

Universidad de La Laguna
Facultad de Ciencias: Sección de Biología
Departamento de Biología Animal, Edafología y Geología

**Efecto de la inclusión de algas de arribazón de las
Islas Canarias en la dieta de la carpa herbívora
(*Ctenopharyngodon idella*).**

**Effect of the inclusion of macroalgal wracks from
the Canary Islands in the diet of herbivorous carp
(*Ctenopharyngodon idella*).**

Trabajo de Fin de Grado

David Barrios Lorenzo

Tutorizado por Covadonga Rodríguez González y Ana Galindo Giménez

Grado en Biología. Julio 2020.

El presente trabajo forma parte del Proyecto Interreg MACBIOBLUE (MAC/1.1b/086), “Proyecto demostrativo y de transferencia tecnológica para ayudar a las empresas a desarrollar nuevos productos y procesos en el ámbito de la Biotecnología Azul de la Macaronesia”.

Financiación: Interreg MAC 2014-2020 Cooperación Territorial.



MACBIOBLUE
Nuevos Productos y Procesos en el Ámbito
de la Biotecnología Azul de la Macaronesia



Índice

Resumen	1
Abstract	1
1. Introducción	2
1.1. El estado actual de la acuicultura	2
1.2. Importancia de los lípidos en la nutrición de peces y síntesis de LC-PUFA	3
1.3. Oxidación de lípidos y estrés oxidativo	7
1.4. Las algas como fuentes alternativas sostenibles de alimentación	8
1.5. La carpa <i>Ctenopharyngodon idella</i>, especie objeto de estudio	9
2. Objetivos	10
3. Material y métodos	10
3.1. Diseño experimental	11
3.2. Cálculo de índices de crecimiento y grasa, y extracción de tejido muscular	12
3.3. Extracción de lípidos y determinación de humedad del tejido muscular	13
3.4. Determinación del perfil de ácidos grasos	14
3.5. Determinación de la composición lipídica del pienso	15
3.6. Determinación de peróxidos lipídicos en el tejido muscular	17
3.7. Análisis estadístico	17
4. Resultados y discusión	18
4.1. Crecimiento en peso	18
4.2. Índices de grasa	19
4.3. Perfil de ácidos grasos de <i>C. idella</i>	20
4.4. Oxidación del músculo	24
5. Conclusiones	26
6. Bibliografía	27
ANEXO I: PÓSTER PRESENTADO EN EL CONGRESO DE LA SOCIEDAD IBÉRICA DE ICTIOLOGÍA, 2020	29

Resumen

El uso de las algas como alternativa sostenible en la fabricación de piensos para acuicultura está suponiendo una auténtica revelación en los últimos años. En este trabajo se estudió el efecto de la inclusión de algas de arribazón presentes en las Islas Canarias en la dieta de la carpa herbívora, *Ctenopharyngodon idella*. Para ello, se utilizó una dieta basada en un pienso comercial (tratamiento control) y el mismo pienso con inclusión inicial de un 20%, seguida de un 15% de algas de arribazón (tratamiento experimental). Con objeto de estudiar los beneficios que pudieran tener las algas sobre los ejemplares, se estudiaron diferentes índices de crecimiento y de acumulación de grasa visceral, así como el contenido lipídico y perfil de ácidos grasos del tejido muscular y el índice de peróxidos del músculo. Se observó un crecimiento menor en los individuos experimentales, aunque con una deposición de grasa visceral y abdominal menor. El contenido total de lípido y el perfil de ácidos grasos del músculo fue similar entre los dos tratamientos mientras que el índice de peróxidos fue menor en el tratamiento experimental. La inclusión de 15-20% de algas de arribazón provocó una disminución en el crecimiento de las carpas, aunque aportó efectos positivos en su estado de salud, posiblemente favorecidos por la actividad lipolítica y antioxidante descrita para las algas.

Abstract

The use of algae as a sustainable alternative in the aquaculture feeding has been a real revelation in recent years. In this study, the effect of the inclusion of macroalgal wracks from the Canary Islands in the diet of the grass carp, *Ctenopharyngodon idella*, was studied. For this, a diet based on a commercial feed (control treatment) and the same feed with initial inclusion of 20%, followed by 15% macroalgal wracks (experimental treatment) was used. In order to study the benefits that the algae could have on the specimens, different rates of growth and accumulation of visceral fat were studied, as well as the lipid content and fatty acid profile of muscle tissue and the muscle peroxide index. Lower growth was observed in experimental individuals, although with a lower visceral and abdominal fat deposition. Total lipid content and fatty acid profile were similar between treatments while peroxide index was lower in the experimental treatment. The inclusion of 15-20% of macroalgal wracks caused a decrease in the growth of carp, although it provided positive effects on their health status, possibly favored by the lipolytic and antioxidant activity described for algae.

Keywords: *Ctenopharyngodon idella*, macroalgal wracks, LC-PUFA and antioxidants.

1. Introducción.

1.1. El estado actual de la acuicultura.

Uno de los mayores desafíos a los que se enfrenta la humanidad es alimentar a los 9600 millones de personas que se estima que habitarán este planeta en el año 2050. La creciente demanda global de productos acuáticos sanos y nutritivos es un reto al que sólo ha sido posible hacer frente sumando la producción de la acuicultura a la pesca, dos actividades que seguirán de la mano al menos en las próximas décadas (APROMAR, 2018). La producción mundial de acuicultura fue en 2017 de 111,9 millones de toneladas, un 3,5% más que el año anterior; superando a la producción de la pesca extractiva en 18,3 millones de toneladas. El progreso de la acuicultura en las cuatro últimas décadas revela no sólo la vitalidad de esta actividad como técnica productiva, sino también la capacidad de innovación, emprendimiento y aprovechamiento sostenible de los recursos disponibles. La Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAO) considera que la acuicultura contribuye a la utilización eficaz de los recursos naturales, a la seguridad alimentaria y al desarrollo económico, con un limitado y controlable impacto sobre el medio ambiente (APROMAR, 2019).

La Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible de las Naciones Unidas y sus 17 Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) ofrecen un planteamiento único, transformador e integrador para colocar al mundo en una senda sostenible y resiliente. La alimentación y la agricultura son fundamentales para la consecución de todo el conjunto de los ODS. También se fijan objetivos relativos a la contribución y la práctica de la pesca y la acuicultura en pro de la seguridad alimentaria y la nutrición, así como la utilización de los recursos naturales por parte del sector, de tal manera que se garantice un desarrollo sostenible en términos económicos, sociales y ambientales (FAO, 2018). Según la FAO el desarrollo sostenible es la gestión y conservación de los recursos naturales y el cambio en la orientación tecnológica e institucional que asegure el alcance y la continua satisfacción de las necesidades humanas para las generaciones actuales y futuras (Borja, 2011).

Así, se han disminuido los esfuerzos pesqueros sobre especies altamente cotizadas en el mercado, evitando su desaparición. Sin embargo, la acuicultura no está exenta de problemas, siendo uno de los principales la sostenibilidad de la actividad. En este sentido las especies más cultivadas en Europa son fundamentalmente carnívoras, lo que implica que los piensos tengan un alto porcentaje de biomasa animal y, para asegurar la calidad nutricional, un alto contenido

en ácidos grasos poliinsaturados (PUFA). Esto se ha conseguido con la fabricación de los piensos con harinas y aceites de pescado, lo que ha implicado un índice FIFO (del inglés, *Fish in Fish out*) demasiado elevado que ha contribuido a la pérdida de la diversidad marina. Sin embargo, este índice se ha ido reduciendo en los últimos años de tal manera que aproximadamente con 1 kg de pescado silvestre utilizado, se producen 4,5 kg de pescado de cultivo (IFFO, 2017). La producción de harina de pescado alcanzó su máximo en 1994 con 30 millones de toneladas (equivalente en peso vivo) y desde entonces ha seguido una tendencia fluctuante, pero en general descendente. Además, los subproductos del pescado, los cuales solían desperdiciarse, se están utilizando cada vez más con esta finalidad, representando aproximadamente el 25-35% del volumen total de la harina y aceite de pescado producidos. Estos dos ingredientes siguen siendo considerados los más nutritivos y digeribles para los piensos destinados a los peces cultivados, pero su tasa de inclusión en los piensos para acuicultura ha mostrado una clara tendencia a la baja debido a que se usan de manera más selectiva (FAO, 2018).

El pescado es un pilar fundamental en la dieta ya que ofrece proteína de alta calidad, es fácilmente digerible y contiene aminoácidos y ácidos grasos esenciales omega-3 de cadena larga (n-3 LC-PUFA), vitaminas (D, A y B) y minerales (calcio, iodo, zinc, hierro y selenio). Sin embargo, en un sistema de cultivo intensivo, la composición de los peces cultivados puede verse afectada por dietas artificiales ricas en grasas y la composición y deposición de los lípidos influye aún más en el valor nutritivo y las propiedades organolépticas del pescado (Xuan et al., 2019).

Por tanto, es fundamental encontrar fuentes alternativas más sostenibles, que sean además de alta palatabilidad y digestión, disminuyendo el impacto ejercido sobre los ecosistemas marinos, sin mermar el estado de salud y bienestar de los ejemplares de cultivo ni la calidad del producto final (APROMAR, 2018).

1.2. Importancia de los lípidos en la nutrición de peces y síntesis de LC-PUFA.

Las funciones biológicas de los lípidos son diversas. En muchos organismos las grasas neutras, principalmente triacilglicéridos, son las formas principales de almacenamiento energético, mientras que los fosfolípidos y esteroides constituyen los principales elementos estructurales de las membranas biológicas. Otros derivados lipídicos, como las hormonas esteroideas o los

eicosanoides y docosanoides, aun estando presentes en pequeñas cantidades en los organismos, juegan papeles cruciales como cofactores enzimáticos, transportadores electrónicos, pigmentos que absorben luz, etc. (Cox et al., 2006). Aproximadamente el 95% de los lípidos son triacilglicéridos que contienen una molécula de glicerol (un alcohol) y tres ácidos grasos. Desde el punto de vista químico, los ácidos grasos (AG) son cadenas hidrocarbonadas que terminan en un grupo carboxilo en un extremo y en un grupo metilo en el otro. Pueden clasificarse según el número de dobles enlaces (insaturaciones) que presenten en la cadena hidrocarbonada (saturados, monoinsaturados y poliinsaturados) y por la longitud de su cadena (desde corta, con 4-6 carbonos hasta muy larga con 22 carbonos o más). De acuerdo con la posición del primer doble enlace denominado omega, contando a partir del extremo metilo, existen tres familias de ácidos grasos poliinsaturados principales: omega-3 (n-3), omega-6 (n-6) y omega-9 (n-9) (González, 2002).

Concretamente AG como los n-3 LC-PUFA, son componentes de gran importancia en el desarrollo (principalmente el cerebro, los ojos y los nervios) y tienen numerosos efectos beneficiosos incluyendo un menor riesgo de cáncer, enfermedades cardiovasculares, trastornos de la piel, ansiedad y estrés, obesidad, inflamación, artritis reumatoide, osteoporosis, asma y alergias (Cortés et al., 2013; Roy et al., 2020).

