



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO

DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



EFECTO DOSIS-RESPUESTA SOBRE LA  
SUPLEMENTACION DE INULINA EN EL ALIMENTO  
MICROPARTICULADO PARA LARVAS DE  
PEJELAGARTO (*Atractosteus tropicus*)

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
**MAESTRO EN CIENCIAS AMBIENTALES**

P R E S E N T A

BIOL. EDUARDO DE LA CRUZ MARÍN

DIRECTORES

DR. CARLOS ALFONSO ÁLVAREZ GONZÁLEZ

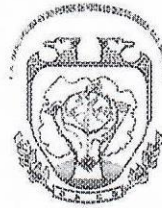
DRA. GLORIA GERTRUDYS ASENCIO ALCUDIA

VILLAHERMOSA, TABASCO, MARZO 2023.



**UNIVERSIDAD JUÁREZ  
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



**DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DIRECCIÓN**

MARZO 07 DE 2023

**C. EDUARDO DE LA CRUZ MARÍN  
PAS. DE LA MAESTRIA EN CIENCIAS AMBIENTALES  
P R E S E N T E**

En virtud de haber cumplido con lo establecido en los Arts. 80 al 85 del Cap. III del Reglamento de titulación de esta Universidad, tengo a bien comunicarle que se le autoriza la impresión de su Trabajo Recepcional, en la Modalidad de Tesis de Maestría en Ciencias Ambientales titulado: **"EFECTO DOSIS-RESPUESTA SOBRE LA SUPLEMENTACIÓN DE INULINA EN EL ALIMENTO MICROPARTICULADO PARA LARVAS DEL PEJELAGARTO (*Atractosteus tropicus*)"**, asesorado por el Dr. Carlos Alfonso Álvarez González y Dra. Gloria Gertrudys Asencio Alcudia sobre el cual sustentará su Examen de Grado, cuyo jurado integrado por Dr. Rafael Martínez García, Dra. Susana del Carmen de la Rosa García, Dr. Carlos Alfonso Álvarez González, Dra. Rocío Guerrero Zárate y Dr. Luis Daniel Jiménez Martínez.

Por lo cual puede proceder a concluir con los trámites finales para fijar la fecha de examen.

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

**ATENTAMENTE  
ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE**

**DR. ARTURO GARRIDO MORA  
DIRECTOR**

**U.J.A.T.  
DIVISIÓN ACADÉMICA  
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



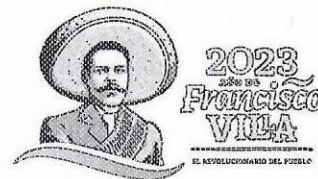
**DIRECCIÓN**

C.c.p.- Expediente del Alumno.  
C.c.p.- Archivo



**UNIVERSIDAD JUÁREZ  
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



**DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DIRECCIÓN**

Villahermosa, Tab., a 07 de Marzo de 2023

**ASUNTO:** Autorización de Modalidad de Titulación

**C. LIC. MARIBEL VALENCIA THOMPSON  
JEFE DEL DEPTO. DE CERTIFICACIÓN Y TITULACION  
DIRECCIÓN DE SERVICIOS ESCOLARES  
P R E S E N T E**

Por este conducto y de acuerdo a la solicitud correspondiente por parte del interesado, informo a usted, que en base al reglamento de titulación vigente en esta Universidad, ésta Dirección a mi cargo, autoriza al **C. EDUARDO DE LA CRUZ MARÍN** egresado de la Maestría en **CIENCIAS AMBIENTALES** de la División Académica de **CIENCIAS BIOLÓGICAS** la opción de titularse bajo la modalidad de Tesis de Maestría denominado: **"EFECTO DOSIS-RESPUESTA SOBRE LA SUPLEMENTACIÓN DE INULINA EN EL ALIMENTO MICROPARTICULADO PARA LARVAS DEL PEJELAGARTO (*Atractosteus tropicus*)"**.

Sin otro particular, aprovecho la ocasión para saludarle afectuosamente.

**A T E N T A M E N T E**

**DR. ARTURO GARRIDO MORA  
DIRECTOR DE LA DIVISIÓN ACADÉMICA  
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**U.J.A.T.  
DIVISIÓN ACADÉMICA  
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



C.c.p. - Expediente Alumno de la División Académica  
C.c.p.- Interesado

## CARTA AUTORIZACIÓN

El que suscribe, autoriza por medio del presente escrito a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para que utilice tanto física como digitalmente el Trabajo Recepcional en la modalidad de Tesis de Maestría denominado: **“EFECTO DOSIS-RESPUESTA SOBRE LA SUPLEMENTACIÓN DE INULINA EN EL ALIMENTO MICROPARTICULADO PARA LARVAS DEL PEJELAGARTO (*Atractosteus tropicus*)”**, de la cual soy autor y titular de los Derechos de Autor.

La finalidad del uso por parte de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco el Trabajo Recepcional antes mencionada, será única y exclusivamente para difusión, educación y sin fines de lucro; autorización que se hace de manera enunciativa más no limitativa para subirla a la Red Abierta de Bibliotecas Digitales (RABID) y a cualquier otra red académica con las que la Universidad tenga relación institucional.

Por lo antes manifestado, libero a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de cualquier reclamación legal que pudiera ejercer respecto al uso y manipulación de la tesis mencionada y para los fines estipulados en éste documento.

Se firma la presente autorización en la ciudad de Villahermosa, Tabasco el día 07 de Marzo del dos mil veintitrés

AUTORIZO



---

EDUARDO DE LA CRUZ MARÍN



UNIVERSIDAD JUÁREZ  
AUTÓNOMA DE TABASCO

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



División Académica  
de Ciencias Biológicas.

Dirección.



Villahermosa, Tabasco a 06 de marzo de 2023

**C. EDUARDO DE LA CRUZ MARÍN**  
EST. DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES  
PRESENTE

En cumplimiento de los lineamientos de la Universidad, y por instrucciones de la Dirección de Posgrado, se implementó la revisión de los documentos recepcionales (tesis), a través de la plataforma Turnitin iThenticate para evitar el plagio e incrementar la calidad en los procesos académicos y de investigación en esta División Académica. Esta revisión se realizó en correspondencia con el Código de Ética de la Universidad, el Reglamento General de Estudios de Posgrado, el Código Institucional de Ética para la Investigación y con los requerimientos para los posgrados en el SNP-CONACyT.

Por este conducto, hago de su conocimiento las observaciones y el reporte de originalidad de su documento de tesis. Con el objetivo de fortalecer y enriquecer el programa de posgrado, el responsable del programa realizó la revisión del documento en la plataforma iThenticate, obteniendo el reporte de originalidad, el índice de similitud y emitió las siguientes sugerencias y recomendaciones para dar seguimiento en el documento de tesis del proyecto de investigación: **"Efecto dosis-respuesta sobre la suplementación de inulina en el alimento microparticulado para larvas de pejelagarto (*Atractosteus tropicus*)"**.

OBSERVACIONES:

1. **El índice de similitud obtenido fue de 08%**, el cual se ubica dentro del estándar de tolerancia de acuerdo a las Políticas y Lineamientos para el uso y manejo del Software Antiplagio de la UJAT.
2. Aun que el índice de similitud obtenido indica coincidencias, éstas se refieren a frases en las secciones de antecedentes y de métodos, principalmente. Lo anterior no demerita el documento de tesis, pero se recomienda revisar las oraciones identificadas

KM. 0.5 CARR. VILLAHERMOSA-CÁRDENAS ENTRONQUE A BOSQUES DE SALOYA  
Tel. (993) 358-1500 Ext. 6400 y 6401, e-mail: dirección.dacbiol@ujat.mx

Usar papel reciclado economiza energía, evita contaminación y despilfarro de aguay ayuda a conservar los bosques



UNIVERSIDAD JUÁREZ  
AUTÓNOMA DE TABASCO

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



División Académica  
de Ciencias Biológicas.

Dirección.



con similitud de 16 o más palabras y ajustarlas a una redacción propia del sustentante. Es importante recordar que citar otros estudios implica de un análisis y síntesis de la información, que debe privilegiarse por encima del parafraseo y la cita textual.

3. **Se adjunta el informe de originalidad de la tesis** obtenido a través de la herramienta Turnitin iThenticate.
4. Finalmente, se le solicita al C. Eduardo De la Cruz Marín, integrar en la versión final de tesis, este oficio y el informe de originalidad con el porcentaje de similitud de Turnitin iThenticate.

Sin otro particular al cual referirme, aprovecho la oportunidad para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE  
"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"

DR. ARTURO GARRIDO MORA  
DIRECTOR DACBIOL

U.J.A.T.  
DIVISIÓN ACADÉMICA  
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



DIRECCIÓN

C.C.P.

Dr. Carlos Alfonso Álvarez González. Director de Tesis.  
ARCHIVO

KM. 0.5 CARR. VILLAHERMOSA-CÁRDENAS ENTRONQUE A BOSQUES DE SALOYA  
Tel. (993) 358-1500 Ext. 6400 y 6401, e-mail: dirección.dacbiol@ujat.mx

Usar papel reciclado economiza energía, evita contaminación y despilfarro de agua ayuda a conservar los bosques

# Efecto dosis-respuesta sobre la suplementación de inulina en el alimento microparticulado para larvas de pejelagarto (*Atractosteus tropicus*)

INFORME DE ORIGINALIDAD

8%

ÍNDICE DE SIMILITUD

FUENTES PRIMARIAS

1	<a href="https://link.springer.com">link.springer.com</a> Internet	80 palabras – 1%
2	<a href="https://www.researchsquare.com">www.researchsquare.com</a> Internet	71 palabras – 1%
3	Cesar Antonio Sepúlveda Quiroz, Emyr Saul Peña Marín, Alfredo Pérez Morales, Rafael Martínez García et al. " Fructooligosaccharide supplementation in diets for tropical gar ( <i>Lates niloticus</i> ) juvenile: Effects on morphophysiology and intestinal barrier function ", <i>Aquaculture Research</i> , 2020 Crossref	66 palabras – 1%
4	<a href="https://www.agrifoodscience.org">www.agrifoodscience.org</a> Internet	55 palabras – 1%
5	<a href="https://addi.ehu.es">addi.ehu.es</a> Internet	40 palabras – < 1%
6	<a href="https://cienciasmarinas.com.mx">cienciasmarinas.com.mx</a> Internet	40 palabras – < 1%
7	Zuleyma Zamora Solís, Luis Daniel Jiménez Martínez, Carlos Alfonso Frías Quintana,	35 palabras – < 1%

## Dedicatoria

*Para la mujer que ha puesto toda su dedicación y esfuerzo para que yo sea mejor, mejor persona, mejor profesionista, mejor en todo lo que emprenda, a la que me enseñó a luchar por lo que quiero, a la que se sacrificó por darme lo que ella nunca pudo tener, a la que siempre me ha dado ánimos para ser más capaz y desarrollar de mejor manera mis habilidades, a la que siempre ha estado conmigo a pesar de todo. A mi MADRE, a ella dedico con mucho cariño esta tesis.*

*Muchas mujeres hicieron el bien; más tu sobrepasas a todas. Prov. 31.29*



## Agradecimientos

A mis asesores: a la Dra. Gloria Asencio que sin lugar a duda es la que mayor parte tiene en este proyecto, gracias por adoptarme como su pupilo, gracias por sus consejos, por sus orientaciones, por sus palabras de ánimo en tiempos de estrés, por su manera de guiarme con paciencia y delicadeza, por ser una gran maestra y amiga, por creer mucho en mí, muchas gracias. A mi director y gran maestro que admiro mucho, al Dr. Carlos Alfonso, gracias por su paciencia, por sus sabias palabras, por su guía en todo este proyecto, por su aportación de conocimientos, por compartir mucho de su sabiduría, y por ser un gran hombre de gran carácter, que, con su calidez, sencillez y resiliencia, es un gran ejemplo para seguir en este campo de la investigación.

A la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco y a la División de Ciencias biológicas, por aceptarme para cursar la maestría en Ciencias Ambientales y por ser la formadora profesional de mi carrera.

Al Consejo de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo otorgado (1071217) para llevar a cabo estos estudios.

A mis maestros que fueron parte de mi comité Sinodal: al Dr. Rafael Martínez, por su incondicional apoyo moral y de conocimientos, gracias por sus consejos y por su orientación con respecto a este proyecto, al Dr. Emyr y la Dra. Susana de la Rosa, por sus aportaciones, orientaciones y revisión de esta investigación, al Dr. Dariel por su paciencia, sus sabios consejos, su guía y enseñanzas, así como también por recibirme durante mi estancia en la Paz.

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR) por aceptarme, recibirme, capacitarme y por sus grandes aportes científicos.

A la Mtra. Jenny por su gran apoyo en las técnicas de laboratorio, por su valiosa amistad y por su gran aporte de conocimientos y experiencia científica.

A mis amigos, colegas de laboratorio por sus motivaciones, grandes aportes y apoyo incondicional en esta investigación. A César por su gran apoyo en toda la parte digital y estadística, a Graciela por sus palabras de ánimo y de apoyo moral, al Mtro. Otilio, por apoyo moral y científico en la parte histológica, así como sus observaciones que fueron de gran apoyo en este trabajo.

A la Dra. Rocío por sus sabios consejos y charlas de diferentes temas y que, sin lugar a duda, fueron de ayuda para mí, al Dr. Uriel por sus charlas e interrogantes que de alguna manera me ayudaron a leer e investigar más y al Dr. Luis D. que también ha sido parte de este proyecto y que sus consejos me han servido mucho.

A mis amigos de proyectos Gabo, Reyes, Alejandra y Gianfranco por su valioso apoyo en la parte experimental, de estudios, de redacción, y estadísticos.

A mis amigos de Maestría: Karla y Jenny por sus aportaciones de conocimientos, intercambio de ideas y su apoyo en diferentes ocasiones. A mi gran amigo Moisés, por su valioso apoyo en las diferentes actividades que realice en mi investigación, por sus ideas, por su apoyo en la parte histológica y por todo el apoyo incondicional que siempre me brindo.

A mis compañeras de trabajo: Laura, Talhía y Susy por su apoyo en la parte de los bioensayos e intercambios de ideas.

A mis grandes maestras: Blanca, Rivas, Leandra, Claudia, Coral, Jacquie, Aracely, Lilly por su gran apoyo moral y motivacional, por todos los ánimos que me brindaron durante todo este tiempo de mi formación académica y que han estado presentes para poder continuar.

A mi gran familia: A mi hno. Isaí por su apoyo incondicional en todo, por sus aportaciones de ideas, revisiones de escritura, sus interrogantes y su apoyo digital. A mi tío Antonio por todo su apoyo moral, económico y de motivación, a mi primo Irán por siempre animarme, a mi tía Lidia por siempre alentarme y motivarme y a mi abue Flor por siempre darme esperanza y orar por mí.

A la Hermandad. Al grupo de todas mis primas que sin lugar a duda fueron parte motivacional y de apoyo moral durante el recorrer de este proyecto.

Y sobre todas las cosas, muchas Gracias a DIOS, porque sin Él, nada de esto hubiese sido hecho, gracias a Él, porque me permitió llevar a cabo este proyecto, culminarlo y colocarme con las personas indicadas con las que podría colaborar y las cuales me ayudarían a obtener más conocimientos y enriquecer mi vida académica, gracias porque me dio los recursos necesarios para lograrlo y a pesar de todo lo que vivimos en estos tiempos de pandemia, nos dio salud para continuar. *“Porque de Él, y por Él, y para Él, son todas las cosas, a Él sea la gloria por los siglos. Amen.” Rom. 11:36*

## Resumen

Se evaluó el efecto de la adición de inulina a dietas balanceadas para larvas de pejelagarto (*Atractosteus tropicus*) sobre el crecimiento, la supervivencia, la actividad de enzimas digestivas y la actividad antioxidante. Las dietas se suplementaron con 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 y 2.5% de inulina, además de una dieta de control (0% de inulina). Se utilizó un total de 1800 larvas de *A. tropicus* distribuidas en 18 tanques; las larvas se alimentaron cinco veces al día (8:00, 11:00, 13:00, 15:00 y 18:00) con nauplios de *Artemia* desde la absorción de la yema (de 3 a 7 días después de la eclosión, DAH) hasta 10 DAH, que se mezcló con los alimentos experimentales de 8 a 11 DAH (alimentación conjunta) y exclusivamente con las dietas equilibradas de 12 DAH a 21 DAH. Las larvas alimentadas con la dieta de control (0% de inulina) presentaron el mayor crecimiento en peso y longitud, seguidas de los peces alimentados con las inclusiones de inulina al 2.5 y al 2.0%. Sin embargo, la supervivencia mostró que los peces alimentados con la inclusión de 2.5% de inulina tuvieron el porcentaje más alto (34,7%) en comparación con el resto de los tratamientos. Por otro lado, las mayores actividades enzimáticas digestivas (proteasas ácidas y alcalinas, amilasa y lipasa) se registraron en las larvas alimentadas con 2 y 2.5% de inulina. Asimismo, las actividades de catalasa (CAT) y superóxido dismutasa (SOD) fueron mayores en las larvas alimentadas con la dieta de control con 0% de inulina. Se recomienda la suplementación de la dieta con un 2.0% a un 2.5% de inulina para las larvas de *A. tropicus*, ya que mejora la supervivencia y la actividad de las enzimas digestivas durante esta fase temprana de la vida.

