portaobjetos y se observó bajo el mismo microscopio ocular Olympus® anteriormente descrito. Las larvas sin vitelo (50) se midieron con un vernier digital con precisión de 0,01 ± 0,03 mm

ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL

Tanto a los huevos como a las larvas recién eclosionadas y larvas sin vitelo se les determinó su composición proximal mediante las técnicas propuestas por la AOAC (2011); para determinar humedad las muestras se colocaron en una estufa a 105°C por 12 h y hasta peso constante; las cenizas se obtuvieron por calcinación de las muestras en una mufla a 550 ± 50°C por un periodo de 12 h. El contenido de nitrógeno se obtuvo por combustión y cromatografía de gases mediante la técnica carbono-hidrogeno-nitrógeno mediante el equipo Thermo Scientific FLASH 2000¹ y el resultado se multiplicó por 6,25 para obtener el porcentaje de proteína de la muestra y las grasas se obtuvieron mediante extracción con éter de petróleo utilizando un equipo micro Soxhlet®. Cada análisis se corrió por triplicado.

PERFIL DE AA EN HUEVOS Y LARVAS

Previo a la determinación del perfil de AA de cada uno de los estadios, las muestras se desgrasaron, hidrolizaron y derivatizaron. Para la hidrólisis se pesó 1 mg de cada muestra y se colocaron en tubos para hidrólisis (Pierce 29560) y se les adicionó 3 mL de HCl 6M. Se aplicó vacío durante 3 min; posteriormente, los tubos se colocaron en baño seco a 150°C durante 6 h y se enfriaron a temperatura ambiente. El hidrolizado se transfirió a un matraz balón de 5 mL y el volumen del hidrolizado se igualó con agua. La muestra se evaporó en un Rotavapor® a 65°C (Brinkmann Buchi RE 121). Una vez evaporada la muestra se agregaron 3 mL de agua y se evaporó nuevamente. Para recuperar la muestra del matraz balón, se agregó 1 ml de Buffer de citrato de sodio 0,2N, pH 2,2 y se transfirió a un tubo Eppendorf color ámbar. Para derivatizar se tomaron 70 µL de la muestra hidrolizada y se le agregaron 70 µL de reactivo OPA. La mezcla se dejó reposar por 2 min, posteriormente se filtra (0,2 µm) y se inyectó al cromatógrafo. El perfil de AA se determinó de acuerdo a Vázquez-Ortiz *et al.* (1995), mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (Thermo Scientific Accela¹ equipado con un detector de fluorescencia (Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000). La separación de AA se realizó en una columna Microsorb (100-3 C18 100 X 4.6 mm). Se utilizó metanol como fase móvil y la solución buffer fue acetato de sodio (0,1M) a un flujo de 1,2 mL min⁻¹. La identificación se realizó usando un λ de 340 nm y emisión de 455 nm, acorde al tiempo de retención de los estándares. Cada vez que se procesó una muestra se corrió un estándar con una mezcla de 16 aminoácidos de concentración conocida, para obtener un factor para cada uno de los AA.

¹Thermo Fisher Scientific Inc. Austin, TX USA is ISO Certified. <<https://www.thermofisher.com>>

Cada muestra fue analizada por triplicado y el contenido de cada AA fue expresado en porcentaje del monto total de muestra analizada (gAA 100 g de muestra⁻¹).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se verificó la normalidad (prueba de Bartlett) y homocedasticidad (prueba de Levene) de los resultados obtenidos tanto de los análisis bromatológicos como del perfil de AA de los diferentes estadios; al ser normales y homocedásticos, se analizaron mediante un Análisis de Varianza de una vía (ANDEVA, STATGRAPHICS Plus 5.1²) ($P < 0,05$). Para determinar las diferencias significativas entre estadios se aplicaron pruebas de comparación múltiple de medias de Tukey ($P < 0,05$).