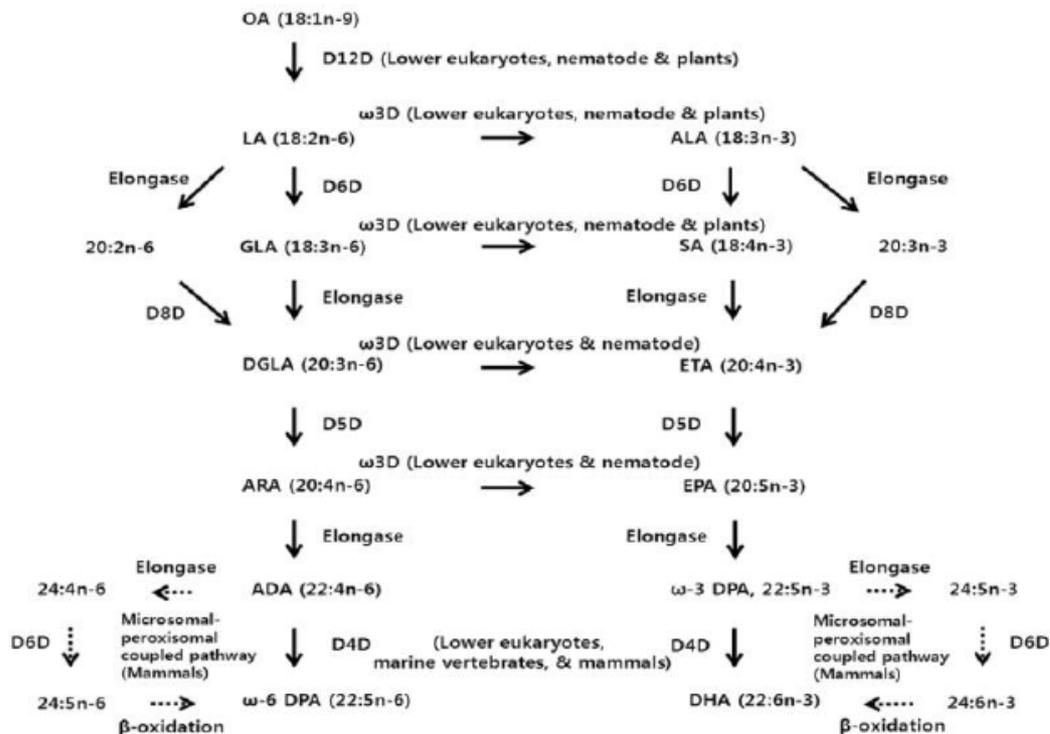
Los peces presentan un perfil lipídico rico en estos PUFA (Tocher, 2003) destacando los LC-PUFA, con 20 o más átomos de carbono y 3 o más dobles enlaces. Entre ellos se incluye el ácido eicosapentaenoico (EPA; 20:5 n-3) y el ácido docosahexaenoico (DHA; 20:6 n-3) (Tocher, 2003). El ácido araquidónico (ARA; 20:4 n-6), aun siendo menos abundante en los ambientes acuáticos es también un LC-PUFA fisiológicamente esencial. Los ácidos grasos juegan un papel muy importante ante los cambios de temperatura ya que su presencia y la capacidad de modificación de las longitudes de cadena y del número de insaturaciones de éstos permite modificar la fluidez y otras propiedades fisiológicas de la membrana, hecho esencial para adaptarse a los cambios de salinidad, temperatura y presión en el ambiente en el que habitan (Rodríguez et al., 2012). Además, entre las funciones de los ácidos grasos PUFA de 20C se encuentra la de ser precursores de eicosanoides principalmente proinflamatorios (ARA) o antiinflamatorios (EPA) (Lee et al., 2016).

Los LC-PUFA se sintetizan a partir del ácido linoleico (LA; 18:2 n-6), en la serie n-6 y el ácido α -linolénico (ALA; 18:3n-3), en la serie n-3. Así, en la síntesis de los LC-PUFA intervienen las enzimas desaturasas, encargadas de añadir un doble enlace a la cadena hidrocarbonada, y las

elongasas, que añaden dos átomos de carbono mediante una reacción de condensación. Estas enzimas están codificadas por los genes *fads* y *elovl*, respectivamente. Al contrario que en mamíferos, donde se han caracterizado los genes *fads1* y *fads2*, en teleósteos solo se ha caracterizado *fads2*, presentando una gran variabilidad en su expresión enzimática. Así, se han descrito Fads2 con actividad desaturasa $\Delta 5$, $\Delta 6$, bifuncionales $\Delta 5/\Delta 6$, e incluso $\Delta 8$ y $\Delta 4$. La capacidad de síntesis de LC-PUFA en los animales dependerá de la expresión génica y actividad enzimática en sus tejidos (Tocher, 2003).

Ningún vertebrado estudiado hasta la fecha posee la capacidad de sintetizar $18:2n-6$ ni $18:3n-3$ a partir del ácido oleico, debido a que tienen bloqueadas las desaturasas con actividad $\Delta 12$ y $\Delta 15$, respectivamente. Por lo tanto, son considerados ácidos grasos esenciales y deben ser consumidos en la dieta. A partir de los precursores de 18 átomos de carbono, se suceden una serie de reacciones de desaturación y elongación que dan lugar a la formación de los LC-PUFA. Así, la síntesis de $20:3n-6$ a partir de $18:2n-6$ se produce mediante una desaturación por la $\Delta 6$ y luego una elongación (Fig. 1). Alternativamente, puede tener lugar primero una elongación sobre el $18:2 n-6$ seguida de una desaturación por la $\Delta 8$. A partir del $20:3n-6$, por una desaturación de la $\Delta 5$, dará lugar al ARA. La síntesis de EPA se produce a partir del $18:3n-3$ y requiere las mismas enzimas que el ARA (Castro et al., 2016). Finalmente, la síntesis de DHA se produce habitualmente a través de la llamada “vía de Sprecher”, requiriendo dos elongaciones más, una desaturación por la $\Delta 6$ y un acortamiento final de la cadena de 24C a través de la oxidación peroxisomal (Castro et al., 2016). Recientemente se ha descubierto una ruta alternativa para la síntesis de DHA mediante una $\Delta 4$ presente en primates, algunos vertebrados marinos y eucariotas primitivos. Esta ruta es una vía directa de desaturación a partir del $22:5n-3$, dando lugar al DHA (Lee et al., 2016).

Figura 1. Vía de síntesis de LC-PUFA desde 18:1 n-9 a compuestos de 22 átomos de carbono (Lee et al., 2016).

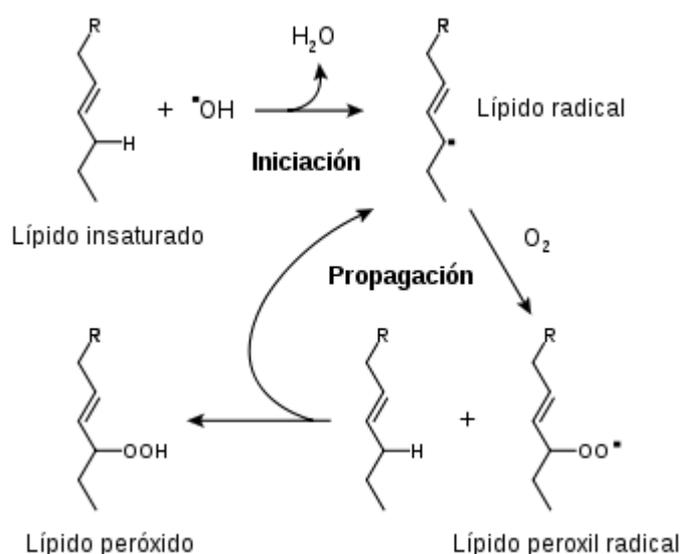


Debido a que las enzimas implicadas en la síntesis de LC-PUFA son las mismas en la serie n-3 y n-6, y a que, como ya se ha comentado anteriormente, el ARA es precursor de eicosanoides proinflamatorios mientras que el EPA lo es de los antiinflamatorios, debe existir un equilibrio dietario entre la serie n-6 y n-3 (Cortés et al., 2013). De acuerdo con los estudios recientes, esta relación (n-6/n-3) en las dietas occidentales está alrededor del 15-20:1, debiendo ser más cercana a la relación 1:1, la cual poseían nuestros antepasados (Kang, 2003). Esto es debido a que la dieta tiene un contenido calórico significativo en forma de grasas, caracterizado sobre todo por una alta proporción tanto de grasas saturadas (superior al 10%), como de grasas ricas en n-6 y pobres en n-3 (Candela et al., 2011). Asimismo, tiene lugar una alta tasa de ingesta de carne de herbívoros alimentados con piensos de semillas oleaginosas y un consumo de productos procedentes de dichas semillas (pasta, cereales, etc.), ricos en ácidos grasos n-6 (Cortés et al., 2013). Todo ello da como resultado un metabolismo pro-inflamatorio, pudiendo desencadenar así enfermedades cardiovasculares (Cortés et al., 2013). Por tanto, es de especial relevancia mantener el equilibrio dietario de los precursores, para asegurar el balance adecuado de los n-3 y los n-6 LC-PUFA.

1.3. Oxidación de lípidos y estrés oxidativo.

Debido a la existencia de dobles enlaces en la cadena, los PUFA en general y los n-3 LC-PUFA, en particular, son muy susceptibles a la oxidación lipídica. Este proceso es iniciado por un mecanismo de reacción en cadena de un radical libre, como peróxido de hidrógeno, anión superóxido o radical hidroxilo. En la mayoría de los casos afecta a los ácidos grasos poliinsaturados, debido a que contienen múltiples dobles enlaces entre los cuales se encuentran los grupos metileno (-CH₂) que poseen hidrógenos particularmente reactivos (Marnett, 1999; Venereo, 2002). Éstos reaccionarán con el oxígeno formando radicales peroxilos lipídicos. Consecuentemente los radicales peroxilos reaccionarán con una nueva molécula lipídica y esto dará lugar a la formación de peróxidos (Fig. 2). Todo este proceso puede prevenirse con la intervención de antioxidantes (Jacobsen, 2010).

Figura 2. Mecanismo de peroxidación lipídica (Young y McEneny, 2001).



En este sentido, determinadas enzimas como la catalasa, la superóxido dismutasa y enzimas dependientes de glutatión, así como compuestos de menor peso molecular como carotenoides, vitaminas E, C y K, aminoácidos y péptidos (glutatión), son conocidos por su capacidad antioxidante. Las algas marinas son una fuente de compuestos bioactivos que normalmente no se encuentran en plantas terrestres con numerosas aplicaciones biotecnológicas, como carotenoides, polisacáridos, lípidos, ácidos grasos n-3 LC-PUFA, pigmentos, vitaminas, polifenoles, aminoácidos tipo micosporinas y terpenoides (Álvarez-Gómez et al., 2016; Díaz-Gutiérrez et al., 2015), que funcionan como sistemas de defensa química para facilitar su supervivencia en ambientes extremadamente competitivos (Kelman et al., 2012).