## Índice

1. Introducción .....	1
2. Antecedentes .....	3
2.1 Generalidades y conceptos .....	5
2.2 Enzimas digestivas .....	6
2.3 Enzimas antioxidantes .....	7
3. Justificación .....	9
4. Hipótesis .....	10
5. Objetivos .....	10
5.1 Objetivo General .....	10
5.2 Objetivos Específicos .....	10
6. Referencias .....	11
7. Artículo en extenso .....	20
7. Capítulo 1 .....	20

## 1. Introducción

La acuicultura a nivel mundial representa una actividad en constante expansión por su rentabilidad y potencial económico (Kobayashi *et al.*, 2015). Por lo cual la alimentación de las especies cultivadas es de gran importancia, ya que esta determina las condiciones de salud, su respuesta ante enfermedades y su sobrevivencia, por ello en la actualidad se buscan mejores alternativas nutricionales que conlleven a un mayor rendimiento productivo, eficiente y por supuesto, a menor costo (Uribe *et al.*, 2011; Oliva-Teles, 2012).

En este aspecto, cuando el alimento no es el apropiado y las condiciones de cultivo son deficientes, se pueden generar diversas enfermedades infecciosas en los organismos acuáticos, lo que constituye un grave problema en la industria acuícola, ya que incrementa los costos y pueden provocar grandes pérdidas en la producción. Es por ello, que se ha buscado métodos para contrarrestar estos daños (Carbone y Faggio, 2016), por lo que se ha implementado el uso de prebióticos y probióticos como una alternativa para mejorar la resistencia a las enfermedades, reducir la mortalidad y mejorar la nutrición de los peces (Cota Gastélum, 2011). Los prebióticos son ingredientes funcionales de tipo carbohidratos que no pueden ser asimilados por el organismo, pero que son considerados benéficos para la salud por las propiedades biológicas que contienen (Cota-Rubio *et al.*, 2008; Dwivedi *et al.*, 2014; Martínez-Cervantes *et al.*, 2019; Vergara *et al.*, 2010), ya que minimizan el riesgo de enfermedades y la necesidad del uso de medicamentos, hormonas, antibióticos y otros químicos (Cota Gastélum, 2011).

Los prebióticos son aditivos alimenticios naturales y su incorporación a la dieta no requiere indicaciones particulares (Gatesoupe, 2005; Yousefian y Amiri, 2009); estos aditivos tienen el potencial para aumentar la eficiencia alimenticia, respuesta sanitaria y sostenibilidad en la acuicultura (Ringo *et al.*, 2010). Adicionalmente, pueden obtenerse fácilmente, ya que se encuentran en componentes naturales como leche, miel, frutas y verduras, entre otros (Aachary *et al.*, 2011; Mussatto y Mancilha, 2007; Sangeetha *et al.*, 2005; Ziemer y Gibson, 1998).

Uno de los prebióticos prometedores para la acuicultura es la inulina, el cual es un oligosacárido formado por fructanos ligados a los enlaces lineales  $\beta$  (2-1), que se encuentran presentes en una diversidad de plantas y alimentos como el ajo, la cebolla, el agave, la alcachofa, entre otros (Roberfroid *et al.*, 1993; Roberfroid, 2007; Kelly, 2008; Meyer *et al.*, 2009; Ibrahim *et al.*, 2010; Eshaghzadeh *et al.*, 2014). Éste ha demostrado tener efectos positivos en el crecimiento y/o respuesta inmune innata, promueve la resistencia a factores de estrés y enfermedades y aumentan la capacidad antioxidante (Soleimani *et al.*, 2012; Mo *et al.*, 2015; Hunt *et al.*, 2019).

El uso de los prebióticos como la inulina se realiza con fines de mejorar la eficiencia alimenticia en el cultivo de peces. En este sentido, en el sureste de México una de las especies nativas más importantes es el pejelagarto (*Atractosteus tropicus*). Esta especie ha sido estudiada por más de 30 años y su ciclo productivo ha sido cerrado, por lo que actualmente ya se encuentra en producción a nivel regional (Márquez-Couturier y Vázquez-Navarrete, 2015). *A. tropicus*, posee una importancia económica en la región, por su uso como alimento para el consumo humano y en actividades como la pesca deportiva y artesanales (Márquez-Couturier *et al.*, 2006). Múltiples estudios con esta especie han permitido conocer su biología, reproducción y genética (Márquez-Couturier y Vázquez-Navarrete, 2015). Sin embargo, aún existen temas relacionados con su cultivo que faltan por ampliar, como lo es su nutrición, aspectos fisiológicos y el canibalismo particularmente durante la larvicultura (Guerrero-Zárate *et al.*, 2013; Frías-Quintana *et al.*, 2015; Palma-Cancino *et al.*, 2019).

Es por ello, que se realizan estudios para evaluar la fisiología digestiva del pejelagarto, con el propósito de encontrar una mejora en la nutrición de esta especie y asimismo, buscar alternativas para mitigar el canibalismo (Frías-Quintana *et al.*, 2016, 2017), el cual puede ser generado por factores detonantes de estrés que se ejercen durante el periodo de deshabitación al alimento artificial y durante la manipulación de los sistemas de cultivo, por lo que es un tema relevante, ya que afecta de manera considerable la supervivencia de la población (Palma-Cancino *et al.*, 2019). Es así, que mediante la implementación de ingredientes funcionales como los prebióticos en las dietas para larvas, se busca encontrar la respuesta nutricional, y que mejore su

fisiología digestiva, mitigue los efectos de estrés oxidativo y disminuya el canibalismo en las larvas de *A. tropicus*. Por ello, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la suplementación con inulina en el larvicultivo de *A. tropicus* como una alternativa que complemente y contribuya en la nutrición de la especie y permita mejorar el crecimiento, supervivencia y su fisiología.

## 2. Antecedentes

Uno de los prebióticos más estudiados que posee grandes beneficios es la inulina. La cual es una mezcla heterogénea de polímeros de fructuosa, que son de origen natural y está formado por unidades de fructuosa y una glucosa terminal (Hunt *et al.*, 2019); asimismo, un aspecto que hace único la estructura de la inulina son sus enlaces  $\beta$  (2-1), los cuales impiden que la inulina sea digerida como un carbohidrato y que su valor calórico y sus efectos de fibra dietética sean reducidos (Nines, 1999). De acuerdo con Shoaib *et al.* (2016), este prebiótico es un componente importante del complejo de fibra dietética, esto significa que es impermeable a la hidrólisis por las secreciones gástricas y a la absorción en el intestino delgado, mientras que es fermentable por la microflora del intestino grueso. En ese tenor, Meyer y Wolthuis (2009), mencionan que la inulina posee efectos inmunomoduladores ya que favorece la activación del sistema inmunológico intestinal, así como también de la mucosa, haciendo resistente a los organismos de infecciones bacterianas.

La inulina ha sido uno de los prebióticos más utilizados en la acuicultura debido a sus efectos positivos en el crecimiento y la conversión alimenticia que se ha podido observar en algunas especies como la tilapia híbrida, *Oreochromis niloticus* (Ibrahim *et al.* 2010; Tiengtam *et al.* 2017), el esturión siberiano, *Acipenser baeri* (Mahious y Ollever, 2005), el bagre africano, *Clarias gariepinus* (Mahious y Ollever, 2005), el rodaballo, *Psetta máxima* (Mahious *et al.*, 2006), el salmón del Atlántico, *Salmo salar* (Gridale-Helland *et al.*, 2008), el pez del Caspio, *Rutilus rutilus* (Soleimani *et al.* 2012), la trucha arcoíris *Oncorhynchus mykiss* (Ortiz *et al.*, 2013) y el esturión, *Acipenser stellatus* (Akrami *et al.*, 2013). De esta manera, algunos autores han obtenido una mayor tasa de supervivencia en los peces al suplementar inulina en el

alimento (Ibrahem *et al.*, 2010; Eshaghzadeh *et al.*, 2014; Boonanuntanasarn *et al.*, 2017; Hunt *et al.*, 2019).

Por otra parte, algunas de las técnicas analíticas más importantes para conocer los efectos del prebiótico en los peces, son las bioquímicas que permiten observar la actividad de las enzimas digestivas, ya que estas determinan la capacidad para utilizar los nutrientes de una fuente alimenticia que requieren los organismos y mantener la homeostasis metabólica (Furner *et al.*, 2005). Es así como, (Soleimani *et al.*, 2012) encontraron un aumento significativo en actividades de las enzimas digestivas (amilasa, lipasa, proteasa) al adicionar inulina en *R. rutilus*. En ese mismo sentido, (Hunt *et al.*, 2019), mencionan que las actividades pepsina, amilasa intestinal, tripsina y lipasa fueron significativamente altas al adicionar el prebiótico. En el caso del prebiótico fructo-oligosacárido (FOS), el cual es un precursor de la inulina, se suplementó en dietas para la brema de Wuchang (*Megalobrama amblycephala*), donde se encontró una mayor significancia en las enzimas amilasa y proteasa (Wu *et al.*, 2013). En el pejelagarto (*Atractosteus tropicus*) solamente existe un estudio en juveniles donde se demostró un aumento significativo de las actividades para proteasas acidas, quimotripsina y leucina aminopeptidasa al suplementar con FOS al 0.5% en la dieta (Sepúlveda-Quiroz *et al.*, 2020).

Por otra parte, las enzimas antioxidantes son marcadores bioquímicos muy importantes ya que responden a diversas situaciones de estrés en el organismo, evitando el daño a las membranas celulares por el efecto nocivo ocasionado por las especies reactivas al oxígeno (ROS) (Livingstone, 2001). En este aspecto, una de las principales enzimas en la respuesta antioxidante es la superóxido dismutasa (SOD), la cual es considerada como la enzima de primera respuesta a la presencia de radicales de oxígeno (Halliwell y Gutteridge 2007). En estudios previos en peces donde la dieta se ha suplementado con inulina, se ha obtenido un aumento significativo de SOD bajo condiciones estresantes o pruebas de patogenicidad (Raffic Ali *et al.*, 2018; Hunt *et al.*, 2019; Yones *et al.*, 2019). Asimismo, en otros estudios con FOS se ha reportado un aumento significativo de la actividad de esta enzima cuando los peces presentan estrés al manejo (Li *et al.*, 2008; Ai *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2013;



Guerreiro *et al.*, 2014). Por otra parte, otra enzima antioxidante altamente evaluada es la catalasa (CAT), donde se ha observado un aumento significativo de su actividad con la suplementación de inulina dietaria, lo cual ha sido reportado en *O. mykiss* (Hunt *et al.*, 2019), así como en *S. maximus* con la inclusión FOS en la dieta (Guerreiro *et al.*, 2014) y en *M. amblycephala* con la adición de XOS, donde adicionalmente, se presentó un aumento significativo de la enzima glutatión peroxidasa (GPx) (Abasubong *et al.*, 2018). Los estudios donde se evalúan las enzimas antioxidantes con la inclusión de prebióticos en peces de agua dulce son escasos, y la mayoría se enfocan en el crecimiento, la supervivencia, la eficiencia alimenticia y en algunas ocasiones, la respuesta inmune (Guerreiro *et al.*, 2014).

En lo que respecta a las investigaciones realizadas en *A. tropicus* sobre el uso de prebióticos, se ha reportado un efecto positivo con la inclusión de manano-oligosacárido (MOS) al 0.4% (Nájera-Arzola *et al.*, 2018), con 0.5% de  $\beta$ -glucanos (Nieves-Rodríguez *et al.*, 2018) y entre el 1 y 1.5% de fructooligosacáridos (FOS), todos estos estudios se han realizado en juveniles (Sepúlveda-Quiroz *et al.*, 2020) y donde se evaluó la fisiología digestiva y nutricional de la especie. No obstante, es necesario profundizar en los estudios en las larvas de *A. tropicus*, con el fin de optimizar el alimento al momento de la deshabitación, así como una incrementar la sobrevivencia, crecimiento y reducir el estrés provocado por el manejo.

## 2.1 Generalidades y conceptos

El pejelagarto (*Atractosteus tropicus*) es un pez perteneciente a la familia Lepisosteidae, es considerado como un fósil viviente, se localiza en los sistemas dulceacuícolas, distribuyéndose en el sureste mexicano, desde el sur del Veracruz, Tabasco, Campeche y Chiapas, extendiéndose en Centroamérica hasta Costa Rica (Márquez-Couturier & Vázquez-Navarrete, 2015; Martínez-Cárdenas *et al.*, 2020). Esta especie tiene un rol importante como regulador de poblaciones de diversas especies de peces y anfibios de la zona donde se distribuye y asimismo juega un papel importante en la región, ya que tiene gran demanda en el mercado por su uso en la preparación de platillos para consumo humano, en elaboración de artesanías y pesca

deportiva, lo que ha ocasionado la reducción de sus poblaciones (Márquez-Couturier *et al.*, 2006; Castro-Mejía *et al.*, 2009).

Los resultados en las investigaciones de esta especie han permitido desarrollar su cultivo en diversos sistemas acuícolas, aumentando su producción, para su conservación, restablecimiento de sus poblaciones, así como también su comercialización (Frías-Quintana *et al.*, 2015; Escalera-Vázquez *et al.*, 2018). En las últimas tres décadas, los estudios han permitido su reproducción en cautiverio y sobre todo en la elaboración de dietas balanceadas para el cultivo de larvas y juveniles (Frías-Quintana *et al.*, 2015; Márquez-Couturier y Vázquez-Navarrete, 2015; Jesús-De la Cruz *et al.*, 2019); sin embargo, aún se continua estudiando su fisiología digestiva y efectos de enzimas antioxidantes en las etapa larval y juvenil, para una mejor comprensión de sus procesos digestivos y de estrés oxidativo, y con ello, mejorar los sistemas acuícolas para el cultivo comercial de esta especie (Frías-Quintana *et al.*, 2016; Frías-Quintana *et al.*, 2017; Jesús-De la Cruz *et al.*, 2019; Palma-Cancino *et al.*, 2019).

## **2.2 Enzimas digestivas**

Las enzimas son biomoléculas de naturaleza proteínica especializadas y numerosas, que actúan como catalizadores acelerando la velocidad de las reacciones químicas específicas en los seres vivos o sistemas biológicos hasta alcanzar un equilibrio. (Cremosi, 2002).

### **Lipasa**

Las lipasas (acilo-hidrolasa de triacilglicerol C.E. 3.1.1.3) son enzimas que catalizan la hidrólisis de triacilgliceroles en la interfase lípido-agua para liberar glicerol y ácidos grasos libres. Se encuentran distribuida en la naturaleza, en microorganismos, animales y plantas. Las lipasas en comparación con otras enzimas hidrolíticas lipasas han sido menos estudiadas y en organismos acuáticos son menos conocidas; sin embargo, en los últimos años ha crecido un interés por estudiar esta enzima debido a que se ha encontrado que es versátil y tiene la capacidad para sintetizar compuestos

orgánicos en mezclas con baja actividad de agua (Aryee *et al.*, 2007; Gonzalez-Bacerio *et al.*, 2010).

### **Amilasa**

Las amilasas son catalizadores de hidrólisis, en enlaces glicosídicos  $\alpha$ -1,4 de polisacáridos, como el almidón, el glicógeno, entre otros, su fin es la producción de glucosa, maltosa y oligosacáridos, podemos encontrarla en plantas, animales y microorganismos, actualmente tiene gran importancia en la industria alimenticia, textil, papelera, cervecera y farmacológica, por la producción y remoción del almidón, así como también su uso como aditivos en los productos que se fabrican (Espinel *et al.*, 2009; Quintero-Moreno *et al.*, 2009).