RESULTADOS

MORFOMETRÍA DE HUEVOS Y LARVAS

El diámetro de los huevos fertilizados fue de $752 \pm 40,64 \mu\text{m}$ y la gota de aceite midió alrededor de $0,123 \pm 0,004 \text{ mm}$ de diámetro. Los huevos fertilizados viables fueron transparentes y flotaron en la superficie del agua. Los huevos no viables no flotaron y se observaron opacos. La eclosión inició 19 h después de la fertilización. La longitud total (LT) de las larvas recién eclosionadas fue de $1,9 \pm 0,1 \text{ mm}$ y el diámetro de la gota de aceite fue de $0,115 \pm 0,01 \text{ mm}$. Las larvas sin vitelo midieron $2,53 \pm 0,10 \text{ mm}$ de LT.

ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL

La composición bromatológica en peso seco de huevos, larvas recién eclosionadas y larvas sin vitelo se presenta en la Tabla 1. Se observó que el porcentaje de proteína total aumentó en las larvas sin vitelo, siendo la diferencia estadísticamente significativa ($F_{(2,8)} = 8891,1, P = 0,0001$), en cambio el porcentaje de lípidos totales fue mayor en los huevos fertilizados ($F_{(2,8)} = 189,5, P = 0,0001$) y no hubo diferencias significativas entre las larvas recién eclosionadas y larvas sin vitelo (4 DDE).

PERFIL DE AA EN HUEVOS Y LARVAS

Se observaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en el perfil de AA entre los huevos fertilizados y los estadios larvales evaluados (Tabla 2). La histidina, arginina y metionina presentaron mayor porcentaje en los huevos, en comparación con los porcentajes observados para larvas recién eclosionadas y larvas sin vitelo. El porcentaje del resto de los AA fue mayor

²Statistical Graphics Corporation, Published by: STSC, Inc., Software Publishing Group, 2115 East Jefferson Street, Rockville, MD 20852, USA

Tabla 1. Resultados del análisis proximal (en base seca) de los diferentes estadios evaluados del pargo flamenco *Lutjanus guttatus* / Proximate composition (dry matter) of the different stages evaluated of spotted rose snapper *Lutjanus guttatus*

Estadio	Humedad (%)	Proteínas (%)	Lípidos (%)	Cenizas (%)
Huevos fertilizados	82,9 ± 0,2 ^a	43,54 ± 0,33 ^a	8,66 ± 0,07 ^b	ND
Larvas recién eclosionadas	92,54 ± 0,1 ^b	61,20 ± 0,11 ^b	3,73 ± 0,08 ^a	7,97 ± 0,17
Larvas sin vitelo (4 DDE)	92,3 ± 0,2 ^b	65,5 ± 0,10 ^c	3,08 ± 0,06 ^a	11,54 ± 0,20

Los valores representan la media ± la desviación estándar (N= 3)
Los superíndices diferentes en las columnas indican diferencias significativas ($P < 0,05$)

Tabla 2. Perfil de aminoácidos en huevos fertilizados, larvas recién eclosionadas y larvas sin vitelo del pargo flamenco *Lutjanus guttatus* / Amino acid profiles of eggs and larvae of spotted rose snapper *Lutjanus guttatus*

Aminoácidos (g AA 100g de muestra ⁻¹)	Huevos fertilizados	Larvas recién eclosionadas	Larva sin vitelo (4 DDE)
Aminoácidos esenciales			
Histidina	5,29 ± 1,13 ^b	2,68 ± 0,19 ^a	1,96 ± 0,23 ^a
Arginina	9,19 ± 0,41 ^b	4,56 ± 0,87 ^a	3,64 ± 0,30 ^a
Treonina	2,47 ± 0,23 ^a	2,92 ± 0,19 ^b	3,37 ± 0,07 ^c
Metionina	1,72 ± 0,29 ^b	0,13 ± 0,03 ^a	0,16 ± 0,01 ^a
Valina	1,92 ± 0,75 ^a	2,54 ± 0,25 ^{ab}	3,58 ± 0,12 ^c
Fenilalanina	1,92 ± 0,28 ^a	2,95 ± 0,01 ^b	3,48 ± 0,01 ^c
Isoleucina	1,27 ± 0,18 ^a	1,80 ± 0,14 ^b	2,41 ± 0,05 ^c
Leucina	3,93 ± 0,26 ^a	5,70 ± 0,17 ^b	6,28 ± 0,04 ^c
Lisina	2,48 ± 0,69 ^a	5,99 ± 0,55 ^b	7,64 ± 0,18 ^c
Aminoácidos no esenciales			
Aspártico	1,60 ± 0,65 ^a	5,12 ± 1,18 ^b	4,17 ± 0,59 ^b
Alanina	3,66 ± 0,23 ^a	4,74 ± 0,17 ^b	5,73 ± 0,11 ^c
Glutamato	5,60 ± 1,58 ^a	9,34 ± 0,86 ^b	10,59 ± 0,44 ^b
Serina	3,64 ± 0,30	4,04 ± 0,20	3,94 ± 0,22
Glicina	3,38 ± 1,15	3,92 ± 0,79	5,17 ± 0,46
Tirosina	1,53 ± 0,32 ^a	3,16 ± 0,04 ^c	2,18 ± 0,02 ^b
Taurina	6,01 ± 0,83 ^b	1,57 ± 0,30 ^a	1,17 ± 0,01 ^a