Dentro de estos compuestos bioactivos que poseen las algas destaca la fucoxantina, un tipo de carotenoide que posee un efecto antioxidante además de anticancerígeno, antiinflamatorio, antiobesidad, neuroprotector, fotoprotector y preventivo de osteoporosis (Quitral et al., 2012).

1.4. Las algas como fuentes alternativas sostenibles de alimentación.

La creciente demanda pública de productos bioactivos procedentes de fuentes naturales, como las algas, ha fomentado el uso de piensos dietéticos alternativos capaces de conservar o mejorar las características de calidad de los peces de piscifactoría. Durante muchos años, las algas han sido consideradas como un recurso importante en los alimentos acuáticos, como un suplemento nutricional y como una fuente natural de compuestos bioactivos (Moutinho et al., 2018). Pueden crecer heterotróficamente en sustratos orgánicos baratos, con pocos requerimientos de luz, y bajo condiciones de cultivo bien controladas, representando una parte importante de los recursos marinos explotados en nuestro planeta, tanto a nivel extractivo como a través de su cultivo. A nivel mundial cada año se recogen en torno a 11,3 millones de toneladas de algas frescas mayoritariamente en países asiáticos, como China, Corea y Japón (APROMAR, 2018). Aproximadamente el 66% de las especies de algas conocidas se usan como alimento, siendo los países asiáticos los mayores consumidores, mientras que en países occidentales se utilizan principalmente para la extracción de hidrocoloides como agar, carragenina y alginatos (Quitral et al., 2012).

Los componentes principales de las algas son los hidratos de carbono (53%), (Bourgougnon et al., 2011), no obstante, presentan un contenido proteico significativo, en torno al 20%, con respecto a otras fuentes (Norambuena et al., 2015), además de un gran contenido de fibra, pigmentos, polifenoles y vitaminas. Además, el 25% de su composición está formada por iodo, selenio y otros oligoelementos esenciales para múltiples funciones biológicas en humanos y animales (Bourgougnon et al., 2011; Moutinho et al., 2018). Con respecto a los lípidos, el porcentaje total es menor, aproximadamente de un 2%. No obstante, son una buena fuente de PUFA, particularmente n-3 LC-PUFA como EPA y DHA, ácidos grasos esenciales para los peces y con beneficios para la salud humana. Entre las diferentes especies de macroalgas, destacan las algas rojas, por su elevado contenido proteico (Xuan et al., 2019) con respecto a otras algas. En ellas se encuentra presente al aminoácido libre taurina el cual participa en numerosos procesos fisiológicos como osmorregulación, inmunomodulación o estabilización de membrana, y tiene un rol muy importante en el desarrollo ocular y del sistema nervioso. Es requerido en mayor cantidad sobre todo durante la infancia, siendo la fuente principal la leche

materna. Por ello, las algas rojas se posicionan como una alternativa interesante para suplementar las fórmulas infantiles (Quitral et al., 2012). Por todo ello las algas podrían funcionar como un vehículo de compuestos valiosos para la nutrición humana (Xuan et al., 2019). Desde el punto de vista de la nutrición de peces, la inclusión de las algas no ha sido muy estudiada aún, pero estudios recientes demuestran que ofrece numerosos efectos positivos en su organismo, entre los que se incluyen: aumento del crecimiento, aumento del coeficiente de digestibilidad, calidad organoléptica, resistencia a enfermedades, mejora en la respuesta al estrés, modulación del metabolismo lipídico, mejora de la eficiencia en la absorción y asimilación de nutrientes de la dieta, entre otros (Norambuena et al., 2015; Xuan et al., 2019).

Aún con los beneficios de la inclusión descritos en las algas, también se ha descrito la presencia de factores anti-nutricionales tales como polisacáridos complejos, ácido fítico, saponinas y taninos. Estos compuestos pueden bloquear la eficacia de los componentes beneficiosos llegando incluso a ser responsables de cambiar la morfología del intestino y afectando al proceso digestivo (Xuan et al., 2019). Sin embargo, otros autores afirman que dichos efectos sobre el crecimiento de los peces y la absorción de nutrientes dependen del tipo de especie y su nivel de inclusión en la dieta (Moutinho et al., 2018).

1.5. La carpa *Ctenopharyngodon idella*, especie objeto de estudio.

Ctenopharyngodon idella, también conocida como carpa herbívora, china, sogyo o carpa forrajera, es la especie objeto de estudio en este trabajo (Fig. 3). Está incluida en el orden Cypriniformes, siendo la única especie de agua dulce dentro del género *Ctenopharyngodon*. Es originaria de China y este de Siberia, aunque actualmente se encuentra ampliamente distribuida por el mundo. Además, fue la especie de mayor producción en acuicultura de peces a nivel mundial, con más de 6 millones de toneladas en el año 2016 (FAO, 2018). Presenta cuerpo alargado de longitud estándar y cilíndrico, con abdomen redondo y comprimido en la parte posterior (FAO, 2009). Su hábitat natural suele ser remansos de grandes ríos con flujo lento, charcas y lagos subtropicales con abundante vegetación a una profundidad entre 0 y 30 metros. Tolera un amplio rango de temperaturas, comprendido entre los 0 y 38°C, niveles de salinidad de hasta 10 ppt y de oxígeno bajos de hasta 0,5 ppm (Shireman, 1983). Su dieta es casi exclusivamente vegetariana en fase adulta mientras que durante la fase de alevines la dieta se basa en rotíferos, crustáceos y algas inferiores (Hickling, 1966).

Figura 3. *C. idella* (Blog Adriaticnature, 2017).



2. Objetivos.

En el contexto del proyecto MACBIOBLUE (MAC/1.1b/086), el objetivo general de este trabajo es estudiar el efecto de la inclusión de un conjunto de algas procedentes de arribazón (arribazón multiespecífico) nativas de Canarias en la dieta de la carpa herbívora *C. idella*.

Para ello se aborda el efecto de la inclusión dietaria de un 20% como dosis inicial, seguida de un 15% de arribazón multiespecífico mediante los siguientes objetivos específicos:

- Estudio del crecimiento e índices corporales indicadores de la deposición de grasa visceral y abdominal en las carpas sometidas a un tratamiento control sin inclusión de alga frente a las carpas con la dieta experimental.
- Comparación del contenido lipídico y el perfil de ácidos grasos en el tejido muscular de las carpas sometidas a las diferentes dietas.
- Estudio del estrés oxidativo mediante el análisis de peróxidos en el músculo de las carpas sometidas a los dos tratamientos.

3. Material y métodos.

Para el presente trabajo, se ha realizado un experimento en el cual se ha incluido en la dieta de la carpa herbívora *C. idella* un arribazón multiespecífico de algas de Canarias. Los especímenes fueron sometidos a un tratamiento control, con un pienso de tilapia comercial, y a un tratamiento experimental, con un 20-15% de inclusión del arribazón en el mismo pienso de tilapia. Todo el experimento se desarrolló en un cultivo acuapónico en la Fundación Neotrópico.

3.1. Diseño experimental.

Para el experimento se usaron un total de 70 ejemplares que se mantuvieron durante 10 días en aclimatación. Posteriormente se dividieron de forma aleatoria en dos tanques, con 35 individuos en el tratamiento control y 35 en el experimental. El peso inicial de los individuos fue de $8,9 \pm 2,5\text{g}$ y $8,3 \pm 1,3\text{g}$ para el control y el experimental, respectivamente. El experimento se desarrolló en tanques de acuaponía durante 133 días. Los sistemas acuapónicos son sistemas de producción sostenible de plantas y peces, que combinan la acuicultura tradicional con la hidroponía para el cultivo de plantas, obteniendo una relación simbiótica entre ellos (Tyson y Simonne, 2014). Los tanques utilizados constaron de una superficie inferior de 1000 litros para la parte animal, y una bandeja superior de 600 litros para la parte vegetal. Aunque durante el experimento se cultivaron lechugas en las bandejas vegetales, no se pudo medir la parte vegetal hasta que el sistema alcanzó la madurez, una vez finalizado el experimento. Por ello, y debido a que el objetivo de este trabajo se centra en fases previas y en la parte animal del sistema, no se presentarán los resultados de la parte vegetal en la presente memoria.

Para el tratamiento control se usó un pienso de tilapia (Skretting). La dieta del tratamiento experimental consistió en el mismo pienso control de tilapia, con un 20% de inclusión inicial de un arribazón multiespecífico de algas de Canarias molido a 2 mm de diámetro (33.8% *Asparagopsis taxiformis*, 28.6% *Lobophora* sp., 22.6% *Dictyota* sp., 14.5% *Cymopolia barbata* y 0.5% *Laurencia*, sp.). Las algas de arribazón fueron recogidas, lavadas, identificadas y trituradas por el Instituto Tecnológico de Canarias (ITC), en Gran Canaria. Para realizar la dieta experimental, el pienso de tilapia se trituró en una peletizadora (Pellet-Press PP120B, Qteck, Bergen, Alemania), se incluyó un 20% (p/p) del arribazón y se mezcló de forma homogénea para repeletizarlo con la misma peletizadora. Al detectar un estancamiento en el peso de los individuos del tratamiento experimental al mes de comenzar el experimento, se decidió bajar el porcentaje de inclusión a un 15%, manteniéndose este porcentaje durante todo el experimento. Para la compactación del pienso experimental, por razones técnicas de la peletizadora, se añadió un 3% de aceite de oliva (v/p). Los individuos fueron alimentados durante todo el experimento a razón del 2% de la biomasa total del tanque.

3.2. Cálculo de índices de crecimiento y grasa, y extracción de tejido muscular.

Al inicio y final del experimento, así como durante su desarrollo, se realizaron muestreos mensuales de peso y talla de los individuos. Con los datos obtenidos en los muestreos, se calcularon diferentes índices de crecimiento:

- Porcentaje de Peso Ganado durante el experimento (PG):

$$PG(\%) = \frac{\text{Promedio peso final} - \text{Promedio peso inicial}}{\text{Promedio peso inicial}} \times 100$$

- Tasa de Crecimiento Específico (TCE):

$$TCE \left(\frac{\%}{\text{día}} \right) = \frac{\ln \text{Promedio peso final} - \ln \text{Promedio peso inicial}}{\text{Días del experimento}} \times 100$$

- Porcentaje de Incremento Diario (ID):

$$ID(\%) = \frac{\text{Promedio peso final} - \text{Promedio peso inicial}}{\text{Días del experimento}} \times 100$$

Una vez finalizado el experimento, 4 individuos de cada tratamiento se trasladaron al Departamento de Biología Animal, Edafología y Geología (U.D. Fisiología Animal) de la ULL, y se sacrificaron siguiendo la normativa vigente (BOE no 34, 08/02/2013) mediante un golpe seco en la cabeza. Posteriormente se extrajeron y pesaron las vísceras para el cálculo de índices corporales:

- Índice Hepatosomático (IHS):

$$IHS(\%) = \frac{\text{Peso hígado}}{\text{Peso cuerpo}} \times 100$$

- Índice Viscerosomático (IVS):

$$IVS(\%) = \frac{\text{Peso vísceras}}{\text{Peso cuerpo}} \times 100$$

- Índice de grasa perivisceral, localizada en el interior de las paredes óseas y musculares del abdomen de la carpa (Pérez-Miguelsanz et al., 2010), otorgándole un valor comprendido entre 1 y 3, siendo 1 el de menor cantidad de grasa y 3 el de mayor.