### **Peptidasas**

Las peptidasas (enzimas proteolíticas o proteasas) son enzimas que actúan rompiendo o hidrolizando los enlaces peptídicos de las proteínas, creando fragmentos más pequeños e hidrosolubles como oligopéptidos y en ocasiones aminoácidos. Algunas de las funciones que realiza son la digestión de proteínas, y la activación de pro-enzimas y pro-hormonas (Alvarez-González, 2003; Corrales, 2018).

### **2.3 Enzimas antioxidantes**

En los organismos existe un sistema de protección antioxidante formado por mecanismos de enzimas y compuestos no enzimáticos, los cuales entran en función cuando se producen sustancias oxidantes bactericidas dentro del huésped, las cuales se han denominado con el nombre de Especies Reactivas de Oxígeno (EROS, ROS en inglés), las cuales provocan daño celular, proteínico y lipídico, por lo que su eliminación rápida y eficaz es importante para mantener un buen estado de salud y de la supervivencia. A las enzimas que sirven de control y defensa de dichas sustancias oxidantes, se le conoce con el nombre de enzimas antioxidantes, entre las cuales podemos encontrar ascorbato peroxidasa, glutatión reductasa, catalasa y peroxidasa, las cuales eliminan efectivamente el peróxido de hidrógeno de las células. Asimismo, la superóxido dismutasa (SOD) tiene la capacidad de dismutar el anión superóxido generando como resultado agua y peróxido de hidrógeno

(Céspedes-Miranda *et al.*, 1996; Díaz, 2003; Campa-Córdova *et al.*, 2005; Villa *et al.*, 2008).

### **Catalasa**

La catalasa (CAT) es una enzima antioxidante que se encuentra abundantemente en la naturaleza, principalmente en los organismos aerobios. Esta se encarga de la dismutación del peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) en agua y oxígeno, generado durante el metabolismo celular, se caracteriza por su alta capacidad de reacción, pero poca afinidad por el sustrato. Presenta dos funciones principales: la catalítica y la peroxidativa, así mismo otras funciones relevantes en las que participa son: su papel protector en la inflamación y la prevención de mutaciones y la protección de la hemoglobina del peróxido de hidrógeno que se genera en los eritrocitos (Céspedes-Miranda *et al.*, 1996; Díaz, 2003).

### **Glutación peroxidasa**

La glutación peroxidasa (GPx, EC 1.11.1.9) es una de las enzimas que participa en la protección antioxidante, esta se encarga de catalizar la reducción del peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) o lipoperóxido (L-OOH) y de otros peróxidos orgánicos, utilizando como agente reductor el glutación reducido (GSH) (Cisneros-Prego *et al.*, 1997; Villa *et al.*, 2008).

### **Superóxido dismutasa**

La superóxido dismutasa (SOD; EC 1.15.1.1) es una enzima que se encarga de la protección de oxidaciones biológicas ocasionadas por las EROS, producidas durante el metabolismo celular, estas enzimas catalizan la dismutación del anión superóxido, convirtiéndolo en peróxido de hidrógeno y oxígeno molecular, evitando así la amenaza de la radicales libres (Seclén-Santisteban *et al.*, 2006; Esquivel-Hernández, 2016).

### 3. Justificación

La nutrición acuícola es un factor primordial en el sector de cultivo en la actualidad, ya que de ella depende el nivel de salud y bienestar de los organismos, además de su productividad. Por esta razón, el presente trabajo tiene el fin de evaluar y analizar la viabilidad del enriquecimiento alimenticio con el prebiótico inulina en una especie nativa como lo es el pejelagarto (*Atractosteus tropicus*). Pretendiendo encontrar una mejora en la asimilación de nutrientes, evaluando diversos aspectos en su supervivencia desde la etapa larvaria para su mejor aprovechamiento, así como también analizar los mecanismos de defensa de los peces frente a los patógenos, a través de este prebiótico. Cabe mencionar que esta especie actualmente es de mucha importancia en el estado, por su valor cultural y gastronómico, esto genera que obtenga una gran relevancia económica y comercial, pero también ocasiona que sus poblaciones disminuyan por la sobreexplotación y por las pérdidas de hábitat. Debido a esto, el estudio en la alimentación de prejuveniles de pejelagarto será de beneficio para el sector productivo y comercial, ya que en el área acuícola se busca encontrar los avances que faciliten su cultivo, y sobre todo que genere la eficiencia y seguridad alimentaria que esta especie necesita. Por su parte, se considera que el uso de inulina jugará un papel importante en este estudio ya que posee funciones benéficas para los organismos a través de la modulación del microbioma, lo que libera compuestos activos, los cuales mejoran la absorción de nutrientes y disminuye el riesgo de enfermedades. De esta manera, el uso de prebióticos como la inulina, evita el uso de medicamentos o antibióticos, mejora la tasa de crecimiento y supervivencia, favorece el aumento de enzimas antioxidantes como defensa ante los radicales de oxígeno. Es de esta manera, que se logrará mejorar el cultivo larvario de *A. tropicus* con el fin de mejorar su fisiología en una etapa tan crítica del desarrollo.

#### 4. Hipótesis

De acuerdo con estudios previos en otras especies dulceacuícolas, la adición de inulina en el rango de proporciones entre el 1% y 2% en las dietas, favorecerá el crecimiento y sobrevivencia de las larvas de *A. tropicus*, así como también se espera mejorar la capacidad en la actividad de enzimas digestivas y antioxidantes, reduciendo la mortalidad y el estrés oxidativo.

#### 5. Objetivos

##### 5.1 General.

Determinar el efecto de diferentes niveles de inulina adicionados al alimento microparticulado para larvas del pejelagarto (*Atractosteus tropicus*) sobre el crecimiento, sobrevivencia y actividades de enzimas antioxidantes y digestivas.

##### 5.2 Específicos

1. Analizar el efecto sobre el crecimiento y sobrevivencia en larvas de *A. tropicus* alimentadas con diferentes concentraciones de inulina (0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 y 2.5%).
2. Evaluar la capacidad digestiva (actividad enzimática de lipasa, amilasa y proteasas ácidas y alcalinas) en larvas de *A. tropicus* alimentadas con dietas suplementadas con inulina (0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 y 2.5%).
3. Determinar los cambios en la actividad de las enzimas antioxidantes (catalasa, superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa) en larvas de *A. tropicus* alimentadas con dietas suplementadas con diferentes concentraciones de inulina (0, 0.5, 1, 1.5, 2 y 2.5%).
4. Determinar la concentración de inulina suplementada en la dieta para larvas de *A. tropicus* donde se mejoran los aspectos fisiológicos y de crecimiento durante su cultivo.

## 6. Referencias

- Aachary A. A, Prapulla S. G. 2011. Xylooligosaccharides (XOS) as an emerging prebiotic: Microbial synthesis, utilization, structural characterization, bioactive properties, and applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* Vol. 10,( 1) pp 2 16.
- Abasubong KP, Li X-F, Zhang D-D, et al. 2018. Dietary supplementation of xylooligosaccharides benefits the growth performance and lipid metabolism of common carp (*Cyprinus carpio*) fed high-fat diets. *Aquacult Nutr.* 00:1–9. <https://doi.org/10.1111/anu.12678>
- Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. En: Packer, L. *Methods in enzymology*, Oxygen radicals in biological systems. Academic Press, Inc. E.U.A. 105: 121-126
- Ahmdifar E, Akrami R, Ghelichi A, Mohammadi Zarejabad A. 2010. Effects of different dietary prebiotic inulin levels on blood serum enzymes, hematologic, and biochemical parameters of great sturgeon (*Huso huso*) juveniles. *Comparative Clinical Pathology* 20: 447-51.
- Ai Q, Xu H, Mai K, Xu W, Wang J, Zhang W. Effects of dietary supplementation of *Bacillus subtilis* and fructooligosaccharide on growth performance, survival, non-specific immune response and disease resistance of juvenile large yellow croaker, *Larimichthys crocea*. *Aquaculture* 2011;317:155e61.
- Akrami R, Iri Y, Rostami, HK, Mansour MR. 2013. Effect of dietary supplementation of fructooligosaccharide (FOS) on growth performance, survival, *Lactobacillus* bacterial population and hemato-immunological parameters of stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) juvenile. *Fish and Shellfish Immunology*, 35: 1235-1239.
- Álvarez-González C.A. 2003. Actividad Enzimática digestiva y evaluación de las dietas para el destete de larvas de la cabrilla arenera *Paralabrax maculatofasciatus* (*Percoidei:Serranidae*). Tesis de doctorado, Instituto Politécnico Nacional. La Paz, Baja California Sur.
- Álvarez-González CA, Contreras W, Castillo K, Santana O, Gallegos R. 2007. Evaluation of commercial diets on tropical gar *Atractosteus tropicus* growth. In: *Memories of Aquaculture America 2007*, San Antonio, Texas, EUA. pp 835.
- Anson ML (1938) The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin. *J. Gen. Physiol.* 22: 79-89.
- Arenas, C. E. (2010). *Técnica Histológica*. México: CAPES.
- Aryee A. N A, Simpson B. K, Villalonga R. 2007. Lipase fraction from the viscera of grey mullet (*Mugil cephalus*) Isolation, partial purification and some biochemical characteristics. *Enzyme and Microbial Technology* 40. 394–402.
- Boonanuntasarn, S., Tiengtam, N., Pitaksong, T., Piromyou, P., Teaumroong, N., 2017. Effects of dietary inulin and Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) on intestinal microbiota

- community and morphology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. *Aquac. Nutr.* 24, 712–722.
- Campa-Córdova A. I. Hernández-Saavedra N. Y. Aguirre-Guzmán G. Ascencio F. 2005 Respuesta inmunomoduladora de la superóxido dismutasa en juveniles de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) expuestos a inmunoestimulantes. *Ciencias Marinas* 31(4): 661–669.
- Carbone D, Faggio C. 2016. Importance of prebiotics in aquaculture as immunostimulants. Effects on immune system of *Sparus aurata* and *Dicentrarchus labrax*, *Fish and Shellfish Immunology* doi: 10.1016/j.fsi.2016.04.011.
- Secretaría De Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca Y Alimentación, 2012. *Carta Nacional Acuícola*. México, D.F.
- Castro-Mejía J, Espindola-Ronquillo Y, Castro-Mejía G, Cremiux-Grimaldi J. C. 2009. Efecto de dos dietas proteicas en el Crecimiento y sobrevivencia de prejuveniles de *Atractosteus Tropicus* Gill, 1863 (Pejelagarto). *BIOCYT* 2(8): 77,88.
- Céspedes-Miranda, E. M, Hernández-Lantigua, Ingrid, y Llópiz-Janer, N. (1996). Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libres: II. Catalasa. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 15(2) Recuperado en 26 de enero de 2021, de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-03001996000200001&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03001996000200001&lng=es&tlng=es).
- Cisneros Prego, E. Pupo Balboa J. & Céspedes Miranda E. (1997). Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libres: III. Glutación peroxidasa. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 16(1), 10-15. Recuperado en 26 de enero de 2021, de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-03001997000100002&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03001997000100002&lng=es&tlng=es).
- Corrales E. 2018. Enzimas en la industria de detergentes. *Revista Ambientallanía*. Vol.1 Nro.1: 97-105
- Cota-Rubio E., Hurtado-Ayala L., Pérez-Morales E., A.-J. L. 2008. Resistencia a antibióticos de cepas bacterianas aisladas de animales destinados al consumo humano. *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 1(1), 75–85..
- Cota Gastélum, L. A. (Instituto P. nacional). 2011. Efecto de prebióticos y microorganismos con potencial probiótico en el crecimiento y supervivencia de la tilapia *Oreochromis niloticus*, cultivada en condiciones experimentales. Instituto Politécnico Nacional
- CREMOSI, P., L'uso degli enzimi nella pulitura di oprer policrome, Ed. Il prato, Padova, 2002, p. 15,25
- Díaz A. 2003. La estructura de las catalasas. *REB* 22 (2): 76-84



- Díaz MI, Otero B. 1991. Evaluación del crecimiento de larvas y postlarvas del pejelagarto *Lepisosteus tropicus* en base a su alimentación. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, México. 83 pp.
- Dwivedi S, Shahrawat K, Puppala N y Ortiz R. 2014. Plant prebiotics and human health: Biotechnology to breed prebiotic-rich nutritious food crops. *Electron. J. Biotech.* 17: 238-245.
- Erlanger B, N. Kokowsky y W Cohen. 1961. The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. *Arch. Biochem. Biophys.* 95, 271-278.
- Eshaghzadeh, H., Hoseinifar. S. H., Vahabzadeh, and Ringo, E., 2015. The effects of dietary inulin on growth performance, survival and digestive enzyme activities of common carp (*Cyprinus carpio*) fry. *Aquacult. Nut.*, 21:242–247.
- Esquivel-Hernández L. Y. 2016. Participación de la enzima superóxido dismutasa y la producción del peróxido de hidrogeno en la tolerancia al aluminio de suspensiones celulares de *Coffea arabica* L. Tesis de Maestría. Centro de Investigaciones Científicas de Yucatán A. C. Mérida, Yucatán, México.
- Espinel E, Y López E. 2009. Purificación y caracterización de  $\alpha$ -amilasa de *Penicillium commune* producida mediante fermentación en fase sólida *Revista Colombiana De Química*, Vol. 38, Núm. 2, Pp. 191-208
- Frías Quintana C. A, Álvarez González C. A, Márquez Couturier G. 2010. Diseño de microdietas para el larvicultivo de pejelagarto *Atractosteus tropicus*, Gill 1863. *Universidad y Ciencia.* 26(2):265-282.
- Frías-Quintana CA, Márquez-Couturier G, Álvarez-González CA, Tovar-Ramírez D, Nolasco-Soria H, Galaviz-Espinosa MA, et al. (2015) Development of digestive tract and enzyme activities during the early ontogeny of the tropical gar *Atractosteus tropicus*. *Fish Physiology and Biochemistry* 41: 1075-1091
- Frías-Quintana CA, Domínguez-Lorenzo J, Álvarez-González CA, Tovar-Ramírez D, Martínez-García R (2016) Using cornstarch in microparticulate diets for larvicultured tropical gar (*Atractosteus tropicus*). *Fish Physiology and Biochemistry* 42: 517-528.
- Frías-Quintana CA, Álvarez-González CA, Tovar-Ramírez D, Martínez-García R, Camarillo-Coop S, Peña-Marín ES, et al. (2017) Use of potato starch in diets of tropical gar (*Atractosteus tropicus*, Gill 1863) larvae. *Fishes* 2(1): 3. Doi 10.3390/fishes2010003.
- Flohé, L., Gunzler, W.A. 1984. Assays for glutathione peroxidase. *Methods Enzymol.* 105: 114-120.