Los resultados son la media ± la desviación estándar (N= 3)
Superíndices diferentes en los renglones denotan diferencias significativas ($P < 0,05$)

en las larvas que consumieron el vitelo y la gota de aceite ($P < 0,05$) (Tabla 2). En cuanto a los aminoácidos no esenciales (AANE), solo la taurina presentó un mayor porcentaje en los huevos ($F_{(2,7)} = 63,92$, $P = 0,0003$). Los valores de serina y glicina no presentaron diferencias significativas ($P > 0,05$) entre los estadios evaluados. El glutamato ($F_{(2,7)} = 13,26$, $P = 0,01$) y aspártico ($F_{(2,7)} = 12,28$, $P = 0,0118$) fueron estadísticamente

iguales en los dos estadios larvales evaluados y significativamente mayores a las cantidades presentes en los huevos fertilizados. La alanina fue significativamente mayor en las larvas sin vitelo ($F_{(2,7)} = 70,80$, $P = 0,0002$) y en cambio la tirosina fue significativamente más alta en las larvas recién eclosionadas ($F_{(2,7)} = 45,64$, $P = 0,0006$).

DISCUSIÓN

En general, los huevos pelágicos de peces marinos, como es el caso del pargo flamenco *Lutjanus guttatus*, se desarrollan como un sistema casi completamente cerrado, solo los gases respiratorios y calor se intercambian libremente y solamente existe intercambio de cantidades insignificantes de solutos y agua entre el medio ambiente y el huevo debido a la baja permeabilidad de la superficie de la membrana de los huevos (Ronnestad *et al.* 1993). Los huevos desovados deben contener una reserva endógena de todos los nutrientes necesarios, presentes principalmente en el vitelo, para la homeostasis y desarrollo embrionario (Ohkubo & Matsubara 2002, Syama *et al.* 2003), y hasta que inicie la alimentación exógena las larvas dependen completamente del contenido nutricional del vitelo (Gunasekera *et al.* 1999). Las proteínas son las biomoléculas más abundantes; representando en varias especies, más del 50% del contenido total de nutrientes presentes en el vitelo (Zavala 2011), como fue el caso en el presente estudio; donde el porcentaje de proteína en las larvas representó más del 60% del total de nutrientes presentes. Los lípidos totales son el siguiente componente más abundante de las reservas del vitelo en la mayoría de los peces marinos y se encuentran principalmente en los glóbulos de aceite (Zavala 2011). En el pargo flamenco, el porcentaje de lípidos disminuyó significativamente al eclosionar la larva. En otras especies de peces como *Gadus morhua* (Finn *et al.* 1995) y *Pseudopleuronectes americanus* (Cetta & Capuzzo 1982) se ha observado que al momento de la primera alimentación de la larva, la cantidad de lípidos decrece. Zavala (2011) menciona que antes de la eclosión, para la producción de energía se consumen principalmente los carbohidratos, después los lípidos y por último las proteínas. Por el contrario, después de la eclosión, durante el periodo de alimentación endógena, los lípidos neutros derivados del glóbulo de aceite son la principal fuente de energía (Ronnestad *et al.* 1992, 1994). Los datos obtenidos en el presente estudio respecto a los cambios bioquímicos en huevos y larvas son similares a los reportados para otras especies de peces como *Scophthalmus rhombus* (Cruzado *et al.* 2013), *Heterotis niloticus* (Monentcham *et al.* 2010), *Maccullochella peelii* y *M. macquariensis* (Gunasekera *et al.* 1999), *Lates calcarifer* (Syama *et al.* 2003), entre otras.