Por último, se tomaron muestras del tejido muscular con la ayuda de un bisturí, y se congelaron en viales plásticos debidamente marcados a -80°C para conservar las muestras y minimizar así el riesgo de degradación proteica y oxidación de los ácidos grasos insaturados.

3.3. Extracción de lípidos y determinación de humedad del tejido muscular.

La primera etapa en el análisis de la composición lipídica requiere de la extracción del lípido total (LT) a partir del tejido muscular. La metodología empleada fue una modificación del método de Folch-Lee (Folch et al., 1957), desarrollado por Christie y Han (2010). El protocolo se realizó en presencia de hielo durante todo el proceso y en oscuridad para evitar alteraciones del perfil lipídico.

Así, se pesaron aproximadamente unos 500 mg de cada muestra de tejido muscular. Posteriormente, se añadió a cada muestra 10 mL de cloroformo:metanol (2:1 v/v), se homogeneizaron con ayuda del homogeneizador (Virtishear homogenizar, Virtis Company, NY, USA) y se filtró con un papel de filtro (Filter-Lab, Barcelona, España), recuperando el contenido en un tubo limpio. A continuación, se añadió 2,5 mL de cloruro potásico (KCl) 0,88% (p/v) y se agitó vigorosamente para la correcta mezcla de solventes. El lípido se separó en una fracción inferior tras centrifugar las muestras en la centrífuga (Beckman Coulter Allegra 25R, IN, USA) a 716 g durante 5 minutos. Así, se recuperó la fase liposoluble y se trasvasó a un nuevo tubo limpio, evaporándose bajo atmósfera de nitrógeno. Seguidamente se pasó la muestra a un vial de vidrio pequeño previamente marcado y pesado, evaporándose de nuevo el solvente bajo atmósfera de nitrógeno. Los viales se dejaron en oscuridad y en condiciones de vacío en un desecador durante toda la noche para eliminar posibles restos de humedad. Transcurrido ese período los viales se pesaron para calcular el contenido lipídico por gravimetría. Finalmente, el extracto lipídico fue resuspendido a una concentración de 10 mg/mL con cloroformo:metanol (2:1 v/v) con 0,01% (p/v) del antioxidante butilhidroxitolueno (BHT) y sellado con nitrógeno con el fin de evitar la oxidación de los lípidos. Dichas muestras fueron almacenadas en el congelador a -20°C hasta los análisis posteriores.

Para determinar el contenido de humedad del tejido muscular, se pesó unos 160 mg, manteniéndose en estufa a 110°C durante 24 h. Transcurrido ese período, se atemperó durante 30 minutos en el desecador y se pesó nuevamente. La muestra se sometió a desecación hasta obtener peso estable. Así, se obtuvo el valor del porcentaje de humedad:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{\text{Peso fresco} - \text{Peso seco}}{\text{Peso fresco}} \times 100$$

Posteriormente, se procedió a calcular el porcentaje de lípido en peso fresco:

$$\% \text{ lípido en peso fresco} = \frac{\text{Peso lípido} \times 100}{\text{Peso muestra}}$$

Y por último se calculó el porcentaje de lípido en peso seco teniendo en cuenta el porcentaje de humedad de la muestra:

$$\% \text{ lípido en peso seco} = \frac{\text{Peso lípido} \times 100}{\text{Peso muestra} - \left(\% \text{ Humedad} \times \frac{\text{Peso muestra}}{100} \right)}$$

3.4. Determinación del perfil de ácidos grasos.

Una vez extraído el LT de la muestra de tejido, se procedió a la determinación del perfil de ácidos grasos. Para separar los ácidos grasos de las diferentes muestras por cromatografía de gases (Christie y Han, 2010), y su posterior identificación y cuantificación, se analizó una alícuota de 1 mg del LT. Así, se realizó una transmetilación, con el objetivo de romper los esqueletos hidrocarbonados, obtener ácidos grasos libres y permitir la unión de un grupo metilo (-CH₃) al AG. Mediante este proceso, los ácidos grasos se convierten en ésteres metílicos de ácidos grasos (del inglés, Fatty acid Methyl Esters; FAMES) y se les confiere la propiedad de ser volátiles y por tanto detectables y separables por cromatografía de gases (Christie y Han, 2010). Además, para poder realizar luego su cuantificación en valor absoluto se añadió a las muestras 50 µg de un estándar interno (el AG 19:0) y se evaporó el solvente bajo atmósfera de nitrógeno. A continuación, se añadió 1 mL de tolueno y 2 mL de ácido sulfúrico al 1% en metanol (v/v) y se dejaron en un bloque calefactor a 50°C durante 16 h bajo atmósfera de nitrógeno y en oscuridad. Una vez transcurrido el tiempo de reacción, se añadió 5 mL de hexano: dietil éter (1:1 v/v) con BHT al 0,01% (p/v) y 2 mL de bicarbonato potásico (KHCO₃) al 2% (p/v), agitándolo vigorosamente y centrifugándolo a 517g durante 5 minutos. Posteriormente, la parte superior con los FAMES se trasvasó a un tubo limpio debidamente marcado. El contenido restante fue nuevamente lavado con 5 mL de hexano: dietil éter (1:1 v/v), centrifugado y trasvasado, juntando ambas fases. Finalmente, el solvente fue evaporado totalmente bajo atmósfera de nitrógeno y las muestras se redisolviéron en 100 µL de hexano para su posterior purificación.

La purificación se realizó mediante una cromatografía en capa fina (TLC, del inglés *thin layer chromatography*) usando placas de sílica gel de 20 cm x 20 cm x 0,25 mm (Macherey-Nagel, Düren, Alemania). En cada placa se pinchó un estándar externo, para la correcta identificación

de la posición de los FAMEs. Las placas se desarrollaron por completo en una solución de hexano, dietiléter y ácido acético (90:10:1, v/v). Una vez desarrolladas las placas, se tiñó el estándar externo con iodina al 1%, y la parte superior de la placa, correspondiente al BHT. Ello permite identificar, delimitar y posteriormente rascar la zona de la placa que contiene los FAMEs de cada muestra. El resultado del rascado de la placa con sílice y los FAMEs se puso en tubos de ensayo a los que se añadió 10 mL de hexano:dietiléter (1:1 v/v). Los tubos se centrifugaron a 517g durante 5 min, recuperándose la fase superior con los FAMEs purificados, y evaporando totalmente el solvente bajo atmosfera de nitrógeno. Por último, se redisolviéron las muestras en 900 µL de hexano de pureza HPLC y se almacenaron en viales de cristal en atmosfera de nitrógeno y en congelador a -20°C hasta su posterior determinación por cromatografía de gases. La cromatografía de gases se llevó a cabo en un cromatógrafo de gases (TRACE-GC, Thermo Scientific, Milán, Italia) con inyección en columna y detector de ionización de llama FID (del inglés, *Flame Ionization Detector*), bajo las siguientes condiciones:

- Columna de sílice fundida SupelcowaxTM 10 (30 m x 0,32 mm I.D, 0,25 µm de espesor) (Supelco Inc., Bellefonte, EEUU) con fase estacionaria polar.
- El flujo de los gases del aparato es: helio, 1,5 mL/min; hidrógeno, 35 mL/min; aire, 350 mL/min. El helio actúa como gas portador.
- Temperatura: Inyector (*On Column*) 50°C; Detector (FID) 240°C; Columna con rampas de temperatura con las siguientes características: temperatura inicial 50°C, tasa de incremento de temperatura de 40°C/min hasta alcanzar 150°C, segunda de tasa de incremento de 2°C/min hasta 200°C, incremento de 1°C/min hasta 214°C, y finalmente 40°C/min hasta una temperatura final de 230°C mantenida durante 5 minutos.

La identificación de cada AG se realizó con ayuda de un patrón con tiempos de retención conocidos y su contenido en las muestras fue expresado en porcentaje del total de AG. La inclusión del 19:0 en el proceso de transmetilación permitió establecer también el contenido absoluto de ácidos grasos en las muestras.

3.5. Determinación de la composición lipídica del pienso.

Para determinar el contenido de LT y el perfil de ácidos grasos de los piensos control y experimental, arribazón multiespecífico y aceite de oliva utilizados en el experimento, se siguió el mismo procedimiento que el descrito para el tejido muscular en el apartado 3.3 y 3.4, respectivamente. La composición lipídica de los mismos se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición lipídica (lípidos totales (% en peso seco), y perfil de ácidos grasos (% de ácidos grasos totales)) del pienso control, experimental, arribazón multiespecífico y aceite de oliva usado en la dieta de los individuos.

	<i>Pienso control</i>	<i>Pienso experimental</i>	<i>Arribazón</i>	<i>Aceite</i>
LT	8,47 ± 0,08	11,34 ± 0,39	2,48 ± 0,11	-
16:0	15,73 ± 0,07	14,34 ± 0,91	36,31 ± 2,00	14,93 ± 0,10
18:0	4,00 ± 0,03	3,66 ± 0,24	2,00 ± 0,24	2,11 ± 0,02
Total SFA¹	23,65 ± 0,04	20,70 ± 0,59	47,18 ± 2,53	17,59 ± 0,15
18:1 n-9	29,74 ± 0,36	47,11 ± 2,70	16,43 ± 0,41	60,40 ± 0,14
Total MUFA¹	39,25 ± 0,18	54,51 ± 0,62	32,57 ± 0,88	65,66 ± 0,08
18:2 n-6	21,56 ± 0,09	15,05 ± 0,40	2,63 ± 0,44	13,49 ± 0,19
20:2 n-6	nd	nd	0,73 ± 0,14	nd
20:3 n-6	nd	nd	0,68 ± 0,12	nd
20:4 n-6	0,74 ± 0,02	0,50 ± 0,01	3,94 ± 0,75	nd
22:4 n-6	nd	nd	0,19 ± 0,16	nd
22:5 n-6	nd	0,15 ± 0,18	nd	nd
Total n-6 PUFA¹	22,30 ± 0,11	15,70 ± 0,02	8,30 ± 0,78	13,49 ± 0,19
18:3 n-3	3,76 ± 0,03	2,41 ± 0,03	0,97 ± 0,11	0,52 ± 0,04
20:4 n-3	0,20 ± 0,02	0,06 ± 0,08	0,66 ± 0,12	nd
20:5 n-3	4,00 ± 0,11	2,08 ± 0,01	2,31 ± 0,42	nd
22:5 n-3	0,57 ± 0,02	0,16 ± 0,18	0,13 ± 0,23	nd
22:6 n-3	3,05 ± 0,09	1,64 ± 0,03	0,11 ± 0,19	nd
Total n-3 PUFA¹	12,35 ± 0,22	6,87 ± 0,41	6,18 ± 0,53	0,52 ± 0,04
Total n-3 LC-PUFA¹	7,82 ± 0,23	3,94 ± 0,27	3,21 ± 0,34	nd
n-3/n-6	0,55 ± 0,01	0,44 ± 0,03	0,75 ± 0,05	0,04 ± 0,00
EPA + DHA	7,05 ± 0,20	7,32 ± 0,03	2,42 ± 0,61	nd
ARA/EPA	0,18 ± 0,00	0,24 ± 0,01	1,70 ± 0,02	nd
DHA/EPA	0,76 ± 0,00	0,79 ± 0,01	0,05 ± 0,09	nd

Los valores se expresan como media ± desviación estándar (piensos y aceite n=2; arribazón n=3). SFA, ácidos grasos saturados; MUFA, ácidos grasos monoinsaturados; PUFA, ácidos grasos poliinsaturados; LC-PUFA, ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga ($\geq C20$ y ≥ 3 dobles enlaces); n-3: serie omega-3, n-6: serie omega-6. nd, no detectado.