- Furne, M., Hidalgo, M., Lopez, A., Garcia-Gallego, M., Morales, A., Domezain, A., Domezaine, J. & Sanz, A. (2005) Digestive enzyme activities in Adriatic sturgeon *Acipenser naccarii* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* A comparative study. *Aquaculture*, 250, 391–398.
- García J, Márquez G, Páramo S. 1997. Utilización de alimento fresco y artificial en la sustitución de alimento vivo para la cría de larvas y postlarvas de pejelagarto *Atractosteus tropicus*. En: Memorias de la Semana de Investigación y Divulgación Científica de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Villahermosa Tabasco, México. pp 61-64.
- Gatesoupe FJ. 2005. Probiotics and prebiotics for fish culture, at the parting of the ways, *Aqua Feeds: Formulation & Beyond*, 2(3): 3-5.
- Gridale-Helland B, Helland SJ, Gatlin III DM. 2008. The effect of dietary supplementation with mannanoligosaccharide, fructooligosaccharide or galactooligosaccharide on the growth Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 283:163- 167.
- González-Bacerio, Jorge; Rodríguez Hernández, Jairo; Del Monte Martínez, Alberto. 2010. Las lipasas: enzimas con potencial para el desarrollo de biocatalizadores inmovilizados por adsorción interfacial *Revista Colombiana de Biotecnología*, vol. 7, 124-140 pp.
- Guerreiro I, Enes P, Merrifield D, Davies S, Oliva-Teles A. Effects of short-chain fructooligosaccharides on growth performance and hepatic intermediary metabolism in turbot (*Scophthalmus maximus*) reared at winter and summer temperatures. *Aquac Nutr* 2014. <http://dx.doi.org/10.1111/anu.12175> [in press]
- Guerrero-Zarate R, Álvarez-González CA, Olvera-Novoa MA, Perales-García N, Frías-Quintana CA, Martínez-García R, et al. (2013) Partial characterization of digestive proteases in tropical gar *Atractosteus tropicus* juveniles. *Fish Physiology and Biochemistry* 40: 1021-1029.
- Gutiérrez-Dagnino, Luna-González A, Fierro-Coronado J, A, Álvarez-Ruiz P, Flores-Miranda M, C, Miranda-Saucedo S, Medina-Beltrán V, & Escamilla-Montes R. 2015. Efecto de la inulina y del ácido fúlvico en la supervivencia, crecimiento, sistema inmune y prevalencia de WSSV en *Litopenaeus vannamei*. *Latin American Journal of Aquatic Research*. 43(5): 912-921
- Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine*. 4th ed. New York: Oxford University Press; 2007
- Hernández VU. 1999. Punto crítico de no retorno en larvas de pejelagarto *A. tropicus* (Gill 1823). Tesis de licenciatura. División Académica de Ciencias Biológicas, UJAT, Villahermosa Tabasco, México. 46 pp.
- Hosseini S. H, Sourinejad I, Ashori S, Moradinasab A. A. 2014. Effect of different levels of dietary inulin supplementation on growth performance, survival and some hematologic indices in Red Pacu *Piaractus brachypomus* fry. *J. Aqu. Eco.* 2014, 4(1): 50-44

- Hunt, A., Çetinkaya, M., Ozkan Yılmaz, F., Yildirim, M., Berkoz, M., Yalın, S., 2019. Effect of dietary supplementation of inulin on growth performance, digestion enzyme activities and antioxidant status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Turkish Journal of Agriculture: Food Science and Technology 7, 1344–1353.
- Ibrahem MD, Fathi M, Mesalhy S, AbdEl-Aty AM. 2010. Effect of dietary supplementation of inulin and vitamin C on the growth, hematology, innate immunity, and resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Fish & Shellfish Immunology; 29:241-6
- Jesús-De la Cruz K. M, Ávila-Fernández A, Peña-Marín E. S, Jiménez-Martínez L D, Tovar-Ramírez D, Martínez-García R, Guerrero-Zárate R, Asencio-Alcudia G. G, & Alvarez-González C. A. 2019. Trypsin gene expression in adults and larvae of tropical gar *Atractosteus tropicus*. Fish Physiol Biochem <https://doi.org/10.1007/s10695-019-00704-8>
- Kelly G. 2008. Inulin-Type Prebiotics – A Review: Part 1. Alternative Medicine Review Vol 13, No. 4
- Kobayashi M, Msangi S, Batka M, Vannuccini S, Dey MM, Anderson JL (2015) Fish to 2030: The Role and Opportunity for Aquaculture, Economía y gestión de la acuicultura, 19:3, 282-300, DOI: 10.1080/13657305.2015.994240
- Li Y, Wang YJ, Wang L, Jiang KY. Influence of several non-nutrient additives on nonspecific immunity and growth of juvenile turbot, *Scophthalmus maximus* L. Aquac Nutr 2008;14:387e95
- Livingstone DR. 2001. Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. Marine Pollution Bulletin, 42: 656-666
- López SD, Márquez G, Contreras W, Álvarez C. 2005. Evaluation of commercial diets on growth and survival of tropical gar *Atractosteus tropicus* juveniles in captivity. In: Memories de Aquaculture America, New Orleans, Louisiana, EUA. pp 8.
- Mahious AS, Ollevier F. 2005. Probiotics and prebiotics in aquaculture: a review. In: The 1st regional workshop on techniques for enrichment of live food for use in larviculture. 17-26p. 7-11 March, Uruma, Iran.
- Mahious AS, Gatesoupe FJ, Hervi M, Metailler R, Ollevier F. 2006. Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot, *Psetta maxima* (Linnaeus, C. 1758). Aquaculture International, 14: 219-229
- Margalef, R. 1974. Ecología. Ed. Omega. Barcelona. 951p.
- Márquez-Couturier G, Álvarez C, Contreras W, Hernández U, Hernández A, Mendoza R, Aguilera C, García T, Civera R, Goytortua E. 2006. Avances en la alimentación y nutrición de pejelagarto *Atractosteus tropicus*. En: Memorias del VIII Simposium Internacional de Nutrición Acuicola, UANL, Monterrey, Nuevo León, México. pp. 446-523.

- Márquez-Couturier G, Vázquez-Navarrete CJ (2015) Empoderamiento de las organizaciones sociales en el cultivo de pejelagarto (*Atractosteus tropicus*) en el sureste de México. *Agroproductividad* 8: 36-43.
- Márquez-Couturier G, Vázquez-Navarrete CJ (2015) Estado del arte de la biología y cultivo de pejelagarto (*Atractosteus tropicus*). *Agroproductividad* 8: 44-51.
- Martínez-Cárdenas L, Hernández-Cortez M, I. Espinosa-Chaurand D. Castañeda-Chavez M. R , León-Fernández A. E, Valdez Hernández E. F, Bernal Rodríguez C. E, & Álvarez-González C. A. 2020. Effect of stocking density on growth, survival and condition factor in tropical gar (*Atractosteus tropicus* Gill, 1863) juveniles. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 4 570 8 (4): -577 DOI: 10.3856/vol48-issue4-fulltext-2452
- Martínez-Cervantes, M. A, Wong-Paz, J. E, Aguilar-Zárata, P, Muñiz-Márquez, D. B. 2019. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*. Volumen 13 (22), Pp 8-14
- Yones A. M. A. S. M, Eissa I. A. M. M, Ghobashy M. A. E. F. A and Marzok S. S. 2020. Effects of Dietary Inulin as Prebiotic on Growth Performance, Immuno-haematological Indices and Ectoparasitic Infection of Fingerlings Nile Tilapia, *Oreochromis Niloticus*. *National Institute of Oceanography and Fisheries*. Vol. 43. No.1
- Meyer, D., Stasse-Wolthuis, M. 2009. El efecto bifidogénico de la inulina y la oligofruktosa y sus consecuencias para la salud intestinal. *Eur J Clin Nutr* 63, 1277-1289 <https://doi.org/10.1038/ejcn.2009.64>
- Mo WY, Cheng Z, Choi WM et al. (2015) Use of food waste as fish feeds: effects of prebiotic fibers (inulin and mannanoligosaccharide) on growth and non-specific immunity of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Environ Sci Pollut Res Int* 22, 17663-17671.
- Mousavi, E., Mohammadiarzam, H., Seied Mohammad Mousavi, M. S., Ghatrami, R. E., 2016. Effects of Inulin, Savory and Onion Powders in Diet of Juveniles Carp *Cyprinus Carpio* (Linnaeus 1758) on Gut Micro Flora, Immune Response and Blood Biochemical Parameters. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 16: 831-838
- Mussatto SI y Mancilha IM. 2007. Non-digestible oligosaccharides: a review. *Carbohydrate Polymers* 68: 587-597.
- Nájera-Arzola I. C., C. A. Álvarez-González, C. A. Frías-Quintana, E. Peña, R. Martínez-García, S. Camarillo-Coop, O. Méndez-Marín y E. Gisbert. 2018. Evaluación de oligosacáridos de manano (MOS) en dietas balanceadas para juveniles de pejelagarto (*Atractosteus tropicus*). *Hydrobiológica* 28 (3): 239-246.
- Nieves-Rodríguez, K. N, Álvarez-González, C. A. Peña-Marín, E. S. Vega-Villasante, F, Martínez-García, R, Camarillo-Coop S, Tovar-Ramírez, D, Guzmán-Villanueva L. T, Andree K, B. Gisbert,

- E. 2018. Effect of  $\beta$ -Glucans in Diets on Growth, Survival, Digestive Enzyme Activity, and Immune System and Intestinal Barrier Gene Expression for Tropical Gar (*Atractosteus tropicus*) Juveniles. *Fishes* (3) 27.
- Nines K, R. 1999. Inulin and Oligofructose: What Are They?. *American Society for Nutritional Sciences*. 129: 1402S–1406S.
- Oliva-Teles A (2012) Nutrition and health of aquaculture fish. *J Fish Dis* 35: 83-108. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2011.01333.x>
- Ortiz LT, Rebolé A, Velasco S, Rodríguez ML, Treviño J, Tejedor JL, Alzueta C. 2013. Effects of inulin and fructooligosaccharides on growth performance, body chemical composition and intestinal microbiota of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Nutrition*, 19: 475-482
- Palma-Cancino DJ, Martinez-García R, Alvarez-Gonzalez CA, Camarillo-Coop S, Peña-Marín ES. 2019. Crecimiento y canibalismo en pejelagarto. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*. 6(17):273-281.
- Raffic Ali S, S, Ambasankar K, Ezhil Praveena P, Nandakumar S, Saiyad Musthafa M. 2018. Effect of dietary prebiotic inulin on histology, immuno-haematological and biochemical parameters of Asian seabass (*Lates calcarifer*). *Aquaculture Research*. 1–9
- Ringo E, Olsen R. E, Gifstad, Dalmo R. A, Amlund H, Gemre G. I, Bakke A. M. 2010. Prebiotics in aquaculture: a review. *Aquaculture Nutrition*. (16) 117-136.
- Roberfroid, M, Gibson, GR & Delzenne, N. 1993. The biochemistry of oligofructose, a nondigestible fiber: an approach to calculate its caloric value. *Nutrition Reviews* 51, 137–146
- Roberfroid, M. 2007. Prebiotics: the concept revisited. *J. Nutr.*, 137, 830S–837S.
- Robyt J. F. y Whelan W. J. 1968. *Starch and its Derivates*. Radley, J. A. (ed.) Chapman and Hall, London.
- Sangeetha PT, Ramesh MN, Prapulla SG. 2005. Recent trends in the microbial production, analysis and application of FOS. *Trends Food Sci Technol* 16:442–57.
- Seclén-Santisteban S, Baracco-Maggi R, Mohanna-Barrenechea S. 2006. Antioxidantes en poblaciones adultas del nivel del mar y de grandes alturas: Actividad de la superóxido dismutasa. *Revista Médica Herediana*, 17(1), 04-07. Recuperado en 28 de enero de 2021, de [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1018-130X2006000100002&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2006000100002&lng=es&tlng=es).
- Sepúlveda-Quiroz CA, Peña-Marín ES, Pérez-Morales A, et al. Fructooligosaccharide supplementation in diets for tropical gar (*Atractosteus tropicus*) juvenile: Effects on

- morphophysiology and intestinal barrier function. *Aquaculture Research*. 1–14. <https://doi.org/10.1111/are.14867>
- Siwicki AK, Anderson DP. 1993. Nonspecific defense mechanisms assay in fish: II. potential killing activity of neutrophils and macrophages, lysozyme activity in serum and organs and total immunoglobulin level in serum. *Fish Disease Diagnosis and Prevention Methods*. 105-12.
- Shoaib M, Shehzad, A, Omar M, Rakha A., Raza H, Sharif H. R., Shakeel A, Ansari A, Niazi S. 2016. Inulin: properties, health benefits and food applications. *Carbohydrate Polymers* <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.04.020>
- Soleimani N, Hoseinifar SH, Merrifield DL, Barati M, Hassan Abadi Z. 2012. Dietary supplementation of fructooligosaccharide (FOS) improves the innate immune response, stress resistance, digestive enzyme activities and growth performance of Caspian roach (*Rutilus rutilus*) fry. *Fish & Shellfish Immunology* 32: 316-21
- Suzuki, K. 2000. Measurement of Mn-SOD and Cu, Zn-SOD. En: Taniguchi N, Gutteridge, J. *Experimental Protocols for Reactive Oxygen and Nitrogen Species*. Oxford University Press, Londres. pp. 91–95.
- Tiengtam, N., Khempaka, S., Paengkoum, P., Boonanuntanasarn, S., 2015. Effects of inulin and Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) as prebiotic ingredients in the diet of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Anim. Feed Sci. Technol.* 207, 120–129.
- Tiengtam, N., Paengkoum, P., Sirivoharn, S., Phonsiri, K., Boonanuntanasarn, S., 2017. The effects of dietary inulin and Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) tuber on the growth performance, haematological, blood chemical and immune parameters of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. *Aquac. Res.* 48, 5280–5288.
- Uribe, C., H. Folch, R. Enriquez & G. Morán. 2011. Innate and adaptive immunity in teleost fish: a review. *Veterinarni Medicina* 56 (10): 486-503.
- Vergara CM, Honorato TL, Maia GA y Rodrigues S. 2010. Prebiotic effect of fermented cashew apple (*Anacardium occidentale* L) juice. *LWT - Food Sci. Technol.* 43: 141–145
- Versaw W. S. L, Cuppett D. D, Winters y L. E. Williams. 1989. An improved colorimetric assay for bacterial lipase in nonfat dry milk. *J. Food Sci.* 54, 232-254.
- Villa N. A; Moreno W.; Ceballos A. 2008. Actividad de glutatión peroxidasa y Superóxido dismutasa en sangre, plasma sanguíneo y plasma seminal en toros Normando *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, vol. 21, núm. 4, pp. 537-545
- Walter, H.E. Proteinases: Methods with hemoglobin, casein and azocoll as substrates. In *Methods of Enzymatic Analysis*; Bergmeyer, H.J., Ed.; Verlag Chemie: Weinheim, Germany, 1984; Volume 1, pp. 270–277

- Wang T, Zhang N, Yu X, Qiao F, Chen L, Q, Du Z, Y, Zhang M, L 2020. Inulin alleviates adverse metabolic syndrome and regulates intestinal microbiota composition in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed with high-carbohydrate diet. *British Journal of Nutrition*.
- Yousefian M, Amiri M. S. 2009. A review of the use of prebiotic in aquaculture for fish and shrimp. *African Journal of Biotechnology* Vol. 8 (25), pp. 7313-7318
- Zhang C-N, Li X-F, Xu W-N, Jiang G-Z, Lu K-L, Wang L-N, et al. Combined effects of dietary fructooligosaccharide and *Bacillus licheniformis* on innate immunity, antioxidant capability and disease resistance of triangular bream (*Megalobrama terminalis*). *Fish Shellfish Immunol* 2013;35:1380e6.
- Ziemer CJ, Gibson GR. 1998. An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept: Perspectives and future strategies. *Int Dairy J* 8:473–9.
- Zhou L, Zhang J, Yan M, Tang S, Wang X, Qin J, G, Chen L, Li E. 2020. Inulin alleviates hypersaline-stress induced oxidative stress and dysbiosis of gut microbiota in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 529.

México. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

## 7. Artículo en extenso

### Capítulo 1

Article

#### **Inulin Supplementation in Diets for Tropical Gar (*Atractosteus tropicus*) Larvae: Effects on Growth, Survival, Digestive and Antioxidant Enzyme Activities**

Fecha de envío: 13 de enero de 2023

Fecha de aceptado: 02 de marzo de 2023

Fecha de publicación: 03 de marzo de 2023



*Aquaculture Journal* (ISSN: 2673-9496) es una revista internacional, académica y de acceso abierto para investigaciones y estudios sobre todos los aspectos de las ciencias acuáticas relacionadas con la acuicultura, que abarca áreas temáticas como organismos acuáticos, entornos acuáticos, industrias relacionadas con el agua y técnicas/tecnologías aplicadas en recursos y ambientes acuáticos, aborda los desafíos asociados con los recursos/ambientes acuáticos sostenibles, así como el mantenimiento de organismos y ecosistemas acuáticos saludables en ambientes cambiantes. Es una revista revisada por pares, publicada trimestralmente en línea por MDPI. <https://www.mdpi.com/journal/aquacj>





Article

# Inulin Supplementation in Diets for Tropical Gar (*Atractosteus tropicus*) Larvae: Effects on Growth, Survival, and Digestive and Antioxidant Enzyme Activities

Eduardo De La Cruz-Marín<sup>1</sup>, Rafael Martínez-García<sup>1</sup>, Jenny F. López-Hernández<sup>1</sup>, Otilio Méndez-Marín<sup>1</sup>, Susana C. De la Rosa-García<sup>1</sup>, Emyr S. Peña-Marín<sup>2</sup>, Dariel Tovar-Ramírez<sup>3</sup>, Cesar A. Sepúlveda-Quiroz<sup>1</sup>, Graciela M. Pérez-Jiménez<sup>1</sup>, Luis D. Jiménez-Martínez<sup>4</sup>, Gloria G. Asencio-Alcudia<sup>1,\*</sup>  
Carlos A. Álvarez-González<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Fisiología y Recursos Acuáticos (LAFIRA), División Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Villahermosa 86039, Mexico

<sup>2</sup> Instituto de Investigaciones Oceanológicas, Universidad Autónoma de Baja California (UABC), Ensenada 21100, Mexico

<sup>3</sup> Laboratorio de Fisiología Comparada y Genómica Funcional, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz 23096, Mexico

<sup>4</sup> Laboratorio de Biología Molecular, División Académica Multidisciplinaria de Jalpa de Méndez, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Jalpa de Méndez 86205, Mexico

\* Correspondence: yoya\_asencio@live.com.mx (G.G.A.-A.); alvarez\_alfonso@hotmail.com (C.A.Á.-G.); Tel.: +52-9933581500 (ext. 6480) (G.G.A.-A.)