Es difícil determinar el requerimiento de AA de las larvas de peces debido a la poca aceptabilidad de las dietas formuladas y la dificultad para manipular el perfil de AA en el alimento vivo (Conceição *et al.* 2010, Hamre *et al.* 2013); por lo cual, se ha propuesto utilizar el perfil de AAE del carcas o músculo de los peces como un buen índice de requerimiento de AAE, tanto para las larvas, como para juveniles y adultos de peces (Conceição *et al.* 2003, Li *et al.* 2013, Saavedra

et al. 2015). Sin embargo, aunque el perfil de AAE de juveniles es constante entre las especies, algunas especies presentan cambios ontogénicos en el perfil de AA durante el desarrollo larval (Gunasekera *et al.* 1999, Ohkubo & Matsubara 2002, Syama *et al.* 2003, Brown *et al.* 2005, Conceição *et al.* 2010, Monentcham *et al.* 2010, Cruzado *et al.* 2012, Saavedra *et al.* 2015, Song *et al.* 2016). Especies con marcada metamorfosis presentan cambios más pronunciados en el perfil de AA durante la ontogenia que las especies con metamorfosis más leve (Pinto *et al.* 2010). Los cambios en el perfil de AA durante la ontogenia probablemente se reflejarán en el requerimiento de AAE aun cuando estos cambios sean muy pequeños; por ejemplo, en las larvas de *Clarias gariepinus* al disminuir el 0,5% de metionina en el perfil de AAE, aumenta en 0,2 veces el requerimiento de este aminoácido (Conceição *et al.* 1998). Las variaciones en el perfil de AA durante el desarrollo larval de las diferentes especies de peces pueden estar asociadas al crecimiento alométrico de las larvas, ya que el desarrollo de los diferentes órganos y tejidos ocurre a diferentes tiempos durante la ontogenia de cada especie (Conceição *et al.* 1997, 2003; Hamre *et al.* 2013). Durante el desarrollo de las larvas de *Psetta maxima* el porcentaje de valina, isoleucina y treonina tiende a incrementarse, y la lisina, fenilalanina y arginina disminuyen (Conceição *et al.* 1997). En larvas de *Lutjanus campechanus* disminuyó el porcentaje de isoleucina, valina y arginina y los valores de triptófano y fenilalanina aumentaron (Hastey *et al.* 2010). Para *Sparus aurata* se reportó que al final de la alimentación endógena los AAE predominantes fueron leucina, isoleucina, metionina y valina (Naz 2009). En el presente trabajo, los valores de histidina, arginina y metionina disminuyeron al eclosionar la larva y el valor del resto de los AAE aumentó conforme se desarrolló la larva de *L. guttatus*. Se ha sugerido que los AA en huevos pelágicos es la principal fuente para la producción de energía durante el desarrollo embrionario de varias especies como *Sparus aurata* (Ronnestad *et al.* 1994, Naz 2009), *Pseudopleuronectes americanus* (Cetta & Capuzzo 1982), *Verasper moseri* (Ohkubo & Matsubara 2002), *Scophthalmus rhombus* (Cruzado *et al.* 2012), entre otras. Además, los primeros estadios larvales de los peces marinos tienen alto requerimiento de AA, debido en parte a las altas tasas de crecimiento comparada con los estadios adultos y a la necesidad de más AA que proporcionen energía para las larvas (Conceição *et al.* 2010). Las larvas de peces tienen un estricto control sobre el metabolismo de los AA, utilizando preferentemente los AANE para la producción de energía y los AAE para el crecimiento. Sin embargo, Song *et al.* (2016) reportaron que las larvas de *Platichthys stellatus* agotaron

más rápidamente las reservas de AAE que los AANE, lo cual puede estar asociado a que las larvas de este lenguado utilizan los AAE para la organogénesis.