¹ Puede contener componentes minoritarios no mostrados en la tabla.

3.6. Determinación de peróxidos lipídicos en el tejido muscular.

La determinación del índice de peróxidos (IP) se realizó en el extracto lipídico según Shantha y Decker (1994). El procedimiento se fundamenta en la capacidad oxidante de los lipoperóxidos, primeros productos formados en los procesos de peroxidación lipídica. Al añadir a las muestras una disolución de hierro II (FeCl_2), junto con tiocianato de amonio, los lipoperóxidos presentes en las muestras oxidan a los iones Fe^{2+} añadidos, produciéndose Fe^{3+} . Éste reacciona con el tiocianato de amonio produciendo una sustancia rosa que absorbe a 500 nm, pudiendo calcular los μg de Fe^{3+} formados a partir de una curva patrón.

Así, se preparó una curva patrón de cloruro de hierro III (FeCl_3) en cloroformo: metanol (7:3, v/v). Posteriormente, se trasvasó a un tubo de ensayo con 3 mg de lípido, evaporándose el solvente bajo atmósfera de nitrógeno. Se añadió 10 mL de cloroformo: metanol (7:3, v/v) y se agitó vigorosamente. A continuación, se añadió a cada tubo 50 μL de una disolución de tiocianato de amonio y 50 μL de una disolución de FeCl_2 y se agitó. Se dejó reaccionar los tubos durante 5 minutos y se leyó la absorbancia a 500 nm en el espectrofotómetro (DU 800 spectrophotometer, Beckman Coulter, CA, USA), en cubetas de cuarzo. Con los valores obtenidos se calculó la cantidad de μg de Fe^{3+} según la curva patrón. Por último, se determinó el IP expresado en miliequivalentes (meq) de O_2 activo/Kg de lípido, según la relación en la curva patrón de μg de Fe^{3+} frente a la absorbancia:

$$IP = \frac{(Abs\ muestra - b)/a}{m \times 55,845 \times 2}$$

Donde “a” es la pendiente de la recta patrón, “b” es la ordenada en el origen de la recta patrón, y “m” es la masa del lípido expresada en gramos. El valor 55,845 se refiere al peso atómico del hierro, mientras que el valor 2, hace referencia a los meq de oxígeno.

3.7. Análisis estadístico.

Los datos de análisis de composición lipídica (LT, sumatorio de ácidos grasos totales y perfil de ácidos grasos), así como los datos de índice de grasa perivisceral, el IHS e IVS y el IP se expresan como media \pm desviación estándar (DE) (n=4).

Para el análisis estadístico del experimento se aplicó el test estadístico de comparación de medias, t de Student, para comprobar la existencia de diferencias significativas entre los dos tratamientos (control y experimental).

El test de Shapiro-Wilk, fue empleado para el estudio de la normalidad mientras que para el estudio de la homocedasticidad u homogeneidad de las varianzas, se usó el test de Levene. En el caso de que no se cumpliera la normalidad de los datos, éstos se transformaron mediante la raíz cuadrada del arcoseno o el logaritmo en base 10.

Las diferencias se consideraron significativas para $p < 0,05$ y altamente significativas para $p < 0,01$. Todos los análisis estadísticos fueron realizados con el programa IBM SPSS Statistics versión 25.0 para Windows.

4. Resultados y discusión.

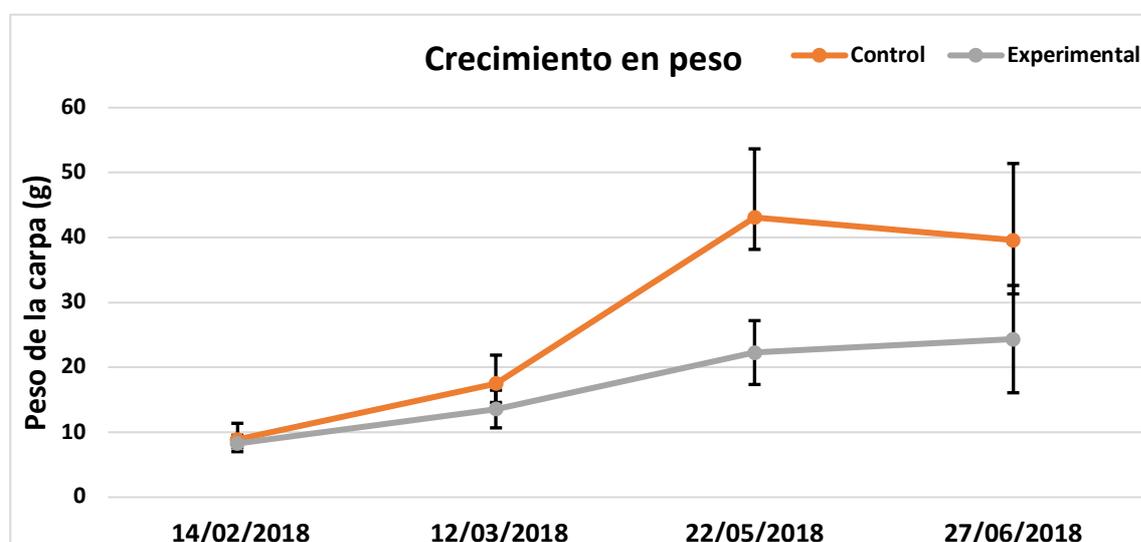
4.1. Crecimiento en peso.

Los datos del crecimiento en peso de las carpas sometidas a los dos tratamientos experimentales muestran un mayor crecimiento en los individuos sometidos al tratamiento control con respecto a los sometidos al tratamiento experimental ($p < 0,05$; Fig. 4). Así, al final del experimento se obtuvo un incremento promedio en peso de $30,7 \pm 9,3\text{g}$ y $16,1 \pm 0,7\text{g}$ para los individuos control y experimental, respectivamente. Además, el resto de índices de crecimiento calculados (PG, TCE e ID, Tabla 2), reflejan el mayor desarrollo por parte de los individuos control. Cabe destacar, como ya se ha señalado previamente, que al inicio del estudio se incluyó un 20% de algas de arribazón en la dieta de los individuos experimentales, aunque al comprobar durante el primer muestreo, un detrimento en el crecimiento del tratamiento experimental, se redujo el grado de inclusión al 15%. Aun bajando el porcentaje de inclusión, las carpas control continuaron teniendo un desarrollo mayor. Además, también en el marco del Proyecto MACBIOBLUE, con posterioridad y fuera ya de los objetivos de este trabajo, se realizaron estudios con la misma especie y con el arribazón multiespecífico, reduciendo el porcentaje de inclusión de arribazón al 7%, teniendo como resultado una mejora en el crecimiento de los individuos experimentales. Otros estudios indican una mejora en el crecimiento con porcentajes de inclusión de algas inferiores a los inicialmente ensayados de 15-20% ($<10\%$) (Xuan et al., 2019). En nuestro estudio, realizado con un 15% de inclusión, el efecto negativo registrado sobre el crecimiento, seguramente se deba a la presencia de factores anti-nutricionales en las algas como polisacáridos complejos, ácido fítico, saponinas y taninos. Así, se ha descrito que concentraciones superiores al 10% de inclusión puede tener efectos negativos en el crecimiento y desarrollo del pez. Es importante destacar que esto no ocurre siempre de la misma manera y

depende de factores como el tipo de especie y el nivel de inclusión, como ya se ha comentado anteriormente (Moutinho et al., 2018).

Los datos de crecimiento obtenidos indican que el porcentaje de inclusión del arribazón no es el adecuado y que, como han demostrado estudios posteriores con las mismas especies de carpa y de algas, la menor tasa de crecimiento en peso de las carpas se podría solventar reduciendo el porcentaje de inclusión.

Figura 4. Crecimiento de los individuos sometidos a los tratamientos control y experimental a lo largo del experimento.



Los valores se expresan como promedio \pm desviación estándar (n=35).

Tabla 2. Índices de crecimiento (porcentaje de peso ganado durante el experimento, tasa de crecimiento específico y porcentaje de incremento diario) para los dos tratamientos (n = 35).

<i>Índice</i>	<i>Control</i>	<i>Experimental</i>
PG (%)	344,98	194,45
TCE (%/día)	1,12	0,81
ID (%)	23,07	12,09

4.2. Índices de grasa.