**Citation:** De La Cruz-Marín, E.; Martínez-García, R.; López-Hernández, J.F.; Méndez-Marín, O.; De la Rosa-García, S.C.; Peña-Marín, E.S.; Tovar-Ramírez, D.; Sepúlveda-Quiroz, C.A.; Pérez-Jiménez, G.M.; Jiménez-Martínez, L.D.; et al. Inulin Supplementation in Diets for Tropical Gar (*Atractosteus tropicus*) Larvae: Effects on Growth, Survival, and Digestive and Antioxidant Enzyme Activities. *Aquac. J.* **2023**, *3*, 43–55. <https://doi.org/10.3390/aquacj3010006>

Academic Editor: José Lucas Pérez-Lloréns

Received: 13 January 2023

Revised: 1 March 2023

Accepted: 2 March 2023

Published: 3 March 2023



**Copyright:** © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Abstract:** The effect of adding inulin to balanced diets for tropical gar (*Atractosteus tropicus*) larvae on growth, survival, digestive enzyme activity, and antioxidant activity was evaluated. The diets were supplemented with 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, and 2.5% inulin in addition to a control diet (0% inulin). A total of 1800 larvae of *A. tropicus* distributed in 18 tanks were used; the larvae were fed five times a day (8:00, 11:00, 13:00, 15:00, and 18:00) with *Artemia* nauplii from the absorption of the yolk (from 3–7 days after hatching, DAH) up to 10 DAH, which was mixed with the experimental feeds from 8–11 DAH (co-feeding) and exclusively with the balanced diets from 12 DAH to 21 DAH. Larvae fed the control diet (0% inulin) had the highest growth in weight and length, followed by fish fed the 2.5 and 2.0% inulin inclusions. However, survival showed that the fish fed with the inclusion of 2.5% inulin had the highest percentage (34.7%) compared to the rest of the treatments. On the other hand, the highest digestive enzymatic activities (acid and alkaline proteases, amylase, and lipase) were recorded in the larvae fed with 2 and 2.5% inulin. Likewise, catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) activities were higher in larvae fed the control diet with 0% inulin. Supplementation of 2.0% to 2.5% inulin in the diet is recommended for *A. tropicus* larvae as it improves survival and digestive enzyme activity during this early stage of life.

**Keywords:** inulin; tropical gar; prebiotic

## 1. Introduction

Aquaculture worldwide represents constant expansion due to its profitability and economic potential [1]. Therefore, the feeding of cultivated species is of great importance since it determines health conditions, their response to diseases, and their survival [2]. In this regard, when the feed is not appropriate and the culture conditions are poor, various infectious diseases can appear in aquatic organisms, which is a severe problem in the aquaculture industry since it increases costs and can cause significant production losses. This is why different kinds of methods have been sought to counteract this damage [3] and prebiotics and probiotics have been implemented as an alternative to improve resistance to diseases, reduce mortality, and improve survival. Prebiotics are functional carbohydrates

that are not digested by the body but are considered beneficial for health due to their biological properties [4–6]. They are considered natural food additives, and their incorporation into the diet does not require indications [7,8]. These additives can potentially increase feed efficiency, health response, and sustainability in aquaculture [9,10]. Additionally, they can be easily obtained since they are found in natural components such as milk, honey, fruits, and vegetables, among others [11,12].

One of the more promising prebiotics for aquaculture is inulin, which is an oligosaccharide formed by fructans linked to linear  $\beta$  (2-1) bonds which are present in a variety of plants and foods, such as garlic, onion, agave, and artichoke, among others [13–17]. This additive has been shown to positively affect growth and/or innate immune response, promote resistance to stress factors and diseases, and increase antioxidant capacity [18,19]. In this aspect, inulin and fructooligosaccharide supplemented in the diets of juveniles of great sturgeon (*Huso huso*), large yellow croaker (*Larimichthys crocea*), red pacú (*Piaractus brachypomus*) and carp (*Cyprinus carpio*) have been evaluated. Doses from 0.4% to 2% improved growth, survival, blood serum enzymes, and gut microbiota [20–23]. On the other hand, in southeastern Mexico, the tropical gar (*Atractosteus tropicus*) is one of the most important native freshwaterfish species. This species has economic importance in the region [24] and it has been studied for more than 30 years, which has allowed it to close its farming cycle. Production is currently registered at the regional level. In this way, the study of this species has allowed us to know its biology, reproduction, and genetics [25,26]. Likewise, various studies have been carried out on their nutrition and aspects of digestive physiology [27–30], cannibalism during larviculture [31], and some studies related to the use of pre and probiotics in juveniles of

*A. tropicus* [32–34]. However, for the larval period, only mannan oligosaccharides in balanced diets have been reported with promising results [35]. In this study, we evaluated the supplementation of inulin in diets for *A. tropicus* larvae on growth, survival, and digestive and antioxidant enzymatic activities during their culture.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Reproduction and Larviculture

The organisms were obtained from a spawning induced in a female *A. tropicus* through an intramuscular injection of luteinizing-releasing hormone (LHRHa 30  $\mu\text{g kg fish}^{-1}$  under the pelvic fin), accompanied by 3 males for the fertilization of the eggs [34]. Once the eleutheroembryos were obtained, they were kept at the facilities of the Laboratory of Physiology in Aquatic Resources (LAFIRA) of the Academic Division of Biological Sciences of the Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (DACBIOL-UJAT), in a recirculation system with 18 circular tanks of 100 L each to start the feeding trial. Larvae hatched on the 3rd day postfertilization and feeding started from yolk absorption (3 days after hatching, DAH).

### 2.2. Experimental Design

Six experimental treatments were evaluated using different percentages of inulin inclusion in the microparticulate food (0.5, 1.0, 1.5, 2.0, and 2.5% inulin) and a control diet (0% inulin) carried out in triplicate. A total of 1800 *A. tropicus* larvae were distributed in 18 tanks with 100 larvae per tank. The tanks were connected to a recirculation system with a sand filter and 1 HP water pump connected to a 1500 L reservoir with a biological filter. The larvae were fed 5 times a day (8:00, 11:00, 13:00, 15:00, and 18:00 h) with *Artemia* nauplii from yolk absorption (3 DAH) until 10 DAH. The co-feeding and mixing of *Artemia* nauplii (from 20 to 50 nauplii per larvae daily) with the experimental dry feeds started from 8 DAH and they were exclusively fed with the balanced diets from 12 DAH to 21 DAH. During the experiment, the tanks were cleaned by siphoning twice a day, 1 hour after the first and last feeding. Likewise, daily monitoring of temperature ( $31.5 \pm 0.6$  °C), dissolved oxygen ( $4.5 \pm 0.1$  mg L<sup>-1</sup>), and pH ( $7.3 \pm 0.2$ ) was carried out using an oximeter (YSI 85, USA) and a pH meter (HANNA HI99100, Romania), respectively.

### 2.3. Formulation and Preparation for Experimental Diets

Diet formulation for *A. tropicus* larvae was carried out according to the protocol of Frías-Quintana et al. [29]. Some modifications were made according to the nutrients used and the percentages of inulin added by adjusting the different concentrations of inulin with sorghum flour (Table 1). The diets were prepared using an industrial mixer (CRT Global brand). Dry ingredients were sieved to the same size and added; first, the macronutrients were mixed for 10 min, then the micronutrients (vitamin, mineral, and vitamin C premix) were added, and mixing was continued for another 10 min. Afterward, the liquid ingredients (fish oil and soy lecithin) were added and they were allowed to mix for 15 min. Finally, water (approximately 400 mL kg diet<sup>-1</sup>) was added. When the mixture was obtained, it was placed in a mill (TOR-REY brand) to obtain pellets with a 5 mm mesh. After the pellets were obtained, they were dried in an oven (San-Son brand) at 50 °C for 8 h [34]. When the food was prepared, it was crushed with a manual mill and sieved through a sieve according to the size of the larva's mouth.

**Table 1.** Experimental diet formulation with different percentages of inulin inclusion.

Ingredients (g kg <sup>-1</sup> )	Inulin (%)					
	0	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5
Fish meal <sup>a</sup>	297.9	297.9	297.9	297.9	297.9	297.9
Poultry meal <sup>a</sup>	150.0	150.0	150.0	150.0	150.0	150.0
Pork meal <sup>a</sup>	150.0	150.0	150.0	150.0	150.0	150.0
Starch <sup>b</sup>	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Soybean meal <sup>c</sup>	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Inulin <sup>d</sup>	0.0	5.0	10.0	15.0	20.0	25.0
Sorghum flour <sup>c</sup>	86.6	81.6	76.6	71.6	66.6	61.6
Fish oil <sup>a</sup>	40.5	40.5	40.5	40.5	40.5	40.5
soy lecithin <sup>e</sup>	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0	40.0
Grenetin <sup>f</sup>	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
Mixture Vit-Min <sup>g</sup>	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
Vitamin C <sup>h</sup>	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Proximal composition g/100 g dry matter						
Protein	45.11	44.92	45.04	44.83	45.25	45.16
Lipid	15.21	14.93	15.10	14.82	14.93	15.07
Ash	11.94	12.35	12.01	11.99	12.29	12.19
NFE <sup>1</sup>	27.74	27.22	27.85	28.36	27.53	27.58

<sup>a</sup> Proteínas marinas y agrícolas S.A. de C.V., Guadalajara, Jalisco, México; <sup>b</sup> MSA Industrializadora de maíz, Guadalajara, Jalisco, México; <sup>c</sup> GALMEX S.A. de C.V., Villahermosa, Tabasco, México; <sup>d</sup> Súperfoods de Occidente S.A. de C.V., Zapopan, Jalisco, México; <sup>e</sup> Pronat Ultra, Yucatán, México; <sup>f</sup> D'gari Productos alimenticios y dietéticos relámpago, Tlalpan, EDOMEX, Mexico; <sup>g</sup> donated from Consorcio Súper S.A. de C.V., Guadalajara, Jalisco, México; <sup>h</sup> DSM Stay-C 35, Jalisco, México. <sup>1</sup> NFE = nitrogen-free extract: 100 – (% protein + lipids + % ash).

### 2.4. Growth and Survival Rates

Since the beginning of the trial, samplings were carried out to determine the growth every 7 days from 30% of the population of each tank, where the data of the individual weight (g) were recorded using an analytical balance (Ohaus HH120) and the total length (cm), respectively, by photography to be later analyzed using Image J 1.51j8 software. Additionally, at the end of the bioassay, the absolute weight gain (AWG) was calculated: final weight (g) – initial weight (g) × 100, and survival (S) (final number of fish/initial number of fish) × 100.

### 2.5. Sampling

At the end of the nutritional trial (21 DAH), 6 individuals per experimental unit were sampled (3 individuals for digestive and 3 individuals for antioxidant analysis), which were previously starved for a period of 24 h and euthanized with an overdose of clove oil (1 mL L<sup>-1</sup>).

For enzymatic analyses, the head and tail were dissected to extract the digestive systems (stomach and intestine), which were individually preserved in an ultra-freezer at  $-80^{\circ}\text{C}$ .

### 2.6. Digestive Enzyme Activity

Digestive system samples were macerated in pull ( $n = 3$  individuals per experimental unit) with  $100\text{ mM L}^{-1}$  of glycine-HCl pH 2 for the analysis of stomach proteases and  $50\text{ mM L}^{-1}$  of Tris-HCl +  $12.5\text{ mM L}^{-1}$   $\text{CaCl}_2$  pH 7.5 for the analysis of intestinal proteases. Samples were centrifuged at  $16,000\text{ g}$  at  $4^{\circ}\text{C}$  for 15 min. The supernatant was collected and stored at  $80^{\circ}\text{C}$ . For this study, each biological sample was measured in triplicate. Soluble protein quantification was performed using the Bradford technique [36]. For the evaluation of the activity of acid proteases (stomach) the method of Anson [37] was used, using 0.25% hemoglobin as a substrate solubilized in  $100\text{ mM L}^{-1}$  of glycine-HCl at pH 2. Alkaline (intestinal) proteases measurement, 0.25% casein were solubilized in  $50\text{ mM L}^{-1}$  of Tris-Cl and  $10\text{ mM L}^{-1}$  of  $\text{CaCl}_2$  pH 9.0 was used [38]. The procedure for both techniques was continued, incubating them at  $37^{\circ}\text{C}$  and stopping the reaction with 0.5 mL of 10% trichloroacetic acid, which was then centrifuged at  $16,000\text{ g}$  for 15 min at  $4^{\circ}\text{C}$ . The absorbance was read at 280 nm. The lipase activity was measured with the intestinal extracts following the method of Versaw et al. [39], for which  $100\text{ mM L}^{-1}$  of sodium taurocholate,  $50\text{ mM L}^{-1}$  of Tris-HCl pH 7.5, and  $100\text{ mM L}^{-1}$  of  $\beta$ -naphthyl acetate were used as substrates. The extract was incubated for 30 min at  $37^{\circ}\text{C}$  and the reaction was quenched with 0.5 mL of 10% trichloroacetic acid and ethyl acetate (1:1 v/v); absorbance was read at 540 nm. The  $\alpha$ -amylase activity was measured with the intestinal extracts employing the Robyt and Whelan [40] technique and the substrate used was 2% starch in a  $0.05\text{ M L}^{-1}$  NaCl sodium citrate buffer at pH 7.5. Samples were incubated at  $37^{\circ}\text{C}$  for 50 min and activity was quantified at 600 nm. All data obtained are shown as  $\text{U mg protein}^{-1}$  according to the following equations: units by mL ( $\text{U mL}^{-1}$ ) =  $[\Delta\text{abs final reaction volume (mL)}] [\epsilon \text{ time (min) extract volume (mL)}]^{-1}$ ; specific activity ( $\text{U mg protein}^{-1}$ ) =  $\text{U mL mg of soluble protein}^{-1}$ , where “ $\epsilon$ ” represents the molar extinction coefficient.

### 2.7. Antioxidant Enzyme Activities

Intestinal multienzyme extracts were used to measure catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), and glutathione peroxidase (GPX) antioxidant activities. CAT, SOD, and GPX activities were performed using Cayman Chemical kits (Cat. 707002, Cat. 703102, and Cat. 706002, MI, USA), according to the supplier's specifications. Each measurement was performed in triplicate using the following formulas: CAT activity ( $\text{nmol min}^{-1}\text{ mL}^{-1}$ ) =  $[(\mu\text{M of sample}/20\text{ min}) (\text{sample dilution})]$ . SOD activity ( $\text{U mL}^{-1}$ ) =  $[(\text{Sample LR - y-intercept/slope}) 0.23\text{ mL } 0.01\text{ mL}^{-1}] (\text{sample dilution})$ , where sample LR represent the SOD standard rate. GPX activity ( $\text{nmol min}^{-1}\text{ mL}^{-1}$ ) =  $[(\Delta 340\text{ min}/0.00373\mu\text{M}) - 1] \times (0.19\text{ mL}/0.002\text{ mL}) \times (\text{Sample dilution})$ . All activities were normalized using the Bradford [37] technique for soluble protein concentration.