En el presente estudio se observó que la taurina se encontró en mayor porcentaje en los huevos que en los demás estadios evaluados. La taurina se ha reportado como un importante aminoácido para la regulación osmótica en peces marinos, específicamente en el mantenimiento de la osmolaridad del fluido corporal (Aragao *et al.* 2010). Pinto *et al.* (2010) observó que para las larvas de *Solea senegalensis*, la taurina puede ser necesaria para la metamorfosis y crecimiento. Portella *et al.* (2013) mencionaron que la taurina juega un rol principal en la regulación de la presión osmótica en las especies marinas. En base a los presentes resultados se puede sugerir que las larvas de pargo flamenco también utilizan la taurina para el crecimiento y metamorfosis de la larva.

Los estadios tempranos de los peces marinos involucran procesos complejos para la diferenciación y el crecimiento. Conocer la evolución de la composición bioquímica de los primeros estadios de estos organismos proporciona una fuente valiosa para comprender mejor las necesidades nutricionales para el comienzo de la alimentación exógena (Hamre *et al.* 2013). El perfil de AA de los huevos y larvas puede utilizarse como un indicador aproximado del requerimiento de AAE. Sin embargo, este análisis solo considera el requerimiento de AA para la síntesis de proteínas, no el requerimiento para las demandas metabólicas de rutina o para fines distintos a la síntesis de proteínas (Conceição *et al.* 2010).

El presente trabajo es el primer reporte que describe el contenido bromatológico y perfil de AA de huevos, larvas recién eclosionadas y larvas sin vitelo (4 DDE) de *L. guttatus*. Las variaciones encontradas en el perfil de AA en los estadios evaluados son similares a los reportados para otras especies de peces marinos. Los datos obtenidos podrán utilizarse como un indicador aproximado del requerimiento de AAE de las larvas de pargo flamenco y coadyuvar a optimizar los protocolos de alimentación y el desarrollo de dietas balanceadas para mejorar el crecimiento y supervivencia de las larvas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la MPA N García-Aguilar por proporcionar los huevos de pargo flamenco y a V Williams por la traducción del resumen y revisión del texto.

LITERATURA CITADA

- Abdo de la Parra MI, LE Rodríguez Ibarra, G Rodríguez-Montes de Oca & L Ibarra-Castro. 2015. Conocimiento del estado actual de la larvicultura del pargo flamenco (*Lutjanus guttatus*). Latin American Journal of Aquatic Research 43(3): 415-423.
- Álvarez-Lajonchère L, L Ibarra-Castro & N García-Aguilar. 2011. Reproducción controlada. En: Álvarez-Lajonchère LS & A Puello-Cruz (eds). El pargo flamenco: *Lutjanus guttatus*. Producción controlada de huevos, larvas y juveniles, pp. 25-58. Clave Editorial, México.
- Aragao C, B Costas, L Vargas-Chacoff, I Ruíz-Jarabo, MT Dinis, JM Mancera & LEC Conceição. 2010. Changes in plasma amino acid levels in a euryhaline fish exposed to different environmental salinities. Amino Acids 38: 311-317.
- Boza-Abarca J, E Calvo-Vargas, N Solís-Ortiz & J Komen. 2008. Induced spawning and larval rearing of spotted rose snapper, *Lutjanus guttatus*, at the Marine Biology Station, Puntarenas, Costa Rica. Ciencias Marinas 34: 239-252.
- Brown MR, SC Battaglene, DT Morehead & M Brock. 2005. Ontogenetic changes in amino acid and vitamins during early larval stages of striped trumpeter (*Latris leneata*). Aquaculture 248: 263-274.
- Buentello JA, C Pohlenz, D Margulies, VP Scholey, JB Wexler, D Tovae-Ramírez, WH Neill, P Hinojosa-Baltazar & DM Gatlin III. 2011. A preliminary study of digestive enzyme activities and amino acid composition of early juvenile yellowfin tuna (*Thunnus albacares*). Aquaculture 312: 205-211.
- Castelló FC. 2011. Situación actual de la acuicultura. En: Castelló FC (ed). Piscicultura marina en Latinoamérica, pp. 13-17. Universitat de Barcelona, Barcelona.
- Cetta CM & JM Capuzzo. 1982. Physiological and biochemical aspects of embryonic and larval development of the Winter flounder *Pseudopleuronectes americanus*. Marine Biology 71: 327-337.
- Conceição LEC, T van der Meeren, JA Verret, MS Evjen, DF Houlihan & HJ Fyhn. 1997. Amino acid metabolism and protein turnover in larval turbot (*Scophthalmus maximus*) fed natural zooplankton or *Artemia*. Marine Biology 129: 255-265.
- Conceição LEC, R Ozorio, EA Surud & JA Verreth. 1998. Amino acids profiles and amino acid utilization in larval African catfish (*Clarias gariepinus*): effects of ontogeny and temperature. Fish Physiology and Biochemistry 19: 43-57.
- Conceição LEC, H Grasdalen & I Rønnestad. 2003. Amino acid requirements of sh larvae and post-larvae: new tools and recent findings. Aquaculture 227: 221-232.
- Conceição LEC, C Aragao & I Rønnestad. 2010. Protein metabolism and amino acid requirements in fish larvae. En: Cruz-Suárez LE, D Ricque, D Tapia, M Nieto, D Villarreal & J Gamboa (eds). Avances en nutrición acuícola. Memorias del X Simposio Internacional de Nutrición Acuícola, pp. 250-263. Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás de los Garza.
- Cruzado IH, E Rodríguez, M Herrera, A Lorenzo & E Almansa. 2013. Changes in lipid classes, fatty acids, protein and amino acids during egg development and yolk-sac larvae stage in brill (*Scophthalmus rhombus* L.). Aquaculture Research 44(10): 1568-1577.