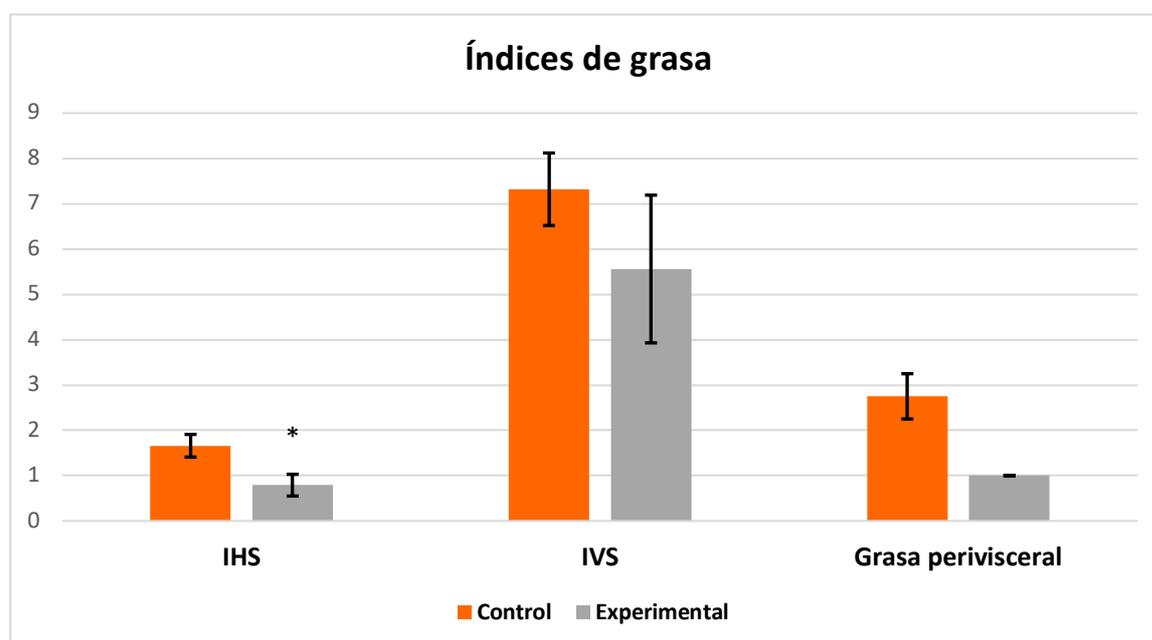
El IHS y el IVS, junto con la grasa perivisceral observada en los animales, permiten medir la deposición de la grasa visceral y abdominal, siendo herramientas útiles para determinar la posible acumulación de grasa no saludable en los organismos. Como puede apreciarse en la Fig. 5, se observaron diferencias significativas en el IHS ($p = 0,02$), destacando una menor deposición de grasa en el hígado al incluir arribazón en la dieta. Aunque un menor IHS en el

tratamiento experimental podría atribuirse a un menor tamaño de las carpas en este tratamiento, también es importante destacar que en el tratamiento experimental se usó aceite de oliva en la compactación del pienso, introduciendo una mayor cantidad de lípido en la dieta. Cabría esperar que, ante la mayor cantidad de lípido en la dieta, se produjera una mayor deposición de grasa en estos individuos, hecho que no tiene lugar.

Ello podría atribuirse a la acción lipolítica de las algas (Bedoux et al., 2014), la cual pudo haber sido beneficiosa para estos ejemplares pues en estudios realizados con *C. idella* se ha observado una baja capacidad para utilizar grandes cantidades dietarias de lípidos, pudiendo causarle hiperlipidemia y problemas de salud como: hígado graso, estado oxidativo anormal, valores nutricionales alterados, transformación del rendimiento y de las propiedades organolépticas (Du et al., 2008).

En el caso del IVS y de la grasa visceral se observa la misma tendencia, aunque sin diferencias significativas. Además, como se discutirá más adelante, tampoco se observa una mayor deposición de lípido, ni de 18:1 n-9 (principal AG del aceite de oliva) en el músculo.

Figura 5. Índice hepatosomático (%), viscerosomático (%) y grasa perivisceral (1-3) para ambos tratamientos.



Los valores se expresan como media \pm desviación estándar (n=4). * Indica diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$).

4.3. Perfil de ácidos grasos de *C. idella*.

En la Tabla 3 se muestra la composición lipídica del músculo de las carpas sometidas al tratamiento control y experimental. En general, se puede decir que la inclusión del arribazón

multiespecífico en la dieta no afectó a la composición lipídica del músculo, salvo en contadas excepciones que se detallarán a continuación. Aún con el mayor porcentaje de lípido incluido en la dieta experimental debido al aceite de oliva, el músculo no mostró diferencias en su contenido de lípido total entre los dos tratamientos (1,6% en ambos casos). Esto reafirma la teoría comentada anteriormente en cuanto al efecto lipolítico que presentan las algas (Bedoux et al., 2014) incluidas en la dieta, que evita la deposición de la grasa tanto visceral como muscular. Esto se refleja, además, en el contenido total de ácidos grasos, donde tampoco hubo diferencias entre el tratamiento control y experimental.

Con respecto a la composición de ácidos grasos, los monoinsaturados (MUFA) son los más abundantes, siendo el 18:1 n-9 su isómero mayoritario. Hay que destacar que en el pienso experimental, debido a la inclusión del aceite de oliva, el contenido de 18:1 n-9 es bastante mayor con respecto al control. Sin embargo, esto no se ve reflejado en el músculo, no existiendo diferencias significativas en este AG en los dos tratamientos. En cuanto a los ácidos grasos saturados (SFA), el 16:0 es el que se encuentra en mayor proporción, siendo mayor ($p = 0,01$) en el tratamiento control ($19,7 \pm 0,5\%$) que en el experimental ($17,6 \pm 0,6\%$). Esta diferencia seguramente sea promovida por el aporte de este AG en el arribazón multiespecífico incluido en el pienso experimental (Tabla 1). Dichos resultados concuerdan con los obtenidos por otros autores, donde los SFA quedan representados mayoritariamente por el 16:0, mientras que los monoinsaturados por el 18:1 n-9, debido a la condición de estos ácidos grasos por ser usados preferencialmente para la obtención de energía mediante la β -oxidación (Rodríguez et al., 2004).

Entre los poliinsaturados de la serie n-6 (n-6 PUFA) el más abundante es el precursor del ARA de 18 átomos de carbono, el 18:2 n-6 (alrededor del 10% en los dos tratamientos), seguido del ARA ($3,7 \pm 2,0\%$ y $5,4 \pm 2,2\%$ en el tratamiento control y experimental, respectivamente), y del 22:5n-6 ($1,2 \pm 0,8\%$ en el control, y $1,5 \pm 0,4\%$ en el experimental) (Tabla 4). Así, en la serie n-6, la composición lipídica del músculo no se ve afectada por el tratamiento experimental. En todo caso, es importante destacar los porcentajes relativamente altos de ARA obtenidos en el músculo con respecto a lo aportado en ambas dietas (Tabla 1). El ARA es un ácido graso que suele ser relevante en el fosfatidilinositol, compuesto importante porque da lugar a segundos mensajeros implicados en procesos de señalización celular (Balsinde, 2013).

Los ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3 (n-3 PUFA), son muy similares entre los dos tratamientos. En ambos casos, el ácido graso más abundante es el DHA ($5,8 \pm 2,6\%$ y $6,6 \pm$

3,0% en el control y experimental, respectivamente), seguido del EPA ($1,8 \pm 0,6\%$ para el control y $2,1 \pm 0,7\%$ para el experimental). Cabe destacar que se observan diferencias significativas ($p = 0,034$) entre el contenido del ácido graso 18:3 n-3 de las carpas del tratamiento control ($1,8 \pm 0,3\%$) y experimental ($1,3 \pm 0,1\%$) (Tabla 4). Como se puede observar en la Tabla 1, al incluir el arribazón multiespecífico y el aceite, que aportan porcentajes bajos de 18:3 n-3, en el pienso, la proporción de este AG es menor en la dieta experimental. El 18:3 n-3, es el precursor de 18 átomos de carbono de los LC-PUFA EPA y DHA. Aun con el mayor aporte de 18:3n-3 por parte de la dieta control, que se refleja en la composición del músculo, los porcentajes de EPA y DHA, que además son aportados también en mayor medida por la dieta control, no se ven afectados en el músculo. Esto estaría indicando bien una bioacumulación selectiva de estos AG, esenciales en los organismos a nivel estructural de las membranas celulares, o la síntesis de ambos por parte de los individuos en el tratamiento experimental. En referencia a la síntesis de LC-PUFA, la caracterización molecular y funcional del gen *fads2* en *C. idella* ha mostrado que presenta actividad $\Delta 5$, $\Delta 6$, y $\Delta 8$. Esto, junto con las caracterizadas actividades elongasas Elov12 y Elov15 (datos analizados y cedidos por el graduado Manuel Marrero) permitirían la síntesis de LC-PUFA desde los compuestos de 18 átomos de carbono en esta especie, por lo que esta teoría de la producción endógena de EPA y DHA a partir de sus precursores en la carpa, no se puede descartar. Además, se ha demostrado que la inclusión dietaria de algas puede influir en el metabolismo lipídico de los peces, el cual varía dependiendo de la especie de alga a incluir y la etapa de crecimiento del pez (Xuan et al., 2019).

Tabla 3. Composición lipídica (lípidos total (% en peso fresco), contenido total de ácidos grasos (μg de ácido graso/100 g peso fresco) y perfil de ácidos grasos (% de ácidos grasos totales)) del músculo de *C. idella* sometida a los tratamientos control y experimental.

	<i>Control</i>	<i>Experimental</i>
LT	1,60 \pm 0,49	1,59 \pm 0,71
Total de ácidos grasos	1358,08 \pm 356,29	1372,07 \pm 601,50
16:0	19,70 \pm 0,46	17,63 \pm 0,58 **
18:0	4,63 \pm 0,56	4,90 \pm 0,98
Total SFA¹	26,50 \pm 0,69	24,87 \pm 0,95 *
18:1 n-9	28,91 \pm 4,36	28,16 \pm 4,91
Total MUFA¹	43,00 \pm 6,62	41,13 \pm 7,23
18:2 n-6	9,87 \pm 0,82	10,75 \pm 0,86
20:2 n-6	0,45 \pm 0,06	0,55 \pm 0,07
20:3 n-6	0,73 \pm 0,27	0,86 \pm 0,17
20:4 n-6	3,70 \pm 2,04	5,37 \pm 2,21
22:4 n-6	0,33 \pm 0,14	0,45 \pm 0,12
22:5 n-6	1,16 \pm 0,76	1,46 \pm 0,44
Total n-6 PUFA¹	16,29 \pm 2,55	19,44 \pm 2,47
18:3 n-3	1,79 \pm 0,34	1,29 \pm 0,13 *
20:4 n-3	0,29 \pm 0,03	0,18 \pm 0,12 *
20:5 n-3	1,81 \pm 0,62	2,08 \pm 0,69
22:5 n-3	0,76 \pm 0,18	0,78 \pm 0,21
22:6 n-3	5,77 \pm 2,58	6,60 \pm 2,99
Total n-3 PUFA¹	10,74 \pm 3,21	10,92 \pm 3,77
Total n-3 LC-PUFA	8,74 \pm 3,49	9,64 \pm 3,81
n-3/n-6	0,71 \pm 0,16	0,55 \pm 0,13
EPA+DHA	7,58 \pm 3,20	8,68 \pm 3,68
ARA/EPA	1,93 \pm 0,45	2,53 \pm 0,27
DHA/EPA	3,10 \pm 0,33	3,07 \pm 0,46

Los resultados se presentan como media \pm desviación estándar (n = 4). * Indica diferencias significativas entre tratamientos con $p < 0,05$. ** Indica altas diferencias significativas entre tratamientos con $p < 0,01$. SFA, ácidos grasos saturados; MUFA, ácidos grasos monoinsaturados; PUFA, ácidos grasos poliinsaturados; LC-PUFA, ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga ($\geq C20$ y ≥ 3 dobles enlaces); n-3: serie omega-3, n-6: serie omega-6.

¹ Puede contener componentes minoritarios no mostrados en la tabla.