### 2.8. Statistical Analysis

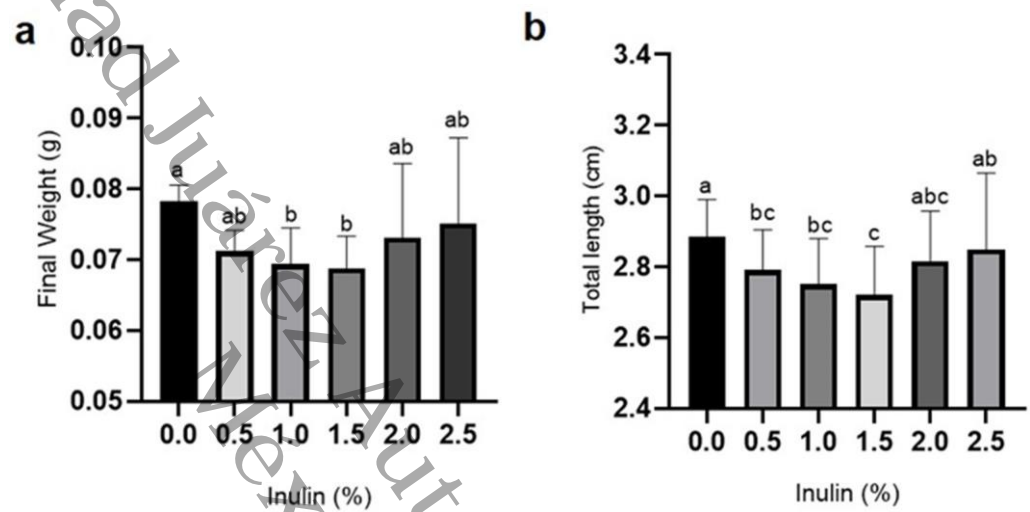
A one-way ANOVA and Tukey's HSD posteriori test were performed to analyze statistical differences between treatments for survival, absolute weight gain, and digestive and antioxidant enzymes (SOD and CAT), which previously fulfilled the postulates of Normality (Kolmogorov–Smirnov) and homoscedasticity (Levene). Wet weight, total length, and GPx enzyme activity did not fulfill both postulates. Therefore, these variables were analyzed with non-parametric Kruskal–Wallis and a posteriori Nemenyi tests. A significance value of 0.05 was used to detect statistical differences. All tests were performed with Statistica V 7.0 program.

## 3. Results

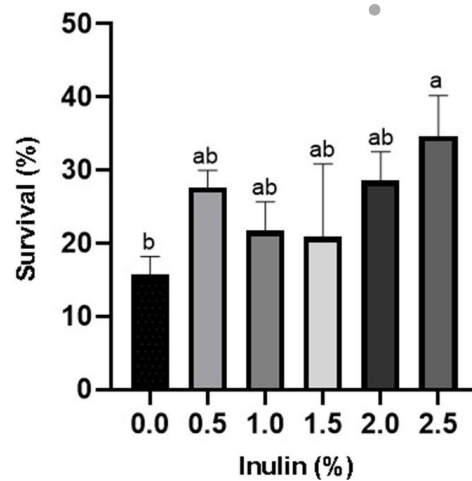
### 3.1. Growth and Survival Rates

The results showed a significant difference ( $p < 0.05$ ) in weight; the control diet with 0% inulin obtained the highest median value ( $\pm\text{RI}$ ) of  $0.078 \pm 0.01\text{ g}$ , against treatments 1.0% and

1.5% inulin supplementation (0.069 0.04 g and 0.068 0.04 g, respectively ( RI) (Figure 1a). The growth in total length behaved similarly to weight when detecting a high significance ( $p < 0.05$ ), where the fish fed with the control diet shows similar results (2.89 0.18 cm median and RI) to the larvae fed with the 2.5 and 2.0% inulin inclusions (2.85 0.30 and 2.82 0.21 cm ( RI)), respectively, while the rest of the treatments were statistically lower (Figure 1b). For weight gained, no significant differences were found ( $p > 0.05$ ) between treatments (Control: 4.9011 0.69%/day; 0.5% inulin: 4.0829 0.54%/day; 1% inulin: 4.1529 0.46%/day; 1.5% inulin: 4.2642 0.54%/day; 2% inulin: 5.1907 0.66%/day; and 2.5% inulin: 4.9442 1.32%/day). However, survival did show significant differences ( $p < 0.05$ ), where the fish fed with the inclusion of 2.5% inulin showed the highest median value (34.7 ± 5.5%) compared with larvae fed the control diet (15.1 ± 4.3%) (Figure 2).



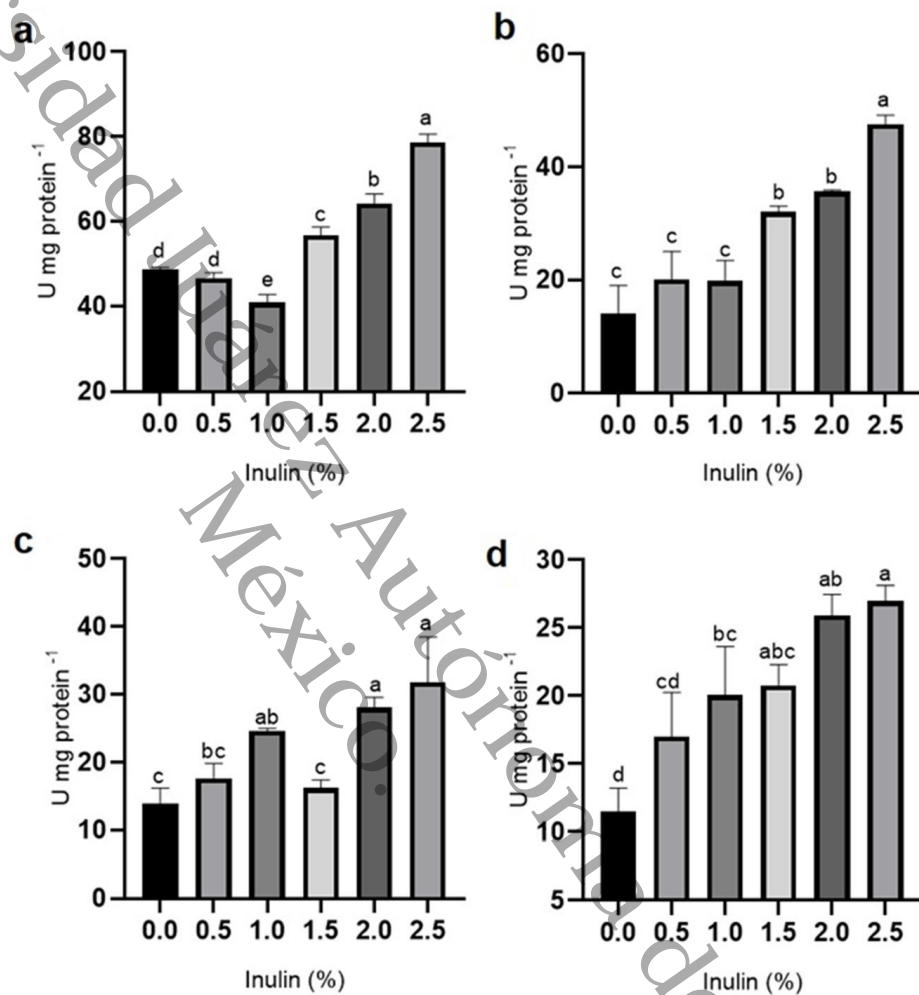
**Figure 1.** Final weight (a) and total length (b) of *Atractosteus tropicus* larvae fed with different percentages of inulin in the diet (0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, and 2.5%). Values represent medians ± RI. Significant differences between treatments (inulin supplementation) are indicated by different letters ( $p < 0.05$ ).



**Figure 2.** *Atractosteus tropicus* larvae survival (%) fed with different percentages of inulin in the diet (0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, and 2.5%). Values represent mean ± SD. Significant differences between treatments (inulin supplementation) are indicated by different letters ( $p < 0.05$ ).

### 3.2. Digestive Enzyme Activity

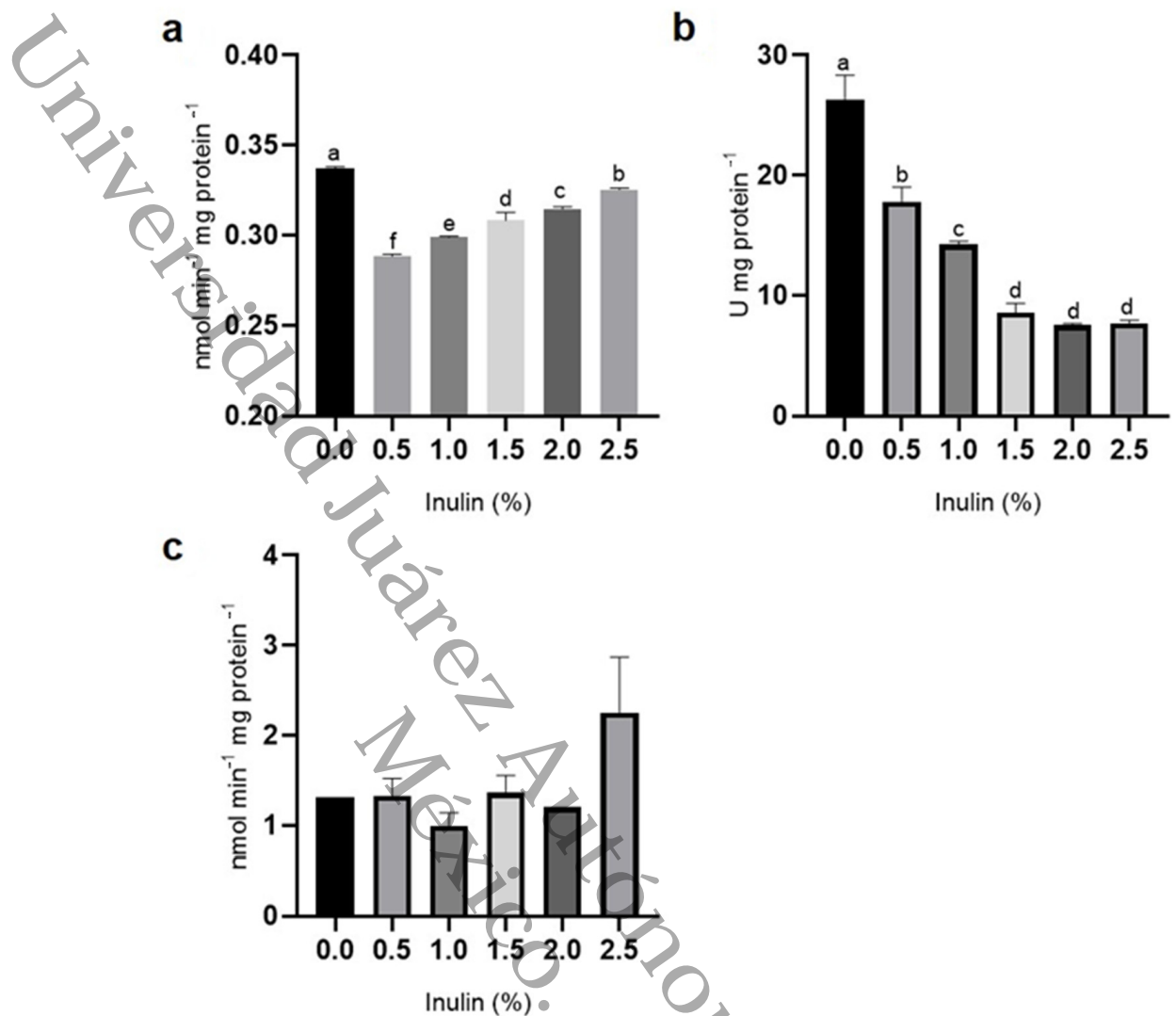
The larvae fed with the inclusion of 2.5% inulin showed the highest activities ( $p < 0.05$ ) for acid proteases (Figure 3a) and alkaline proteases (Figure 3b), being statistically higher than the rest of the treatments. On the other hand, amylase activity (Figure 3c) was statistically higher ( $p < 0.05$ ) for 2.0% and 2.5% of inulin supplementation than the rest of the treatments, and lipase activities (Figure 3d) were statistically higher ( $p < 0.05$ ) for the larvae fed with 2.5% of inulin inclusion compared to the other treatments.



**Figure 3.** Acid proteases (a), alkaline proteases (b), amylase (c), and lipase (d) enzyme activities (U mg protein<sup>-1</sup>) of *Atractosteus tropicus* larvae fed with different percentages of inulin in the diet (0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, and 2.5%). Values represent mean  $\pm$  SD. Significant differences between treatments (inulin supplementation) are indicated by different letters ( $p < 0.05$ ).

### 3.3. Antioxidant Enzyme Activity

The activity of the antioxidant enzymes CAT (Figure 4a) and SOD (Figure 4b) showed the highest values ( $p < 0.05$ ) for the larvae fed with the control diet (0% inulin) compared to the treatments supplemented with inulin. On the other hand, the GPx activity did not show significant differences ( $p > 0.05$ ) between the treatments (Figure 4c).



**Figure 4.** Catalase (a), superoxide dismutase (b), and glutathione peroxidase (c) antioxidant enzymes activities of *Atractosteus tropicus* larvae fed with different percentages of inulin in the diet (0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, and 2.5%). Values represent mean  $\pm$  SD. Significant differences between treatments (inulin supplementation) are indicated by different letters ( $p < 0.05$ ).

#### 4. Discussion

This experiment showed significant differences in final weight and total length in *A. tropicus* larvae fed with the control diet and the highest levels of inulin (2.0 and 2.5%) compared to the lowest levels of inulin added, which show the smallest values for weight and length. These results differ from those reported in species such as carp (*Cyprinus carpio*), Arctic char (*Salvelinus alpinus*), beluga (*Huso huso*), and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [16,41–43] where no positive effects on growth were detected; however, other studies have revealed positive effects on growth promoted by the inclusion of inulin, such as in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), roach (*Rutilus rutilus*), and *O. mykiss* [15,19,44–47]. These effects have been attributed to the fermentability of inulin by the action of the microbiome and changes in intestinal morphology, which changes as a function of development [41,48]. Likewise, some authors consider that the variations in growth, feed utilization, and health benefits when using this prebiotic depend mainly on the species, the time of application, and the dose of the supplement, as well as the type of prebiotic. Furthermore, in this case, the effect of inulin on the growth response seems to vary, so it is necessary to examine morphophysiological parameters to understand its effect [49,50].

On the other hand, the survival of *A. tropicus* larvae showed significant differences ( $p < 0.05$ ), where the fish fed with the inclusion of 2.5% inulin showed the highest value. These results are similar to those results reported by various authors who found significant increases in the survival of various fish species [15,16,44,48,51–53]. In contrast, Akrami et al. [42] and Reza et al. [43] did not find positive effects on the survival rate of fingerlings of *H. huso* and *O. mykiss*. In addition, lower rates of food consumption, SGR, and PER were observed in the treatments with 1% and 2% inulin supplementation compared with the control diet. This suggests an inverse relationship between some of the growth indices, which leads the authors to believe that inulin is not appropriate for these species. The authors suggest that this is related to a decrease in digestive capacity by possibly exceeding the dose of the prebiotic and the low fermentability of inulin, which could affect the hydrolysis of nutrients by affecting the digestive enzymatic activity or the absorption processes of essential biomolecules.

In this regard, Olsen et al. [41] claim that the lower survival can be attributed to the inability of the intestinal microbiota to ferment the excessive levels of inulin, and the excess of inulin was detrimental to the enterocytes. Likewise, the effects of inulin on growth and survival rate vary among different species. In this regard, one of the essential roles of inulin intake is to maximize the digestibility of feed components, as previous studies suggest that this prebiotic is an excellent digestion activator since it causes a balanced growth of specific microorganisms in the posterior intestine, such as Bifidobacteria and Lactobacilli, which contribute to the production of vitamins B1, riboflavin, B6, and K, as well as increasing the solubility and absorption of minerals such as calcium, magnesium, and iron ions. It is also known that a correct dose of the prebiotic reduces the intestinal pH and produces products derived from fermentation, such as short chains of fatty acids, which can be used as an energy source for cells [16,49,54–56].