- Dabrowski K & MC Portella. 2005.** Feeding plasticity and nutritional physiology in tropical sh. In: Val AL & DJ Randal (eds). *Fish physiology* 21: 155-224. Academic Press, San Diego.
- Dabrowski K, BF Terjensen, Y Zhang, JM Phang & KJ Lee. 2005.** A concept of dietary dipeptides: a step to resolve the problem of amino acid availability in the early life of vertebrates. *The Journal of Experimental Biology* 208: 2885-2894.
- Finn RN & HJ Fyhn. 2010.** Requirement for amino acids in ontogeny of fish. *Aquaculture Research* 41: 684-716.
- Finn RN, HJ Fyhn & RJ Henderson. 1996.** The sequence of catabolic substrate oxidation and enthalpy balance of developing embryos and yolk-sac larvae of turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Comparative Biochemistry and Physiology* 115(2): 133-151.
- Gunasekera RM, SS De Silva & BA Ingram. 1999.** The amino acid profiles in developing eggs and larvae of the freshwater Percichthyid fishes, trout cod, *Maccullochella macquarensis* and Murray cod, *Maccullochella peelii peelii*. *Aquatic Living Resources* 12(4): 255-261.
- Hamre K, M Yúfera, I Rønnestad, C Boglione, LEC Conceicao & M Izquierdo. 2013.** Fish larval nutrition and feed formulation: knowledge gaps and bottlenecks for advances in larval rearing. *Reviews in Aquaculture* 5(1): 526-558.
- Hastey RP, RP Phelps, DA Davis & KA Cummins. 2010.** Changes in free amino acids profile of red snapper *Lutjanus campechanus*, eggs, and developing larvae. *Fish Physiology and Biochemistry* 36: 473-481.
- Ibarz A, J Blanco & J Fernández. 2011.** Bases metabólicas de la nutrición. En: Castelló FC (ed). *Piscicultura marina en Latinoamérica*, pp. 96-111. Universitat de Barcelona, Barcelona.
- Kwasek K, Y Zhang, P Hliwa, P Gomulka, T Ostaszewska & K Dabrowski. 2009.** Free amino acids as indicators of nutritional status of silver bream (*Vimba vimba*), when using commercial and purified diets. *Comparative Biochemistry and Physiology* 153: 113-119.
- Li W, Q Ai, K Mai, W Xu, Y Luo & Y Zhang. 2013.** Effects of dietary amino acid patterns on growth and protein metabolism of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) larvae. *Aquaculture* 406: 1-8.
- Monentcham SE, B Whatelet, V Pouomogne & P Kestemont. 2010.** Egg and whole-body amino acid profile of african bonytongue (*Heterotis niloticus*) with an estimation of their dietary indispensable amino acid requirements. *Fish Physiology and Biochemistry* 36: 531-538.
- Naz M. 2009.** Ontogeny of biochemical phases of fertilized eggs and yolk sac larvae of Gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). 2009. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 9: 77-83.
- Ohkubo N & T Matsubara. 2002.** Sequential utilization of free amino acids, yolk proteins and lipids in developing eggs and yolk-sac larvae of barfin flounder *Verasper moseri*. *Marine Biology* 140: 187-196.
- Pinto W, L Figueira, L Ribeiro, M Yúfera, MT Dinis & C Aragao. 2010.** Dietary taurine supplementation enhances metamorphosis and growth potential of *Solea senegalensis* larvae. *Aquaculture* 309: 159-164.