Diversos organismos como la FAO, la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) recomiendan un consumo diario de EPA+DHA de al menos 250 mg. Sin embargo, el Gobierno de Reino Unido ha fijado para un adulto el límite inferior en 450 mg de EPA+DHA diarios (Zárate et al., 2017). Aunque existe cierta controversia con respecto a las dosis diarias recomendadas, todos los organismos coinciden en la esencialidad del consumo de n-3 LC-PUFA para la prevención de enfermedades cardiovasculares, cáncer, enfermedades inflamatorias en general y el resto de beneficios ya comentados anteriormente (Cortés et al., 2013; Roy et al., 2020). En el caso de *C. idella*, consumiendo unos 100 gramos de filete fresco, se obtendrían aproximadamente 1365 mg de ácidos grasos en ambos tratamientos. Del total de ácidos grasos en las carpas control, un 5,7% es de DHA (77,8 mg) y un 1,8% es de EPA (24,6 mg), lo que suma un total aproximado de 102,4 mg de EPA+DHA. En el tratamiento experimental, sin embargo, se obtendría aproximadamente un 6,6% de DHA (90,1 mg) y un 2,1% de EPA (28,7 mg), es decir un total de 118,8 mg de EPA+DHA. Por tanto, todo ello indica que el consumo de 100 gramos de este pescado aportará una gran proporción de la dosis diaria mínima recomendada; una cantidad relativamente alta teniendo en cuenta que es una especie de agua dulce herbívora. Además, si comparamos ambos tratamientos, parece haber una tendencia a aumentar el contenido total de EPA y DHA con la inclusión dietaria de algas, aunque sin diferencias significativas.

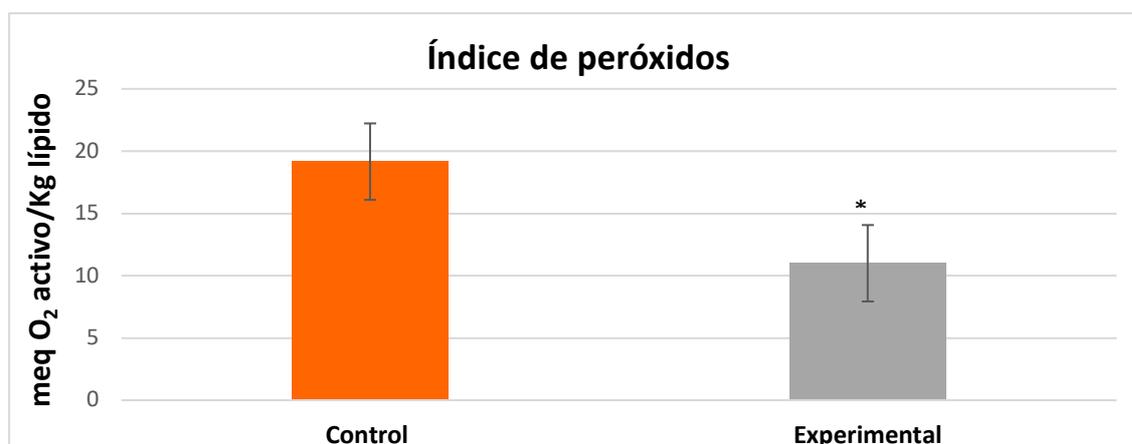
4.4 Oxidación del músculo.

El IP (Fig. 6) es significativamente mayor ($p = 0,004$) en los individuos control, con respecto a los individuos experimentales ($19,2 \pm 1,1$ y $11,0 \pm 3,1$ meq O_2 activo/Kg lípido, respectivamente). El IP indica un mayor estado de oxidación de la grasa del músculo. La oxidación de los lípidos, además de un peor estado de salud de los ejemplares, puede provocar un deterioro del sabor, color, olor, calidad y valor nutricional del alimento (Teimouri, 2016). Es por ello, que surge la necesidad de suplementar las dietas con antioxidantes que contrarresten los efectos de las peroxidaciones lipídicas. Hasta ahora, se habían empleado antioxidantes sintéticos como el butilhidroxitolueno (BHT) y el butilhidroxianisol (BHA) (Serdaroglu y Felekoglu, 2005). Sin embargo, la preocupación de los consumidores por la seguridad y toxicidad de estos compuestos han iniciado la búsqueda de antioxidantes de origen natural. Por ello, numerosos estudios se han focalizado en compuestos como los tocoferoles, el ácido ascórbico, las hierbas, los vegetales y las algas (McBride et al. 2007).

En este estudio, los individuos experimentales han presentado un menor IP, es decir un menor estado de oxidación del músculo, lo que sugiere un efecto antioxidante de las algas de arribazón utilizadas. Las algas son conocidas por su alto contenido en compuestos bioactivos con actividad antioxidante. Ejemplos de ellos son los fenoles, las vitaminas (A y C) y los pigmentos naturales (clorofilas, xantofilas y carotenoides) (Sáez et al., 2020), los cuales han evolucionado en respuesta a las condiciones altamente oxidativas (como alta oxigenación) de sus hábitats naturales (Vega et al., 2020).

Además, es importante destacar que los PUFA son los ácidos grasos con mayor susceptibilidad a la peroxidación lipídica en el músculo del pez. No obstante, los resultados obtenidos en las carpas experimentales sugieren que los antioxidantes presentes en las algas suprimen este proceso (Teimouri, 2016).

Figura 6. Índice de peróxidos (meq O₂ activo/Kg lípido) de las carpas sometidas a los diferentes tratamientos.



Los valores se expresan como media \pm desviación estándar (n=4). * Indica diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$).

5. Conclusiones.

1. Se detectó un efecto negativo de la inclusión dietaria de 15-20% de algas de arribazón en el crecimiento de las carpas con respecto al tratamiento control sin algas.
2. Los menores índices de grasa visceral y abdominal en las carpas con dieta experimental evidenciaron una menor y más saludable deposición de grasa probablemente debida a la actividad lipolítica de las algas.
3. La inclusión de las algas en la dieta de la carpa herbívora no afectó a la composición lipídica del músculo, aunque se intuye una cierta capacidad de síntesis o bioacumulación de LC-PUFA en el tratamiento experimental. En ambos tratamientos, el aporte de EPA+DHA es relativamente alto.
4. Las carpas con inclusión de algas de arribazón en la dieta presentaron un menor IP, lo que radica en un mejor estado oxidativo del músculo promovido por la capacidad antioxidante de las algas.

5. Conclusions.

1. A negative effect of the dietary inclusion of 15-20% macroalgal wracks was detected in the growth of carp with respect to the control treatment without algae.
2. The lower rates of visceral and abdominal fat in carp with experimental diet showed a lower and healthier fat deposition probably due to the lipolytic activity of algae.
3. The inclusion of algae in the diet of the herbivorous carp did not affect the lipid composition of the muscle, although a certain capacity for synthesis or bioaccumulation of LC-PUFA is sensed in the experimental treatment. In both treatments, the contribution of EPA+DHA is relatively high.
4. Carp with the inclusion of macroalgal wracks in the diet presented a lower PI, which lies in a better oxidative state of the muscle promoted by the antioxidant capacity of the algae.

6. Bibliografía.

- Álvarez-Gómez, F., Korbee, N., y Figueroa, F. L. (2016). Analysis of antioxidant capacity and bioactive compounds in marine macroalgal and lichenic extracts using different solvents and evaluation methods. *Ciencias marinas*, 42: 271-288.
- APROMAR. (2018). La Acuicultura en España.
- APROMAR (2019). La Acuicultura en España.
- Balsinde, J. (2013). Una especie de fosfatidilinositol generada por macrófagos activados regula respuestas inmunes innatas. Instituto de Biología y Genética Molecular, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Universidad de Valladolid.
- Borja, A. (2011). Los impactos ambientales de la acuicultura y la sostenibilidad de esta actividad. *Boletín. Instituto Español de Oceanografía*, 18:41-49.
- Bedoux, G., Hardouin, K., Burlot, A. S., y Bourgougnon, N. (2014). Advances in Botanical Research, *Bioactive components from seaweeds: Cosmetic applications and future development*, Vol. 71: 345-378, Ediciones Academic Press.
- Candela, C. G., López, L. B., y Kohen, V. L. (2011). Importance of a balanced omega 6/omega 3 ratio for the maintenance of health. Nutritional recommendations. *Nutricion hospitalaria*, 26: 323-329.
- Castro, L. F. C., Tocher, D. R., y Monroig, O. (2016). Long-chain polyunsaturated fatty acid biosynthesis in chordates: Insights into the evolution of Fads and Elovl gene repertoire. *Progress in lipid research*, 62: 25-40.
- Christie, W.W. y Han, Xi. (2010). Oily Press Lipid Library. *Lipid analysis. Isolation, Separation, Identification and Lipidomic Analysis*, 24: 95-117.
- Cortés, E., Hidalgo, M. J., Rizo-Baeza, M. M., Aguilar, M. J. y Gil, V. (2013). Índice elevado de ácidos grasos omega 6/omega 3 en niños con neuropatías causa o efecto. *Nutrición Hospitalaria*, 28: 1165-1170.
- Cox, M. M., Lehninger, A. L., y Nelson, D. L. (2006). Principios de Bioquímica, 4ª edición, *Lípidos*, 10: 343-368, Barcelona: Ediciones Omega.
- Díaz Gutierrez, D., Méndez Ortega, W., Oliveira e Silva, A. M. D., Zaldívar Muñoz, C., Mancini-Filho, J., y Vidal Novoa, A. (2015). Comparación de las propiedades antioxidantes y contenido de polifenoles de extractos acuosos de las algas marinas *Bryothamnion triquetrum* y *Halimeda opuntia*. *Ars Pharmaceutica*, 56:89-99.
- Du, Z. Y., Clouet, P., Huang, L. M., Degrace, P., Zheng, W. H., He, J. G., y Liu, Y. J. (2008). Utilization of different dietary lipid sources at high level in herbivorous grass carp (*Ctenopharyngodon idella*): mechanism related to hepatic fatty acid oxidation. *Aquaculture Nutrition*, 14:77-92.
- FAO (2009). *Ctenopharyngodon idellus*. Cultured aquatic species fact sheets.
- FAO (2018). El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Cumplir los objetivos de desarrollo sostenible. Roma.
- Folch, J., Lees, M., y Stanley, G. S. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *Journal of biological chemistry*, 226: 497-509.
- González, M. I. C. (2002). Ácidos grasos omega-3: beneficios y fuentes. *Interciencia*, 27: 128-136.
- Hlekkling, C. F. (1966). On the feeding process in the white amur, *Ctenopharyngodon idella*. *Journal of Zoology*, 148: 408-419.
- Jacobsen, C. (2010). Challenges when developing omega-3 enriched foods. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 17: 251-258.
- Kang, J. X. (2003). The importance of omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cell function. *Omega-6/omega-3 essential fatty acid ratio: The scientific evidence*, 92: 23-36.
- Lee, J. M., Lee, H., Kang, S., y Park, W. J. (2016). Fatty acid desaturases, polyunsaturated fatty acid regulation, and biotechnological advances. *Nutrients*, 8: 23.
- López-Islas, M. E., Ibarra-Meza, I., Ortiz-Ordóñez, E., Favari, L., Sedeño-Díaz, J. E., y López-López, E. (2016). Histopatología del Hígado, Lipoperoxidación e Índices Somáticos de *Fulica americana* en los Humedales de Xochimilco (Urbano) y Tecocomulco (Rural) de la Cuenca de México. *International Journal of Morphology*, 34: 522-532.
- Marnett, L. J. (1999). Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 424: 83-95.
- McBride, N. T., Hogan, S. A. y Kerry, J. P. (2007). Comparative addition of rosemary extract and additives on sensory and antioxidant properties of retail packaged beef. *International Journal of Food Science & Technology*, 42:1201-1207.