In the case of digestive enzymes, *A. tropicus* larvae fed with the inclusion of 2.5% inulin showed the highest activities of acid, alkaline, amylase, and lipase proteases, followed by those fed with the inclusion of 2% inulin. These results are similar to those reported by Soleimani et al. [44] in *R. rutilus* larvae, where amylase, lipase, and protease activities showed a significant increase when adding 1% inulin compared with the control diet. Similarly, Hunt et al. [19] found an increase in intestinal trypsin, lipase, and amylase from fish fed 1% inulin in *O. mykiss*. However, there are studies where the inclusion of inulin did not have significant effects on trypsin-like activities, alkaline amylase phosphatase, and leucine aminopeptidase, which were carried out in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) and in *C. carpio* larvae [16,57]. This may be related to a limited synthesis of these pancreatic digestive enzymes in contrast with the high hydrolytic capacity and rapid development of the digestive system of *A. tropicus* larvae [28]. Those mentioned above can be attributed to the different digestive capacities that species have depending on their stage of development and the presence of a balanced intestinal microbiome. This is why the digestive capacities of species vary enormously; the inclusion of inulin works in a complementary way to digestion processes since the fermentation of prebiotics by the intestinal microbiome can produce short-chain fatty acids, which support the digestion of nutrients. This improves the morphology of the intestine [43,48].

In other studies, it is mentioned that the bacteria found in the intestinal tract participate in the digestion of food, which is why it contributes in a complementary way to the hydrolysis of nutrients by the action of digestive enzymes in their active function. In the same way, it is mentioned that the microbiome of the digestive tract of aquatic organisms varies according to several factors, such as the aquatic environment (temperature, pH, alkalinity, dissolved oxygen, salinity, among others), seasonal variation, diet, the stage of development of the species of fish, and the anatomy of the gastrointestinal section [58–60]. Likewise, it is mentioned that the addition of inulin in the correct proportion serves to stimulate the digestive enzyme activities by the production of a series of vitamins and enzymes. The augment in digestion efficiency leads to an increase in the intestinal mucosa [9], improving the morphology of the



gut by the fermentation of inulin which stimulates the microbiomes that participate in the digestion of food [44].

In this way, the inclusion of this prebiotic helps the nutrients in the food to be easily digested and promotes better absorption of the molecules inside the cells (enterocytes) to be transported to the tissues that require them for various metabolic processes [19].

On the other hand, the activities of the antioxidant enzymes CAT and SOD of the *A. tropicus* larvae showed the highest values for the fish fed with the control diet compared to the other treatments, which contrasts with the decrease in these activities according to the inulin ratio increases. In this sense, it is widely known that inulin improves antioxidant status through several mechanisms, such as the generation of short-chain fatty acids and antioxidant enzymes [61]. Antioxidant enzymes inhibit radical generation and prevent oxidative damage in teleost [62]. Some studies indicate that the activity of antioxidant enzymes is modulated when prebiotics, such as inulin, are included in the diet, which allows the body to prevent the formation of reactive oxidative species (ROS) [63,64]. It should be noted that cells usually produce reactive oxygen species, which is why the first antioxidant defense system is GPx, SOD, and CAT, which could indicate that our results show less antioxidant activity in treatments supplemented with inulin, unlike the control treatment. This is due to protection or inhibition of the cells to produce ROS, for which they do not need to be active, keeping the organism more stable, unlike the control treatment with the highest activity. In this sense, our results are similar to those reported by Guerreiro et al. [65], where diminished antioxidant activity in white sea bream (*Diplodus sargus*) was observed by including fructo-oligosaccharides (FOS), which are a derivative of inulin. To fully determine the antioxidant effect of inulin inclusion in the diet, further and more in-depth analyses are needed. Contrary to our results, Hunt et al. [19] found that inulin supplementation increases the antioxidant activity of *O. mykiss*, which are essential protective enzymes that trigger various factors to prevent cell deterioration from membrane oxidation. Without the protection of antioxidant enzymes, the balance of various absorption channels, such as sodium, potassium, and calcium ions in fish, is altered, in addition to the elevation of cortisol and corticosteroids, which are essential in the regulation of the pathways involved in the mobilization of energy substrates [64]. In this regard, Olsvik et al. [66] mention that the increase in the activity of some oxidative enzymes that participate in the antioxidant response, such as SOD, CAT, and GPx, can differ in response to variations in several biotic and abiotic factors that cause stress in fish, in addition to the individual physiological variation of organisms [67]. Additionally, inulin can act effectively by changing the intestinal microbiota, which generates the production of lactic acid and other substances used as energy sources for microorganisms, which improves the absorption of nutrients in the host, generates an increased synthesis of antimicrobial peptides, promotes the growth of beneficial bacteria (probiotics), reduces luminal pH, provides an enhancement of the immune system, and prevents the adhesion of pathogens [68].

An aspect to be highlighted is the increase in the absorption capacity of nutrients which generally improves the growth of fish, for which it has been hypothesized that the fermentation process in the intestinal tract by the action of the microbiome and its association with some prebiotics, such as inulin, promotes the release of short-chain fatty acids. This is also complemented by the production of other substances, such as spermine, that stimulate the proliferation of intestinal cells [69–71]. Various authors mention that the effects on growth when adding inulin to the diet of fish, particularly in carnivores such as *A. tropicus*, are not always clear. However, an increase in digestive capacity is observed which is associated with a significant contribution of some active substances by the microbiome by inulin supplementation, such as Arctic char (*Salvelinus alpinus*), Atlantic salmon (*Salmo salar*), and gilthead sea bream (*Sparus aurata*) [41,57,72].

Regarding the studies carried out with prebiotics in *A. tropicus*, it can be mentioned that the growth of larvae fed with the concentration of 7.5 g Kg<sup>-1</sup> of FOS increased the weight and total length, as well as an increase in the digestive lipase and amylase enzyme activities [73]. When MOS was added to the balanced feed, no significant differences were

found in the growth of the larvae in any of the treatments. However, a significant increase in lipase and alkaline protease activities was detected when supplementing with 5 g Kg<sup>-1</sup> of MOS [35]. In *A. tropicus*, juveniles fed with MOS show an increase in growth when using 2 g Kg<sup>-1</sup>, as well as an increase in pepsin, trypsin, lipase, and  $\alpha$ -amylase activities [32]. The addition of FOS in the diet showed an increase in the growth of juveniles with 5 g Kg<sup>-1</sup>, in addition to an increase in acid protease, chymotrypsin, leucine aminopeptidase, and lipase activities [34]. Finally, when using the prebiotic  $\beta$ -glucans in balanced feeds for juveniles, no differences were detected between treatments, although differences were detected in chymotrypsin activity when supplementing the diet with 10 g Kg<sup>-1</sup> [33].

## 5. Conclusions

The incorporation of 25 g Kg<sup>-1</sup> of inulin in the larvae of *A. tropicus* increases survival and improves the activities of acid and alkaline proteases, amylase, and lipase, so there is a greater bioavailability of nutrients. Likewise, an increase in the activity of the GPx antioxidant enzyme is observed, which favors the protection of cell membranes from the release of reactive oxygen species (ROS). The decrease in SOD and CAT could suggest that they play a protective role by preventing the presence of ROS; in this way, inulin supplementation can positively affect the larvae's culture during their development and the time to make food changes.

**Author Contributions:** Conceptualization, E.D.L.C.-M., G.G.A.-A. and C.A.Á.-G.; methodology, E.D.L.C.-M., J.F.L.-H., G.M.P.-J. and C.A.S.-Q.; formal analysis, E.D.L.C.-M., R.M.-G. and L.D.J.-M.; investigation, E.D.L.C.-M., D.T.-R. and C.A.Á.-G.; resources, C.A.Á.-G.; data curation, E.D.L.C.-M. and E.S.P.-M.; writing—original draft preparation, E.D.L.C.-M.; writing—review and editing, E.S.P.-M., G.G.A.-A., R.M.-G., S.C.D.I.R.-G., O.M.-M. and C.A.Á.-G.; visualization, G.G.A.-A., R.M.-G. and C.A.Á.-G.; supervision, G.G.A.-A. and C.A.Á.-G.; project administration, R.M.-G. and C.A.Á.-G.; funding acquisition, C.A.Á.-G. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research was funded by the National Council on Science and Technology (CONACYT) in Mexico, grant number CB-2016-01-282765. This study was carried out with the collaboration of Red CYTED LARVAplus (117RT0521).

**Institutional Review Board Statement:** The animal study protocol was approved by the Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (protocol code NOM-062-ZOO-1999, 22 August 2001).

**Informed Consent Statement:** Not applicable.

**Data Availability Statement:** The data that support the findings of this study are available upon request from the authors.

**Acknowledgments:** The author is grateful to the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) for the graduate studies grant.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

1. Kobayashi, M.; Msangi, S.; Batka, M.; Vannuccini, S.; Dey, M.M.; Anderson, J.L. Fish to 2030: The Role and Opportunity for Aquaculture. *Aquac. Econ. Manag.* **2015**, *19*, 282–300. [[CrossRef](#)]
2. Oliva-Teles, A. Nutrition and health of aquaculture fish. *J. Fish Dis.* **2012**, *35*, 83–108. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Carbone, D.; Faggio, C. Importance of prebiotics in aquaculture as immunostimulants. Effects on immune system of *Sparus aurata* and *Dicentrarchus labrax*. *Fish Shellfish. Immunol.* **2016**, *54*, 172–178. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Song, S.K.; Beck, B.R.; Kim, D.; Park, J.; Kim, J.; Kim, H.D.; Ringø, E. Prebiotics as immunostimulants in aquaculture: A review. *Fish Shellfish. Immunol.* **2014**, *40*, 40–48. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Mussatto, S.I.; Mancilha, I.M. Non-digestible oligosaccharides: A review. *Carbohydr. Polym.* **2007**, *68*, 587–597. [[CrossRef](#)]
6. Akhter, N.; Wu, B.; Memon, A.M.; Mohsin, M. Probiotics and prebiotics associated with aquaculture: A review. *Fish and Shellfish Immunology* **2015**, *45*, 733–741. [[CrossRef](#)]
7. Gatesoupe, F.J. Probiotics and prebiotics for fish culture, at the parting of the ways. *Aqua Feed. Formul. Beyond* **2005**, *2*, 3–5.

8. Iwashita, M.; Addo, S.; Terhune, J.S. Use of pre- and probiotics in finfish aquaculture. In *Feed and Feeding Practices in Aquaculture*; Davis, D.A., Ed.; Series in Food Science, Technology and Nutrition; Woodhead Publishing: Soston, UK, 2015; pp. 35–249. [CrossRef]
9. Ringø, E.; Olsen, R.E.; Gifstad, T.Ø.; Dalmo, R.A.; Amlund, H.; Hemre, G.-I.; Bakke, A.M. Prebiotics in aquaculture: A review. *Aquac. Nutr.* **2010**, *16*, 117–136. [CrossRef]
10. Davani-Davari, D.; Negahdaripour, M.; Karimzadeh, I.; Seifan, M.; Mohkam, M.; Masoumi, S.J.; Berenjian, A.; Ghasemi, Y. Prebiotics: Definition, types, sources, mechanisms, and clinical applications. *Foods* **2019**, *9*, 92. [CrossRef] [PubMed]
11. Aachary, A.A.; Prapulla, S.G. Xylooligosaccharides (XOS) as an Emerging prebiotic: Microbial synthesis, utilization, structural characterization, bioactive properties, and applications. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* **2011**, *10*, 16. [CrossRef]
12. Kumar, R.; Manjunatha, S.; Kathiravan, T.; Vijayalakshmi, S.; Nadanasabapathi, S.; Raju, P.S. Rheological characteristics of inulin solution at low concentrations: Effect of temperature and solid content. *J. Food Sci. Technol.* **2015**, *52*, 5611–5620. [CrossRef] [PubMed]
13. Kolida, S.; Tuohy, K.; Gibson, G.R. Prebiotic effects of inulin and oligofructose. *Braz. J. Nutr.* **2002**, *87*, S193–S197. [CrossRef]
14. Meyer, D.; Stasse-Wolthuis, M. The bifidogenic effect of inulin and oligofructose and its consequences for gut health. *Eur. J. Clin. Nutr.* **2009**, *63*, 1277–1289. [CrossRef] [PubMed]
15. Ibrahim, M.D.; Fathi, M.; Mesalhy, S.; Abd El-Aty, A.M. Effect of dietary supplementation of inulin and vitamin C on the growth, hematology, innate immunity, and resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish Shellfish. Immunol.* **2010**, *29*, 241–246. [CrossRef] [PubMed]
16. Eshaghzadeh, H.; Hoseinifar, S.H.; Vahabzadeh, H.; Ringø, E. The effects of dietary inulin on growth performance, survival and digestive enzyme activities of common carp (*Cyprinus carpio*) fry. *Aquac. Nutr.* **2015**, *21*, 242–247. [CrossRef]
17. Weiss, M.; Steiner, D.F.; Philipson, L.H. Insulin biosynthesis, secretion, structure, and structure-activity relationships. In *EndoText*; Feingold, K.R., Anawalt, B., Boyce, A., Eds.; MDText.com, Inc.: South Dartmouth, MA, USA, 2014. Available online: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279029/> (accessed on 9 May 2022).
18. Mo, W.Y.; Cheng, Z.; Choi, W.M.; Lun, C.H.I.; Man, Y.B.; Wong, J.T.F.; Chen, X.W.; Lau, S.C.K.; Wong, M.H. Use of food waste as fish feeds: Effects of prebiotic fibers (inulin and mannanoligosaccharide) on growth and non-specific immunity of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* **2015**, *22*, 17663–17671. [CrossRef]
19. Hunt, A.; Çetinkaya, M.; Ozkan Yilmaz, F.; Yildirim, M.; Berköz, M.; Yalın, S. Effect of dietary supplementation of inulin on growth performance, digestion enzyme activities and antioxidant status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Turk. J. Agric. Food Sci. Technol.* **2019**, *7*, 1344–1353. [CrossRef]
20. Ahmndifar, E.; Akrami, R.; Ghelichi, A.; Mohammadi Zarejabad, A. Effects of different dietary prebiotic inulin levels on blood serum enzymes, hematologic, and biochemical parameters of great sturgeon (*Huso huso*) juveniles. *Comp. Clin. Pathol.* **2010**, *20*, 447–451. [CrossRef]
21. Ai, Q.; Xu, H.; Mai, K.; Xu, W.; Wang, J.; Zhang, W. Effects of dietary supplementation of *Bacillus subtilis* and fructooligosaccharide on growth performance, survival, non-specific immune response and disease resistance of juvenile large yellow croaker, *Larimichthys Crocea*. *Aquaculture* **2011**, *317*, 155e61. [CrossRef]
22. Hosseini, S.H.; Sourinejad, I.; Ashori, S.; Moradinasab, A.A. Effect of different levels of dietary inulin supplementation on growth performance, survival and some hematologic indices in Red Pacu *Piaractus brachypomus* fry. *J. Aquat. Ecol.* **2014**, *4*, 50–44. Available online: <http://jae.hormozgan.ac.ir/article-1-38-en.html> (accessed on 1 March 2023).
23. Mousavi, E.; Mohammadiazarm, H.; Seied Mohammad Mousavi, M.S.; Ghatrami, R.E. Effects of inulin, savory and onion powders in diet of juveniles carp *Cyprinus carpio* (Linnaeus 1758) on gut micro flora, immune response and blood biochemical parameters. *Turk. J. Fish. Aquat. Sci.* **2016**, *16*, 831–838. [CrossRef] [PubMed]
24. Márquez-Couturier, G.; Álvarez-González, C.A.; Contreras, W.; Hernández, U.; Hernández, A.; Mendoza, R.; Aguilera, C.; García, T.; Civera, R.; Goytortua, E. Avances en la alimentación y nutrición de pejelagarto *Atractosteus tropicus*. In *Memorias del VIII Simposium Internacional de Nutrición Acuicola*; Cruz Suárez, L.E., Ricque Marie, D., Tapia Salazar, M., Nieto López, M.G., Villarreal Cavazos, D.A., Puello Cruz, A.C., García Ortega, A., Eds.; UANL: Monterrey, México, 2006; pp. 446–523. Available online: [https://www.uanl.mx/utilerias/nutricion\\_acuicola/VIII/archivos/28Alvarez.pdf](https://www.uanl.mx/utilerias/nutricion_acuicola/VIII/archivos/28Alvarez.pdf) (accessed on 1 March 2023).
25. Márquez-Couturier, G.; Vázquez-Navarrete, C.J. Empoderamiento de las organizaciones sociales en el cultivo de pejelagarto (*Atractosteus tropicus*) en el sureste de Mexico. *Agroproductividad* **2015**, *8*, 36–43. Available online: <https://biblat.unam.mx/hevila/Agroproductividad/2015/vol8/no3/7.pdf> (accessed on 1 March 2023).
26. Márquez-Couturier, G.; Vázquez-Navarrete, C.J. Estado del arte de la biología y cultivo de pejelagarto (*Atractosteus tropicus*). *Agroproductividad* **2015**, *8*, 44–51. Available online: <https://biblat.unam.mx/hevila/Agroproductividad/2015/vol8/no3/8.pdf> (accessed on 1 March 2023).
27. Guerrero-Zarate, R.; Álvarez-González, C.A.; Olvera-Novoa, M.A.; Perales-García, N.; Frías-Quintana, C.A.; Martínez-García, R.; Contreras-Sanchez, W.M. Partial characterization of digestive proteases in tropical gar *Atractosteus tropicus* juveniles. *Fish Physiol. Biochem.* **2013**, *40*, 1021–1029. [CrossRef] [PubMed]
28. Frías-Quintana, C.A.; Márquez-Couturier, G.; Álvarez-González, C.A.; Tovar-Ramírez, D.; Nolasco-Soria, H.; Galaviz-Espinosa, M.A.; Martínez-García, R.; Camarillo-Coop, S.; Martínez-Yáñez, R.; Gisbert, E. Development of digestive tract and enzyme activities during the early ontogeny of the tropical gar *Atractosteus tropicus*. *Fish Physiol. Biochem.* **2015**, *41*, 1075–1091. [CrossRef] [PubMed]