- Portella MC, R Takata & NJ Leitão. 2013.** Free amino acids in Pacu, *Piaractus mesopotamicus*, eggs and larvae *Journal of World Aquaculture Society* 44(3): 425-434.
- Rønnestad I, HJ Fyhn & K Gravingen. 1992.** The importance of free amino acids to energy metabolism of eggs and larvae turbot (*Scophthalmus maximus*). *Marine Biology* 114: 517-525.
- Rønnestad I, EP Groot & HJ Fyhn. 1993.** Compartmental distribution of free amino acids and protein in developing yolk-sac larvae of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Marine Biology* 116: 349-354.
- Rønnestad I, WM Koven, A Tandler, M Harel & HJ Fyhn. 1994.** Energy metabolism during development of eggs and larvae of gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Marine Biology* 120: 187-196.
- Saavedra M, A Cadeias-Mendes, S Castanho, B Teixeira, R Mendes & P Pousao-Ferreira. 2015.** Amino acid profile of meagre (*Argyrosomus regius*) larvae: Towards the formulation of an amino acid balance diet. *Aquaculture* 448: 315-320.
- Seoka M, S Yamada & H Kumai. 2004.** Free amino acids in Japanese eel eggs obtained by hormonal inducement. *Journal of Fish Biology* 65(2): 592-596.
- Sink TD, RT Lochmann, C Pohlenz, A Buentello & D Gatlin III. 2010.** Effects of dietary protein source and protein-lipid source interaction on channel catfish (*Ictalurus punctatus*) egg biochemical composition, egg production and quality, and fry hatching percentage and performance. *Aquaculture* 298: 251-259.
- Song Z, W Jiying, Q Hongjin, L Peiyu, Z Limin & X Bin. 2016.** Ontogenetic changes in digestive enzyme activities and the amino acid profile of starry flounder *Platichthys stellatus*. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology* 34(5): 1013-1024.
- Syama-Dayal J, A Ahamad, AR Thirunavukkarasu, M Kailasam & R Subburaj. 2003.** Nutrient and amino acid profiles of egg and larvae of Asian seabass, *Lates calcarifer* (Bloch). *Fish Physiology and Biochemistry* 29: 141-147.
- Vázquez-Ortiz F, G Caire, I Higuera-Ciapara & G Hernández. 1995.** High performance liquid chromatographic determination of free amino acids in shrimp. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* 18: 2059-2068.
- Williams KN, N Papanikos, R Phelps & J Shardo. 2004.** Development, growth and yolk utilization of hatchery-reared red snapper *Lutjanus campechanus* larvae. *Marine Ecology Progress series* 275: 231-239.
- Wu G. 2009.** Amino acids: metabolism, functions and nutrition. *Amino Acids* 37: 1-17.

Zavala I. 2007. Efecto de la temperatura, intensidad de luz, tipo y densidad de presa en la eficiencia alimenticia durante la ontogenia inicial del huachinango del Pacífico (*Lutjanus peru*). Tesis de Maestría, CCIMAR-IPN, La Paz, 52 pp. <<http://www.repositoriodigital.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/14203/zavalal1.pdf?sequence=1>>

Zavala I. 2011. Caracterización bioquímica del consumo de reservas vitelinas en peces teleósteos de ontogenia indirecta. Revista Electrónica de Veterinaria 12(3): 1-32.

Recibido el 28 de agosto de 2016 y aceptado el 7 de junio de 2017

Editor: Claudia Bustos D.