Moutinho, S., Linares, F., Rodríguez, J. L., Sousa, V. y Valente, L. M. P. (2018). Inclusion of 10% seaweed meal in diets for juvenile and on-growing life stages of Senegalese sole (*Solea senegalensis*). *Journal of applied phycology*, 30: 3589-3601.

Norambuena, F., Hermon, K., Skrzypczyk, V., Emery, J. A., Sharon, Y., Beard, A., y Turchini, G. M. (2015). Algae in fish feed: performances and fatty acid metabolism in juvenile Atlantic salmon. *PloS one*, 10: e0124042.

Pérez Miguelsanz, M., Cabrera Parra, W., Varela Moreiras, G., y Garaulet, M. (2010). Distribución regional de la grasa corporal. Uso de técnicas de imagen como herramienta de diagnóstico nutricional. *Nutrición hospitalaria*, 25: 207-223.

Quítral, V., Morales, C., Sepúlveda, M. y Schwartz, M. (2012). Propiedades nutritivas y saludables de algas marinas y su potencialidad como ingrediente funcional. *Revista Chilena de Nutrición*, 39: 196-202.

Rodríguez, C., Lorenzo, A. y Martín, V. (2012). La Nutrición y Alimentación en Piscicultura, *Nutrición lipídica*, 4:151-231, Madrid: Ediciones Paraninfo.

Rodríguez, C., Acosta, C., Badía, P., Cejas, J. R., Santamaría, F. J., y Lorenzo, A. (2004). Assessment of lipid and essential fatty acids requirements of black seabream (*Spondyliosoma cantharus*) by comparison of lipid composition in muscle and liver of wild and captive adult fish. *Comparative Biochemistry and physiology. Part B, Biochemistry & Molecular Biology*, 139: 619-629.

Roy, J., Mercier, Y., Tonnet, L., Burel, C., Lanuque, A., Surget, A. y Skiba, S. (2020). Rainbow trout prefer diets rich in omega-3 long chain polyunsaturated fatty acids DHA and EPA. *Physiology & behavior*, 213:112692.

Sáez, M. I., Vizcaino, A., Galafat, A., Anguís, V., Fernández-Díaz, C., Balebona, M. C., y Martínez, T. F. (2020). Assessment of long-term effects of the macroalgae *Ulva ohnoi* included in diets on Senegalese sole (*Solea senegalensis*) fillet quality. *Algal Research*, 47:101885.

Serdaroglu, M. y Felekoglu, E. (2005). Effects of using rosemary extract and onion juice on oxidative stability of sardine (*Sardina pilchardus*) mince. *Journal of Food Quality*, 28:109-120.

Shantha, N.C. y Decker, E.A. (1994). Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. *Journal of AOAC International*, 77: 421-424.

Shireman, J. V. y Smith, C. R. (1983). Synopsis of biological data on the grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Cuvier and Valenciennes, 1844), FAO, 135.

Teimouri, M., Yeganeh, S. y Amirkolaie, A. K. (2016). The effects of *Spirulina platensis* meal on proximate composition, fatty acid profile and lipid peroxidation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) muscle. *Aquaculture Nutrition*, 22: 559-566.

Tocher, D. R. (2003). Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Reviews in fisheries science*, 11:107-184.

Tyson, R. V., y Simonne, E. H. (2014). A practical guide for aquaponics as an alternative enterprise. University of Florida Horticultural Science Department, UF/IFAS Extension document HS1252.

Vega, J., Álvarez-Gómez, F., Güenaga, L., Figueroa, F. L., y Gómez-Pinchetti, J. L. (2020). Antioxidant activity of extracts from marine macroalgae, wild-collected and cultivated, in an integrated multi-trophic aquaculture system. *Aquaculture*, 522:735088.

Venero Gutiérrez, J. R. (2002). Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana de medicina militar*, 31:126-133.

Xuan, X., Li, W., Zhu, W., y Wang, S. (2019). Effects of different levels of macroalga *Gracilaria lemaneiformis* on growth performance and feed utilization on the red sea bream, *Pagrosomus major*. *Journal of Applied Phycology*, 31: 3213-3222.

Young, I. S. y McEneny, J. (2001). Lipoprotein oxidation and atherosclerosis. *Biochemical Society Transactions*, 29: 358-362.

Fuentes web:

Blog Adriaticnature (2017). *Ctenopharyngodon idella*. Recuperado el 3/07/2020 de: <http://adriaticnature.com/archives/4074>

FAO (2009). *Ctenopharyngodon idellus*. Cultured aquatic species fact sheets. Recuperado el 5/06/2020 de: http://www.fao.org/tempref/FI/DOCUMENT/aquaculture/CulturedSpecies/file/es/es_grasscarp.htm

IFFO (2017). Ratios pescado requerido: pescado obtenido (FIFO) para la conversión de pescado silvestre a pescado de cultivo, incluyendo salmon. Recuperado el 08/07/2020 de: <https://www.iffonet.es/ratios-pescado-requerido-pescado-obtenido-fifo>

ANEXO I: PÓSTER PRESENTADO EN EL CONGRESO DE LA SOCIEDAD IBÉRICA DE ICTIOLOGÍA, 2020.

MACARONESIAN SEAWEEDS WRACKS. POTENTIAL USE IN DIETS FOR GRASS CARP (*Ctenopharyngodon idella*)

Abstract

Inclusion of algae in fish feed has been recently described to have several physiological benefits. In order to determine the use of Macaronesian macroalgal wracks in diets for grass carp (*Ctenopharyngodon idella*), two complementary experiments were carried out in a recirculating aquaculture system (RAS). In the first experiment (E1), fish (8.6 ± 1.9 g) were fed with an extruded diet for tilapia (Skretting) (control group; n=45), or the tilapia diet supplemented with 15% of a 1 mm wind dried-powder of a multispecific macroalgae wrack (33.8% *Asparagopsis taxiformis*, 28.6% *Lobophora* sp., 22.6% *Dictyota* sp., 14.5% *Cymopolia barbata* and 0.5% *Laurencia* sp.) (experimental treatment; n=45) obtained from Gran Canaria island (Spain) coasts. After 133 days, 4 individuals of each treatment were slaughtered, and the remaining individuals used for the second experiment (E2). In E2, the fish received the tilapia diet (control group) or this diet supplemented with 7% of either the multispecific wrack (experimental treatment 1) or a virtually monospecific (95% *Lobophora* sp.) macroalgae wrack (experimental treatment 2), for 99 days. Fish weight, size, hepatosomatic (HSI), viscerosomatic (VSI), and visceral-fat index (VFI) were determined in both experiments. Muscle samples were also collected for their total lipid (TL) contents and fatty acid (FA) profiles. Our results suggest that inclusion of multispecific macroalgal wrack in fish diets for *C. idella* caused a lower and healthier perivisceral and liver fat deposition regardless the percentage of dietary inclusion, and without affecting muscle TL and FA profiles. A 15% dietary inclusion of macroalgae wrack had a negative effect on growth rates whereas a 7% of monospecific wrack did not cause a detrimental effect on growth, which was even improved with the multispecific one. The use of a 7% of multispecific seaweed as a feed additive seems to have a beneficial effect in both growth and visceral fat deposition in *C. idella*.

Acknowledgements: MACBIOBLUE (MAC/1.1b/086). CajaSiete (fellowship A.G.), Gobierno de Canarias (fellowship M.M.), C.R. is a member of ITB (Canary Islands).

Agradecimientos.

En la primera reunión sobre el TFG, entendí el 50% de lo comentado y al salir, lo primero que hice fue coger mi teléfono y buscar en Google arribazón multiespecífico ¿Qué era eso?

Me gustaría dar las gracias, pues, a Covadonga por la oportunidad que me ha dado, por meterme en un mundo que desconocía, por aportar su sabiduría y su conocimiento en los momentos que he necesitado. Un placer y un honor.

Quiero dar las gracias también al Instituto Tecnológico de Canarias (ITC) y a la Fundación Neotrópico por su colaboración en esta investigación.

A Manuel Marrero por cederme datos presentes en este trabajo y su cordialidad en todo momento.

A José Antonio por su amabilidad y buen rollo siempre que aparecía por el laboratorio, a Diego, a Margarita y Ana Bolaños que siempre que coincidimos tuvieron un trato muy agradable y a todas las personas del Departamento de Fisiología Animal por hacerme sentir uno más.

A Víctor que coincidimos poco en el laboratorio pero siempre se mostró muy colaborativo.

A Lupe, por ayudarme siempre, por tenerlo todo controlado en el laboratorio y por su buen humor contagioso, ¡una crack!

Me gustaría hacer una mención muy especial a Ana, la cotutora de este trabajo, la cual se convirtió en un pilar básico de mi TFG, su ayuda en el laboratorio, los vídeos explicativos, los mensajes, los audios (he de confesar que cuando eran muy largos temblaba un poco pensando en qué la había liado otra vez), las correcciones, la infinita paciencia, el no importar si era fin de semana o no, tampoco la hora. Son muestras inequívocas de una gran trabajadora y una gran persona. Sobra decir que sin ella el trabajo no habría salido adelante. Gracias por tanto, he sido muy afortunado.

Hablando de fortuna, me gustaría nombrar a mis amigos en especial a Atte, David, Manu, Jorge y demás personas que me han ayudado y con los que he compartido muchas experiencias en la carrera que se han repetido y se repetirán fuera de ésta. Han sido un apoyo importante.

El apoyo y la fortuna son dos palabras que vienen de la mano cuando me toca hablar de mi familia.

Gracias a mis abuelos, por la huella que han dejado en mí.

A mis padres porque todo lo que soy se los debo a ellos, por ser parte de mis victorias y mis derrotas, gracias a mis hermanos (y toda la tropa asociada) por estar ahí siempre y ser el espejo en cuál me he fijado (y por picarme cuando es oportuno también).

A Yanira, por ser un apoyo incondicional, infatigable, por su predisposición a ayudarme, por estar ahí cuando ni yo me aguanto, por hacerme sentir que puedo con todo. Gracias a su familia, de la que me congratula formar parte.

Ocho meses después, me alegro de haber podido estar en este bonito reto gracias al cual he aprendido muchísimo.

Gracias a todos, por todo.