29. Frías-Quintana, C.A.; Domínguez-Lorenzo, J.; Álvarez-González, C.A.; Tovar-Ramírez, D.; Martínez-García, R. Using cornstarch in microparticulate diets for larvicultured tropical gar (*Atractosteus tropicus*). *Fish Physiol. Biochem.* **2016**, *42*, 517–528. [CrossRef] [PubMed]
30. Frías-Quintana, C.A.; Álvarez-González, C.A.; Tovar-Ramírez, D.; Martínez-García, R.; Camarillo-Coop, S.; Peña-Marín, E.S.; Galaviz, M. Use of potato starch in diets of tropical gar (*Atractosteus tropicus*, Gill 1863) larvae. *Fishes* **2017**, *2*, 3. [CrossRef]
31. Palma-Cancino, D.J.; Martínez-García, R.; Álvarez-González, C.A.; Camarillo-Coop, S.; Peña-Marín, E.S. Esquemas de alimentación para larvicultura de pejelagarto (*Atractosteus tropicus* Gill): Crecimiento, supervivencia y canibalismo. *Ecosistemas Y Recur. Agropecu.* **2019**, *6*, 273–281. [CrossRef]
32. Nájera-Arzola, I.C.; Álvarez-González, C.A.; Frías-Quintana, C.A.; Peña, E.; Martínez-García, R.; Camarillo-Coop, S.; Méndez-Marín, O.; Gisbert, E. Evaluación de oligosacáridos de manano (MOS) en dietas balanceadas para juveniles de pejelagarto (*Atractosteus tropicus*). *Hidrobiológica* **2018**, *28*, 239–246. [CrossRef]
33. Nieves-Rodríguez, K.N.; Álvarez-González, C.A.; Peña-Marín, E.S.; Vega-Villasante, F.; Martínez-García, R.; Camarillo-Coop, S.; Tovar-Ramírez, D.; Guzmán-Villanueva, L.T.; Andree, K.; Gisbert, E. Effect of  $\beta$ -glucans in diets on growth, survival, digestive enzyme activity, and immune system and intestinal barrier gene expression for tropical gar (*Atractosteus tropicus*) juveniles. *Fishes* **2018**, *3*, 27. [CrossRef]
34. Sepúlveda-Quiroz, C.A.; Peña-Marín, E.S.; Pérez-Morales, A.; Martínez-García, R.; Alvarez-Villagómez, C.S.; Maytorena-Verdugo, C.I.; Camarillo-Coop, S.; Vissio, G.; Pérez Sirkin, D.; Tovar-Ramírez, D.; et al. Fructooligosaccharide supplementation in diets for tropical gar (*Atractosteus tropicus*) juvenile: Effects on morphophysiology and intestinal barrier function. *Aquac. Res.* **2021**, *52*, 37–50. [CrossRef]
35. Maytorena-Verdugo, C.I.; Peña-Marín, E.S.; Alvarez-Villagómez, C.S.; Pérez-Jiménez, G.M.; Sepúlveda-Quiroz, C.A.; Alvarez-González, C.A. Inclusion of mannan-oligosaccharides in diets for tropical gar *Atractosteus tropicus* larvae: Effects on growth, digestive enzymes, and expression of intestinal barrier genes. *Fishes* **2022**, *7*, 127. [CrossRef]
36. Bradford, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **1976**, *72*, 248–254. [CrossRef] [PubMed]
37. Anson, M.L. The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin. *J. Gen. Physiol.* **1938**, *22*, 79–89. [CrossRef]
38. Walter, H.E. Proteinases: Methods with hemoglobin, casein and azocoll as substrates. In *Methods of Enzymatic Analysis*; Bergmeyer, H.J., Ed.; Verlag Chemie: Weinheim, Germany, 1984; Volume 1, pp. 270–277. Available online: <https://epub.uni-muenchen.de/9220/1/9220.pdf> (accessed on 9 May 2022).
39. Versaw, W.K.; Cuppett, S.L.; Winters, D.D.; Williams, L.E. An improved colorimetric assay for bacterial lipase in nonfat dry milk. *J. Food Sci.* **1989**, *54*, 232–254. [CrossRef]
40. Robyt, J.F.; Whelan, W.J. General Aspects of Amylase Action, Chap. 13 cr-Amylases, Chap. 14 /J-Amylases. In *Starch and Its Derivatives*, 4th ed.; Radley, J.A., Ed.; Chapman and Hall: London, UK, 1968; pp. 477–497.
41. Olsen, R.E.; Myklebust, R.; Kryvi, H.; Mayhew, T.M.; Ringø, E. Damaging effect of dietary inulin on intestinal enterocytes in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). *Aquac. Res.* **2001**, *32*, 931–934. [CrossRef]
42. Akrami, R.; Iri, Y.; Rostami, H.K.; Mansour, M.R. Effect of dietary supplementation of fructooligosaccharide (FOS) on growth performance, survival, lactobacillus bacterial population and hemato-immunological parameters of stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) juvenile. *Fish Shellfish. Immunol.* **2013**, *35*, 1235–1239. [CrossRef]
43. Reza, A.; Abdolmajid, H.; Abbas, M.; Abdolmohammad, A.K. Effect of Dietary Prebiotic Inulin on Growth Performance, Intestinal Microflora, Body Composition and Hematological Parameters of Juvenile Beluga, *Huso huso* (Linnaeus, 1758). *J. World Aquac. Soc.* **2009**, *40*, 771–779. [CrossRef]
44. Soleimani, N.; Hoseinifar, S.H.; Merrifield, D.L.; Barati, M.; Abadi, Z.H. Dietary supplementation of fructooligosaccharide (FOS) improves the innate immune response, stress resistance, digestive enzyme activities and growth performance of Caspian roach (*Rutilus rutilus*) fry. *Fish Shellfish. Immunol.* **2012**, *32*, 316–321. [CrossRef]
45. Boonanuntasarn, S.; Tiengtam, N.; Pitaksong, T.; Piromyong, P.; Teamroong, N. Effects of dietary inulin and Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) on intestinal microbiota community and morphology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. *Aquac. Nutr.* **2018**, *24*, 712–722. [CrossRef]
46. Tiengtam, N.; Paengkoum, P.; Sirivoharn, S.; Phonsiri, K.; Boonanuntasarn, S. The effects of dietary inulin and Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) tuber on the growth performance, haematological, blood chemical and immune parameters of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. *Aquac. Res.* **2017**, *48*, 5280–5288. [CrossRef]
47. Yones, A.M.A.S.M.; Eissa, I.A.M.M.; Ghobashy, M.A.E.F.A.; Marzok, S.S. Effects of dietary inulin as prebiotic on growth performance, immuno-hematological indices and ectoparasitic infection of fingerlings Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Natl. Inst. Oceanogr. Fish.* **2020**, *43*, 88–103. [CrossRef]
48. Hoseinifar, S.H.; Ahmadi, A.; Khalili, M.; Raeisi, M.; Van Doan, H.; Caipang, C.M. The study of antioxidant enzymes and immune-related genes expression in common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings fed different prebiotics. *Aquac. Res.* **2017**, *48*, 5447–5454. [CrossRef]
49. Tiengtam, N.; Khempaka, S.; Paengkoum, P.; Boonanuntasarn, S. Effects of inulin and Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) as prebiotic ingredients in the diet of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Anim. Feed. Sci. Technol.* **2015**, *207*, 120–129. [CrossRef]
50. Ganguly, S.; Dora, K.C.; Sarkar, S.; Chowdhury, S. Supplementation of prebiotics in fish feed: A review. *Rev. Fish Biol. Fish.* **2012**, *23*, 195–199. [CrossRef]

51. Mahious, A.S.; Gatesoupe, F.J.; Hervi, M.; Metailler, R.; Ollevier, F. Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot, *Psetta maxima* (Linnaeus, C. 1758). *Aquac. Int.* **2006**, *14*, 219–229. [[CrossRef](#)]
52. Sheikholeslami, M.; Yusefian, M.; Yavari, V.; Mohamadian, T.; Abhari, H.; Goran, H. Modulation of rainbow trout immune system and enhance resistance against streptococcosis using dietary inulin. In *The First National Conference on Caspian Sea Fisheries Resources*; Gorgan University: Gorgan, Iran, 2007; p. 12.
53. Salze, G.; McLeana, E.; Schwarz, M.H.; Craig, S.R. Dietary mannan oligosaccharide enhances salinity tolerance and gut development of larval coho. *Aquaculture* **2008**, *274*, 148–152. [[CrossRef](#)]
54. Levrat, M.A.; Rémésy, C.; Demigné, C. High propionic acid fermentations and mineral accumulation in the cecum of rats adapted to different levels of inulin. *J. Nutr.* **1991**, *121*, 1730–1737. [[CrossRef](#)]
55. Trinidad, T.P.; Wolever, T.M.S.; Tompson, L.V. Interactive effects of calcium and short-chain fatty acids on absorption in the distal colon of man. *Nutr. Res.* **1993**, *13*, 417–425. [[CrossRef](#)]
56. Ortiz, L.T.; Rebolé, A.; Velasco, S.; Rodríguez, M.L.; Treviño, J.; Tejedor, J.L.; Alzueta, C. Effects of inulin and fructooligosaccharides on growth performance, body chemical composition and intestinal microbiota of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquac. Nutr.* **2012**, *19*, 475–482. [[CrossRef](#)]
57. Refstie, S.; Bakke-McKellep, A.M.; Penn, M.H.; Sundby, A.; Shearer, K.D.; Kroghdahl, Å. Capacity for digestive hydrolysis and amino acid absorption in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with soybean meal or inulin with or without addition of antibiotics. *Aquaculture* **2006**, *261*, 392–406. [[CrossRef](#)]
58. Roberfroid, M.; Gibson, G.R.; Hoyle, L.; McCartney, A.L.; Rastall, R.; Rowland, I.; Wolvers, D.; Watzl, B.; Szajewska, H.; Stahl, B.; et al. Prebiotic effects: Metabolic and health benefits. *BBR. J. Nutr.* **2010**, *104* (Suppl. 2), S1–S63. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
59. Walton, G.E.; Swann, J.R.; Gibson, G.R. Prebiotics. In *The Prokaryotes*; Rosenberg, E., DeLong, E.F., Lory, S., Stackebrandt, E., Thompson, F., Eds.; Springer: Berlin, Heidelberg, 2013. [[CrossRef](#)]
60. Shoaib, M.; Shehzad, A.; Omar, M.; Rakha, A.; Raza, H.; Sharif, H.R.; Shakeel, A.; Ansari, A.; Niazi, S. Inulin: Properties, health benefits and food applications. *Carbohydr. Polym.* **2016**, *147*, 444–454. [[CrossRef](#)]
61. Baumgärtner, S.; James, J.; Ellison, A. The supplementation of a prebiotic improves the microbial community in the gut and the skin of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquac. Rep.* **2022**, *25*, 101204. [[CrossRef](#)]
62. Wu, P.; Liu, Y.; Jiang, W.D.; Jiang, J.; Zhao, J.; Zhang, Y.A.; Zhou, X.Q.; Feng, L. A Comparative study on antioxidant system in fish hepatopancreas and intestine affected by choline deficiency: Different change patterns of varied antioxidant enzyme genes and nrf2 signaling factors. *PLoS ONE* **2017**, *12*, e01698882017. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
63. Rault-Nania, M.H.; Demougeot, C.; Gueux, E.; Berthelot, A.; Dzimirá, S.; Rayssiguier, Y.; Rock, E.; Mazur, A. Inulin supplementation prevents high fructose diet-induced hypertension in rats. *Clin. Nutr.* **2008**, *27*, 276–282. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
64. Baldissera, M.D.; Souza, C.F.; Parmeggiani, B.; Leipnitz, G.; Verdi, C.M.; Santos, R.V.; Stefani, L.M.; Baldisserotto, B. The disturbance of antioxidant/oxidant balance in fish experimentally infected by *Aeromonas caviae*: Relationship with disease pathophysiology. *Microb. Pathog.* **2018**, *122*, 53–57. [[CrossRef](#)]
65. Guerreiro, I.; Couto, A.; Machado, M.; Castro, C.; Pousão-Ferreira, P.; Oliva-Teles, A.; Enes, P. Prebiotics effect on immune and hepatic oxidative status and gut morphology of white sea bream (*Diplodus sargus*). *Fish Shellfish Immunol.* **2016**, *50*, 168–174. [[CrossRef](#)]
66. Olsvik, P.A.; Kristensen, T.; Waagbø, R.; Rosseland, B.O.; Tollefsen, K.E.; Baeverfjord, G.; Berntssen, M.H. mRNA expression of antioxidant enzymes (SOD, CAT and GSH-Px) and lipid peroxidative stress in liver of Atlantic salmon (*Salmo salar*) exposed to hyperoxic water during smoltification. *Comp. Biochem. Physiol. Part C: Toxicol. Pharmacol.* **2005**, *141*, 314–323. [[CrossRef](#)]
67. Butt, R.L.; Volkoff, H. Gut microbiota and energy homeostasis in fish. *Front. Endocrinol.* **2019**, *10*, 9. [[CrossRef](#)]
68. Blottiere, H.M.; Buecher, B.; Galmiche, J.-P.; Cherbut, C. Molecular analysis of the effect of short-chain fatty acids on intestinal cell proliferation. *Proc. Nutr. Soc.* **2003**, *62*, 101–106. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
69. Rehman, H.; Hellweg, P.; Taras, D.; Zentek, J. Effects of Dietary Inulin on the Intestinal Short Chain Fatty Acids and Microbial ecology in broiler chickens as revealed by denaturing gradient gel electrophoresis. *Poult. Sci.* **2008**, *87*, 783–789. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
70. Nabizadeh, A. The effect of inulin on broiler chicken intestinal microflora, gut morphology, and performance. *J. Anim. Feed. Sci.*

2012, 21, 725–734. [[CrossRef](#)]

71. Johnson-Henry, K.C.; Pinnell, L.J.; Waskow, A.M.; Irrazabal, T.; Martin, A.; Hausner, M.; Sherman, P.M. Short-chain fructo- oligosaccharide and inulin modulate inflammatory responses and microbial communities in Caco2-bbe cells and in a mouse model of intestinal injury. *J. Nutr.* **2014**, *144*, 1725–1733. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

72. Cerezuela, R.; Cuesta, A.; Meseguer, J.; Esteban, M.A. Effects of inulin on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune

parameters. *Fish Shellfish. Immunol.* **2008**, *24*, 663–668. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

73. Pérez-Jiménez, G.M.; Peña-Marín, E.S.; Maytorena-Verdugo, C.I.; Sepúlveda-Quiroz, C.A.; Jiménez-Martínez, L.D.; De la Rosa-García, S.C.; Asencio-Alcudia, G.G.; Martínez-García, R.; Tovar-Ramírez, D.; Galaviz, M.A.; et al. Incorporation of fructooligosaccharides in diets influence growth performance, digestive enzyme activity, and expression of intestinal barrier function genes in tropical gar (*Atractosteus tropicus*) larvae. *Fishes* **2022**, *7*, 137. [[CrossRef](#)]

**Disclaimer/Publisher’s Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.